

ZJAWISKO HAMOWANIA EFEKTU CYTOPATOGENNEGO
WIRUSA POLIOMYELITIS PRZEZ PŁYN INAKTYWOWANY
OTRZYMANY Z HODOWLI TKANKOWEJ ZAKAŻONEJ
WIRUSEM KROWIANKI (*POX-VIRUS OFFICINALE*)

BENEDYKT MAZUR

Zakład Mikrobiologii Lekarskiej Akademii Medycznej w Poznaniu
Kierownik: prof. dr J. Wiza

W czasie akcji szczepień przeciw poliomyelitis wirusem atenuowanym zwróciło naszą uwagę odmienne podejście różnych badaczy do sposobu stosowania tej szczepionki. Sprawa interferencji między typami wirusa szczepionkowego nie została ściśle sprecyzowana i w różnych krajach podawano szczepionkę jako każdy typ oddzielnie, z pewnymi odstępami w czasie, bądź też jednocześnie wszystkie trzy typy. Pracując wtedy nad serologiczną oceną tej szczepionki na naszym terenie postanowiliśmy zbadać w najbliższym czasie, blokowanie się wzajemne poszczególnych typów wirusa atenuowanego.

Po przeprowadzeniu szeregu doświadczeń *in vitro*, stosując stosunkowo bardzo duże dawki (do 5×10^6 TID/1 ml hodowli) jednego typu wirusa inaktywowanego, lub częściowo, tj. łagodnie inaktywowanego, usiłowano blokować receptory lub ogniwa metaboliczne wrażliwych komórek, aby uniemożliwić późniejszy rozwój innych typów tegoż wirusa. Mało zachęcające wyniki spowodowały, że zaczęto szukać lepszego efektu z innymi wirusami w możliwie różnych układach.

Jednym z bodźców do dalszego przeprowadzania tych trudnych, ale interesujących doświadczeń było poznanie się z pracą Isaacs'a i Lindenmanna, w której autorzy donoszą o swoich spostrzeżeniach co do hamowania rozwoju wirusa grypy w zarodku jaja kurzego przez powstający w tymże zarodku interferon, w następstwie szczepienia wirusem inaktywowanym.

Zanim przejdziemy do omówienia spostrzeżeń własnych, pokrótce przypomnimy niektóre obserwacje i wyniki poszczególnych autorów oraz postaramy się, w miarę możliwości, streścić ich poglądy na charakter, pochodzenie i mechanizm działania interferonu.

Interferon grypowy Isaacs'a ma właściwości białka, ulega działaniu pepsyny i trypsyny, ale jest niewrażliwy na działanie RNA-zy lub DNA-zy. Wytrzymuje temperaturę obniżoną (w 2° zachowuje się przez kilka tygodni), ale temperatury wyższe, poczynając od 60°, niszczą go w krótkim czasie. Dobrze znosi środowisko kwaśne. Wymiary jego są mniejsze od wirusa powodującego jego powstawanie, ponieważ nie osiada przy takiej wielokrotności g^{**} , w jakiej osiada wirus. Nie ma właściwości antygenowych, ponieważ nie powoduje powstawania swoistych przeciwciał, nie jest też zobojętniany przez surowicę swoistą dla wirusa.

Według wcześniejszych poglądów wspomnianego autora, interferon miałby być ciałem pośrednim — *an intermediate* — powstającym w komórce we wczesnym stadium syntezy wirusa. Wirus łagodnie inaktywowany, tj. z nieznacznie zmienionymi kwasami nukleinowymi, wytwarzałby to ciało pośrednie nieco różniące się od takiegoż ciała wytwarzanego przez wirus zjadliwy, a zdolne do rywalizowania z nim w dalszych fazach syntezy wirusa.

W późniejszych publikacjach Isaacs'a nieco inaczej ujmuje zagadnienie powstawania interferonu. Twierdzi on mianowicie, iż interferon jest wytwarzany przez komórkę pod wpływem zakażenia wirusem i że może to być ogólną reakcją komórki na zakażenie wirusowe. W innym miejscu tej samej pracy (2) autor zastanawia się nad tym, czy przypadkiem interferon nie jest normalnym, występującym w małych ilościach, składnikiem komórki, który w przypadku wirusowego zakażenia organizmu przystosowuje się do celów obronnych. Miałby on wtedy przerywać dopływ energii pochodzącej z ATP, koniecznej dla syntezy wirusa.

Interferon grypowy Isaacs'a chroni przed wirusem nie tylko swoisty układ komórek, tj. ten, przez który został wyprodukowany, ale chroni również inne układy, np. znosi działanie wirusa krowianki na skórze królika.

Ho i Enders (1959) stwierdzili (3), że płyn z hodowli tkankowej zakażonej wirusem odry opóźnia występowanie efektu cytopatogenicznego wirusa Polio. Dalsze badania nad istotą tego zjawiska przeprowadzili De Maeyer i Enders (4). Autorzy ci uzyskali czynnik podobny do interferonu, wytwarzany w hodowli komórek owodni człowieka i komórek HeLa. Czynnik ten zwany interferonem odrowym hamował rozwój wirusa Polio szczepu MEF₁ i wirusa Sindbis w hodowli komórek owodni człowieka. Autorom tym nie udało się jednak stwierdzić hamującego działania interferonu odrowego, wytworzonego w hodowli HeLa, na rozwój wirusa Sindbis w hodowli fibroblastów zarodka kurzego.

Interferon odrowy De Maeyera i Endersa właściwościami fizyko-chemicznymi i działaniem na rozwój wirusów niewiele różni się od interferonu Isaacs'a, chociaż wg tych autorów nie jest z nim identyczny. Co do pochodzenia interferonu w ogóle, Enders (5) m. in. również wyraża pogląd,

że mógłby on być stałym, występującym w małych ilościach czynnikiem w komórce, który wskutek podrażnienia przez wirus byłby wytwarzany w nadmiarze.

Według niektórych autorów interferon nie może powstawać w komórkach pochodzenia nowotworowego, a tym bardziej wywierać w nich hamującego działania na rozwój wirusa, ponieważ w komórkach nowotworowych energia potrzebna do utrzymania metabolizmu komórkowego powstaje w warunkach fosforylacji beztlenowej. Interferon miałby hamować rozwój wirusa przez przerywanie procesu fosforylacji tlenowej węglowodanów koniecznej dla syntezy wirusa. Jednak wyżej przytoczone doświadczenia De Maeyera i Endera z komórkami HeLa przeczą tym twierdzeniom.

Schamck (6) badał działanie interferonu na wirus zakaźnego zapalenia mózgu i rdzenia koni (*encephalomyelitis infectiosa equorum*) i stwierdził, że w warunkach beztlenowych miano wirusa w obecności interferonu malało do około 1%, w porównaniu z kontrolą w warunkach tlenowych z interferonem i bez interferonu. Dodanie dwunitrofenolu nie zmniejszało wydajności wirusa. Autor twierdzi, że namnażanie się tego wirusa może odbywać się w warunkach, w których nie zachodzi tlenowa fosforylacja, i że mechanizm działania interferonu nie polega na jej przerywaniu.

Wypada przytoczyć jeszcze obserwacje tych autorów, którzy w swych badaniach stosowali wirus krowianki bądź to w roli czynnika powodującego powstawanie interferonu w komórkach, bądź hamowanego w swoim rozwoju przez interferon homologiczny lub heterologiczny.

Ender przytacza (5) przykład hamowania rozwoju wirusa krowianki przez czynnik hamujący (VIF) wytwarzany przez komórki nabłonkowe nerki ludzkiej, zakażone wirusem MEF₁ adaptowanym przez Roca-Garcia do zarodków kurzych. Interferon ten hamował również rozwój wirusa Polio-1, ECHO₉ oraz wirusa Sindbis.

Nagano i Kojima (7) stwierdzili obecność czynnika hamującego w płynnej fazie komórek zakażonych krowianką (w streszczeniu nie podano rodzaju komórek). Czynnikiem ten nie będąc zakaźnym hamował rozwój wirusa krowianki. Był on niewrażliwy na działanie promieni pozafioletkowych, nie dializował przez błony kolodionowe oraz nie sedymentował przy 10³g.

Galasso i Sharp (8) badali hamujący wpływ inaktywowanego wirusa krowianki na wzrost tegoż wirusa w komórkach L Earle'a (fibroblasty mysie). Stwierdzili oni, że już przy podaniu 10 cząsteczek wirusa inaktywowanego na jedną komórkę, zachodziło hamowanie rozwoju homologicznego wirusa testowego. Przy podaniu 100 cząsteczek na komórkę i zakażeniu wirusem testowym, w ciągu wylegania 21^{1/2}-godzinnego za-

hamowanie dochodziło do 94%. Badacze ci odczytywali wyniki doświadczeń w mikroskopie elektronowym, nie wspominają jednak nic o działaniu lub powstawaniu interferonu.

O interferonie powstającym w hodowli komórek (szczep 3-B) zarodka myszy zakażonej krowianką donoszą G l a s g o w i H a b e l (9). Badacze ci twierdzą, że otrzymali wyższe miana interferonu używając wirusa inaktywowanego promieniami pozafioletowymi. Znosił on ogrzanie do 60° przez godzinę, nie dializował i był unieczynniany przez trypsynę. Poza krowianką hamował rozwój wirusa *herpes simplex* i wirusa zakaźnego zapalenia mózgu i rdzenia u koni.

W ostatnim czasie H o i B r e i n i g (10) pracowali nad interferonem i jego powstawaniem w różnych warunkach doświadczalnych. Stwierdzili oni, że interferon powstaje w komórkach zakażonych nie tylko wirusem o powolnym działaniu cytopatogennym, lecz wykazali również obecność interferonu w płynie z hodowli komórek zarodka kurzego zakażonej wirusem Sindbis, który wywierał prawie natychmiastowe działanie cytopatogenne na te komórki. Stwierdzili oni również, że wyższe miano interferonu można było uzyskać w hodowli, do której uprzednio dodano wirus inaktywowany a następnie wirus zjadliwy. Sam wirus inaktywowany wzmacniał nieznacznie oporność komórek, ale w doświadczeniach autorów czynnika hamującego nie wytwarzał. Autorzy twierdzą, że w przypadku wirusa Polio i hodowli komórek nabłonkowych nerki małpiej muszą wchodzić w grę inne czynniki, które mają wpływ na powstawanie interferonu. Jednym z nich miałyby być obecność wirusa inaktywowanego.

Z tego krótkiego przeglądu staje się widoczne, że wytwarzanie interferonu wydaje się przejawem naturalnego mechanizmu wywołującego oporność komórek organizmu na zakażenie wirusem. Stwierdzono to doświadczalnie (cytuję za Ho 10) z wieloma przedstawicielami grupy Myxowirusów, Enterowirusów, wirusów grupy Arbor z wirusem krowianki i odry oraz wirusem nowotworowym Polyoma. Podkład dla produkcji interferonu obejmują komórki wszystkich zwierząt, hodowle pierwotne komórek oraz hodowle w linii ciągłej.

Doświadczenia własne

Doświadczenia własne przeprowadzono w Pracowni wirusologicznej Zakładu na materiale obejmującym: komórki HeLa, komórki KB, wirus krowianki (szczepionka p-ospowa) oraz wirus Polio typ 3 Saukett otrzymany z Zakładu Wirusologii PZH w Warszawie.

Hodowle komórek HeLa i KB używanych w doświadczeniach prowadzono na podłożu składającym się z płynu Hanksa z dodatkiem 0,5% laktalbuminy, 0,08% wyciągu drożdżowego, 10% surowicy cielęcej i antybio-

tyków. Wirus krowianki przed użyciem do doświadczeń pasażowano 10-krotnie, oddzielnie na komórkach HeLa i KB. Namnożony na tych dwóch typach komórek wirus, po oczyszczeniu przez wirowanie z pozostałości komórkowych, zebrano do oddzielnych naczyń, wymiareczkowano i przechowano w temperaturze -20° .

Czynnik hamujący służący do doświadczeń przygotowano w następujący sposób. Trzydniowe hodowle HeLa i KB w butlach Roux, po zmianie podłoża zakażono wirusem krowianki w dawce 1 ml 4-krotnego rozcieńczenia macierzystego o mianie 10^5 TID₅₀ w 0,1 ml. Równocześnie po jednej hodowli tej samej serii pozostawiono dla kontroli. Po 5 dniach, gdy wystąpił pełny efekt cytopatogeny, zakażone hodowle zamrożono i odmrożono 3-krotnie, następnie wirowano w celu oddzielenia resztek komórkowych od fazy płynnej. W podobny sposób postępowano z hodowlami kontrolnymi, ażeby uzyskać płyn z niezakażonych hodowli potrzebny do nstawiania kontroli w późniejszych doświadczeniach.

Otrzymane w ten sposób płyny o mianie wirusa 10^{55} z hodowli HeLa i 10^6 z hodowli KB inaktywowano w łaźni wodnej w 56° : jedną część przez 2 godz. (czynnik hamujący nr 1), drugą przez 3 godz. (czynnik hamujący nr 2). Następnie badano na obecność aktywnych cząsteczek wirusa przez dodanie po 0,2 ml każdej serii płynu do odpowiednich hodowli tkankowych w probówkach. Gdy po upływie 10 dni nie stwierdzono objawów efektu cytopatogenego wirusa, uważano, że został on dostatecznie zainaktywowany.

W szeregu doświadczeń użyto w ten sposób przygotowane płyny zawierające czynnik lub czynniki hamujące rozwój wirusa krowianki, poza tym używano również wirusa Polio z hodowli tkankowej. Niektóre z doświadczeń zostaną poniżej przedstawione.

Wszystkie doświadczenia przeprowadzono na hodowlach komórkowych KB i HeLa w probówkach zawierających około 150 tys. w 0,5 lub 300 tys. komórek w 1 ml pożywki w chwili zakładania. Hodowle powyższe używano do doświadczeń już po 1 a najwyżej po 2 dniach od czasu ich założenia. Wybierano probówki z dobrym rozwojem komórek oraz równomiernie rozłożoną pojedynczą warstwą.

Doświadczenie 10i, tabela 1. Do hodowli KB 1-dniowej w probówkach (1 ml pożywki ok. 300 tys. komórek) dodano po 0,2 ml czynnika hamującego nr 2, z hodowli HeLa. Do probówek kontrolnych dodano równą objętość płynu z hodowli HeLa niezakażonej, opracowanego w ten sam sposób jak płyn zakaźny. Równocześnie dodano wirus Polio-3, po 0,1 ml każdego z rozcieńczeń (10^{-1} — 10^{-6}) wyjściowego płynu o mianie 10^7 , do odpowiednich rzędów probówek testowych i kontrolnych. Następnie probówki umieszczono w cieplarni w 37° .

Tabela 1

Występowanie efektu cytopatogenego w hodowlach KB po dodaniu czynnika hamującego nr 2 z hodowli HeLa

Dzień		Rozcieńczenie log. wirusa testowego (Polio-3)					
		1	2	3	4	5	6
1	K	+	±	—	—	—	—
	T	±	—	—	—	—	—
2	K	+	+	+	+	—	—
	T	+	+	—	—	—	—
3	K	+	+	+	+	+	±
	T	+	+	+	—	—	—
4	K	+	+	+	+	+	+
	T	+	+	+	+	—	—
5	T	+	+	+	+	+	±

K — próbówki kontrolne; T — testowe.

Wyniki ujęte w tabeli 1 wykazują nieznaczne opóźnienie występowania efektu cytopatogenego w hodowlach, do których dodano czynnika hamującego, w porównaniu z odpowiednimi kontrolami.

Opóźnienie to jest wyraźniejsze w tych próbkach, które zakażono mniejszymi dawkami wirusa testowego i wykazuje różnicę maksymalną w 3 dniu zakażenia.

Doświadczenie 6vp, tabela 2. Do 1-dniowej hodowli HeLa w próbkach (1 ml podłoża ok. 200 tys. komórek) dodano po 0,2 ml czynnika hamującego nr 1, z hodowli HeLa. Równocześnie do próbek kontrolnych dodano po 0,2 ml płynu kontrolnego, tj. z równorzędnej hodowli HeLa niezakażonej. Po 1 godz. inkubacji w 37° dodano do wszystkich próbek po 0,1 ml wirusa Polio-3 w odpowiednich rozcieńczeniach od 10⁻¹ do 10⁻⁶ (miano 10⁷). Następnie próbki umieszczono w cieplarni i obserwowano codziennie w tych samych godzinach występowanie i rozwój efektu cytopatogenego. Z szeregu próbek testowych i kontrolnych pobierano po 0,1 ml płynu w celu określenia stopnia namnażania się wirusa i jego miana.

W tabeli 2 przedstawiono występowanie efektu cytopatogenego w hodowlach HeLa kontrolnych i hodowlach, do których dodano inaktywowanego płynu z hodowli HeLa zakażonej wirusem krowianki. Maksymalne różnice, tj. najwyższy stopień zahamowania efektu cytopatogenego, a co za tym idzie i rozwoju wirusa testowego wystąpiły w 4 i 5 dniu doświadczenia i to w rzędach próbek, w których dawka zakaźna wirusa Polio-3 wynosiła 10—1000 TID₅₀. Obliczone z pobranych próbek miano wirusa

testowego wykazuje równoległość jego rozwoju z nasileniem efektu cytopatogenego.

Tabela 2

Występowanie efektu cytopatogenego w hodowlach komórkowych HeLa kontrolnych oraz w hodowlach z czynnikiem hamującym nr 1 z hodowli HeLa

Dzień		Rozcieńczenie log. wirusa testowego (Polio-3)					
		1	2	3	4	5	6
2	K	+	±	—	—	—	—
	T	+	—	—	—	—	—
3	K	+	+	+	+	—	—
	T	+	+	—	—	—	—
4	K	+	+	±	+	±	—
	T	+	+	±	—	—	—
5	K	+	+	+	+	+	±
	T	+	+	+	—	—	—
6	K	+	+	+	+	+	+
	T	+	+	+	+	—	—
7	T	+	+	+	+	±	—
8	T	+	+	+	+	±*	—**

K — kontrolne; T — testowe.

* — zmiana pożywki, + świeży płyn hamujący, — — 5 dni przeżycia komórek.

** — zmiana tylko pożywki, — — 3 dni przeżycia komórek.

Tabela uwidocznia, że w szeregach kontrolnych efekt cytopatogeny już w 5 dniu osiągał końcowych rozcieńczeń, podczas gdy w szeregach testowych jeszcze po 8 dniach hodowle z końcowymi rozcieńczeniami wirusa utrzymują się w stanie na ogół dobrym.

W paru próbkach testowych, które otrzymały po 0,1 Polio-3 w rozcieńczeniu 10^{-5} , tj. po 100 ID, zmieniono po 8 dniach podłoże i dodano świeżą porcję płynu hamującego. Komórki w tych próbkach rozwijały się o 5 dni dłużej od próbek tego samego rzędu pozostawionych bez zmiany, a w próbkach rzędu 10^{-6} wirusa testowego zmiana tylko samego podłoża przedłużyła przeżycie komórek o 3 dni.

Doświadczenie 7vp, tabela 3. Wykonano je w sposób identyczny i z tym samym materiałem jak w doświadczeniu poprzednim, tj. 6vp. Jediną różnicą było dodanie wirusa testowego nie po 1 godz. jego inkubacji w 37° ale po 2 godz. pozostawienia w temperaturze pokojowej 19° .

Z tabeli 3 wynika, że najwyższy stopień zahamowania efektu cytopatogenego wystąpił w 5, 6 i 7 dniu doświadczenia i to w rzędach próbek, w których dawki wirusa testowego były nieduże (od 10 do 1000 TID₅₀).

Tabela 3

Występowanie efektu cytopatogenego w hodowlach HeLa kontrolnych oraz w hodowlach z czynnikiem hamującym nr 1 po dodaniu wirusa testowego w 2 godz. po założeniu hodowli

Dzień		Rozcieńczenia log. wirusa testowego					
		1	2	3	4	5	6
2	K	+	±	—	—	—	—
	T	+	—	—	—	—	—
3	K	+	+	—	—	—	—
	T	+	—	—	—	—	—
4	K	+	+	+	+	±	—
	T	+	+	±	—	—	—
5	K	+	+	+	+	+	±
	T	+	+	±	—	—	—
6	K	+	+	+	+	+	+
	T	+	+	+	—	—	—
7	T	+	+	+	—	—	—
8	T	+	+	+	+	—*	—**

* — zmiana podłoża, + świeży płyn hamujący, — — 3 dni przeżycia komórek.

** — jeszcze przez dalsze 4 dni.

Efekt cytopatogeny w rzędach próbek kontrolnych już w 5 dniu osiągnął końcowych rozcieńczeń, natomiast w próbkach testowych komórki utrzymywały się jeszcze o 7 dni dłużej. Zmiana podłoża i dodatek świeżego płynu hamującego w próbkach rzędu rozcieńczeń 10^{-5} opóźniło wystąpienie pełnego efektu cytopatogenego jeszcze o 3 dni w porównaniu z próbkami pozostawionymi bez zmiany.

Tabela 4

Wpływ kolejnych rozcieńczeń czynnika hamującego nr 1 z hodowli HeLa na efekt cytopatogeny wirusa testowego

Dzień		Rozcieńczenia płynu hamującego					
		1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64
1	K	+	+	+	+	+	+
	T	—	—	—	—	—	+
2	K	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	T	++	+	+	+	++	+++
3	T	+++	++	++	++	+++	++++
4	T	++++	++++	+++	++++	++++	++++

Doświadczenie 1z, tab. 4. Do 1-dniowej hodowli HeLa w probówkach po 0,5 ml podłoża (ok. 150 tys. komórek) dodano czynnika hamującego nr 1 z hodowli HeLa rozcieńczonego w podłożu odżywczym w stosunku od 0 do 1 : 32 w objętości 0,5 ml, otrzymując w ten sposób końcowe rozcieńczenia w probówkach od 1 : 2 do 1 : 64. Kontrolne próbki założono w identyczny sposób z płynem z niezakażonej hodowli HeLa. Równocześnie do wszystkich probówek dodano po 0,1, tj. 10^3 TID₅₀ wirusa Polio-3. Probówki umieszczono w cieplarni w 37°. Wyniki — w tabeli 4.

Z tab. 4 można odczytać wystąpienie pełnego efektu cytopatogenego w probówkach kontrolnych już po 2 dniach działania wirusa testowego, natomiast w probówkach, do których dodano odpowiednie rozcieńczenia czynnika hamującego nastąpiło pewne opóźnienie tegoż efektu przynajmniej dla niższych rozcieńczeń dodanego płynu.

Tabela 5

Występowanie efektu cytopatogenego w probówkach testowych i kontrolnych

Dzień		Rozcieńczenia płynu hamującego					
		1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64
3	K	+	+	+	+	+	+
	T	—	—	—	—	±	+
4	K	++	++	++	++	++	++
	T	—	—	—	—	±	+
5	K	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	T	±*	—	—	—	±	±
6	T	+	±	±	±	+	++
7	T	++	±	±	+	++	+++
8	T	+++	+	++	++	+++	++++
9	T	++++	+++	++++	++++	++++	++++

* — przypuszczalnie działanie toksyczne.

Doświadczenie 2z, tabela 5. Do 1-dniowej hodowli HeLa w probówkach o objętości podłoża 0,5 ml i ok. 150 tys. komórek w czasie zakładania dodano czynnika hamującego nr 1 z hodowli HeLa zakażonej wirusem krowianki, rozcieńczonego podobnie jak w doświadczeniu poprzednim w podłożu odżywczym w taki sposób, aby końcowe rozcieńczenia w probówkach wynosiły od 1 : 2 do 1 : 16 w objętości 1 ml pożywki. Kontrolne próbki założono w ten sposób z płynem niezakaźnym. Równocześnie do wszystkich probówek dodano żywy wirus krowianki w dawce 500 TID w 0,1 ml.

Występowanie i przebieg efektu cytopatogenego przedstawiono w tabeli 5.

W tabeli 5 przedstawiono występowanie i przebieg efektu cytopatogenego w próbkach testowych i kontrolnych. Przez pierwsze 2 dni wygląd hodowli był normalny, bez żadnych zmian. W 3 dniu wystąpiły początki efektu cytopatogenego w próbkach kontrolnych, tj. nieliczne jego ogniska, co w tabeli oznaczono jednym +. Podobne ogniska cytopatogenne wystąpiły w hodowlach testowych z rozcieńczeniem 1 : 32 i 1 : 64 płynu hamującego.

W następnych dniach efekt cytopatogeny wirusa krowianki powiększał się w próbkach kontrolnych znacznie szybciej niż w próbkach testowych. W 5 dniu w kontroli nastąpiło zupełne zniszczenie hodowli komórkowej, w próbkach zaś testowych to samo zjawisko wystąpiło dopiero po 9 dniach.

P o d s u m o w a n i e

W doniesieniu przedstawiono wstępne obserwacje nad interferencją między wirusem krowianki a wirusem Polio w hodowli tkankowej linii ciągłej. Z przeprowadzonych doświadczeń nie można jeszcze wyciągnąć wniosku, z jakim czynnikiem lub czynnikami interferującymi ma się tutaj do czynienia, mianowicie, czy chodzi o czynnik podobny do interferonu, czy blokujące działanie inaktywowanych cząsteczek samego wirusa, czy też ewentualnie jakieś metabolity zakażonych komórek, które mogłyby działać toksycznie. Będzie to przedmiotem dalszych badań.

Obecnie można tylko stwierdzić, że w fazie płynnej hodowli komórek nowotworowych, zakażonych wirusem krowianki, znajdują się pewne substancje, które hamują rozwój nie tylko żywego wirusa krowianki, ale i wirusa Polio. Czy będą one także hamować rozwój innych wirusów — jest również w planie naszych dalszych badań.

PIŚMIENNICTWO

1. Isaacs A., Lindenmann J. (1957) — Proc. Roy. Soc., London, ser. B. 147, 258.
2. Isaacs A. — The New Scientist t. 7 (odbitka).
3. Ho M., Enders J. F. (1959) — Proc. Nat. Acad. Sci. 45, 385.
4. De Maeyer E., Enders J. F. (1961) — Proc. Soc. Exper. Biol. 107, 573.
5. Enders J. F. (1962) — Therapeutische Berichte, 3, 51—59.
6. Zemla J., Schramek (1962) — Virology, 16, 312.
7. Nagano Y., Kojima Y. (1960) — Bull. Inst. Pasteur, 58, 5.
8. Galasso G. J., Sharp D. G. (1961) — Proc. Soc. Exper. Biol. 107, 957.
9. Glasgow L. A., Habel K. (1962) — J. Exptl. Med. 115, 3.
10. Ho M., Breining M. K. (1962) — J. Immunol. 89, 2.

Б. М а з у р (Познань)

ЯВЛЕНИЕ ИНТЕРФЕРЕНЦИИ МЕЖДУ ВИРУСОМ ОСПЕННОЙ
ЛИМФЫ И ВИРУСОМ ПОЛИО В ТКАНЕВОЙ КУЛЬТУРЕ
(ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЕ СООБЩЕНИЕ)

Р е з ю м е

Установлено при помощи ряда собственных испытаний, что инактивированная путем нагревания жидкость из тканевых культур KB или HeLa, зараженных вирусом оспенной лимфы, тормозит *in vitro* развитие не только вируса оспенной лимфы, но и вируса полио.

Характер этого торможения заключается в опаздывании или ограничении появления цитопатогенного эффекта исследуемого вируса в тканевой культуре, по сравнению с соответствующими контролями.

Автор предполагает возможность образования зараженными клетками фактора, сходного с интерфероном, или возможность непосредственной блокировки частицами инактивированного вируса, или же его составными элементами развития, тестового вируса в клетке. Некоторую роль можно бы приписать продуктам обмена веществ зараженной клетки, которые, проникая в клетки в исследуемой системе, вызывают расстройство их метаболизма, вследствие чего могут тормозить синтез новых частиц вируса:

Дальнейшие исследования продолжаются.

В. М а з у р (Poznań)

INTERFERENCE PHENOMENON BETWEEN VACCINIA VIRUS AND
POLIO VIRUS IN TISSUE CULTURE (PRELIMINARY REPORT)

S u m m a r y

It was found in the author's own experiments that fluid from *vaccinia virus* infected KB and HeLa tissue cultures, inactivated by heating inhibited *in vitro* the development not only of *vaccinia virus* but also of *polio-virus*.

The character of this inhibition consisted in a delayed or limited cytopathogenic effect caused by the tested virus in tissue cultures treated with the fluid as compared with controls.

The author has supposed that there is a production of interferon-like substance by infected cells, or direct blocking of the development of test

virus in the cell by inactivated virus particles or its elements. Some role might be ascribed to metabolites of infected cell, which penetrate into the cells of the new system tested and disturb their metabolism thus inhibiting synthesis of new virus particles.

Further studies are being continued.