

ELŻBIETA KOŁACZKOWSKA

*Zakład Immunologii Ewolucyjnej  
Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych  
Uniwersytet Jagielloński  
Gronostajowa 9, 30-387 Kraków  
E-mail: ela.kolaczowska@uj.edu.pl*

## DZIEDZICTWO ILLII MIECZNIKOWA: W STULECIE ŚMIERCI

### WSTĘP

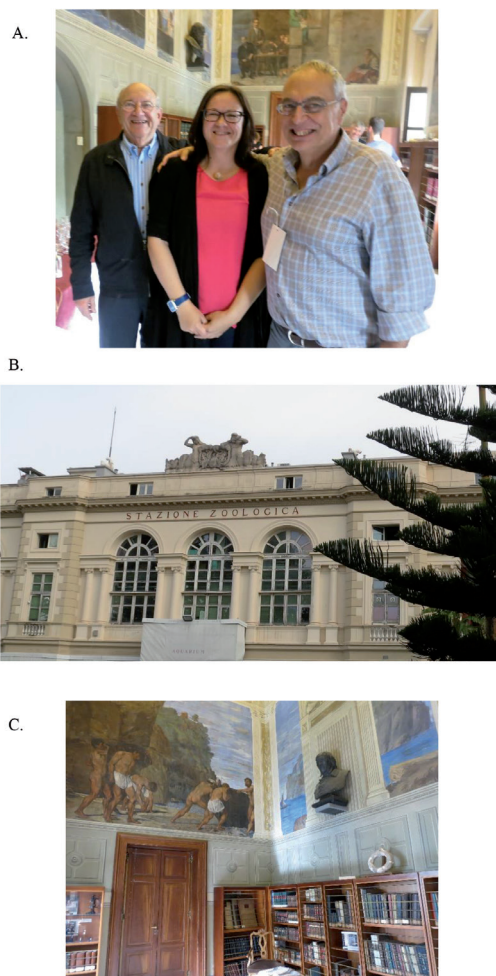
W 2016 r. obchodzono stulecie śmierci Illii Miecznikowa. Z tego powodu zorganizowano kilka konferencji naukowych poświęconych jego dziedzictwu, a jedna z nich odbyła się w Neapolu, w najstarszej badawczej Stacji Marynistycznej założonej w 1872 r. To właśnie z tej stacji Miecznikow wyruszył do Mesyny na Sycylii, gdzie dokonał swoich przełomowych odkryć. Konferencję, połączoną ze szkołą letnią dla młodych immunologów, zorganizowało dwóch wybitnych badaczy, Siamon Gordon, emerytowany profesor z Uniwersytetu w Oxfordzie (Wlk. Brytania), który opisał wiele ważnych aspektów dotyczących biologii makrofagów, oraz profesor Giuseppe (Giò) Teti z Uniwersytetu w Mesynie (Włochy), mikrobiolog i historyk Miecznikowa (Ryc. 1). W trakcie konferencji przypomniano najważniejsze osiągnięcia Miecznikowa oraz najnowsze badania dotyczące fagocytów: makrofagów i neutrofilii, oraz komórek dendrytycznych.

Po ogłoszeniu swojego odkrycia, Miecznikow był znany także poza światem nauki. Według niektórych źródeł był nawet „naukowym celebrytą” (GORDON 2016), ale jego badania przyćmiły wkrótce odkrycia związane z odpowiedzią nabytą, opartą na działaniu obronnym limfocytów, w czasie której powstają przeciwciała, humoralne elementy układu odpornościowego (TAUBER 1992, KAUFMANN 2008). Wynikało to z faktu, że w tym czasie nie poznano jeszcze szczegółowych mechanizmów procesu fagocytozy; uważano, że jest ona całkowicie nieselektywna, nie znano także zaangażowanych w ten

proces receptorów. Natomiast metody krystalograficzne pozwoliły na wizualizację bardzo selektywnego wiązania przeciwciał ze specyficznymi antygenami (TAUBER 1992). Świat immunologii zachłysnął się limfocytami i skoncentrował się na odpowiedzi nabytej. Po latach zdano sobie jednak sprawę, że fagocyty, zwłaszcza makrofagi i komórki dendrytyczne, są kluczowe do zapoczątkowania odpowiedzi nabytej, działając jako komórki prezentujące antygeny limfocytom (ROCHE i FURUTA 2015), a fagocyty rozpoznają patogeny poprzez wyspecjalizowane receptory (MEDZHITOV 2007). Dodatkowo zrozumiano, że większość organizmów żywych (wszystkie poza kręgowcami) wykorzystuje do swojej obrony przed patogenami tylko mechanizmy odpowiedzi wrodzonej i tylko dzięki nim skutecznie broni się przed inwazją patogenów. Fagocyty i odpowiedź wrodzona zostały na nowo docenione i są obecnie traktowane równorzędnie do limfocytów i odpowiedzi nabytej.

### JAK SIĘ TO WSZYSTKO ZACZEŁO

Illja Miecznikow urodził się w 1845 r. na terenie Ukrainy w Rosji Carskiej, tam zdobył wykształcenie i już w wieku 22 otrzymał stanowisko docenta, a wkrótce profesora, na Uniwersytecie w Odessie (obecna Ukraina), na którym wykładał i prowadził badania w latach 1867–1882, pracując w międzyczasie także na Uniwersytecie w Sankt Petersburgu (TETI i współaut. 2016). Rok 1881 przyniósł zabójstwo cara Aleksandra II i wynikające z tego faktu wydarzenia historyczne, które zaostrzyły sytuację polityczną, co, wraz



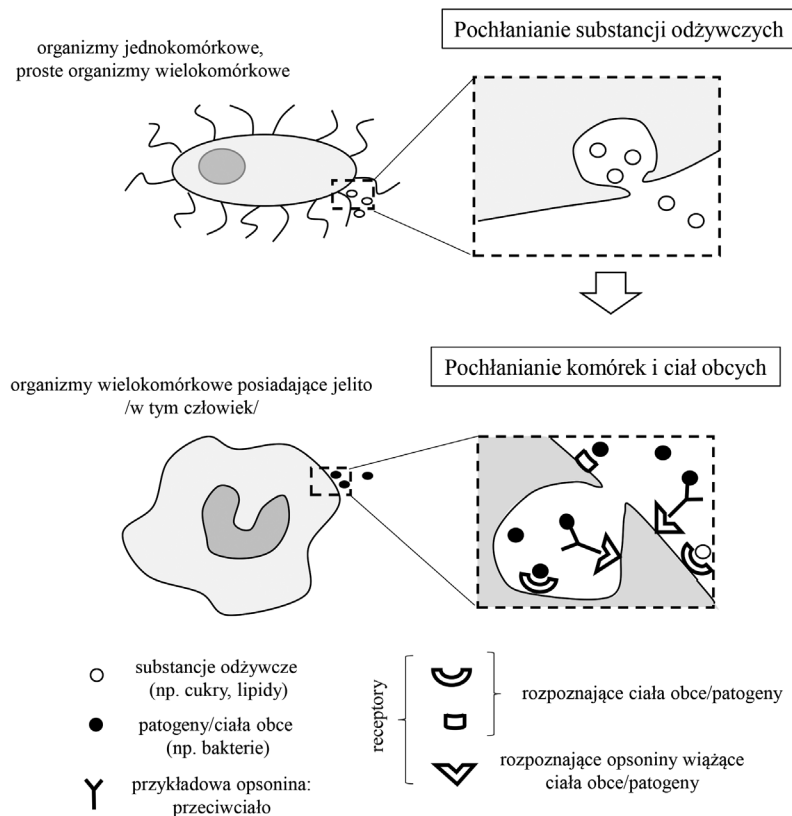
Ryc. 1. Organizatorzy konferencji Metchnikoff's Legacy: Tissue Phagocytes and Functions (Dzieńdzictwo Miecznikowa: fagocyty tkankowe i ich funkcje) i Stacja Marynistyczna w Neapolu. A. od lewej: prof. Siamon Gordon (Uniwersytet w Oksfordzie), dr hab. Elżbieta Kołaczkowska (Uniwersytet Jagielloński), prof. Giuseppe Teti (Uniwersytet w Mesynie). B. budynek oraz C. wnętrze stacji marynistycznej Stazione Zoologica Anton Dohrn.

z osobistymi nieporozumieniami z lokalnymi profesorami, spowodowało, że Miecznikow ostatecznie zrezygnował z pracy na uczelni i wyjechał do Włoch, gdzie zamieszkał z rodziną. To ostatnie było możliwe dzięki spadkowi, który otrzymała jego (druga) żona Olga. Czasami przypadek rządzi naszym życiem, czasami podążamy śladami naszych przyjaciół i współpracowników. Jeszcze przed objęciem posady w Odessie (w 1865 r.), Miecznikow odwiedził kilka uniwersytetów i ośrodków badawczych w Europie, w tym stację marynistyczną w Neapolu, gdzie poznał swojego rodaka Aleksandra Kowalevskyego (GORDON 2016). To właśnie on zainteresował Miecznikowa embriologią porównawczą, rozwojem zarodkowym różnych grup zwie-

rzał w aspekcie ewolucyjnym (TETI i współaut. 2016), a morze Śródziemne to Mekka dla badaczy zajmujących się organizmami morskimi, zwłaszcza ze swoją bardzo bogatą fauną bezkręgowców. Do Włoch Miecznikow wracał kilka razy, zawsze spotykając swojego przyjaciela, który zabrał go po raz pierwszy do Mesyny. Jako miejscowość nie zrobiła na nim wielkiego wrażenia, ale jako miejsce do badań z zakresu jego zainteresowań, ogromne. Kiedy więc w 1882 r. zdecydował się opuścić Rosję, Mesyna była oczywistym celem. To właśnie tam, w grudniu 1882 r., dokonał swojego wielkiego odkrycia (TAUBER i CHERNYAK 1989, TAUBER 1992, GORDON 2016, TETI i współaut. 2016).

### DROGA OD EMBRIOLOGA DO PATOLOGA

Przez wiele lat pracy naukowej Miecznikow koncentrował się na embriologii, a badając rozwój zarodkowy bezkręgowców chciał poznać „ujednoliczoną teorię życia” (METCHNIKOFF 2016), bowiem jak wskazywał na to stan wiedzy pod koniec XIX w., w tym badania współczesnych Miecznikowowi Ernesta Haeckela i Karla Ernsta von Baera, rozwój zarodkowy jest skróconym powtórzeniem filogenezy (rozwoju rodowego), czyli najpierw pojawiają się w nim cechy właściwe dla typu, później dla gromady, rzędu, rodziny, gatunku i wreszcie danego osobnika (GILBERT 2003). Z tego powodu Miecznikow koncentrował się na pierwszych etapach rozwoju embrionalnego prostych organizmów, pragnąc poznać ich pochodzenie. W swoich badaniach używał intensywnie mikroskopu, a na podstawie obserwacji sporządzał ilustracje naukowe, odpowiednik współczesnej dokumentacji fotograficznej. Istotnym przedmiotem jego badań były listki zarodkowe, również opisane w XIX w., grupy komórek powstające w czasie rozwoju zarodkowego w czasie gastrulacji, obejmujące ektodermę, endodermę i mezodermę (JURA i KLAG 2005). W szczególności zainteresowały go losy tej ostatniej. Miecznikow sformułował teorię, że pierwszy organizm wielokomórkowy był podobny do larwy najprostszych zwierząt bezkręgowych, gąbek, które są zbudowane ze zbitej masy komórek, otoczonej przez komórki posiadające wici (TETI i współaut. 2016). Z kolei Ernest Haeckel uważał, że pierwsze organizmy wielokomórkowe były podobne do gastruli, która powstała w wyniku inwaginacji (wpuklenia). Dysputa ta pomogła Miecznikowowi dojść do wniosku, że w wewnętrznej masie komórek larw gąbek, znajdują się ruchome komórki, które są w stanie pochłaniać małe cząsteczki, oraz że komórki te służą jako komórki odżywcze (pochłaniające



Ryc. 2. Podstawowe założenie teorii fagocytozy Illii Miecznikowa.

Pierwotną rolą ruchomych, orzęsionych komórek prostych organizmów pozbawionych jelita jest pochłanianie (fagocytoza) substancji odżywczych, które następnie rozprawdzają po organizmie. U zwierząt, u których wyewoluowało jelito, ruchome komórki wyspecjalizowały się w fagocytozie ciał obcych, w tym patogenów. Jest to możliwe dzięki wykształceniu wyspecjalizowanych receptorów, które je selektywnie rozpoznają oraz receptorów, które rozpoznają opsoniny. Opsoniny to elementy układu odpornościowego, takie jak przeciwciała, które łączą się z patogenami/ciałami obcymi wyznakowując je jako cel do fagocytozy. Niektóre z tych receptorów zachowały zdolność do rozpoznawania substancji odżywczych, głównie lipidów.

i transportujące substancje odżywcze do innych komórek organizmu). Dobrym przykładem zwierząt, u których za pochłanianie, trawienie i rozprawdzanie pokarmu odpowiedzialna jest wypełniająca jamę ciała parenchyma są wirki bezjelitowe (JURA 2002). Z kolei u wyższych bezkręgowców jelito przejmuje funkcje odżywcze (powstaje z endodermy). Te obserwacje dały podwaliny pod zrozumienie dwojakiej roli procesu pochłaniania substancji przez ruchome komórki. Miecznikow był bowiem pilnym słuchaczem teorii dotyczących ewolucji gatunków Darwina (DARWIN 2009). Rozmyślał o tym, jak zdolność ruchomych, pochłaniających substancje odżywcze komórek, mogła doprowadzić do nabycia przez te komórki nowej funkcji w czasie filogenezy. Teoria ta brzmiała: u wyższych ewolucyjnie zwierząt, pochłanianie cząsteczek odżywczych przez ruchome komórki ameboidalne zostało utracone, gdyż powstało jelito, a komórki te wyspecjalizowały się w zdolności do pochłaniania (i usuwa-

nia) cząsteczek potencjalnie niebezpiecznych oraz własnych, zmienionych, powstających jako produkt uboczny przebudowy tkanek (METCHNIKOFF 1905, GORDON 2016, TETI i współaut. 2016) (Ryc. 2). Ale zanim doszedł do tego wniosku, musiał odkryć istotę tego drugiego procesu – fagocytozy.

## WIELKIE ODKRYCIE I WIELKI MIT

Okoliczności odkrycia roli fagocytozy, opisane przez samego Miecznikowa, przedstawione są bardzo obrazowo (METCHNIKOFF 2016), a legenda która narosła dookoła nich przyczyniła się na pewno do rozpowszechnienia wiedzy na ten temat (GORDON 2016, TAUBER 1992, TAUBER i CHERNYAK 1989, TETI i współaut. 2016). Wiadomo, że miało ono swoją kulminację w grudniu 1882 r, ale Miecznikow opisał okoliczności odkrycia prawie 30 lat po jego dokonaniu, na fali wspomnień wywołanych informacją o tragicznym trzęsieniu ziemi i spowodowanym przez nie

tsunami, które prawie całkowicie zniszczyło Mesynę. Sam Miecznikow mieszkał już w tym czasie w Paryżu. Zanotował wtedy: „Pewnego dnia, gdy cała rodzina poszła do cyrku, aby zobaczyć tresowane małpy, zostawszy sam (w domu) studiowałem pod mikroskopem ruchome komórki obecne w ciele larw rozgwiazdy, gdy uderzyła mnie zupełnie nowa myśl. Zacząłem rozważać, że podobne komórki mogłyby służyć do obrony organizmu przed intruzami. Czując, że to bardzo ważna myśl, osiągnąłem stan takiego podniecenia, że zacząłem krążyć (po domu), a nawet wyszedłem na wybrzeże, aby zebrać myśli.

Uznałem, że jeżeli moje założenie jest prawdziwe, wprowadzenie ciernia róży do ciała larwy rozgwiazdy, która nie posiada ani naczyń krwionośnych ani (zorganizowanego) układu nerwowego, musiałoby spowodować jego szybkie otoczenie przez ruchome komórki, tak jak to się dzieje w przypadku, gdy drzazga wbije się w palec człowieka. Gdy tylko o tym pomyślałem, od razu poddałem to testowi. W zagajniku koło naszego domu, tym samym, w którym zaledwie kilka dni temu udekorowaliśmy dla dzieci „choinkę” na drzewku mandarynkowym, zerwałem kilka cierni z (krzewów) róż, aby wprowadzić je do pokrywającego larwę rozgwiazdy nablonka. Larwy doskonałej, o ciele tak przezroczystym jak woda. Byłem tak podekscytowany, że w nocy nie mogłem zasnąć, drżąc o wynik mojego eksperymentu, a o wczesnym poranku zobaczyłem z ogromną radością, że eksperyment zakończył się pełnym sukcesem! To właśnie ten eksperyment dał podstawę mojej teorii na temat fagocytozy, teorii której poświęciłem następne 25 lat mojego życia.

Było to w Mesynie, to tam miał miejsce punkt zwrotny w mojej karierze naukowej” (METCHNIKOFF 1921, METCHNIKOFF 2016) (tłumaczenie E. Kołaczkowska).

Trudno powiedzieć, czy wspomnienie to w pełni odzwierciedla okoliczności odkrycia, zwłaszcza, że zostało spisane po tak wielu latach, po tylu bitwach stoczonych w obronie teorii i po nagrodzie Nobla. Wiadomo, że droga do odkrycia była długa, trwała co najmniej dekadę, że wymagała wiedzy z zakresu kilku dziedzin, co w świetle współczesnego dążenia nauki do interdyscyplinarności powinno być wyjątkowo docenione. Historycy nauki uważają, że okoliczności odkrycia niekoniecznie wyglądały tak, jak w odręcznych notatkach Miecznikowa, ale równocześnie zgodnie uznają, że nie ma to praktycznego znaczenia (TAUBER i CHERNYAK 1989, TAUBER 1992, GORDON 2016, TETI i współaut. 2016). Odkrycie było faktem, a narosła legenda tyl-

ko przyczyniła się do jego popularyzacji. Nawet naukowcy bywają romantykami.

Warto w tym miejscu przypomnieć, że zjawisko pochłaniania ciał obcych, barwników, erytrocytów, przez niektóre komórki różnych organizmów było obserwowane i opisywane od co najmniej kilkunastu, kilkudziesięciu lat przed odkryciem Miecznikowem, jednak sądzono, że jest ono związane z funkcjami odżywczymi lub w ogóle nie próbowano wyjaśnić jego roli (STOSSEL 1999, TETI i współaut. 2016). Wiadomo na pewno, że sam Miecznikow obserwował zjawisko pochłaniania cząsteczek przez organizmy jednokomórkowe oraz w jelicie tasiemca, już w 1865 r. w czasie pobytu na Uniwersytecie w Giessen (Niemcy) oraz, że znał podobne obserwacje Johanna Lieberkühna sprzed dekad (TETI i współaut. 2016). Prowadząc swoje badania w Mesynie Miecznikow obserwował, że ameboidalne komórki pochodzące z mezodermy nie tylko pochłaniają ciała obce o bardzo różnym pochodzeniu, często także takie, które raczej na pewno nie mogły spełniać kryteriów „substancji odżywczych”, ale także, że były one całkowicie rozkładane przez te komórki. Co więcej zaobserwował, że ameboidalne komórki gromadzą się też w tkankach lub organach, w których zachodzi atrofia (ich zanikanie) w czasie metamorfozy, a więc muszą także uczestniczyć w przebudowie tkanek (TETI i współaut. 2016). Zapewne widział także korelację pomiędzy tymi zjawiskami a opisami reakcji zapalnej Ernsta Zieglera i Juliusza Cohnheima, znanych patologów niemieckich, o akumulacji białych ciałek w miejscu zapalenia, poza naczyniami krwionośnymi człowieka. Zanotował, że fascynujący wydał się mu opis diapedezy (wynaczynienia) białych krwinek przez ścianę naczyń, choć sam opis procesu uznał za „mglisty” (METCHNIKOFF 1905). Odkrycia dokonane przez Miecznikowa pomiędzy 1882 a 1883 r. dodawały 4 nowe, przełomowe fakty dotyczące internalizacji ciał obcych przez ruchome komórki organizmów: (1) dowodziły, że nie tylko pochłaniają one różne cząsteczki, ale także gromadzą się w miejscu, do którego dostają się ciała obce, (2) nie jest to więc proces pasywny (jak sądził Cohnheim), ale aktywna funkcja tych komórek, (3) że komórki te reagują nie tylko na substancje niegroźne (np. barwniki), ale także na obce cząsteczki (cierń), (4) że reakcja ta nie musi zachodzić ani w naczyniach krwionośnych, ani w zakończeniach nerwowych (badane przez niego larwy rozgwiazd nie posiadają ani układu krwionośnego ani centralnego układu nerwowego). Ten ostatni fakt wiązał się z teorią Cohnheima, że zapalenie (diapedeza białych krwinek) wynika z procesów patologicznych zachodzących w naczyniach

krwionośnych. Inni badacze z kolei wiąźali ten proces z centralnym układem nerwowym (TETI i współaut. 2016).

Kiedy Miecznikow dopracowywał szczegóły swojej teorii, Mesynę odwiedził Rudolf Virchow, równie, o ile nie bardziej, sławny niż Juliusz Cohnheim (GORDON 2016). Ten wybitny patolog zainteresował się wynikami Miecznikowa i zachęcił go do przedstawienia ich na forum naukowym, mimo że ich poglądy różnił jeden zasadniczy fakt. Virchow uważał bowiem, że krwinki białe (które obecnie nazywamy leukocytami) pochłaniają ciała obce, w tym bakterie, nie po to, aby je wyeliminować, ale pomagają w ten sposób w ich rozprzestrzenieniu się po organizmie (SCHMIDT i WEBER 2006).

W drodze do Rosji, gdzie miał ogłosić swoją teorię, Miecznikow zatrzymał się w Wiedniu, gdzie spotkał się z Carlem Clausem, który zaproponował nazwę dla nowo opisanego zjawiska – fagocytoza, i fagocyt dla fagocytującej komórki; z j. greckiego *phagein* oznacza jeść, a *kytos* – komórkę (GORDON 2016, TETI i współaut. 2016). W 1883 r. Miecznikow przedstawił swoją teorię na zjeździe przyrodników w Odessie. Kiedy dotarła ona do patologów, wywołała oburzenie i sprzeciw. Zarzuty były różnorodne, czasami negowano teorię bez przedstawienia alternatywnego wytłumaczenia, jednak największa krytyka dotyczyła tego, że Miecznikow nie ma żadnych fizykochemicznych dowodów na poparcie swojej teorii, która była, według oponentów, oparta głównie na wierze w siły witalne (niematerialne) fagocytów, które miałyby decydować, że będą broniły organizm (TAUBER i CHERNYAK 1989). Przeciwno Miecznikowi działał jeszcze jeden fakt, nie był patologiem, nie był nawet lekarzem (TETI i współaut. 2016). Choć to dzięki swojemu przyrodniczemu, biologicznemu wykształceniu i badaniom porównawczym dokonał przełomowego odkrycia, fakty te działały przeciwko niemu. Przez wiele lat Miecznikow musiał odpierać zarzuty podważające jego teorię, ale równocześnie dostarczał coraz więcej dowodów, w tym fizykochemicznych, że jest ona prawdziwa. Dodatkowo, pod koniec lat 80. XIX w. Paul Ehrlich sformułował swoją teorię o humoralnym charakterze reakcji odpornościowej, zgodnie z którą, czynniki humoralne (rozpuszczalne, nie komórkowe) obecne w surowicy były odpowiedzialne za odporność (KAUFMANN 2008). Zostały one później zidentyfikowane jako przeciwciała i inne opsoniny. Żadna ze stron nie chciała zrezygnować ze swojej teorii, żadna nie brała też pod uwagę, że obie mogą być prawdziwe. Co więcej, Miecznikow (błędnie) uważał, że to fagocyty uwalniają przeciwciała (TETI i współaut. 2016). Dopiero eks-

perymenty Sir Almrotha Wrighta, brytyjskiego bakteriologa i immunologa wyjaśniły, że obie strony sporu miały w istocie rację. Wright wykazał, że czynniki humoralne, w tym przeciwciała, wiążąc się z bakteriami, zwiększały ich pochłanianie przez fagocyty (jest to tzw. proces opsonizacji) (WRIGHT i współaut. 1903). Świat nauki zrozumiał, że leukocyty i wydzielane przez nie substancje współdziałają w funkcjach obronnych. Wkrótce, w 1908 r., Komitet Noblowski przyznał po połowie swoją nagrodę Illii Miecznikowowi i Paulowi Ehrlichowi „in recognition of their work on immunity” (w uznaniu ich pracy nad odpornością), a świat zaakceptował dwojaką naturę odporności, opartą na komórkach (w tym fagocytach) i wydzielanych przez komórki odpornościowe strukturach, takich jak przeciwciała. Gwoli ścisłości, w 10-20 lat później wykazano, jeszcze jedną, przełomową (odwrotną) zależność pomiędzy odpornością „komórkową” i „humoralną”, a mianowicie, że jeśli zablokuje się aktywność fagocytów, ogranicza to powstawanie przeciwciał (TUFT 1934). W ten sposób wykazano po raz pierwszy, że fagocyty są niezbędne do aktywacji odpowiedzi nabytej.

#### W OBRONIE TEORII – DALSZE BADANIA NAD FAGOCYTAMI

Miecznikow dalej pracował nad swoją teorią dotyczącą roli fagocytozy w funkcjach obronnych organizmu. Opisał i scharakteryzował makrofagi oraz mikrofagi (przemianowane później na neutrofile) u różnych grup zwierząt (od kijanek do człowieka) i w różnych tkankach, np. śledził losy makrofagów w śledzienie w czasie dojrzewania organizmu, w zdrowiu i w chorobie (METCHNIKOFF 1905). Swoje badania prowadził w kontekście reakcji zapalnej, często odnosząc się do obserwacji współczesnych mu niemieckich patologów. Potwierdził obserwacje, że w czasie zapalenia dochodzi do akumulacji leukocytów poza naczyniami w miejscu infekcji bądź zranienia, ale w przeciwieństwie do Cohnheima uważał, że jest to proces aktywny, a nie wynik zmian w dynamice przepływu krwi (TETI i współaut. 2016). Z kolei, w przeciwieństwie do Virchowa, uważał zapalenie za reakcję korzystną dla organizmu (GORDON 2016). W obu tych przypadkach miał rację, obecnie wiemy bowiem, że inicjacja i przebieg zapalenia są w pełni kontrolowane i regulowane (BOETTCHER i MANZ 2017), a fakt, że fagocyty usuwają także stare komórki oraz komórki apoptotyczne ginące w trakcie zapalenia (MEDINA i RAVICHANDRAN 2016), w pełni uzasadnia teorię o „fizjologicznym zapaleniu”. Gdyby żył wspólnie, Miecznikow byłby zapewne propaga-

torem teorii „danger signal” (o endogennych sygnałach niebezpieczeństwa), według której fagocyty mogą zostać zaktywowane nie tylko przez patogeny (ich charakterystyczne struktury zwane PAMP, ang. pathogen-associated molecular patterns, które są rozpoznawane przez obecne na fagocytach receptory PRR, ang. pathogen recognition receptors), ale także przez struktury pochodzące z naszych własnych komórek, które wydostają się z nich po ich uszkodzeniu (RIDER i współaut. 2017) (Ryc. 2). Takie cząsteczki informują organizm o zagrożeniu i dlatego są nazywane DAMP (ang. damage/danger-associated molecular pattern) lub alarminami. Miecznikow obserwował bowiem, że nie tylko patogeny i ciała obce (ang. non-self) są pochłaniane przez fagocyty, ale także barwniki oraz produkty powstające w trakcie przebudowy tkanek, np. uczestniczące w resorpcji ogona kijanek (ang. altered self) (TETI i współaut. 2016). Nie byłby także zapewne zdziwiony dalszymi odkryciami z pogranicza embriologii i immunologii, w tym faktem, że białko Toll uczestniczące w embriogenzie muszki owocowej, u dorosłego osobnika uczestniczy w funkcjach obronnych (LINDSAY i WASSERMAN 2014). A w toku ewolucji, u zwierząt kręgowych podobne białka TLR (ang. Toll-like receptors) działają na fagocytach jak receptory rozpoznające PAMP i DAMP (KAWAI i AKIRA 2011). Ten ostatni przykład jest zresztą analogiczny do ewolucji procesu fagocytozy, od pobierania pokarmu do funkcji obronnych.

Miecznikow zaobserwował także, że fagocyty nie zawsze radzą sobie z infekcją. Wynikało to z jego badań nad rozwielitkami, słodkowodnymi stawonogami, u których strzępki grzybów przerastają ścianę jelita i zarażają cały organizm. Miecznikow zaobserwował, że jeśli wprowadzi do rozwielitek bardzo zjadliwe szczepy laseczki węglik, to fagocyty nie radzą sobie z taką infekcją, ale umieją wyeliminować mniej zjadliwe szczepy tej samej bakterii (TETI i współaut. 2016). Również ta obserwacja była jak najbardziej poprawna i sugerowała, że eliminacja patogenów przez fagocytozę nie zawsze jest wystarczającym mechanizmem obronnym. Jak wiemy, u zwierząt kręgowych wyewoluowała odpowiedź nabyta oparta na limfocytach, które mogą zostać zaangażowane do funkcji obronnych w takiej właśnie sytuacji.

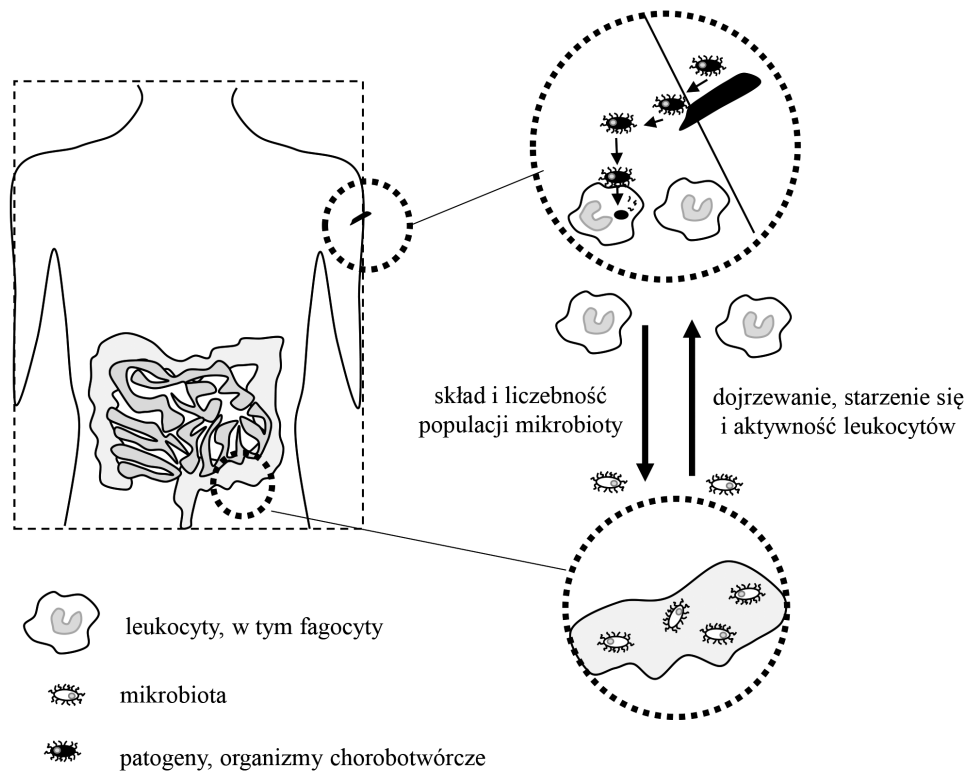
#### BADANIA NAD CHOROBIAMI ZAKAŻNYMI I SZCZEPIONKĄ

W 1886 r. Miecznikow na krótko powrócił do Odessy, gdzie został dyrektorem nowo utworzonego instytutu, mającego wcielić w życie i praktykę medyczną szczepion-

kę przeciw wściekliznie, stworzoną przez Louisa Pasteura. Jednak nie odnalazł się tam i dwa lata później przeniósł się do Paryża, gdzie Pasteur zaproponował mu pracę w instytucie swojego imienia (GORDON 2016, TETI i współaut. 2016). W Instytucie Pasteura Miecznikow skoncentrował się na dalszych badaniach mających potwierdzić teorię fagocytozy, ale także na badaniach chorób zakaźnych. Wykazał m.in., wraz z Emilem Roux, że syfilis można wywołać u małych człekokształtnych, w ten sposób tworząc pierwszy model badawczy tej choroby, a przede wszystkim, że można go wyleczyć powierzchniowym stosowaniem chlorku rtęci (TETI i współaut. 2016). Wyleczyć udało się też ochotnika, studenta medycyny. Tego typu badania trudno obecnie zrozumieć, współczesne kilkustopniowe badania kliniczne nie tylko podlegają ścisłej kontroli, ale są poprzedzone badaniami *in vitro* (w probówce) oraz na zwierzętach laboratoryjnych (*in vivo*), zazwyczaj kilku typów. Jednak w XIX w. nie było to coś wyjątkowego. Co więcej, Miecznikow eksperymentował też na sobie; jeszcze przed swoim przełomowym odkryciem, wstrzyknął sobie krew pacjenta z dudem powrotnym, aby sprawdzić, czy choroba ta jest przenoszona przez krew (GORDON 2016). Jest! Zachorował.

#### ROLA MIKROBIOTY DLA PRAWIDŁOWEJ ODPORNOŚCI I STARZENIA SIĘ

Fakt, że początki teorii Miecznikowa wiązały się z „przekwalifikowaniem się” komórek odpowiedzialnych za dostarczanie substancji odżywczych w fagocyty, pełniące funkcje obronne, wzbudził w nim zainteresowanie również tym pierwszym procesem. Uważał on, że odżywianie się jest najstarszą i podstawową funkcją biologiczną (TETI i współaut. 2016). Sądził także, że toksyny produkowane przez bakterie, zamieszkujące nasz układ pokarmowy, są odpowiedzialne za rozpad gnilny resztek jedzenia, a resztki te są absorbowane przez nasz organizm i niszczą nasze komórki, przyczyniając się do procesu starzenia (TETI i współaut. 2016). Równocześnie uważał, że fagocyty starają się zniwelować skutki uboczne starzenia, powodując przeobrażanie się ciała, np. siwienie włosów. Obecnie wiemy, że procesy te nie wyglądają w ten sposób w szczegółach, ale co do głównej koncepcji Miecznikow miał rację. Liczebność, a przede wszystkim skład bakterii zamieszkujących nasz układ pokarmowy, ma ogromne znaczenie nie tylko dla starzenia się organizmu, ale i dla jego prawidłowego funkcjonowania, w tym funkcji obronnych (HONDA i LITTMAN 2016, THAISS



Ryc. 3. Zależność pomiędzy funkcjonowaniem leukocytów a składem i liczebnością mikrobioty, czyli zespołu mikroorganizmów niechorobotwórczych zasiedlających nasz organizm, głównie jelita.

Dojrzewanie, a także starzenie się leukocytów podlega kontroli przez mikrobiotę organizmu. Także aktywacja tych komórek w przypadku infekcji organizmu przez patogeny chorobotwórcze zależy od prawidłowego składu i liczebności mikrobioty. Z drugiej strony, nieprawidłowe rozpoznawanie patogenów przez leukocyty, np. mutacje ich receptorów, osłabia mikrobiotę.

i współaut. 2016) (Ryc. 3). Bakterie obecne w organizmie człowieka w warunkach fizjologicznych, a więc z wyłączeniem bakterii chorobotwórczych, określamy jako mikrobiotę (THAISS i współaut. 2016). Ich nazwa historyczna to flora bakteryjna, jednak nie jest ona obecnie używana, gdyż bakterie nie należą do królestwa roślin, na co wskazywał człon flora (łac. *Flora*, rzymska bogini kwiatów). Szacuje się, że liczebność mikrobioty znacznie przewyższa całkowitą liczbę komórek w naszym organizmie; w powszechnej opinii stosunek ten wynosi 10:1, choć w rzeczywistości wynosi on raczej 1,3:1 (SENDER i współaut. 2016a, b). Niemniej oznacza to, że liczba niechorobotwórczych bakterii w naszym organizmie, zwłaszcza w jelitach, jest ogromna. Najnowsze wyniki badań ucieczyłyby Miecznikowa. Uważa się bowiem, że wymiana sygnałów pomiędzy fagocytami a mikrobiotą nie ogranicza się tylko do zachowania równowagi pomiędzy tolerancją na symbiotyczne bakterie a reakcją obronną na patogeny. U myszy pozbawionych jakichkolwiek mikroorganizmów (ang. germ-free; hodowanych w warunkach wolnych od

drobnoustrojów), odpowiedź immunologiczna jest bowiem całkowicie zmieniona (KHOSRAVI i współaut. 2014). Wynika to z faktu, że dojrzewanie i funkcjonowanie komórek mieloidalnych, w tym makrofagów i neutrofilii, jest kontrolowane przez mikrobiotę (ZHANG i współaut. 2015, DE AGUERO i współaut. 2016, THAISS i współaut. 2016). Przykładowo, wykazano, że cykl życia neutrofilii we krwi zależy od rozpoznania przez ich receptory TLR (typ TLR4) antygenów/składowych mikrobioty, takich jak lipopolisacharyd (LPS, składnik ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych) (ZHANG i współaut. 2015). Jeżeli poprzez terapię antybiotykową usunie się mikrobiotę, to we krwi drastycznie spada liczba starzejących się neutrofilii, ale ich populację można odtworzyć przez podanie LPS. Okazało się także, że brak mikrobioty zmniejsza skutki uboczne toczącej się w organizmie reakcji zapalnej, takie jak uszkodzenia tkanek własnych (ZHANG i współaut. 2015). Starzejące się neutrofile wytwarzają bowiem więcej substancji pro-zapalnych i intensywniej fagocytują niż dojrzałe (ale nie starzejące się) neutrofile, co sprzyja uszko-

dzeniom nie tylko patogenów, ale i własnych komórek. Z drugiej strony, u myszy transgenicznych, niewykazujących ekspresji niektórych z receptorów PRR, skład i liczebność mikrobioty są zaburzone, co sugeruje, że układ odpornościowy wspomaga jej prawidłowy skład i rozwój (VIJAY-KUMAR i współaut. 2010) (Ryc. 3). Miecznikow miał również rację w tym, że istnieją powiązania pomiędzy wykrywaniem substancji odżywczych i patogenów, co wykazano niedawno na poziomie transdukcji sygnałów wewnątrzkomórkowych. Pokazano bowiem, że niektóre receptory TLR (2 i 4) na makrofagach i adipocytach (komórkach tkanki tłuszczowej) mogą wykrywać także lipidy, w tym kwasy tłuszczowe (VENKATESH i współaut. 2014) (Ryc. 2). Co więcej, w sytuacji ograniczonego dostępu do substancji odżywczych, w komórce może nastąpić autofagia (nagroda Nobla w 2016 r.), proces polegający na strawieniu niektórych organelli, co umożliwia uzyskanie dodatkowej energii. Sam wewnątrzkomórkowy mechanizm tego procesu jest bardzo podobny do wewnątrzkomórkowego trawienia po fagocytozie (OCZYPOK i współaut. 2013).

W konsekwencji przekonań Miecznikowa co do roli bakterii w procesie starzenia się, stał się on propagatorem konsumpcji produktów powstających w wyniku fermentacji mleka, na czele z jogurtami (GORDON 2016, TETI i współaut. 2016). Uważał, że zawarte w nich bakterie *Lactobacillus*, zastępując mikrobiotę jelitową, opóźniają proces starzenia. Tak więc, to nie kto inny jak Miecznikow zapoczątkował pozytywną modę na jedzenie jogurtów i przyczynił się do powstania nowej gałęzi przemysłu.

#### DZIEDZICTWO MIECZNIKOWA WSPÓLCZEŚNIE

Powiedzenie „kto pyta, nie błądzi”, można sparafrazować „jeśli nie będziemy pytać, możemy nigdy nie zrozumieć: świata, organizmu, roli danej komórki”. Nie wszystkie teorie Miecznikowa były w pełni poprawne, ale główne koncepcje były właściwe. Zwłaszcza te, związane z procesem fagocytozy, jego rolą w zapaleniu i samą funkcją reakcji zapalnej, której zadaniem jest wyeliminowanie ciał obcych/patogenów i/lub naprawienie tkanek. A jako taki proces, jest to reakcja pożądana i dobroczynna.

Najważniejsze odkrycia Miecznikowa w tym obszarze to:

- wykazanie, że wyspecjalizowane komórki (fagocyty) są odpowiedzialne za funkcje obronne organizmu;

- opisanie, że fagocyty pochłaniają nie tylko żywe patogeny, ale także martwe komórki (obce i własne) oraz komórki uszko-

dzone (własne) i starzejące się (własne), a także niekomórkowe ciała obce (drobne cząsteczki);

- rozróżnienie (wstępne) różnych grup fagocytów, w tym makrofagów i neutrofilii, jako osobnych typów komórek;

- zrozumienie, że w czasie zapalenia dochodzi do napływu fagocytów do miejsca zapalenia i jest to proces aktywny. W tym, zrozumienie sekwencji zdarzeń, od diapedezy (opuszczania przez leukocyty naczyń krwionośnych), poprzez chemotaksję (przemieszczanie się leukocytów poza naczyniami do miejsca zapalenia);

- wstępny opis procesów zabijania wewnątrzkomórkowego, następującego w trakcie fagocytozy, w tym opis zaangażowania enzymów (które nazywał cytaзами) oraz zmian pH (zakwaszenie).

W tym świetle, w pełni zrozumiałym jest, że Miecznikow jest uważany za naukowca, który dał podwaliny współczesnej immunologii, a którego odkrycia weszły na stałe do podręczników biologii i medycyny.

#### PODZIĘKOWANIA

Praca powstała dzięki wsparciu finansowemu Narodowego Centrum Nauki w ramach grantu 2014/15/B/NZ6/02519 (Opus 8).

#### Streszczenie

Obserwacja zjawiska, bez jego (prawidłowej) interpretacji, bez zrozumienia i eksperymentalnego potwierdzenia jego mechanizmów, pozostaje jedynie obserwacją. Fagocytozę, jako proces internalizacji cząsteczek przez komórki, opisano przed Miecznikowem, ale to on pierwszy zrozumiał jaka jest rola tego zjawiska w obronie organizmu przed patogenami, to on pierwszy zrozumiał jak ten proces ewoluował, od roli w odżywianiu prostych organizmów, do roli w eliminacji ciał obcych lub uszkodzonych, u organizmów stojących wyżej w ewolucji. Choć mylnie przypisuje się Miecznikowowi odkrycie fagocytozy, to jest on w istocie pierwszym, który to zjawisko zrozumiał i zdefiniował. W jego własnych słowach: „W odporności, czy to wrodzonej czy nabytej, jest tylko jeden stały element i jest to fagocytoza. Znaczeniu tego faktu, i jego implikacji, nie można już dłużej zaprzeczać”. Po dekadach dominacji badań nad odpowiedzią nabytą, obecnie oba typy odporności uważa się za równie ważne. Teoria Miecznikowa o zaangażowaniu wyspecjalizowanych komórek w odpowiedź immunologiczną, wraz z badaniami niemieckich badaczy, na czele z Pauliem Ehrlichem, o humoralnym charakterze odpowiedzi obronnej organizmu, dały podwaliny współczesnej immunologii. Ale badania Miecznikowa to nie tylko zjawisko fagocytozy. Zajmował się on również badaniami nad szczepionkami, a także był jednym z pierwszych, który zrozumiał znaczenie mikrobioty dla prawidłowego funkcjonowania organizmu, w tym jego odpowiedzi immunologicznej. Dziedzictwo Illii Miecznikowa nie straciło więc nic na swojej wartości, a wręcz wiele jego odkryć zaczyna być docenianych dopiero współcześnie.



## LITERATURA

- BOETTCHER S., MANZ M. G., 2017. *Regulation of Inflammation- and Infection-Driven Hematopoiesis*. Trends Immunol. doi: 10.1016/j.it.2017.1001.1004.
- DARWIN K., 2009. *O powstawaniu gatunków drogą doboru naturalnego*. Wydawnictwo Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa.
- DE AGUERO M. G., GANAL-VONARBURG S. C., FUHRER T., RUPP S., UCHIMURA Y., LI H., STEINERT A., HEIKENWALDER M., HAPFELMEIER S., SAUER U., MCCOY K. D., MACPHERSON A. J., 2016. *The maternal microbiota drives early postnatal innate immune development*. Science 351, 1296-1301.
- GILBERT S. F., 2003. *The morphogenesis of evolutionary developmental biology*. Int. J. Dev. Biol. 47, 467-477.
- GORDON S., 2016. *Elie Metchnikoff, the man and the myth*. J. Innate Immun. 8, 223-227.
- HONDA K., LITTMAN D. R., 2016. *The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease*. Nature 535, 75-84.
- JURA C., 2002. *Bezkręgowce*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- JURA C., KLAG J., 2005. *Podstawy embriologii zwierząt i człowieka*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- KAUFMANN S. H., 2008. *Immunology's foundation: the 100-year anniversary of the Nobel Prize to Paul Ehrlich and Elie Metchnikoff*. Nat. Immunol. 9, 705-712.
- KAWAI T., AKIRA S., 2011. *Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity*. Immunity 34, 637-650.
- KHOSRAVI A., YANEZ A., PRICE J. G., CHOW A., MERAD M., GOODRIDGE H. S., MAZMANIAN S. K., 2014. *Gut microbiota promote hematopoiesis to control bacterial infection*. Cell Host Microbe 15, 374-381.
- LINDSAY S. A., WASSERMAN S. A., 2014. *Conventional and non-conventional Drosophila Toll signaling*. Develop. Comp. Immunol. 42, 16-24.
- MEDINA C. B., RAVICHANDRAN K. S., 2016. *Do not let death do us part: 'find-me' signals in communication between dying cells and the phagocytes*. Cell Death Differ. 23, 979-989.
- MEDZHITOV R., 2007. *Recognition of microorganisms and activation of the immune response*. Nature 449, 819-826.
- METCHNIKOFF E., 1905. *Immunity in Infective Diseases (Binnie FG, transl)*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- METCHNIKOFF E., 2016. *My stay in Messina (Memories of the past)*. [W:] "Elie Metchnikoff, the Man and the Myth" by Siamon Gordon (translation from the French by Claudine Neyen). J. Innate Immun. 8, [https://www.karger.com/ProdukteDB/miscArchiv/000/443/331/000443331\\_sm.html](https://www.karger.com/ProdukteDB/miscArchiv/000/443/331/000443331_sm.html).
- METCHNIKOFF O., 1921. *Life of Elie Metchnikoff, 1845-1916*. Houghton Mifflin Company, Boston.
- OCZYPOK E. A., OURY T. D., CHU C. T., 2013. *It's a cell-eat-cell world: autophagy and phagocytosis*. Am. J. Pathol. 182, 612-622.
- RIDER P., VORONOV E., DINARELLO C. A., APTE R. N., COHEN I., 2017. *Alarmins: feel the stress*. J. Immunol. 198, 1395-1402.
- ROCHE P. A., FURUTA K., 2015. *The ins and outs of MHC class II-mediated antigen processing and presentation*. Nat. Rev. Immunol. 15, 203-216.
- SCHMIDT A., WEBER O. F., 2006. *In memoriam of Rudolf Virchow: a historical retrospective including aspects of inflammation, infection and neoplasia*. Contrib. Microbiol. 13, 1-15.
- SENDER R., FUCHS S., MILO R., 2016a. *Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans*. Cell 164, 337-340.
- SENDER R., FUCHS S., MILO R., 2016b. *Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body*. PLoS Biol. 14, e1002533.
- STOSSEL T., 1999. *The early history of phagocytosis*. [W] *Advances in cell and molecular biology of membranes and organelles*. JAI Press, 3-18.
- TAUBER A. I., 1992. *The birth of immunology. III. The fate of the phagocytosis theory*. Cell Immunol. 139, 505-530.
- TAUBER A. I., CHERNYAK L., 1989. *The birth of immunology. II. Metchnikoff and his critics*. Cell Immunol. 121, 447-473.
- TETI G., BIONDO C., BENINATI C., 2016. *The phagocyte, Metchnikoff, and the Foundation of Immunology*. Microbiol. Spectr. 4, MCHD-0009-2015.
- THAISS C. A., ZMORA N., LEVY M., ELINAV E., 2016. *The microbiome and innate immunity*. Nature 535, 65-74.
- TUFT L., 1934. *The effect of the reticulo-endothelial cell blockade upon antibody formation in rabbits*. J. Immunol. 27, 63-80.
- VENKATESH M., MUKHERJEE S., WANG H. W., LI H., SUN K., BENECHET A. P., QIU Z. J., MAHER L., REDINBO M. R., PHILLIPS R. S., FLEET J. C., KORTAGERE S., MUKHERJEE P., FASANO A., LE VEN J., NICHOLSON J. K., DUMAS M. E., KHANNA K. M., MANI S., 2014. *Symbiotic bacterial metabolites regulate gastrointestinal barrier function via the xenobiotic sensor PXR and Toll-like receptor 4*. Immunity 41, 296-310.
- VIJAY-KUMAR M., AITKEN J. D., CARVALHO F. A., CULLENDER T. C., MWANGI S., SRINIVASAN S., SITARAMAN S. V., KNIGHT R., LEY R. E., GEWIRTZ A. T., 2010. *Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5*. Science 328, 228-231.
- WRIGHT A., DOUGLAS S., SANDERSON J., 1903. *An experimental investigation of the rôle of the blood fluids in connection with phagocytosis*. Proc. R. Soc. Lond. 72, 357-370.
- ZHANG D., CHEN G., MANWANI D., MORTHA A., XU C., FAITH J. J., BURK R. D., KUNISAKI Y., JANG J. E., SCHEIERMANN C., MERAD M., FRENETTE P. S., 2015. *Neutrophil ageing is regulated by the microbiome*. Nature 525, 528-532.

**KOSMOS Vol. 66, 4, 531–540, 2017**

ELŻBIETA KOŁACZKOWSKA

*Department of Evolutionary Immunology and Biomedical Research, Institute of Zoology, Jagiellonian University, Gronostajowa 9,*

*30-387 Krakow, E-mail: [ela.kolaczowska@uj.edu.pl](mailto:ela.kolaczowska@uj.edu.pl)*

METCHNIKOFF'S LEGACY: ON THE 100TH ANNIVERSARY OF HIS DEATH

Summary

Observation of a given phenomenon without its (correct) interpretation, without its comprehension and empirical verification of its mechanism(s), remains only an observation. Phagocytosis, a process of particle/bodies internalization by cells, was described before Metchnikoff, but he was the first who realized a role of the process for defense from pathogens. In fact, he understood the evolution of the process from its role in nutrition (simple organisms) to elimination of foreign bodies/alterred cells (evolutionary higher animals). After decades of dominance of studies on adaptive immunity, nowadays the innate immunity is considered equally important. Metchnikoff's theory on cellular immunity together with studies of Paul Ehrlich, on its humoral aspect, paved the way for contemporary immunology. But Metchnikoff's heritage is not narrowed to phagocytosis only. He also worked on vaccination and was among the first who understood significance of microbiota in immunity. Metchnikoff's legacy stands strong and in fact some of his findings are acknowledged only today.

Key words: macrophages, microbiota, Metchnikoff, neutrophils, phagocytes, phagocytosis, vaccine