

JERZY LECH GUNDLACH, ANDRZEJ SADZIKOWSKI

Immunologiczne aspekty fasciolozy owiec

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych
Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Fascioloza jest najczęściej spotykaną trematodozą owiec, powodującą znaczne straty ekonomiczne, stąd też była ona przedmiotem szczegółowych badań, dotyczących głównie patogenезy i terapii. W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania zagadnieniami immunologicznymi, a perspektywnym celem tych badań jest opracowanie między innymi zasad immunodiagnostyki i immunoprofilaktyki tej inwazji.

Podatność owiec na inwazję *Fasciola hepatica*

Znaczna intensywność i ekstensywność naturalnych i doświadczalnych inwazji *Fasciola hepatica* u owiec wskazuje na dużą podatność tego żywiciela na zarażenie. Spostrzeżenie to całkowicie potwierdzają doświadczenia prowadzone przez wielu autorów, którzy podając różne dawki metacerkarii uzyskiwali 100% ekstensywność inwazji. Także odsetek przywr rozwijających się z podanych metacerkarii był w cytowanych pracach znaczny i osiągał zwykle ok. 30% (7, 9, 11, 12, 22, 24). Jak wynika z publikacji Andrews (2), odsetek przywr osiągających dojrzałość płciową u owiec i wynoszący średnio 30—50% jest znacznie wyższy niż u innych żywicieli tej przywry, to jest bydła oraz zwierząt laboratoryjnych.

Szczególnie duża podatność owiec na zarażenie motylicą wątrobową manifestuje się wystąpieniem objawów klinicznych i znacznych zmian anatomopatologicznych w wątrobach tych zwierząt, już przy średnio intensywnej inwazji. W efekcie tego wybitnie patogennego działania pasożytów na organizm żywiciela dochodzi również do zmian wielu wskaźników hematologicznych oraz biochemicznych (9, 10, 12, 13).

Oddziaływanie motylic na organizm żywiciela

W żywicielu ostatecznym, między innymi owcy, motyllica odbywa fragment rozwoju ontogenetycznego, kończący się osiągnięciem dojrzałości płciowej. W przebiegu inwazji wyróżnia się dwa okresy: prepatentny i patentny, różniące się między innymi niszą ekologiczną, w której przebywa pasożyt. W trakcie okresu prepatentnego niedojrzałe płciowo przywry wędrują przez ścianę jelita do jamy otrzewnowej, a następnie przez miąższ wątroby do przewodów żółciowych; natomiast okres patentny obejmuje pobyt dojrzałych płciowo motylic w świetle przewodów żółciowych.

Przywry wędrujące oraz dojrzałe oddziałują na układ immunologiczny żywiciela, głównie poprzez antygeny ekskrecyjno-sekrecyjne oraz powierzchniowe, przy czym w trakcie migracji następują stałe zmiany aktywnych grup antygenów, związane ze zmianami morfologicznymi i fizjologicznymi, zachodzącymi głównie w tegumencie motylic. Ta ciągła zmiana struktury antygenowej pasożyta utrudnia układowi immunologicznemu żywiciela rozpoznanie i likwidację inwazji. Ważną rolę w oddziaływaniu na żywiciela odgrywają też antygeny somatyczne motylic. Jak wiadomo, po zarażeniu, w trakcie wędrówki w ścianie jelita, jamie otrzewnowej i miąższu wątroby większość przywr ginie, a martwe motyllice ulegają destrukcji przez komórki żywiciela. Wymienione grupy antygenów stymulują produkcję przeciwciał, jak też powodują powstanie populacji swoiście uczulonych komórek.

Odpowiedź humoralna

Odpowiedź humoralna manifestuje się obecnością przeciwciał reagujących „*in vitro*” z antygenami motyliczymi w różnych odczynach. Badania przeprowadzone przy użyciu surowic owiec eksperymentalnie zarażonych tą przywrą umożliwiły prześledzenie dynamiki odpowiedzi humoralnej, która zależy od okresu inwazji i jej intensywności (14, 15, 17). Indukcja odpowiedzi humoralnej zależy również od ilości podanych metacerkarii, bowiem wcześniejsze pojawienie się przeciwciał i wyższe ich miana wykazano u zwierząt z większą intensywnością inwazji.

Jak wykazano, od momentu pojawienia się przeciwciał poziom ich szybko wzrasta i osiąga wartości maksymalne w 4—6 tyg. po zarażeniu i utrzymuje się na wysokim poziomie do 10—13 tyg. inwazji (ulegając jedynie nieznacznym wahaniom). Wysoki poziom odpowiedzi humoralnej w okresie prepatentnym inwazji wydaje się być uwarunkowany bliskim kontaktem antygenów pasożyta z układem immunologicznym żywiciela w tej histotropowej fazie, jak też zwiększającą się ilością materiału antygenowego w następstwie wzrostu ilości produktów przemiany materii. W następnym, patentnym okresie inwazji poziom przeciwciał ulegał spadkowi, szczególnie wyraźnemu u owiec z mniejszą intensywnością inwazji. Niski poziom przeciwciał w tym okresie, to jest w czasie lokalizacji przywr w przewodach żółciowych świadczy o spadku stymulacji antygenowej. Wydaje się, że przyczynami obniżenia tej

stymulacji (pomimo dużej biomasy przywr) mogą być: bariera, jaką dla antygenów i komórek żywiciela stanowią ściany przewodów żółciowych, jak też stała eliminacja antygenów ze spływającą żółcią.

Wyniki dotychczasowych badań, przeprowadzanych przy użyciu różnych frakcji ekstraktów somatycznego i metabolicznego dojrzałych płciowo postaci *F. hepatica*, uzyskanych na drodze rozdzielania chromatograficznego oraz surowic owiec zarażonych motylicą, wykazały różny czasokres aktywności poszczególnych grup antygenów. I tak, wysoki poziom przeciwciał w okresie prepatentnym inwazji był następstwem aktywności prawie wszystkich grup antygenów „funkcjonalnych”, w tym głównie „sympleksów” wielocukrowo-białkowych oraz antygenów białkowych. Natomiast w okresie patentnym aktywność wykazywały głównie antygeny białkowe (14, 17).

Przeciwciała homocytotropowe

Poza przeciwciałami wykrywanymi w odczynach serologicznych, wyniki odczynu biernej skórnej anafilaksji wykazały obecność w surowicach zamotyliczonych owiec przeciwciał homocytotropowych. Dynamika tych przeciwciał w przebiegu inwazji motylicy charakteryzowała się również dwufazowością, ale inną niż stwierdzona dla pozostałych przeciwciał. Pierwsza, stosunkowo krótka faza, trwająca tylko od 2 do 6 tyg. inwazji, cechowała się pojawieniem tych przeciwciał i wzrostem ich poziomu do maksymalnych wartości (4–6 tydzień). Okres ten odpowiadał początkowej fazie migracji pasożytów w mięszu wątrobowym i maksymalnej stymulacji antygenowej. W następnej fazie, trwającej od 7 tygodnia inwazji do końca okresu prepatentnego, a także w okresie patentnym (poza przejściowym wzrostem poziomu tych przeciwciał w 11–13 tyg. inwazji) miał miejsce stopniowy ich spadek. Wydaje się on być nie tylko następstwem przechodzenia przeciwciał homocytotropowych z obrotu i osadzania się na komórkach docelowych, ale również wynikiem spadku ich syntezy w okresie patentnym inwazji, w następstwie ogólnie niższej stymulacji antygenowej. Podjęte w badaniach własnych próby charakterystyki przeciwciał homocytotropowych indukowanych inwazją *F. hepatica* wykazały podobieństwo ich właściwości do przeciwciał klasy IgE (14).

Odpowiedź komórkowa

Dynamika tego typu odpowiedzi na inwazję *Fasciola hepatica* u owiec nie była przedmiotem szczegółowych badań. Jedynie Aalund i wsp. (1), testem zahamowania migracji, stwierdzili odczyn dodatni u owiec z fasciolozą. Wskazuje to na pojawienie się u zarażonych zwierząt populacji swoiście uczulonych limfo-

cytów, jak też na możliwość udziału tego typu odpowiedzi w ograniczaniu populacji rozwijających się w organizmie żywiciela motylic.

Immunodiagnostyka fasciolozy owiec

Wyraźna odpowiedź immunologiczna na inwazję *F. hepatica* zachęcała do poszukiwań skutecznej metody immunodiagnostyki tej inwazji u owiec. Wielu autorów oceniało przydatność do tego celu różnych odczynów, między innymi: wiązania dopełniacza, hemaglutynacji, lateksowego, immunofluorescencji, podwójnej dyfuzji, immunoelektroforezy przeciwprądowej, ELISA, testu skórno. Uzyskane wyniki nie upoważniają jednak do wyboru optymalnego, pewnego w 100% odczynu. Przyczynami tego stanu rzeczy są, poza różną czułością odczynów, spadek poziomu odpowiedzi immunologicznej w okresie patentnym inwazji oraz możliwość występowania fałszywie dodatnich reakcji u owiec zarażonych innymi gatunkami pasożytów.

Metody serologiczne mogą znaleźć zastosowanie jedynie do diagnostyki fasciolozy w okresie prepatentnym — gdy niemożliwe jest badanie koproskopowe — gdyż wysoki poziom przeciwciał zapewnia odpowiednią czułość i swoistość odczynów. W tych jednak przypadkach należałoby stosować jako antygeny odpowiednie frakcje ekstraktu *F. hepatica*, wykluczające powstawanie nieswoistych dodatnich reakcji krzyżowych.

Odporność owiec na reinwazję i superinwazję

Rozwój odpowiedzi humoralnej oraz komórkowej w przebiegu fasciolozy owiec pozostają w całkowitej sprzeczności z obserwowaną u tych zwierząt niską odpornością na reinwazję lub superinwazję. Jedynie Tsvetaeva i wsp. (26) obserwowali powstanie silnego stopnia odporności na reinwazję u uprzednio zarażonych owiec. Wyniki badań innych autorów były mniej jednoznaczne lub całkowicie negatywne. I tak Boray (3) obserwował odporność na zarażenie u owiec tylko w przypadku, gdy dawka challenge była dzielona i podawana w pewnym okresie czasu. Natomiast Sinclair (25) stwierdził jedynie opóźnienie rozwoju motylicy u owiec uprzednio zarażonych *F. hepatica*. Także Meek i Morris (19) i Knight (18) w szczegółowych doświadczeniach przeprowadzonych na znacznej liczbie zwierząt i przy różnych dawkach metacerkarii pierwszego zarażenia, nie obserwowali odporności owiec na reinwazję form inwazyjnych, podanych w dawce challenge.

Immunoprofilaktyka

Wysoki poziom odpowiedzi immunologicznej u owiec na inwazję *F. hepatica* powoduje stałe

zainteresowanie możliwościami opracowania metod swoistej immunoprofilaktyki. Materiał do immunizacji otrzymywano zarówno z postaci dojrzałych płciowo, jak też z form młodocianych — głównie metacerkarii. Pierwsze próby uodpornienia owiec „kompleksem polisacharydowo-albuminowym”, przeprowadzone przez Ershova (8) zakończyły się pewnym powodzeniem, gdyż autor ten stwierdził występowanie częściowej, krótkotrwałej odporności na inwazję. Także Ross (21) wywołał stan odporności, implantując domięśniowo owcom dojrzałe motyllice, co spowodowało pewną redukcję przywr z dawki sprawdzającej w porównaniu z grupą kontrolną. Procent rozwijających się metacerkarii był przy tym niższy u zwierząt, którym dwukrotnie, w odstępie 3 miesięcy, implantowano pasożyty, niż u owiec, którym jednorazowo implantowano motyllice.

Inne badania nie potwierdziły jednak tych obserwacji. I tak, Ross (21), stosując do uodporniania owiec ekstrakty totalne *F. hepatica* nie stwierdził zadowalającej odporności na inwazję tego pasożyta. Być może przyczyną niepowodzenia próby było użycie pełnego ekstraktu somatycznego, zawierającego wiele różnych antygenów, a tym samym niewielką ilość antygenów funkcjonalnych dla owiec. Próba podania takich właśnie antygenów była praca Sandemana i wsp. (23), którzy immunizowali owce precypitatem uzyskanym przez inkubację ekscystowanych metacerkarii w surowicy odpornościowej. Przyjmuje się, że ten sposób podania antygeny (w postaci kompleksów antygen-przeciwciała) indukuje w większym stopniu odpowiedź immunologiczną niż podanie samego antygeny. Jednak cytowani autorzy nie stwierdzili redukcji liczby przywr z dawki challenge u owiec uodpornionych w porównaniu do grupy kontrolnej pomimo, że metodami serologicznymi w surowicach zwierząt immunizowanych stwierdzono przeciwciała przeciwko *Fasciola hepatica*.

Atenuacja form inwazyjnych promieniami X, stosowana przy produkcji szczepionek przeciwko różnym pasożytom, znalazła także zastosowanie w próbach immunoprofilaktyki fasciozozy owiec. Jednak, jak wynika z pracy Cambella i wsp. (4), podanie owcom 100 lub 1000 napromieniowanych metacerkarii nie wywołuje znaczącej ochrony tych zwierząt przed zarażeniem.

Zaskakujące są wyniki prac wskazujące na istnienie silnej odporności na inwazję *F. hepatica* u owiec zarażonych *Cysticercus tenuicollis* i *Schistosoma bovis*. Badania Cambella i wsp. (5) oraz Dineena i wsp. (6) wykazały, że dłużej trwająca inwazja *C. tenuicollis* stymuluje wysoki poziom ochrony przeciwko motyllicy, powodując obniżenie intensywności inwazji tej przywr o ponad 95%. Mechanizm powstania

tej protekcji nie jest jasny i może mieć charakter swoisty — reakcji krzyżowej lub też wynika ze zmian zachodzących w tkankach wątroby w trakcie trzytygodniowej migracji onkosfer. Badania te nie znalazły potwierdzenia w późniejszej pracy Hughesa i wsp. (6). Podobnie mało jasne są mechanizmy znacznej, bo sięgającej 70—93% redukcji motylic zarażonych uprzednio *Schistosoma bovis* (20). Powyższe obserwacje wymagają jeszcze szerszych badań, w tym także badań terenowych, ale nie można wykluczyć w przyszłości praktycznego wykorzystania zjawiska odporności krzyżowej pomiędzy *Fasciola hepatica* i innymi gatunkami pasożytów.

Podsumowanie

Z przedstawionych danych wynika, że pomimo istnienia odpowiedzi immunologicznej owiec na inwazję *F. hepatica*, efektywność obronna tej odpowiedzi jest znikoma. Przyczyny tego stanu rzeczy są dotychczas niejasne i mogą wynikać również z fizjologicznej adaptacji motyllicy do tego gatunku żywiciela. Należy sądzić, że dalsze badania współzależności immunologicznej w omawianym układzie przyczynią się do wyjaśnienia istniejących problemów.

Piśmiennictwo

1. Aalund O., Nielsen K., Eriksen L.: Acta vet. scand. 13, 290, 1972.
2. Andrews P.: Helminthologia 16, 207, 1979.
3. Boray J. C.: Vet. med. Rev. 84, 1967.
4. Campbell N. J., Gregg P., Kelly J. D., Dineen J. K.: Vet. Parasitol. 4, 142, 1978.
5. Campbell N. J., Kelly J. D., Townsend R. B., Dineen J. K.: Int. J. Parasit. 7, 347, 1977.
6. Dineen J. K., Kelly J. D., Campbell N. J.: Int. J. Parasit. 8, 173, 1978.
7. Dow C., Ross J. G., Todd J. R.: Parasitology 58, 129, 1968.
8. Ershov U. S.: Proc. 16th Inter. Vet. Congr. Madrid 1, 279, 1959.
9. Furmaga S., Gundlach J. L.: Acta parasit. pol. 14, 313, 1967.
10. Furmaga S., Gundlach J. L.: Acta parasit. pol. 15, 93, 1967.
11. Furmaga S., Gundlach J. L., Sądziński A., Uchacz S., Chowaniec W., Paciejewski S., Ziomko I., Bartnicka B.: Bull. vet. Inst. Pulawy 23, 116, 1979.
12. Furmaga S., Gundlach J. L., Sobieszewski K.: Acta parasit. pol. 20, 539, 1972.
13. Furmaga S., Gundlach J. L., Sobieszewski K.: Acta parasit. pol. 23, 159, 1975.
14. Gundlach J. L.: Badania immunologiczne w przebiegu fasciozozy owiec i bydła. Praca hab. AR Lublin, 1977.
15. Gundlach J. L., Sądziński A.: Medycyna Wet. 36, 21, 1980.
16. Hughes D. L., Harness E., Doy T. G.: Res. vet. Sci. 25, 356, 1978.
17. Klímenko V. V.: Trudy Vses. Ordena Trud. Krasn. Znameni Inst. Gelmint. im. K. I. Skryabina 18, 145, 1971.
18. Knight R. A.: Proc. Helminthol. Soc. Wash. 47, 186, 1980.
19. Meek A. H., Morris R. S.: Aust. vet. J. 55, 61, 1979.
20. Monrad J., Christensen N. Ø., Nansen P., Frandsen F.: J. Helminth. 55, 261, 1981.
21. Ross J. G.: J. Helminth. 41, 393, 1967.
22. Ross J. G.: Vet. Rec. 80, 214, 1967.
23. Sandeman R. M., Howell M. J., Campbell N. J.: Res. vet. Sci. 29, 255, 1980.
24. Sinclair K. B.: Br. vet. J. 118, 37, 1962.
25. Sinclair K. B.: Res. vet. Sci. 19, 296, 1975.
26. Tsveteva N. P., Vasil'ev A. A., Gumenshikova V. P., Selichova O. V.: Mat. nauč. Konf. Vses. Obsč. Gelmint. 272, 1965.

Adres autora: doc. dr hab. J. L. Gundlach, ul. Sowińskiego 8/37, 20-040 Lublin