Odporność wrodzona przeciw chorobom zakaźnym ze szczególnym uwzględnieniem świń

ZYGMUNT PEJSAK, MARIAN TRUSZCZYŃSKI*, KAZIMIERZ TARASIUK

Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR, al. Adama Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

*ul. Kaniowczyków 6, 24-100 Puławy

Otrzymano 18.11.2019

Zaakceptowano 20.12.2019

Pejsak Z., Truszczyński M., Tarasiuk K.

Innate immunity against infectious diseases, particularly in swine

Summary

The importance of innate defense mechanisms especially referring to swine, was characterized. Physical, chemical and microbial barriers were mentioned. The role of cells was underlined in controlling infection by phagocytosis without earlier immunisation by antigens and only depending on the genome of the born animal. The two main types of phagocytic cells were evaluated in antiinfectious activity: a) granular leucocytes, including neutrophils, basophils, eosinophils and mast cells, b) mononuclear phagocytes. These include blood circulating monocytes and macrophages. It was stated that natural killer cells belonging also to innate immune system can kill bacteria and viruses participating as etiologic agents in infectious diseases. Another group of innate immune factors, not cells but molecules, are creating defensins being host defense peptides. The complement mediates the inflammatory response, controlling bacterial infections. The following antiinfectious activity is exerted by Toll-like receptors. The presented cytokines are protein or glycoprotein molecules secreted by cells. They participate in intercellular and intracellular signalling.

Keywords: innate defense mechanisms, cells, phagocytosis, innate immunofactors

Polskojęzyczne piśmiennictwo dotyczące przeciwzakaźnej odporności wrodzonej (innate immunity) u zwierząt, w tym u świń, nie jest, w przeciwieństwie do odporności nabywanej, przy udziale antygenów (acquired/adaptive immunity) wystarczające, zwłaszcza wobec rosnącego w skali międzynarodowej znaczenia tej tematyki oraz apeli WHO, OIE i FAO o maksymalne ograniczenie antybiotyków w praktyce lekarsko-weterynaryjnej. Potwierdzają to wystąpienia na 50. Spotkaniu Amerykańskiego Zrzeszenia Specjalistów Chorób Świń w marcu 2019 r. w Orlando (USA) (1) oraz dane zawarte w najnowszym 11. wydaniu dzieła wieloautorskiego Diseases of Swine, zwłaszcza w rozdziale „Immune System” (3).

W nawiązaniu do powyższego, celem niniejszego artykułu jest przedstawienie wymienionej w tytule tematyki przede wszystkim zgodnie z cytowanymi wyżej autorami.

Wrodzone mechanizmy obronne przeciw infekcji i chorobie zakaźnej występują u nowo narodzonych zwierząt zgodnie z posiadanym genomem. Nie wymagają one dla ekspresji odporności przeciwzakaźnej uprzedniej ekspozycji zwierzęcia na kontakt ze znajdującym się w środowisku przebywania zwierzęcia

antygenem lub antygenem zawartym w szczepionce. Nie dysponują, przeciwnie niż ma to miejsce w przypadku odporności nabywanej po urodzeniu, pamięcią, która w odporności nabytej, określanej także jako odporność swoista, po ponownym zetknięciu się z tym antygenem, ujawnia się bardziej intensywną produkcją swoistych przeciwciał lub fagocytozą chorobotwórczych bakterii albo komórek zakażonych tym samym wirusem.

Elementami przeciwinfekcyjnej odporności wrodzonej są bariery fizyczne, chemiczne i mikrobiologiczne organizmu. Stanowią je komórki naskórka i nabłonka (epitelialne), układu pokarmowego, oddechowego i moczopłciowego. Do tej grupy czynników odporności wrodzonej zalicza się również bakteriobójcze działanie kwasów tłuszczowych komórek zwierzęcych oraz normalną florę bakteryjną, w ramach konkurencji eliminującą w różnym stopniu florę chorobotwórczą. Znaczenie przeciwinfekcyjne mają dodatkowo warstwa śluzu na powierzchni wyżej wymienionych układów organizmu zwierzęcia, niskie pH niektórych miejsc organizmu, żółć i liczne enzymy.

Ważną funkcję bariery przeciwzakaźnej w odporności wrodzonej spełnia fagocytoza, funkcjonująca

ze swej istoty, a nie jako właściwość związana ze swoistym uodpornieniem zwierzęcia, przeciw jednemu patogenowi, określonemu wirusowi lub bakterii. W odporności wrodzonej rozróżnia się dwie grupy fagocytów. Do pierwszej należą leukocyty, zwane też granulocytami, w tym neutrofile, bazofile i eozynofile oraz komórki tuczne (mast cells). Drugą grupę fagocytów stanowią mononuklearne (jednojądrzaste) fagocyty. Obejmują one krążące we krwi monocyty i tkankowe makrofagi (5, 8).

Granulocyty (leukocyty)

Neutrofile (polimorfonuklearne neutrofile, czyli wielojądrzaste neutrofile – PMNy) wytwarzane w szpiku kostnym, przekazywane są do krwiobiegu; okres ich półtrwania wynosi około 8 godzin. Główną funkcją PMNów jest fagocytoza i niszczenie zakażających zwierzę drobnoustrojów. PMNy przemieszczają się do sąsiedztwa infekcji dzięki chemotaksji. Czynniki chemotaksji wytwarzane są przez drobnoustroje, elementy dopełniacza i chemokiny – w okolicy miejsca infekcji lub stanu zapalnego.

Polimorfonuklearne neutrofile wnikają do tkanek, w kierunku toczącej się infekcji i pochłaniają te drobnoustroje, które są wrażliwe na aktywność fagocytarną. Większość patogenów musi być opsonizowana przez połączenie odpowiedniego przeciwciała wrodzonego nim zostaną wchłonięte przez PMNy.

Cytoplazma PMNów zawiera łączące się z błoną komórki lizosomy z licznymi hydrolitycznymi enzymami z bakteriobójczą aktywnością oraz antybakteryjne peptydy (9). Neutrofile giną po krótkim czasie w miejscu odczynu zapalnego przy uwalnianiu hydrolitycznych enzymów, przyczyniając się do odpowiedzi zapalnej i destrukcji tkanek. Ziarniste, czyli granulocytarne, białka PMNów indukują adhezję, przyciągają określone monocyty do toczącego się zapalenia i budują pozakomórkową otoczkę przez tworzenie neutrofilowych zewnątrzkomórkowych pułapek (traps) (6). Polimorficzne neutrofile realizują potencjalny oksydatywny metabolizm zabijania bakterii.

Eozynofile i pozostałe granulocyty zdolne są do realizowania takich samych funkcji, jak PMNy, ale koncentrują się na inwazjach pasożytniczych jako przyczynie stanów zapalnych.

Bazofile (populacja leukocytów polimorfonuklearnych) i komórki tuczne łączone były pierwotnie z odczynami alergicznymi ze względu na ich powinowactwo z IgE (są to jedyne komórki wykazujące w warunkach spoczynkowych ekspresję receptora IgE o wysokim powinowactwie). Komórki te, jak się sądzi obecnie, odgrywają ważną rolę regulującą dzięki wydzielaniu mediatorów zapalnych, koniecznych do aktywacji nabytej odpowiedzi immunologicznej. U świń komórki tuczne mają zasadniczy wpływ jako jelitowe bariery immunologiczne, szczególnie u wcześnie odsadzonych prosiąt < 21. dnia życia (3). Prosięta takie posiadają znaczną liczbę komórek tucznych na

powierzchni błon śluzowych jelit oraz w tkance łącznej i leczenie wcześnie odsadzonych prosiąt blokerem degradującym hamuje jelitową, śluzową dysfunkcję.

Fagocyty jednojądrzaste, makrofagi i monocyty stanowią system, który składa się z krążących monocytów, makrofagów tkanek zwierzęcia, migrujących makrofagów (histiocytów) i komórek dendrytycznych – DCs. Monocyty wytwarzane są w szpiku kostnym, stąd przekazywane są do krwiobiegu, gdzie krążą do momentu przejścia do tkanek jako makrofagi i komórki DCsy (3). Umieszczone makrofagi wyścielają *endothelium* naczyń włosowatych szczególnie w płucach, jak też w zatokach śledziony w szpiku kostnym i węzłach chłonnych. Makrofagi tkanek usuwają obce antygeny z krwiobiegu i obiegu limfy, jak też służą jako komórki prezentujące antygen (APC – antigen presenting cells) dla stymulacji limfocytów T.

Migrujące makrofagi wywodzące się z monocytów krwi znajdowane są w rozproszeniu w tkankach organizmu. W pewnych miejscach różnicują się w komórki DCs i funkcjonują jako komórki prezentujące antygen (APCs), o nazwie komórki Langerhansa w skórze lub Kupffera w wątrobie.

Makrofagi i DCs podobnie jak komórki prezentujące antygen (APCs) stanowią ważny element odporności wrodzonej w inicjowaniu opartego o obronę komórkową systemu czy odpowiedzi i ułatwiają efektywną odpowiedź immunologiczną przez limfocyty B.

Makrofagi pęcherzyków płucnych (alveolar macrophages) uczestniczą w fagocytozie wdychanych cząsteczek kurzu, względnie pyłu lub patogenów. Makrofagi płucne są głównym celem wirusa PRRS (PRRSV) u świń. Wirus ten ma zdolność infekowania i zabijania makrofagów; częściej jest odwrotnie. Infekcja tym drobnoustrojem prowadzi do śmierci około 10-30% makrofagów płucnych, co toruje drogę innym chorobotwórczym w układzie oddechowym drobnoustrojom (7).

Makrofagi płucne śródnaczyniowe przylegają do komórek endotelialnych w naczyniach krwionośnych płuc, chroniąc bardziej przed posocznicą niż przed zapaleniem płuc o różnej etiologii, bakteryjnej lub wirusowej (4).

Również komórki o nazwie „naturalni zabójcy” (Natural killer cells, NKcs) są limfoidalnymi komórkami wrodzonego (innate) systemu immunologicznego, działając bójczo bez uprzedniego bodźca antygenowego. Aktywizują się szybko, w ciągu 1-2 dni po infekcji. Podobnie jak makrofagi komórki NKcs, stanowią ważną komponentę mechanizmów wrodzonej ochrony przed zakażeniem, równocześnie mobilizując funkcjonowanie odporności nabytej (swoistej). Komórki NKcs świń różnią się od NKcs innych gatunków zwierząt. Zdolność fagocytozy komórek NK świń aktywizuje obecność różnych cytokin, jak: interferon i interleukina. Komórki NKcs wytwarzają interferon gamma, który ożywia komponenty komórkowego systemu immunologicznego. Reasumując, komórki

NKCs są ważnym elementem odporności wrodzonej i uczestniczą w odporności komórkowej pobudzonej przez cytokiny.

Defenzyny. Do wrodzonych czynników odporności przeciwwakażnej czyli defenzyn, zaliczane są peptydy obronne – host defense peptides – HDPs. Stanowią one barierę chemiczną, ograniczającą infekcję na epitelialnych powierzchniach komórek organizmu zwierzęcego. Są względnie małymi kationowymi peptydami, stwierdzanymi głównie na powierzchniach śluzowych i w komórkach fagocytykujących. HDPsy są indukowane przez mikrobiotę, czyli normalną florę bakteryjną jelit i oskrzeli (3), i przez NKCs oraz tzw. wrodzone komórki limfoidalne, znane jako czynniki wprowadzające (tissue inducers).

Dopełniacz (C) stanowi enzymatyczny system kaskadowy, który przy współudziale ponad 20 białek amplifikuje swe wrodzone (a nie nabyte) funkcje w czasie kaskady. Dopełniacz dzieli się w szlak klasyczny, szlak alternatywny i szlak wiążący mannany. Współuczestniczy w odpowiedzi zapalnej, zwalcza infekcje bakteryjne i odgrywa ważną rolę w odczynach alergicznych oraz w nadwrażliwości. Wyzwalaczem (trigger) dla klasycznego szlaku dopełniacza są kompleksy antygen-przeciwciało (IgG i IgM). System dopełniacza jest istotny jako mediator w procesie zapalenia i zwalczania infekcji, będąc typowym i ważnym czynnikiem odporności wrodzonej (3).

Toll-like receptory (TLRs) to rodzina drobin przylegających do powierzchni komórek. Wiążą się one z lipopolisacharydami lub peptydoglukanami czy dwuniciowym RNA. Są kluczowymi komponentami odporności wrodzonej (11). Stanowią składowe adiuwantów w szczepionkach, wpływając na zwiększenie ich skuteczności swoistej, same mając charakter czynników odporności wrodzonej.

Adiuwanty jak aktywatory odporności wrodzonej. Wiele rodzajów bakterii, w tym przede wszystkim *Propionibacterium granulosum* i *Propionibacterium avidum* oraz stanowiące ekstrakt ze ścian komórkowej szczepów bakteryjnych lipopolisacharydy (LPS) pobudzają przeciwdrobnoustrojową aktywność komórek NKCs oraz makrofagi pęcherzyków płucnych do wydzielania interleukin (IL-1, IL-4, IL-6, IL-12). Uzyskane z ekstraktów bakteryjnych mogą podwyższać odpowiedź immunologiczną dzięki wiązaniu się z TLRs.

Cytokiny są małymi drobinami białkowymi lub glikoproteinowymi międzykomórkowymi wydzielanymi przez komórki układu odpornościowego i służą jako molekularne czynniki porozumiewawcze. Wpływają one istotnie na profil ekspresji genów przez makrofagi; mają zdolność modulowania fenotypu makrofagów. Sekrecja cytokin jest zazwyczaj przejściowa, funkcjonują one w bardzo niskich stężeniach. Ze względu na znaczną liczbę badań biomedycznych prowadzonych na cytokinach świń wiedza o nich jest obszerna (2).

Prozapalne cytokiny stymulują wątrobę do wytwarzania białek ostrej fazy i wydzielania aminokwasów z tkanki mięśniowej. Mogą też indukować, w chorobach przewlekłych, proces wyniszczenia organizmu (kacheksję). Determinują wystąpienie gorączki, objawy zmęczenia i utratę apetytu. W niskich stężeniach promują adhezję leukocytów do komórek nabłonkowych, przenikanie leukocytów do tkanek oraz migrację makrofagów i komórek dendrytycznych do obwodowych węzłów chłonnych, co powoduje aktywizację odporności adaptacyjnej (nabytej). Ich obecność w małych ilościach wymagana jest dla efektywnej stymulacji odporności nabytej. Niestety, w dużych ilościach mogą prowadzić do wstrząsu i śmierci.

W nawiązaniu do przedstawionych danych na temat odporności wrodzonej należy zwrócić uwagę, że w początkowej fazie infekcji zwierzęcia większość czynników obrony ze strony zwierzęcia i 99% patogenów uczestniczących w zakażeniu jest konfrontowanych z obroną wrodzoną, do której w kolejności dołączają mechanizmy odporności swoistej (1).

Dodać należy, że mechanizmy obrony przeciwdziałające rozwojowi zakażenia, a zwłaszcza stanu zapalnego, w kolejnej fazie uczestniczą w zdrowieniu zwierzęcia z cofających się stanów zapalnych wywołanych przez określony czynnik patogenny. Jak wynika z powyższego, ma to miejsce przy dużym udziale odporności wrodzonej.

Podczas gdy zapaleniem interesowano się już w starożytności, to jego istota ciągle jeszcze wymaga uzupełnienia dotychczasowej wiedzy.

Aktualnie uznaje się, że zapalenie rozpoczyna się, kiedy odpowiednie komórki gospodarza rozpoznają ewolucyjnie utrwalone struktury na patogenach, bakteriach lub wirusach, określone jako pathogen-associated molecular patterns (PAMP) – czyli wzorce molekularne związane z patogenami lub sygnały z wewnętrznych uszkodzeń albo stresu, co określa się jako wzorce określone jako danger-associated molecular patterns (DAMP).

Rozpoznanie PAMP przez komórki gospodarza ma miejsce dzięki obecności odnośnych receptorów (PRRD – pattern recognition receptors), które obecne są w licznych typach komórek gospodarza, takich jak: monocyty, makrofagi, neutrofile i komórki dendrytyczne.

W przypadku, gdy receptory te są na komórkach gospodarza, proces zapalny inicjowany jest przez uwolnienie prozapalnych cytokin lub chemokin. Pierwsza funkcja cytokin może być miejscowa i dotyczy efektu obronnego. Druga czynność cytokin skierowana jest na takie komórki, jak neutrofile i makrofagi znajdujące się w bezpośrednim otoczeniu procesu zapalnego (paracrine effect). Trzecia funkcja cytokin uwidacznia się wtedy, kiedy ma miejsce reakcja zapalna, która przewodzi obronę miejscową (endocrine effect). Efekt ten obejmuje indukcję białek ostrej fazy w wątrobie, stymulację produkcji nowych komórek zapalnych

w szpiku kostnym. Determinuje to reakcję obronną gospodarza w postaci: gorączki, braku apetytu, zmęczenia etc. Cytokiny aktywizują również komórki endotelialne w naczyniach krwionośnych. Fizjologicznie wspomagają komórki immunokompetentne w dotarciu do miejsca zapalenia, ale patologicznie może też prowadzić do rozszerzenia naczyń krwionośnych i wynaczynień przede wszystkim z naczyń włosowatych (obrzęki, sinica, obecność krwi w kale), w skrajnych przypadkach może prowadzić do obniżenia ciśnienia i ciężkiego stanu chorobowego.

Autorzy niniejszego artykułu opublikowali w 2013 r. (10) pracę „Odporność wrodzona i preparaty ją pobudzające, ze szczególnym uwzględnieniem świń”. W opracowaniu tym przedstawiono rolę odporności wrodzonej w podnoszeniu skuteczności szczepionek przeciw chorobom zakaźnym świń przy udziale odporności wrodzonej pod wpływem adiuwantów pobudzających mechanizmy odporności wrodzonej obok swoistych antygenów zwanych też immunogenami.

W rezultacie wzmacnia to poziom odporności przeciwzakaźnej organizmu i jest szczególnie pożądane wtedy, kiedy immunogeny swoiste zawarte w szczepionkach wywołują jedynie niski lub niedostateczny poziom odporności swoistej.

Piśmiennictwo

1. Aldridge B.: General immunology: Concepts and key points for swine veterinarians. Proc. 50th Annual Meeting of the American Association of Swine Veterinarians, Orlando, USA 2019.
2. Bailey M.: The mucosal immune system recent developments and future directions in the pig. Dev. Comp. Immunol. 2009, 33, 375-380.
3. Chase Ch., Lunney J.: Immune system, [w:] Diseases of Swine, Eleventh edition. Wiley Blackwell 2019.
4. Chitko-McKown C. G., Reddy D., Chaper S., McKown R., Blecha F.: Immunological characterization of pulmonary intravascular macrophages. Reg. Immunol. 1992, 4, 236-243.
5. Dawson H. D., Beshah E., Nishi S.: Localized multigene expression pattern support an evolving Th1/Th2 – like paradigm in the response to infections with *Toxoplasma gondii* and *Ascaris suum*. Infect. Immun. 2005, 73, 1116, 1128.
6. De Buhr N., Reuner F., Neumann A.: Neutrophil extracellular trap formation in the *Streptococcus suis* infected cerebrospinal fluid. Cell Microbiol. 2017, 24, 267-269.
7. Loving C. L., Osorio F., Murtaugh M. P., Zuckerman F. A.: Innate and adoptive immunity against Porcine Respiratory Reproductive Virus. Vet. Immunol. Immunopathol. 2015, 167, 1-14.
8. Mair K. H., Sedlak C., Kaser T.: The porcine innate immune system: an update. Dev. Comp. Immunol. 2014, 45, 321-343.
9. Sang Y., Blecha F.: Porcine host defense peptides: expanding repertoire and functions. Dev. Comp. Immunol. 2009, 33, 334-343.
10. Truszczyński M., Pejsak Z.: Odporność wrodzona i preparaty ją pobudzające ze szczególnym uwzględnieniem świń. Med. Weter. 2013, 69, 521-525.
11. Uenishi H., Shikai H.: Porcine Toll-like receptors: the front line of pathogen monitoring and possible implications for disease resistance. Dev. Comp. Immunol. 2009, 33, 353-361.

Adres autora: prof. dr hab. Zygmunt Pejsak, ul. Kościuszki 8B, 24-100 Puławy; e-mail: z@pejsak.pl