

ANTONI SCHOLLENBERGER, ADA BAKALARSKA

Limfocyty T i B oraz ich rola w procesach odpornościowych

Z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR w Warszawie

Zrozumienie mechanizmów odpornościowych w organizmie jest obecnie niemożliwe bez uwzględnienia roli limfocytów. Jak wykazały badania ostatnich lat, limfocyty biorą udział we wszystkich znanych typach reakcji immunologicznych. Poznanie zróżnicowania czynnościowego populacji tych komórek pozwoliło podzielić je na pełniące odmienne funkcje, limfocyty T i limfocyty B. Terminy te pojawiają się również coraz częściej w piśmiennictwie weterynaryjnym. Celem niniejszego opracowania będzie więc przedstawienie obecnego stanu wiedzy na temat roli tkanki limfoidalnej w organizmie, w oparciu o prace monograficzne (1, 2, 3, 4, 5, 6).

W organizmie współistnieją dwa systemy immunologiczne, wywodzące się z pierwotnych komórek szpiku czyli komórek pnia (stem cells) i pozostające pod wpływem tak zwanych nadrzędnych narządów limfatycznych. Jeden z tych systemów, pozostający pod bezpośrednim wpływem grasicy jest odpowiedzialny za kształtowanie się odporności komórkowej, podczas gdy drugi, zależny od torby Fabrycjusza u ptaków lub jej odpowiedników u innych zwierząt, kieruje odpornością humoralną. Grasicca i torba Fabrycjusza są więc nadrzędnymi narządami limfatycznymi, w których prekursorzy komórek limfatycznych powstałe w szpiku nabywają odmienne właściwości. Narządy te nadają limfocytom swoiste piętno, decydujące o ich dalszych losach w ustroju. Zrozumienie roli tych narządów w kształtowaniu się mechanizmów obronnych jest możliwe po prześledzeniu ich rozwoju ontogenetycznego u ptaków i ssaków.

Komórki limfoidalne, biorące udział w kolejnych etapach immunogenezy, noszą nazwę komórek immunologicznie kompetentnych. Jak już poprzednio wspomniano, wywodzą się one ze szpiku. Komórki macierzyste szpiku dają początek wszystkim komórkom krwi a ich cechą charakterystyczną jest zdolność do szybkiego i stałego rozplemu. Jeden klon tych komórek może dać początek zarówno erytrocytom, granulocytom i megakariocytom, jak i komórkom limfoidalnym. Przypuszcza się, że multipotentne komórki macierzyste różnicują się na poszczególne linie komórek potomnych pod wpływem mikrośrodowiska narządów, do których migrują.

U kurcząt pierwsze limfocyty pojawiają się w grasicy. Powstają one już siódmego dnia zy-

cia zarodkowego z osiedlających się w niej komórek macierzystych. Wynikiem intensywnej proliferacji i dojrzewania tych komórek jest pojawienie się w grasicy znacznej ilości limfocytów. Limfocyty powstałe w grasicy migrują następnie do obwodowych narządów limfatycznych, czyli śledziony, migdałków jelitowych i węzłów chłonnych oraz do szpiku. Komórki te przyjęto nazywać limfocytami T od *thymus*, dla podkreślenia miejsca ich pochodzenia. Odpowiedzialne są one za komórkowe reakcje immunologiczne, takie jak nadwrażliwość późna, reakcje odrzucania przeszczepu czy odporność przeciwko niektórym zakażeniom wewnątrzkomórkowym. U zarodka kury grasicca, będąc źródłem limfocytów T, migrujących do obwodowych narządów limfatycznych spełnia rolę centralnego narządu limfatycznego. U dorosłych osobników, jak wskazuje na to pojawienie się w niej po stymulacji komórek plazmatycznych oraz obecność komórek, pochodzących z torby Fabrycjusza, grasicca może jednak pełnić również rolę obwodowego narządu limfatycznego.

Torba Fabrycjusza jest drugim narządem limfatycznym rozwijającym się w zarodku kury. Powstaje ona w piątym dniu rozwoju zarodkowego na drodze wpuklenia się grzbietowej ściany kloaki. Około 12 dnia inkubacji w wyniku wzrostu aktywności mitotycznej komórek nabłonka płaskiego tworzą się swego rodzaju grudki. W powiększających się wypukłościach już 13 dnia inkubacji można zauważyć duże, zasadochłonne komórki. Najprawdopodobniej wywodzą się one z osiadłych tu komórek macierzystych woreczka żółtkowego. U klujących się kurcząt każda grudka otoczona jest, oddzielną od niej błoną podstawową, warstwą korową, składającą się z dużej liczby limfocytów. Przypuszczalnie, chociaż nie ma na to bezpośrednich dowodów, komórki grasicy i torby Fabrycjusza pochodzą z tych samych komórek macierzystych. Komórki wywodzące się z torby Fabrycjusza są prekursorami komórek plazmatycznych, wytwarzających immunoglobuliny. Tak więc torba Fabrycjusza jest odpowiedzialna za powstanie odporności humoralnej u ptaków. Bursektomia przeprowadzona w 17 dniu życia zarodkowego powoduje zwykle całkowitą agammaglobulinemię oraz brak ośrodków rozmnażania i komórek plazmatycznych w węzłach chłonnych. W komórkach bursalnych 14-dniowych zarodków udaje się wykazać obecność

immunoglobulin M (IgM). Globuliny produkowane w okresie zarodkowym nie są uwalniane z komórek, lecz wiązane przez błonę komórkową jako tak zwane receptory albo przeciwciała rozpoznające. Komórki wytwarzające immunoglobuliny G (IgG) pojawiają się również w torbie Fabrycjusza, jednak dopiero 7 dnia po wykluciu się pisklęcia. Ponieważ w torbie Fabrycjusza udaje się wykazać obecność komórek syntetyzujących jednocześnie IgM i IgG, przypuszcza się, że w rozwoju ontogenetycznym ptaków przejście do wytwarzania immunoglobulin klasy G odbywa się w obrębie tego narządu. Tak więc u kurcząt poddanych bursektomii w okresie zarodkowym nie dochodzi do rozpoczęcia syntezy IgG po wykluciu. Synteza immunoglobulin w zarodku kury nie jest wynikiem stymulującego działania egzogennych substancji antygenowych, lecz następstwem naturalnego różnicowania się komórek bursalnych.

Komórki wywodzące się z torby Fabrycjusza i posiadające receptory immunoglobulinowe na swej powierzchni określa się mianem limfocytów B. Po przejściu do ośrodków rozmnażania grudek chłonnych śledziony i węzłów chłonnych, komórki te ulegają dalszym procesom różnicowania, stając się ostatecznie komórkami plazmatycznymi. Receptory rozpoznające limfocytów B warunkują wytwarzanie przez nie immunoglobulin określonej klasy i swoistości jedynie po zadziałaniu komplementarnego antygeny. Komórki te można więc w narządach wewnętrznych ptaków dorosłych odróżnić od innych limfocytów metodą immunofluorescencji, podczas gdy u ptaków poddanych bursektomii w okresie embrionalnym nie udaje się wykazać obecności immunoglobulin na powierzchni limfocytów.

Znajomość immunogenezy u ssaków oparta jest na danych uzyskanych w badaniach wykonanych na myszach. Zakłada się, że w ogólnych zarysach procesy te przebiegają podobnie zarówno u człowieka, jak i u innych ssaków.

U myszy i większości ssaków pierwszym powstającym narządem limfoidalnym jest, podobnie jak u ptaków, grasicca. Komórki macierzyste, pochodzące bezpośrednio z woreczka żółtkowego lub z wątroby, wykazującej wówczas wzmózoną aktywność hemopoetyczną, zaczynają osiedlać się w grasicy myszy 11 dnia życia zarodkowego. Poczynając od tego momentu można w niej wykazać obecność dużych, zasadochłonnych komórek, podobnych do stwierdzanych w grasicy i torbie Fabrycjusza u kurcząt. Proces przemiany tych komórek w małe limfocyty oprócz widocznych zmian morfologicznych, pociąga za sobą zmianę struktury antygenowej ich powierzchni. Szczególnie dokładnie poznano zmiany alloantygenów powierzchniowych oznaczanych symbolami Θ (teta) i TL (*thymus leukemia* — po raz pierwszy stwierdzony w tymocytach myszy białaczkowych). Duże zasadochłonne komórki macierzyste, po-

chodzące z grasicy 14-dniowych embrionów są jeszcze pozbawione tych antygenów, lecz już po 4 dniach większość komórek, odpowiadających morfologicznie średnim i małym limfocytom, reaguje z surowicami skierowanymi przeciwko antygenom Θ i TL. Proces ten uważany jest za pierwszy etap dojrzewania limfocytów grasiczych a komórki, posiadające na swojej powierzchni antygeny Θ i TL określane są mianem tymocytów. W następnym etapie różnicowania się, część tymocytów opuszcza grasicę i wędruje do obwodowych tkanek i narządów limfatycznych. Komórki te określane są jako limfocyty T albo limfocyty grasiczo-pochodne. Przejście to związane jest ze zmianami na powierzchni komórek, gdyż limfocyty T wykazują zmniejszenie ilości alloantygeny w porównaniu do tymocytów. Przypuszcza się, że proces różnicowania się tymocytów do limfocytów T ma miejsce w grasicy, chociaż nie można wykluczyć, że istotnym jest również humoralne oddziaływanie grasicy na dojrzewanie limfocytów, osiedlających się w obwodowych narządach limfatycznych.

Populacja komórek, pozostających w grasicy nie jest jednorodna i można wśród nich wyróżnić niewielką, bo stanowiącą jedynie około 3%, ilość tymocytów opornych na działanie kortykosteroidów i napromienianie. Pozbawione są one antygeny TL i stwierdza się je głównie w części rdzennej grasicy. Komórki te współdziałają w procesie wytwarzania przeciwciał i są czynne w reakcjach odrzucania przeszczepu.

Grasiczo-pochodne limfocyty ulegają dalszemu różnicowaniu, w wyniku którego powstają dwie klasy komórek T. Limfocyty określane terminem T_1 , zdolne wiązać obce substancje antygenowe znajdują się głównie w śledzionie i grasicy, natomiast komórki T_2 stanowią populację limfocytów przechodzących z układu limfatycznego do krwi i z powrotem.

Dotychczas nie wiadomo, który narząd spełnia rolę torby Fabrycjusza i jest odpowiedzialny za różnicowanie się i dojrzewanie populacji limfocytów grasiczo-niezależnych u ssaków. Ponieważ jednak limfocyty te, będąc prekursorami komórek wytwarzających przeciwciała, pełnią podobne funkcje jak u kur, przyjęto określać je mianem limfocytów B. Przypuszcza się, że u ssaków brak jest jednego odpowiednika torby Fabrycjusza i funkcje tego narządu może spełniać tkanka hemopoetyczna oraz tkanka limfatyczna przewodu pokarmowego. Długi czas sądzono, że rolę torby Fabrycjusza u ssaków pełnią kępki Peyera, wyrostek robaczkowy lub migdałki. Ostatnie doniesienia zdają się jednak przemawiać za tym, iż głównym źródłem limfocytów B w okresie życia płodowego jest wątroba (7).

W przeciwieństwie do ptaków u ssaków nie istnieje wyraźne rozgraniczenie funkcji obu układów limfocytów i dla zapoczątkowania wytwarzania przeciwciał w stosunku do większości antygenów konieczne jest współdziałanie komó-

rek T i B. W obwodowych narządach limfatycznych widoczny jest wyraźny podział na strefę grasiczo-zależną, zasiedloną przez limfocyty T i strefę grasiczo-niezależną, zawierającą limfocyty B. Komórki T zlokalizowane są w warstwie korowo-rdzennej węzłów chłonnych; wokół tętniczek centralnych śledziony i między grudkami tkanki limfatycznej jelit. Natomiast strefy grasiczo-niezależne, zasiedlone przez limfocyty B, obejmują centra rozrodcze i część rdzenną węzłów chłonnych, grudki limfatyczne i część obwodową miazgi białej śledziony oraz grudki tkanki limfatycznej jelit.

Znaczna część populacji limfocytów ma zdolność przechodzenia z krwi poprzez żyłki pozawłosowate w strefie przykorowej węzłów chłonnych, kępek Peyera oraz obszarów wokół tętniczek śledziony, do tkanki limfatycznej. Stąd, odprowadzającymi naczyniami chłonnymi, dostają się one do przewodu piersiowego a następnie do krwi. Wykazano, że ponad 90% limfocytów recyrkulujących stanowią limfocyty T. Komórki recyrkulujące stanowią przeważającą część, bo około 90%, populacji limfocytów stwierdzanych w przewodzie piersiowym. Mniejsza ich ilość znajduje się w węzłach chłonnych, krwi, śledzionie i szpiku, a najmniej w grasicy. W porównaniu do innych limfocytów, komórki te żyją bardzo długo. Po osiedleniu się w warstwie przykorowej węzłów chłonnych mogą one w stanie spoczynku przetrwać nawet kilka lat. Dlatego też, określa się je również jako limfocyty „długo żyjące”. Inne limfocyty, żyjące jedynie kilka dni lub tydzień, określane są mianem „krótko żyjących”. Długo żyjące limfocyty T, zwane także komórkami pamięci immunologicznej, ulegając transformacji blastycznej w przebiegu wtórnej odpowiedzi immunologicznej, znacznie przyspieszają wystąpienie reakcji komórkowej organizmu po powtórnym zetknięciu się z tym samym antygenem.

Proces rozpoznawania obcych dla organizmu substancji antygenowych poprzedzony jest fagocytowaniem ich przez makrofagi. We wnętrzu makrofagów materiał antygenowy ulega częściowemu strawieniu, które pozwala odsłonić nieuszkodzone determinanty antygenowe. Antygen zostaje ponadto przetworzony do postaci bardziej aktywnej, składającej się z przenośnikowego RNA makrofaga i determinant antygenowych. Dopiero tak przygotowany materiał antygenowy jest przekazywany do rozpoznania limfocytom obu populacji.

Według obecnych poglądów dla zapoczątkowania humoralnej i komórkowej odpowiedzi immunologicznej, konieczne jest połączenie się determinant antygenowych z receptorami limfocytów B lub receptorami powierzchni limfocytów T. Wiadomo, że receptory komórek B są immunoglobulinami, brak jest natomiast zgodności co do charakteru tych receptorów na powierzchni limfocytów T. Przeważa jednak opinia, że nie są one klasycznymi immunoglobuli-

nami, lecz odpowiadają raczej antygenom zgodności tkankowej, kontrolowanym przez geny odpowiedzi immunologicznej (geny Ir). Sugeruje się ponadto, że różnice w procesie rozpoznawania związane z odmiennym charakterem receptorów obu populacji rzutują na mechanizm reprezentowanych przez nie reakcji obronnych.

Limfocyty T przy pierwszym zetknięciu się z substancjami antygenowymi, wywołującymi reakcje obronne typu komórkowego i określanymi jako antygeny grasiczo-zależne, ulegają intensywnej proliferacji. Powstałe w jej wyniku komórki potomne mogą bezpośrednio brać udział w reakcjach obronnych lub przetrwać jako recyrkulujące komórki pamięci immunologicznej. Po następnym zetknięciu się tych komórek z substancją antygenową o identycznych determinantach jak ta, która wywołała początkowe różnicowanie się, ulegają ponownie transformacji blastycznej. Komórki te *in vitro* podatne są również na działanie niespecyficznego mitogenu takich jak fitohemaglutynina (PHA), będąca mukopolisacharydem izolowanym z ziaren czerwonej fasoli. Cecha ta pozwala na odróżnienie limfocytów T od limfocytów B.

Aktywacja receptorów na powierzchni limfocytów T, spowodowana połączeniem się z odpowiednim antygenem, pociąga za sobą szereg zmian biochemicznych wewnątrz komórek. W następstwie zwiększenia syntezy kwasów nukleinowych i białek, aktywowane limfocyty przybierają postać komórek młodocianych a następnie intensywnie się dzielą. Mimo, że podczas procesu transformacji blastycznej dochodzi do znacznego zwiększenia syntezy białek, nie można stwierdzić wzrostu syntezy immunoglobulin w limfocytach T. Stanowi to potwierdzenie, że reakcje typu komórkowego zachodzą niezależnie od przeciwciał.

Mechanizm obronnego działania grasiczo-zależnego systemu immunologicznego, związany jest z wytwarzaniem przez aktywowane limfocyty T w obecności swoistego antygeny, szeregu czynnych substancji. Jedną z nich jest, znajdujący się w uczulonych komórkach, czynnik przenoszący (TF), który przekazuje zdolność do transformacji i proliferacji na inne limfocyty, w tym również na komórki innego osobnika tego samego gatunku. Wraz z tym czynnikiem przenoszona jest informacja o rodzaju determinant antygenowych, z którymi zetknęły się wytwarzające go komórki. Podobnymi właściwościami obdarzony jest, uwalniany z komórek do środowiska, czynnik transformujący (LTA), który oddziałuje na sąsiadujące z nimi limfocyty. Stymulowane limfocyty T wytwarzają ponadto substancję określaną mianem limfotoksyny (LT), która jest zdolna do hamowania syntezy białek i RNA obcych antygenowo komórek a także bezpośredniego niszczenia komórek alloprzeszczepów skóry i narządów. Równie ważnym czynnikiem, ułatwiającym eli-

minację obcych substancji antygenowych, jest czynnik hamujący migrację makrofagów (MIF). Powoduje on gromadzenie się i aktywację makrofagów w miejscu interakcji antygeny z limfocytami T, co odgrywa zasadniczą rolę w zwalczaniu infekcji wewnątrzkomórkowych wywołanych przez niektóre bakterie i wirusy oraz zakażeń grzybiczych.

Działanie systemu immunologicznego, niezależnego bezpośrednio od grasicy związane jest z produkcją swoistych przeciwciał przez aktywowane limfocyty B. U ssaków nie da się odzielić układu limfocytów T od grasiczo-niezależnego systemu limfocytów B, będących prekursorami komórek plazmatycznych, wytwarzających przeciwciała. Odpowiedź humoralna na większość substancji antygenowych uwarunkowana jest uprzednim przygotowaniem antygeny przez układ makrofagów i komórek T. Jedynie nieliczne antygeny takie jak na przykład wielocukrowce pneumokokowe, mogą bezpośrednio spowodować proliferację limfocytów B. Obdarzone długim okresem przeżycia, recyrkulujące limfocyty T jako pierwsze stykają się i unieruchamiają na swej powierzchni obce antygeny. W strefach grasiczo-niezależnych węzłów chłonnych i śledziony dochodzi do zetknięcia się tych limfocytów ze znacznie mniej ruchliwymi limfocytami B. Związanie na powierzchni komórek T, obcych substancji antygenowych umożliwia rozpoznanie ich determinant przez komórki B. Pobudzenie receptorów na powierzchni limfocytów B, zapoczątkowuje proces ich różnicowania się i proliferacji. W wyniku licznych podziałów powstaje populacja komórek plazmatycznych, zdolnych wytwarzać swoi-

ste przeciwciała. Pierwszy kontakt z antygenem prowadzi do wytwarzania przez komórki plazmatyczne przeciwciał, należących do klasy IgM. Swoiste immunoglobuliny, należące do IgG wytwarzane są dopiero w późniejszej fazie odpowiedzi immunologicznej. Połączenie się przeciwciał z odpowiednimi antygenami powoduje wystąpienie ogólnie znanych reakcji aglutynacji, precypitacji, opsonizacji lub wiązania dopełniacza. Należy jednak podkreślić, że reakcje te nie prowadzą bezpośrednio do eliminacji obcych substancji antygenowych. Obecnie nastąpił bowiem powrót do dawnych koncepcji, traktujących fagocytozę jako główny mechanizm obronny organizmu. W świetle tego, rola wysoco swoistego systemu humoralnego polega na ułatwieniu fagocytozy poprzez opsonizację, podczas gdy system komórkowy odpowiedzialny jest za proces rozpoznania obcych substancji antygenowych przez komórki pamięci immunologicznej.

Piśmiennictwo

1. Craddock C. G., Longmire R., McMillan R.: New Engl. J. Med. 285, 324, 1971.
2. Craddock C. G., Longmire R., McMillan R.: New Engl. J. Med. 285, 378, 1971.
3. Dąbrowski M.: Post. Hig. 27, 59, 1973.
4. Greaves M. F., Owen J. J. T.: T and B lymphocytes: origins, properties and roles in immune responses, Excerpta Medica, Amsterdam, American Elsevier Publishing Co., Inc. New York, 1974.
5. Jankovic B. D., Isakovic K. edit.: Microenvironmental aspects of immunity, Plenum Press, New York, London, 1973.
6. Owen J. J. T.: w Ontogeny of acquired immunity, A Ciba Foundation Symposium, Elsevier, Excerpta Medica, North-Holland, 1972.
7. Owen J. J. T., Cooper M. D., Raff M. C.: Nature, Lond. 249, 363, 1974.

Adres autora: dr Antoni Schollenberger, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa.

FELIKS PIOTROWSKI, KRYSZYNA MILKO

Utajona demodekoza psów

Z Zakładu Zoologii Instytutu Biologii Uniwersytetu Gdańskiego

Zainteresowanych zagadnieniami epizootologii w odniesieniu do demodekozy psów zastanowić musi fakt, że w dotychczasowych opracowaniach niemal całkowicie brak szczegółowej informacji w formie wskaźników ekstensywności *Demodex canis* i że zazwyczaj podaje się jedynie odsetek przypadków objawowych. Liczba ta ma co prawda pewną wartość epizootologiczną, jednak nie obrazuje rzeczywistego stanu liczebności pasożytów w badanej populacji. Tak np. w Polsce Stankiewicz i wsp. (11) w oparciu o ogromny materiał ponad 38,5 tys. psów zbadanych w ciągu 6 lat stwierdzili klinicznie demodekozę u 0,77% psów. Analogicznie w Jugosławii Vuković (14) w ciągu 6 lat zbadał ponad 1500 psów i stwierdził objawową demodekozę u 0,23% psów. Są to wskaźniki

zastanawiająco niskie, jeżeli rozpatrzyć je z punktu widzenia możliwości kontynuowania gatunku pasożyta: w przedstawionych badaniach co 130 lub nawet co 400 pies wykazywał demodekozę i jeżeli by wyłącznie te osobniki były siedliskiem pasożytów, to możliwość ekspansji roztocza na nowe osobniki żywicielskie, wymagająca przecież ich bezpośredniego kontaktu, kształtowałaby się raczej niepomyślnie.

Nasuwa się przeto przypuszczenie, że roztocz jest reprezentowany w populacji żywicielskiej znacznie liczniej. Myśl ta znajduje oparcie również w wynikach uzyskanych przez Koutza i wsp. (5), którzy znaleźli *D. canis* u 52,9% klinicznie zdrowych psów w Ohio. Wynikająca stąd dysproporcja między częstotliwością przypadków demodekozy objawowej i bezobjawo-