

HALINA WĘDRYCHOWICZ

*Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego PAN
Twarda 51/55, 00-818 Warszawa
Zakład Parazytologii i Inwazyjologii SGGW
Ciszewskiego 10, 00-768 Warszawa*

SPOSOBY UNIKANIA SKUTKÓW ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ ŻYWCIELA WYKORZYSTYWANE PRZEZ PASOŻYTY

Parazyty ludzi i zwierząt hodowlanych są najczęściej wywoływane przez pierwotniaki, płazińce i nicienie. Do najważniejszych, ze względów medycznych, pierwotniaków należą: zarodźce malarii (*Plasmodium* sp.), świdrowce – *Trypanosma brucei gambiense* oraz *T. brucei rhodesiense* (powodujące śpiączkę), *Trypanosoma cruzi* (choroba Chagasa), *Leishmania* sp. (leiszmanioza skórna i narządowa), a także pełzak czerwoni – *Entamoeba histolytica* (Tabela 1). Malaria wywoływana przez pierwotniaki z rodzaju *Plasmodium*, wywarła znaczący wpływ na rozwój cywilizacji. Uważa się, że choroba ta zniszczyła potęgę Aten, Cesarstwo Rzymskie i jego wrogów, Wizygotów, Wandalów i Hunów, głównie wskutek tolerowania bagien, będących miejscem namnażania się komarów, wokół miast. Inwazja *Plasmodium* jest zapoczątkowywana wprowadzeniem, wraz ze śliną komara (żywiciel ostateczny), stadium inwazyjnego tego pierwotniaka – sporozoit. Sporozoit, wraz z krwią, w ciągu około 30 minut dociera do wątroby i wnika do hepatocytów, gdzie namnaża się w sposób bezpłciowy. Z jednego sporozoitu w ciągu 1–2 tygodni powstaje 30000–40000 merozoitów, które następnie zarażają erytrocyty. Wewnątrz erytrocytu rosną, przechodząc zmiany morfologiczne i antygenowe osiągając w 48–72 godziny od inwazji erytrocytu formę schizonta, który dzieli się na kilkadziesiąt (do 32) merozoitów. Merozoity rozrywają błonę erytrocytu i zarażają kolejne krwinki. Niewielki ich odsetek przekształca się w gametocyty męskie i żeńskie, których dalszy rozwój może nastąpić w organizmie

żywiciela ostatecznego. Mimo wynalezienia syntetycznych leków przeciomalarycznych oraz insektycydów do zwalczania komarów, również i obecnie malaria stanowi jeden z najważniejszych problemów zdrowotnych na świecie. Około 40% populacji ludzkiej żyje w strefach endemicznych dla malarii, a liczba przypadków klinicznych szacowana jest na 300–500 milionów, z czego 1,5–2,7 miliona rocznie umiera. Największe żniwo malaria zbiera w Afryce, Azji Południowo-Wschodniej i Ameryce Południowej. Umierają najślabsi – przede wszystkim dzieci do piątego roku życia. Większość śmiertelnych przypadków malarii jest wynikiem inwazji *Plasmodium falciparum* (VERNICK i WATERS 2004, BEESON i BROWN 2002). Spośród parazytoz wywoływanych przez robaki, najwyższą śmiertelność (do 250000 rocznie) wywołują przywry z rodziny *Schistosomatidae*, pasożytujące w naczyniach krwionośnych jamy brzusznej ludzi i zwierząt hodowlanych. Inwazje tych przywr mają przebieg chroniczny i dotyczą około 200 milionów ludzi w krajach subtropikalnych i tropikalnych (MASCIE-TAYLOR i KARIM 2003).

Warto podkreślić, że mimo postępów medycyny i poprawy warunków życia częstość występowania inwazji nicieni jelitowych nie ulega zmniejszeniu. Wraz ze wzrostem populacji ludzkiej wrasta liczba zarażonych ludzi. Według przybliżonych szacunków (WHO 2002), 1,3 miliarda ludzi zarażonych jest glistami (*Ascaris lumbricoides*), a około miliarda – tęgoryjcami (*Necator americanus*, *Ancylostoma duodenale*). Skażenie środowiska jajami *Ascaris* jest olbrzymie, obliczono

Tabela 1. Porównanie głównych mechanizmów unikania efektów odpowiedzi immunologicznej żywiciela stosowanych przez pierwotniaki.

Pasożyt	Chorobotwórczość	Strategia obrony	Skutek obrony	Źródło
<i>Plasmodium falciparum</i>	300–500 milionów zachorowań rocznie; 1,5–2,7 milionów zgonów	Zmienność antygenowa i polimorfizm; wywoływanie syntezy przeciwciał blokujących; mimikra molekularna; anergia limfocytów T.	Zarażone erytrocyty nie są usuwane przez śledzionę; aktywne przeciwciała nie mają dostępu.	RAMASAMY 1998
<i>Trypanosoma brucei</i>	rocznie około 20 000 zachorowań na śpiączkę	Zmienność antygenów powierzchniowych (VSG); zaburzenia funkcji limfocytów; nadmierna aktywacja makrofagów; wywołuje zmianę wzoru cytokin produkowanych przez limf. CD8+.	Nieskuteczność przeciwciał, wyczerpanie immunologiczne immunosupresja; zaburzenia funkcji makrofagów.	REINITZ i MANSFIELD 1990
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Zarażonych 12–16 milionów ludzi, 45000 zgonów/rok	Mucyny pasożyta wiążą się z makrofagami; wywoływanie anergii limf. T; indukcja blokujących IgM; Wymiana makromolekuł powierzchniowych, fosfolipazy, inhibitory dopełniacz.	Wzrost IFN- γ , spadek IL2; upośledzenie sekrecji cytokin przez makrofagi; immunosupresja; uniemożliwienie działania przeciwciał obronnych.	SACKS i SHER 2002, DENKERS i BUTCHER 2005
<i>Leishmania</i> sp.	500 milionów ludzi zarażonych; 40000–110000 zgonów rocznie	Wymiana makromolekuł powierzchniowych, fosfolipazy, inhibitory dopełniacza; hamowanie powstawania fagolizozomu; wychwytuje aktywny tlen; zapobiega apoptozie zarażonych makrofagów; hamowanie powstawania antygenów MHC; inaktywacja składowych dopełniacza; supresja transkrypcji genu IL12.	Oprność na działanie dopełniacza; unika strawienia przez makrofagi; unika uszkodzeń przez wolne rodniki; zarażone makrofagi żyją dłużej, pierwotniak dłużej się namnaża; obniżenie zdolności prezentowania antygenów przez makrofagi; odporność na lizę przez dopełniacz; zablokowana odpowiedź Th1 zależna.	SACKS i SHER 2002, DENKERS i BUTCHER 2005
<i>Entamoeba histolytica</i>		Aktywność cytolityczna; uwalnianie małych molekuł działających na makrofagi; rozkład przeciwciał przez proteazy; inaktywacja białek C3a i C35a, zrzucanie kompleksów immunologicznych; indukcja IL4 oraz IL-10.	Uszkodzenia komórek i tkanek żywiciela zakłócające odpowiedź immunologiczną; osłabienie funkcji makrofagów; unikanie odpowiedzi humoralnej; oporność na lizę przez dopełniacz, hamowanie reakcji zapalnej; modulacja odpowiedzi Th1.	ANKRI 2002

(HORTON 1990), że zarażeni ludzie wydalają w ciągu doby 100 ton jaj tego nicienia. Tegoryjce zaś dziennie wypijają około 2×10^6 litra krwi swoich żywicieli, co stanowi odpowiednik zupełnego wykrwawiania się miasta liczącego 400000 mieszkańców.

Zoonozy również stanowią źródło poważnych problemów zdrowotnych i strat ekonomicznych. W niektórych regionach świata, koszty związane z kontrolą i wycofywaniem ze sprzedaży mięsa zarażonego larwami tasiemców (*Taenia solium* i *Taenia saginata*) sięgają milionów dolarów rocznie. W Polsce utrzymuje się zagrożenie włośnicą powodowaną przez inwazję *Trichinella spiralis*. Inną zoonozą dość często występującą u dzieci w Polsce i świecie jest toksokaroza będąca efektem zarażenia larwami glisty psiej (*Toxocara canis*).

W nadziei na wynalezienie skutecznych środków zapobiegających wymienionym

wyżej inwazjom prowadzone są intensywnie badania wzajemnych oddziaływań w układzie pasożyt-żywiciel. Dowiedziono, że w układach pasożyt – żywiciel ustala się stan równowagi dynamicznej, będącej (w perspektywie ewolucyjnej) ciągłym „wyścigiem zbrojeń” między pasożytem a żywicielem. Pasożyty rozwinęły w toku ewolucji strategie umożliwiające przeżycie w żywicielach należących zarówno do kręgowców, jak i bezkręgowców. „Celem” pasożyta jest namnożenie się wewnątrz żywiciela i propagacja do nowych żywicieli. Z kolei, zarażony żywiciel dąży do usunięcia lub ograniczenia inwazji. Wraz z rozwojem biologii molekularnej pogłębia się nasze rozumienie molekularnych podstaw tego wyścigu, jak również patogenności pasożytów (ABOUBAKER i BLAXTER 2004, COOPPEL i współaut. 2004).

REAKCJE OBRONNE ŻYWICIELA NA INWAZJE PASOŻYTNICZE

Inwazje pasożytne stymulują organizm żywiciela do formowania zarówno odpowiedzi humoralnej, charakteryzującej się produkcją specyficznych przeciwciał, jak również reakcji typu komórkowego. Odporność na inwazję może mieć charakter wrodzony lub nabyty, w następstwie inwazji bądź szczepienia. Odporność wrodzona u kręgowców bywa również określana jako nieswoista lub naturalna. Odporność tego rodzaju obejmuje:

- bariery fizyczno-mechaniczne, takie jak skóra i powierzchnie błon śluzowych;
- mechanizmy ukierunkowane na utrzymanie homeostazy (perystaltyka jelit, kaszel, wymioty, przepływ moczu);
- bariery chemiczne: niskie pH treści żołądka, wydzielanie kwasów tłuszczowych przez skórę;
- bariery biologiczne – system dopełniacza, lizozym, interferon, kininy, cząsteczki adhezyjne, hormony, laktoferyna.

Nieswoista obrona komórkowa to przede wszystkim fagocytoza. Proces ten rozpoczyna się pochłonięciem mikrodrobin (bakterie, pierwotniaki, fragmenty komórek), następnie fagosom łączy się z lizosomem (organellum zawierające enzymy proteolityczne, lizozym, laktoferynę, fosfolipazę A) w fagolizosom. Zfagocytowany patogen jest również uszkodzony przez aktywny tlen lub tlenek azotu (NO). Fagocytoza przez makrofagi zapewnia

ważną obronę wobec mniejszych pasożytów. Jednakże komórki te wydzielają również wiele czynników cytotoksycznych, pozwalających im zabijać pasożyty bez fagocytozy. W wyniku aktywacji przez cytokiny makrofagi mogą zabijać zarówno małe pasożyty pozakomórkowe, takie jak stadia erytrocytarne *Plasmodium* sp., jak i większe, np. postaci młodociane przywr.

Do nieswoistych (wrodzonych) mechanizmów obronnych kręgowców przed pasożytami należy również reakcja zapalna (odpowiedź zapalna), mechanizm w wyniku którego fagocyty i komplement są przyciągane do miejsca wtargnięcia pasożyta (BEUTLER, 2004).

Odporność nabyta, znana również jako odporność swoista, rozwija się w odpowiedzi na antygeny pasożytów prezentowane w trakcie inwazji lub w wyniku szczepienia (odporność aktywna). Może być ona również przeniesiona z odpornego osobnika na nieodpornego wraz z limfocytami i/lub przeciwciałami. Cechy charakterystyczne odporności nabytej to: rozpoznanie immunologiczne na bazie precyzyjnego odróżnienia własnych makromolekuł (antygenów) od obcych; swoistość i pamięć immunologiczna.

W zależności od rodzaju mechanizmów efektorowych, powstających w wyniku swoistej odpowiedzi immunologicznej, wyróżnia

się 2 typy odporności nabytej: komórkową i humoralną. Wśród limfocytów pomocniczych (Th) ssaków można wyróżnić dwie subpopulacje, określane jako Th1 i Th2. Limfocyty te wydzielają różne cytokiny i w konsekwencji pobudzają różne warianty reakcji układu immunologicznego. Produkujące interleukinę 2 (IL-2) i interferon gamma (IFN- γ) limfocyty Th1 aktywują makrofagi, pobudzają reakcje cytotoxyczości i tworzenie miejscowych odczynów zapalnych. Limfocyty Th2 natomiast reagują silnie na antygeny prezentowane przez limfocyty B i wydzielając interleukiny: 4, 5, 6 i 10, pobudzają przede wszystkim odporność humoralną. Cytokiny limfocytów Th1 i Th2 działają na siebie hamująco, z czym wiąże się występująca czasem zmienność odpowiedzi immunologicznej podczas inwazji pasożytniczych (ELSE i FINKELMAN 1998). Helminty (robaki pasożytnicze) w większości inwazji wywołują silną odpowiedź zależną od limfocytów Th2, co najczęściej wyraża się eozynofilią i podwyższonym poziomem IgE. Eozynofile biorą udział nie tylko w reakcjach obronnych ssaków, ale również uczestniczą w procesach immunopatologicznych. Ponadto, przez swoje właściwości biologiczne, mogą wpływać na kształtowanie się odpowiedzi immunologicznej (KLION i NUTMAN 2004).

Przeciwciała są najbardziej skuteczne wobec pasożytów pozakomórkowych pasożytujących we krwi i płynach ustrojowych, natomiast odpowiedź komórkowa jest konieczna dla eliminacji pasożytów wewnątrzkomórkowych. Jednakże typ odpowiedzi dający największą ochronę immunologiczną różni się w zależności od pasożyta i gatunku żywiciela. Dla przykładu, podatność żywicieli ostatecznych na inwazję motylicy wątrobowej (*Fasciola hepatica*) jest zależna od genotypu żywiciela. Występują różnice międzygatunkowe (bydło-owce, szczur-mysz) oraz różnice wewnątrzgatunkowe (różne rasy owiec są w różnym stopniu podatne na inwazję). Zarażone przez *F. hepatica* owce produkują duże ilości przeciwciał IgG1, ale nie nabywają odporności na ponowną inwazję. Limfokiny, wydzielane przez Th2, regulują odpowiedź jedynie w fazie ostrej; w fasciolozie przewlekłej regulacja jest inna, a jej mechanizm nieznan. Bydło we wczesnej fazie inwazji wytwarza odpowiedź Th1- i Th2-zależną, zaś w okresie patentnym inwazji dominuje odpowiedź przeciwciał (Th2-zależna). W obronie przeciwko ponownej inwazji innej przywry, *Schistosoma masoni*, istotną rolę odgry-

wa mechanizm cytotoxyczości zależnej od przeciwciał (ADCC); w którym uczestniczą swoiste dla antygenów tego robaka przeciwciała IgG lub IgE oraz makrofagi, a jego efektem jest śmierć młodocianych przywr (schistosomul). Również płytki krwi mogą wykazywać związaną z IgE cytotoxyczość zależną od przeciwciał, gdyż podobnie jak makrofagi i inne komórki efektorowe, mają na swojej powierzchni receptory dla części stałej przeciwciał IgE (Fc ϵ). Warto podkreślić, że po 24–48 godz. od inwazji schistosomule nabywają oporności na efekторы odpowiedzi immunologicznej żywiciela. Związane to jest ze zmianą antygenów powierzchniowych, a także mimikrą molekularną (CAPRON i współaut. 2005, PLEASS i współaut. 2000).

W większości inwazji pasożytniczych odporność na zarażenie może być przeniesiona doświadczalnie na zdrowe zwierzęta przez transfer komórek śledziony, szczególnie limfocytów T, od zwierząt odpornych. Wyniki wielu doświadczeń wskazują, że zarówno limfocyty T CD4⁺ jak CD8⁺ są potrzebne do obrony przed pasożytami, przy czym rodzaj komórek T, odpowiedzialny za kontrolę inwazji, różni się w zależności od pasożyta i stadium inwazji oraz zależy od typu wytworzonych cytokin.

Komórki Th1 działają przeciwko stadium wątrobowemu malarii; podanie INF γ (cytokina Th1) szympansom, bezpośrednio po zarażeniu sporozoitami *Plasmodium vivax*, zmniejszało parazytamię. Limfocyty Th2, z kolei, wydzielają cytokiny pobudzające produkcję przeciwciał, zwiększając swoistość reakcji immunologicznych. Dla przykładu, eliminacja stadium krwinkowego malarii następuje w śledzionie poprzez aktywowane komórki efektorowe i cytotoxyczość zależną od przeciwciał (MACKINTOSH I współaut. 2004).

Pasożyty, które osiedlają się w przewodzie pokarmowym żywiciela lub na powierzchni innych błon śluzowych (układ oddechowy i płciowy), wywołują lokalną odpowiedź związaną z błonami śluzowymi. Ten typ odpowiedzi jest wytwarzany przez tkankę limfoidalną stowarzyszoną z błonami śluzowymi układu pokarmowego, płciowego, oddechowego (w odróżnieniu od odpowiedzi obwodowej generowanej w śledzionie i obwodowych węzłach chłonnych). Obrona błon śluzowych przed patogenami realizowana jest w głównej mierze przez przeciwciała klasy S-IgA. Skala syntezy IgA w organizmie ssaka jest ogromna, dobową produkcją tej immunoglobuliny jest wyższa niż pozostałych

immunoglobulin razem wziętych. Przykładowo, organizm człowieka produkuje dziennie 66 mg/kg masy ciała IgA i prawie o połowę mniej (44 mg/kg) IgG. Receptory dla IgA wykryto na monocytach, neutrofilach, eozynofiliach i komórkach fagocytarnych błon śluzowych. Związywanie IgA z receptorami indukuje całą gamę reakcji: generację nadtlenków, uwalnianie mediatorów zapalenia, fagocytozę

i uśmiercanie patogenów (UNDERDOWN i MESTECKY 1994).

Podsumowując ten bardzo skrótowy opis reakcji obronnych żywiciela przeciwko inwazji pasożytniczej należy podkreślić, że stanowią one dla żywiciela ogromny wydatek energetyczny, a ponadto, oprócz efektów obronnych, wywołują przewlekłe stany zapalne i reakcje immunopatologiczne.

IMMUNOPATOLOGIA INWAZJI PASOŻYTNICZYCH

W najbardziej korzystnym dla żywiciela przypadkach, dominującym efektem skierowanej przeciwko pasożytowi odpowiedzi immunologicznej jest eliminacja form jelitowych pasożyta, uszkodzenia jego powierzchni, jelita, gonad, spowolnienie lub zahamowanie wzrostu i rozwoju (larwy drzemiące nicieni), osłabienie reproduktywności, osłabienie zdolności immunomodulacyjnych, uniemożliwienie osiedlenia się następnej inwazji tego samego gatunku.

Niestety bardzo często ogromny wysiłek żywiciela, związany z mobilizacją różnych mechanizmów obronnych przeciwko inwazjom pasożytniczym, prowadzi jedynie do uszkodzeń jego własnych tkanek i narządów. Większość efektów patologicznych inwazji pasożytów wywołanych jest przez źle ukierunkowaną lub nadmiernie rozbudowaną odpowiedź immunologiczną żywiciela. Na przykład w inwazjach *Schistosoma*, odpowiedź immunologiczna na antygeny jaj składanych przez przywry wywołuje zmiany patologiczne w pęcherzu 100 razy większe niż jajo (PLEASS i współaut. 2000). Wytwarzanie dużych ilości IgE (zarówno swoistych, jak i nieswoistych) prowadzi do alergizacji ustroju żywiciela. Reakcje zapalne, powstające w chronicznych inwazjach pasożytów jelitowych, mogą prowadzić do rozwoju enteropatii związanych z utratą białek (wzrost przepuszczalność ściany jelita dla makrocząstek i wyciek białek osocza).

Objawy kliniczne inwazji *Plasmodium* sp. (ataki gorączki, mdłości, bólu głowy, dreszczy) wywołane są głównie przez stadia krwinkowe pierwotniaka i są ściśle związane z reakcją obronną żywiciela. Białka (metabolity) pasożyta uwolnione podczas schizogonii pobudzają wydzielanie przez limfocyty T czynnika martwicy nowotworów (ang. tumor necrosis factor TNF), który z kolei wywołuje uwalnianie IL-1 (silnego pyrogeny)

z makrofagów i fibroblastów. Właściwą funkcją TNF w przebiegu malarii jest zwiększanie fagocytozy przez neutrofile oraz monocyty/makrofagi, a jednak pełni on centralną rolę w patogenezie malarii.

W inwazjach *P. falciparum* w ciągu kilku dni po pojawieniu się gorączki następuje dalsza komplikacja, często śmiertelna – malarja mózgową – w ciężkich przypadkach występują konwulsje i śpiączka. Histopatologicznie w naczyniach włosowatych mózgu stwierdza się dużo erytrocytów zawierających trofozoity *Plasmodium*. Ustalono, że toksyny *P. falciparum* stymulują komórki endotelialne do ekspresji na ich powierzchni cząstek adhezyjnych, z którymi wiążą się zarżone erytrocyty. Ligandami dla erytrocytów są pasożytnicze cząsteczki eksponowane na powierzchni erytrocytu – PfEMP-1. Jest to rodzina białek o masach 200–300 kDa (kodowane przez 50–150 genów *var* stanowiących 2–6% haploidalnego genomu zarodźca). Zarżone *P. falciparum* erytrocyty gromadzą się przede wszystkim w naczyniach krwionośnych mózgu w następnej kolejności serca, wątroby, płuc i nerek, unikając w ten sposób transportu do śledziony, a jednocześnie blokując naczynia włosowate wielu narządów. Ponieważ śledziona pełni istotną rolę w zwalczaniu zarodźców malarii, uważa się, że przyleganie zarżonych erytrocytów do ścian naczyń w różnych narządach jest przystosowaniem mającym na celu uniknięcie przez trofozoity i schizonty *Plasmodium* zniszczenia w śledzionie. Należy dodać, że TNF zwiększa gromadzenie się zarżonych zarodźcem erytrocytów w naczyniach włosowatych mózgu a także produkcję tlenu azotu w komórkach endotelium i mięśni gładkich ściany naczyń tego narządu, przyczyniając się do rozwoju patologii prowadzącej do śmierci żywiciela (BEESON i BROWN 2002).

W schistosomozie, w odpowiedzi na antygeny jaj, tworzony jest ziarniniak będący zależną od Th1 odpowiedzią komórkową wywołaną przez TNF- α i IFN- γ , wydzielane przez aktywowane makrofagi. Czynniki te pobudzają tkankę łączną do tworzenia ziarniny i zwłóknień. Ponadto, TNF- α stymuluje produkcję jaj przez *S. mansoni* (CAPRON i współaut. 2005). W inwazjach larw tasiemców (*Echinococcus granulosus*, *Taenia solium*) krążące kompleksy antygen-przeciwciała wywołują u żywicieli zapalenie kłębuszków

nerkowych i zaburzenia metabolizmu kolagenu. U żywicieli pośrednich *E. multilocularis*, główną przyczyną zniszczenia wątroby jest infiltracja granulocytów będąca konsekwencją odpowiedzi immunologicznej żywiciela (KLION i NUTMAN 2004). Ludzie zarażeni nicieniem *Onchocerca volvulus* ślepną z powodu reakcji krzyżowej przeciwciał wytworzonych w odpowiedzi na antygeny mikrofilarii pasożyta z białkami rogówki oka (PEARLMAN i HALL 2000).

UNIKANIE EFEKTÓW ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ ŻYWICIELA

Dlaczego pasożyty rozwinęły szereg mechanizmów umożliwiających unikanie efektów odpowiedzi immunologicznej żywiciela? Otóż po zasiedleniu żywiciela potrzebują one czasu wystarczającego na zamknięcie cyklu życiowego, wydanie jak największej liczby potomstwa i uzyskanie możliwości transmisji do następnego żywiciela. Spełnienie tych warunków zajmuje od kilku miesięcy do wielu lat, dlatego też pasożyt potrzebuje mechanizmów chroniących go przed przedwczesnym usunięciem z żywiciela, w następstwie jego odpowiedzi immunologicznej. Pierwotniaki i robaki pasożytnicze, a także pasożytnicze stawonogi wykształciły w trakcie ewolucji mechanizmy pozwalające na uniknięcie bądź zminimalizowanie efektów zarówno wrodzonej, jak i nabytej odpowiedzi immunologicznej żywiciela.

Istnieje wiele mechanizmów unikania odpowiedzi immunologicznej wykrytych u pasożytów. Poznajmy najczęściej spotykane.

PASOŻYTOWANIE WEWNĄTRZ KOMÓREK

Pierwotniaki pasożytnicze mogą rozmnażać się wewnątrz komórek żywiciela unikając wzbudzenia odpowiedzi. Zarodźce malarii żyją wewnątrz erytrocytów, które nie mają jądra i nie eksponują antygenów zgodności tkankowej (MHC), a więc nie są po zarażeniu niszczone przez limfocyty cytotoksyczne. Pierwotniaki takie jak: *Leishmania* spp., *Trypanosoma cruzi* i *Toxoplasma gondii* mają zdolność przeżycia i namnażania się w makrofagach (Tabela 1, 2).

Tabela 2. Mechanizmy umożliwiające przyżycie trofozoitów *Toxoplasma*, *Leishmania* i *Trypanosoma* w makrofagach.

Pasożyt	Sposób inwazji	Umiejscowienie w makrofagu	Cząsteczka przeżycia
<i>Leishmania</i> spp.	Fagocytoza promastigoty z wykorzystaniem receptorów błonowych makrofaga, składowych dopełniacza i proteazy powierzchniowej pasożyta (gp63)	Fagolizosom (forma amastigota jest oporna na kwaśne środowisko)	Lipofosfoglikan
<i>Toxoplasma gondii</i>	Aktywny, z wykorzystaniem aktywnego cytoszkieletu tachyzoitu	Nie dochodzi do fuzji fagosomu z lizosomem	Białka mikronem i roptriów
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Pierwotniak wykorzystuje komórkowe procesy naprawcze; pod wpływem niskiego pH lizosomu ulega aktywacji TcTox, który tworzy pory w fagosomie umożliwiając ucieczkę pasożyta do cytoplazmy	Cytoplazma	TcTox - homolog składowej C9 dopełniacza

UNIKANIE EFEKTÓW ODPOWIEDZI
IMMUNOLOGICZNEJ ŻYWICIELA – PRZEBUDOWA
KOMÓRKI

Trypomastigoty *T. cruzi* uciekają z fagolizosomu dzięki sekrecji cząsteczki tworzącej pory w błonie lizosomu. Tachyzoity *T. gondii* przebudowują błonę wakuoli wprowadzając własne białka w miejsce białek żywiciela, dzięki temu nie dochodzi do wykształcenia w pełni aktywnego lizosomu. Inny mechanizm wypracowały pierwotniaki z rodzaju *Leishmania* – dojrzewanie fagosomu jest hamowane przez pasożytniczą cząsteczkę lipofosfoglikanu (Tabela 2).

Larwy *Trichinella spiralis* po zasiedleniu włókien mięśni poprzecznie prążkowanych żywiciela przejmują kontrolę nad ich metabolizmem i przekształcają je w komórki-piastunki. O regulacji przebudowy komórki przez pasożyta świadczy fakt, że białka *T. spiralis* są wykrywane w jądrach zarażonych włókien mięśniowych już około 9. dnia po inwazji mięśnia. Wykryto również białka pochodzenia pasożytniczego oddziałujące na czynniki transkrypcyjne komórki żywiciela. Na zewnątrz komórki-piastunki powstaje bezkomórkowa kapsuła zbudowana z kolagenu, którego synteza zachodzi w cytoplazmie rozwijającej się komórki-piastunki. Istnieją

dowody, że indukcja odkładania kolagenu, żywiciela na zewnątrz komórki-piastunki jest odpowiedzią na metabolity larwy (POLVERE i współaut. 1997).

UNIKANIE EFEKTÓW ODPOWIEDZI
IMMUNOLOGICZNEJ ŻYWICIELA – ODPORNOŚĆ
WRODZONA

Jak wspomniano wcześniej przejawem humoralnej odporności wrodzonej jest alternatywna droga aktywacji dopełniacza. Zapewnia ona między innymi pierwszą linię obrony przeciwko pasożytom zewnątrzkomórkowym krwi:

Forma epimastigota *T. cruzi* znajdująca się w owadach (wektor), może być zabita przez kaskadę dopełniacza aktywowaną drogą alternatywną, natomiast znajdująca się we krwi żywiciela forma metacykliczna jest oporna na uszkodzenia przez ten mechanizm. Ta oporność *T. cruzi* na uszkodzenia przez dopełniacz związana jest z ekspresją na powierzchni komórki pasożyta glikoproteiny 160 kDa, będącej homologiem białka DAF żywiciela, regulującego odpowiedź dopełniacza. Podobnie jak DAF, gp160 wiąże się z C3b oraz C4b i hamuje przyłączanie następnych składowych kaskady dopełniacza, a tym samym liżę komórki (SACKS i SHER 2002).

HAMOWANIE DRÓG SYGNAŁOWYCH W KOMÓRCE ŻYWICIELA I ZMIENNOŚĆ ANTYGENOWA

Funkcja fagocytarna makrofagów jest regulowana w odpowiedzi na sygnały ze środowiska zewnątrzkomórkowego przez kinazę białkową (PKC) i tyrozynową (PTK). Pierwotniaki z rodzaju *Leishmania* hamują aktywność PKC w makrofagach. *Toxoplasma gondii*, z kolei, wydziela cząsteczki hamujące przekazywanie informacji z błony komórkowej makrofaga do jądra (DENKER i BUTCHER 2005)

Pasożyty często wykorzystują identyczne lub podobne do żywicielskich cząsteczki sygnałowe oraz mimikrę molekularną, aby uciec przed kontrolą układu immunologicznego żywiciela.

W żywicielach w pełni wydolnych immunologicznie pasożyty unikają efektów odpowiedzi immunologicznej stosując głównie 2 mechanizmy:

– ekspresję właściwych antygenów, bądź to przez szybką ich zmianę (zmiennność antygenowa) lub przez ekspresję epitopów po-

dobnych do cząsteczek żywiciela (mimikra antygenowa i molekularna);

– modyfikację odpowiedzi immunologicznej żywiciela.

U *Plasmodium*, różne stadia rozwojowe prezentują żywicielowi odmienne antygeny (COPPEL i współaut. 2004). Zmiennność antygenowa występuje również u pasożytów pozakomórkowych: *Trypanosoma brucei rhodocense*, *T. gambiense* i *Giardia lamblia*. U trypanosom *T. brucei*, zmiana antygenów wynika ze zmienności glikoproteiny powierzchniowej (VSG). Przeciwciała produkowane przez żywiciela mogą doprowadzać do lizy trypomastigot. Jednakże geny kodujące VSG są zastępowane z niską częstotliwością przez nową wersję i już wyprodukowane przeciwciała nie mogą zniszczyć wszystkich pasożytów. Każda komórka *Trypanosoma* posiada około 1000 genów VSG kodujących warianty antygeny powierzchniowego. Większość genów VSG ułożona jest tandemowo

w wewnętrznych częściach chromosomów. Jednakże aktywne VSG geny lokalizują się w częściach telomerowych. Ulegają one ekspresji jako wielogenowa jednostka transkrypcyjna zawierająca dodatkowe geny związane z ekspresją VSG. Włączenie ekspresji nowego

wariantu genu związane jest z rearanżacją DNA w obrębie miejsca ekspresyjnego lub włączenie nowego (jednego z 20) miejsca ekspresyjnego dla genów VSG (SACKS i SHER 2002).

MIMIKRA BIAŁEK CYTOADHEZYJNYCH I ICH RECEPTORÓW

Najczęściej u pasożytów (zwłaszcza u pierwotniaków) obserwuje się występowanie makromolekuł identycznych, bądź bardzo podobnych do receptorów dopełniacza i innych czynników modulujących aktywację dopełniacza.

Białko powierzchniowe merozoitów *Plasmodium* sp. wykazuje homologię do wiążącej dopełniacz domeny properdyny i do 4 składników dopełniacza: C6, C7, C8, C9. Przyпуска się, że mimikra ta umożliwia przyłączanie się merozoitów do erytrocytów za pośrednictwem receptora CR1. Inny pierwotniak pasożytujący w krwinkach czerwonych, *Babesia rhodani*, jest w stanie wnikać do erytrocytów tylko w obecności dopełniacza – substancje obniżające poziom dopełniacza zmniejszają parazytemię.

Różne stadia rozwojowe *Schistosoma mansoni* mają na swej powierzchni receptory dla składowych dopełniacza. Wiązanie składnika C3b prawdopodobnie inaktywuje go i uniemożliwia dalszy przebieg kaskady katalitycznej, która mogłaby uszkodzić robaka.

Pełzak czerwoni, *Entamoeba histolytica*, jest odporny na działanie kompleksu atakującego błonę (ang. membrane attack complex, MAC) C5b-9 przez wytwarzanie na powierzchni cząsteczki lektyny, która strukturalnie i funkcjonalnie naśladuje cząsteczkę żywiciela CD59, będącą inhibitorem MAC na powierzchni erytrocytów.

Na powierzchni schistosomuli i dorosłych *Schistosoma mansoni* występują także receptory wiążące antygeny zgodności tkankowej (MHC) żywiciela, zatem mimikra receptora prowadzi do maskowania molekularnego. Maskowanie to w pewnym stopniu wyjaśnia zjawisko odporności śródzakaznej występujące w przebiegu inwazji (żywiciel jest odporny na nowe zarażenie, ale postaci dorosłe z pierwotnego zarażenia żyją w nim przez kilkanaście lat).

Makromolekuły powierzchniowe pasożytów często są identyczne z niektórymi hormonami żywiciela, receptorami hormonów, a także z białkami surowicy. Na powierzchni nicieni tkankowych (*Brugia malayi* i *B. pahangi*) stanowiących olbrzymie zagrożenie zdrowia ludzi w krajach subtropikalnych i tropikalnych absorbowane są żywicielskie przeciwciała, być może blokujące. Mikrofilarie *Wuchereria bancrofti* i *Loa loa* ekspozują na powierzchni czynniki grupowe A i B krwi człowieka, a także przyłączają albuminę ludzką, która maskuje epitopy antygenów kutikuli mikrofilarii. Mimikra molekularna obserwowana jest również w inwazjach nicieni jelitowych. Na powierzchni *Trichinella spiralis*, *Ascaris lumbricoides*, *Necator americanus* występują polisacharydy podobne do czynników grupowych krwi żywicieli (LOUKAS i współaut. 2005).

IMMUNOSUPRESJA BEZPOŚREDNIA

Wiele obserwacji i wyników doświadczeń wskazuje, że inwazja pierwotniaków pasożytniczych może wpływać na reakcję limfocytów T, powodując supresję efektorów odpowiedzi immunologicznej. Przykładem takiego zjawiska jest supresja wywołana inwazją *L. major*. Te wewnątrzkomórkowe pasożyty hamują wybiórczo ekspresję genu *IL-12*. Ponieważ *IL-12* pobudza produkcję IFN-gamma, zaś *Leishmania* jest bardzo podatna na atak makrofagów aktywowanych przez IFN- γ , ta

supresja produkcji *IL-12* umożliwia przeżycie pasożyta.

Przejawy supresji odpowiedzi immunologicznej żywiciela obserwuje się również w inwazjach przwr oraz larw tasiemców. Makrofagi myszy zarażonych *Schistosoma* wykazują defekt w prezentacji antygeny. Larwy tasiemców *E. granulosus* i *T. solium* wydzielają czynniki inaktywujące dopełniacz oraz prostaglandyny działające supresyjnie na reakcje zapalne żywiciela. W tasiemczycach

larwalnych obserwuje się również hamowanie proliferacji limfocytów T, hamowanie produkcji IL2, a także immunosupresję poprzez indukowanie autoprzeciwciał przeciwko MHC klasy I i II.

Bardzo zróżnicowane mechanizmy immunomodulujące wykształciły nicienie (MAIZELS i YAZDANBAKHSI 2003). U myszy zarażonych *T. spiralis* obserwuje się osłabioną reakcję odrzucania allogenicznego przeszczepu, wywołaną wydzielaniem przez tego nicienia dużej ilości prostaglandyn. Upośledzenie odpowiedzi immunologicznej w trakcie inwazji tego nicienia następuje również w wyniku stymulowania poliklonalnej aktywacji limfocytów i hamowaniu kaskady dopełniacza. *Necator americanus* wydziela: kaliseptynę, odpowiedzialną za blokowanie kanałów wapniowych limfocytów T, kalretikulinę, wiążącą czynnik C1q dopełniacza, jak również niskocząsteczkowy czynnik proapoptotyczny, wywołujący apoptozę limfocytów żywiciela (PRITCHARD 1995, ELSE i FINKELMAN 1998).

Larwy L4 *Ostertagia ostertagi*, groźnego pasożyta przewodu pokarmowego bydła, wydzielają białka o silnym działaniu immunosupresyjnym. Białka te hamują ekspresję receptorów dla IL2, obniżają ekspresję interleukin IL2, IL4 oraz IL13.

W inwazjach niektórych nicieni efekt supresyjny jest zależny od genomu żywiciela. Dorosłe osobniki nicienia *Heligmosomoides polygyrus* wydzielają substancje immunosupresyjne, które u myszy C57B10 wywołują prawie całkowitą supresję odporności (13 dorosłych robaków powodowało 84% zahamowanie odporności), zaś jedynie nieznacznie u myszy szczepu NIH (104 robaki wywołało tylko 12% redukcję odporności).

Mechanizmy molekularne, odpowiedzialne za immunosupresję i immunomodulację odpowiedzi obronnej żywiciela, działające w przebiegu inwazji pasożytniczych, nie są jeszcze w pełni poznane. Wyodrębniono jednakże i sklonowano wiele enzymów uczestniczących w tych procesach. Do najważniejszych

należą proteiny, które inaktywują interferon, interleukiny, TNF, degradują proteiny cytotoksyczne, odcinają fragmenty Fc przeciwciał, uniemożliwiając uszkodzenie pasożyta na drodze pośredniczonej przez przeciwciała reakcji cytotoxyczości (ADCC), rozkładają składniki dopełniacza C3b, C5a. Ważną funkcję pełnią również syntetyzowane przez pasożyty inhibitory proteaz żywiciela. Hamują one działanie dopełniacza przez inhibicję enzymów trypsyno-podobnych: Cls i czynnika D, wpływają hamująco na przebieg kaskad katalitycznych w surowicy. Wśród tej grupy makromolekuł wyróżnić warto cystatyny, występujące w warunkach naturalnych u roślin i zwierząt inhibitory proteaz cysteinowych. Centrum aktywne zawiera 5 aminokwasów: Gln-Val-Val-Ala-Gly. Cystatyny są białkami wydzielniczymi o ciężarze 13–15 kDa. U nicieni białka tego typu opisano u *C. elegans*, filarii, niektórych *Trichostrongylidae*. U *Nippostrongylus brasiliensis* (*Trichostrongylidae*) wykryto cystatynę zawierającą 144 aminokwasów (14-kDa) Wydzielana jest ona przez L3 i dorosłe nicienie. Metodą immunoblotingu wykryto jej aktywność w wydzielinach tego nicienia. Cystatyna działa na enzymy żywiciela przeciwdziałając rozwojowi procesu zapalnego.

Drugą, ważną dla przeżycia pasożytów w żywicielach grupą enzymów są esterazy S-glutationowe (GST). Są to enzymy odtruwające, które katalizują nukleofilowe dodanie trójpeptydu GSH do endogennych lub ksenobiotycznych toksyn elektrofilowych. Enzymy te mają ogromne znaczenie w rozwoju odporności pasożytów na antybiotyki i antyhelmintyki. GST niektórych robaków biorą udział w syntezie prostaglandyn, obniżających reakcje obronne żywiciela. U *F. hepatica* GST stanowią ponad 3% aktywności białek rozpuszczalnych. Enzymy te występują co najmniej w 7 formach, z których 4 są wysoce homologiczne do odpowiednich cząstek u przywr *Schistosoma mansoni* i *S. japonicum* (ABOBAKER i BLAXTER 2004).

APOPTOZA

Jednym z ostatnio odkrytych i dopiero poznawanych mechanizmów umożliwiających pasożytom długotrwałe przeżywanie w żywicielu jest modulowanie przez pasożyty szlaków apoptotycznych żywiciela. Pierwotniaki pasożytnicze hamują apoptozę komórek żywiciela, w których się osiedliły,

a przyspieszają śmierć efektorowych komórek immunologicznie kompetentnych (JAMES i GREEN 2004). Inhibicję apoptozy obserwuje się w komórkach nabłonka jelitowego, zasiedlonych przez *Cryptosporidium parvum* w makrofagach, zasiedlonych przez amastigoty *Leishmania* sp. i fibroblastach, zarażonych

Toxoplasma gondii. Indukcję apoptozy komórek efektorowych wykryto zarówno w inwazjach wymienionych wyżej pierwotniaków, jak również *T. cruzi*, *Entamoeba histolytica* (Tabela 1) przywr z rodziny *Schistosomati-*

dae, nicieni jelitowych oraz filarii. Podkreślić należy że modulacja szlaków apoptotycznych odbywa się poprzez mechanizmy swoiste dla poszczególnych grup, a nawet gatunków pasożytów (JAMES i GREEN 2004).

EVASION OF HOST IMMUNITY BY PARASITES

Summary

Protozoa and helminth parasites infect billions people and domestic animals all over the world. The infections are usually long-lasting because parasites have developed very efficient strategies of evasion of host innate and adaptive immunity defenses. Intracellular protozoa can remodel the phagosomal compartments and disturb the signalling pathways of the host macrophages, therefore they can avoid being killed by lysosomal enzymes and toxic metabolites of the host. Extracellular parasites developed the ability to avoid complement lysis and antibody

dependent cell cytotoxicity. In addition, both protozoan and helminth parasites manage to modify the antigen-presenting and immunoregulatory functions of dendritic cells and T lymphocytes. Due to excretion of immunoinhibiting substances and modulators of host cytokines the parasites may suppress both the Th1 (cell-mediated immunity) and Th2 (humoral immunity) responses. Recently, it has appeared that both protozoan and helminth parasites demonstrate the ability either to prevent or promote apoptosis of host cells according to their own advantage.

LITERATURA

- ANKRI S., 2002. *Strategies of the protozoan parasite Entamoeba histolytica to evade the innate immune responses of intestinal epithelial cells*. J. Bioscience (Suppl. 3) 27, 609-614.
- ABOUBAKER A. A., BLAXTER M. L., 2004. *Functional genomics for parasitic nematodes and platyhelminths*. Trends Parasitol. 20, 178-184.
- BEESON J. G., BROWN G. V., 2002. *Pathogenesis of Plasmodium falciparum malaria: the roles of parasite adhesion and antigenic variation*. Cell Mol. Life Sci. 59, 258-271.
- BEUTLER B., 2004. *Innate immunity: an overview*. Mol. Immunol. 40, 845-859.
- CAPRON A., RIVEAU G., CAPRON M., TROTTEIN F., 2005. *Schistosomes: the road from host-parasite interactions to vaccines in clinical trials*. Trends Parasitol. 21, 143-149.
- COPPEL R. L., ROOS D. S., BOZDECH Z., 2004. *The genomics of malaria infection*. Trends Parasitol. 20, 553-557.
- DENKER E. Y., BUTCHER B. A., 2005. *Sabotage and exploitation in macrophages parasitized by intracellular protozoans*. Trends Parasitol. 21, 35-41.
- ELSE K. J., FINKELMAN F. D. 1998. *Intestinal nematode parasites, cytokines and effector mechanisms*. Int. J. Parasitol. 28, 1145-1158.
- HORTON R. J., 1990. *Benzimidazoles in wormy world*. Parasitol. Today 6, 106-109.
- JAMES E. R., GREEN D. R., 2004. *Manipulation of apoptosis in the host-parasite interaction*. Trends Parasitol. 20, 280-287.
- KLION A. D., NUTMAN T. B., 2004. *The role of eosinophils in host defense against helminth parasites*. J. Allergy Clin. Immunol. 113, 30-37.
- LOUKAS A., CONSTANT S. L., BETHONY J. M., 2005. *Immunobiology of hookworm infection*. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 43, 115-124.
- MACKINTOSH C.L., BEESON J.G., MARSH K., 2004. *Clinical features and pathogenesis of severe malaria*. Trends Parasitol. 20, 597-603.
- MAIZELS R. M., YAZDANBAKHSH M., 2003. *Immune regulation by helminth parasites: cellular and molecular mechanisms*. Nature Rev. Immunol. 3, 733-744.
- MASCIE-TAYLOR C. G., KARIM E., 2003. *The burden of chronic disease*. Science 302, 1921-1922.
- PEARLMAN E., HALL L. R., 2000. *Immune mechanisms in Onchocerca volvulus-mediated corneal disease (river blindness)*. Parasite Immunol. 22, 625-631.
- PLEASS R. J., KUSEL J. R., WOOF J. M., 2000. *Cleavage of Human IgE Mediated by Schistosoma mansoni*. Int. Archives Allergy Immunol. 121, 194-204.
- PRITCHARD D. I., 1995. *The survival strategies of hookworms*. Parasitol. Today 11, 255-259.
- POLVERE R. I., KABBASH C. A., CAPO V. A., KADAN I., DESPOMMIER D. D., 1997. *Trichinella spiralis: Synthesis of Type IV and Type VI Collagen during Nurse Cell Formation*. Exp. Parasitol. 86, 191-199.
- RAMASAMY R., 1998. *Molecular basis form evasion of host immunity and pathogenesis in malaria*. Biochim. Biophys. Acta 1406, 10-27.
- REINITZ D. M., MANSFIELD J. M., 1990. *T-cell-independent and T-cell-dependent B-cell responses to exposed variant surface glycoprotein epitopes in Trypanosome-infected mice*. Inf. Immun. 58, 2337-2342.
- SACKS D., SHER A., 2002. *Evasion of innate immunity by parasitic protozoa*. Nature Immunol. 3, 1041-1047.
- UNDERDOWN B. J., MESTECKY J., 1994. *Mucosal Immunoglobulins*. [W]: Ogra Handbook of Mucosal Immunology. MESTECKY J., LAMM E., et al. (red.). Academic Press, New York, 79-97.
- VERNICK K. D., WATERS A. P., 2004. *Genomics and malaria control*. New Eng. J. Med. 351, 1901-1904.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002. *Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis*. Report of a WHO Expert Committee, Technical Report Series 912, Geneva.