

Dynamika limfocytów T i B oraz ich subpopulacji u królików immunizowanych *Chlamydophila* sp.

MAŁGORZATA PAWLIKOWSKA, WIESŁAW DEPTUŁA

Katedra Mikrobiologii i Immunologii Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Szczecińskiego,
ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin

Pawlikowska M., Deptuła W.

Dynamics of T and B lymphocytes and their subpopulations in rabbits immunised with *Chlamydophila* sp.

Summary

The aim of the study was to show the dynamics of lymphocytes T (receptor CD5⁺), Th (receptor CD4⁺), Tc/Ts (receptor CD8⁺), B (receptor IgM – mu chain), as well as lymphocytes with receptor CD25⁺ in rabbits immunised with *Chlamydophila abortus* and *Chlamydophila psittaci*. Moreover, a serological test was carried out. The analysis of the results indicated that the immunisation of rabbits with the studied antigens in case of lymphocytes T and their subpopulations caused a similar increase and decrease of their amount and in case of lymphocytes B only an increase. Those changes are noted in 7th – 14th day after the immunisation and they persist until 42nd – 56th day of the experiment. Moreover, the positive titre of antibodies was noticed on the 35th – 42nd day after the immunisation, i.e. 4-6 weeks after the changes in the amount of lymphocytes.

Keywords: lymphocytes T, lymphocytes B, *Chl. abortus*, *Chlamydophila*

Rodzaj *Chlamydophila* (*Chl.*) sp. tworzy wraz z rodzajem *Chlamydia* sp. rodzinę *Chlamydiaceae* w rzędzie *Chlamydiales* (9, 11, 13). W obrębie tego rodzaju znajduje się sześć gatunków: *Chl. psittaci*, *Chl. abortus*, *Chl. felis*, *Chl. caviae*, *Chl. pecorum* i *Chl. pneumoniae* (9, 11, 13). Bakterie te, w zależności od biotypu i serotypu powodują różne schorzenia ludzi i zwierząt (tab. 1).

Badania zjawisk odpornościowych w zakażeniu lub immunizacji zwierząt lub człowieka bakteriami z ro-

dzaju *Chlamydophila* sp. i *Chlamydia* sp. wykazały, że wprawdzie odporność związana z limfocytami i ich subpopulacjami odgrywa znaczną rolę, jednak obserwacji tych nie jest wiele, a nadto badania te prowadzone były jedynie w układach statycznych. I tak, u myszy w zakażeniu eksperymentalnym *Chl. abortus* wykazano wzrost liczby limfocytów B oraz limfocytów T z receptorem CD4⁺, CD8⁺ i z receptorem TCRγδ (7), a także zanotowano zwiększoną aktywność limfocytów Th₁ i Th₂ (20). Również podczas zakażenia

Tab. 1. Charakterystyka bakterii z rodzaju *Chlamydophila* sp. (9-11)

Gatunek	Biotyp	Serotyp	Zmiany chorobowe
<i>Chlamydophila psittaci</i> *	Brak danych	A, B, C, D, E, F, M56	psitakozy ptaków dzikich i domowych; ronienia, zapalenia płuc u ludzi
		WC	zapalenie jelit u bydła
<i>Chlamydophila abortus</i> *	Brak danych	Brak danych	ronienia, słabość noworodków u przeżuwaczy (bydło, kozy, owce), ronienia u koni, królików, świnek morskich, myszy, świń, również u kobiet
<i>Chlamydophila felis</i>	Brak danych	Prawdopodobnie 4 (?)	zapalenie spojówek, błony śluzowej nosa u kotów
<i>Chlamydophila caviae</i>	Brak danych	Brak danych	zapalenie spojówek, błon śluzowych, infekcje dróg rodnych u świnek morskich
<i>Chlamydophila pecorum</i>	Brak danych	Brak danych	schorzenia układu rozrodczego i moczowego (koala); ronienia, zapalenie spojówek, jelit, płuc, opon mózgowych, zapalenie wielostawowe (przeżuwacze)
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	TWAR	TW-183, AR-37, AR-277, AR-388, AR-427, AR-231, LR-65	ostre lub przewlekłe zapalenie oskrzeli i płuc, możliwe schorzenia: arterioskleroza, zawał mięśnia sercowego, choroba wieńcowa i niedokrwienność serca, syndrom Reitera i sarkoidoza, choroba Alzheimera, stwardnienie rozsiane u ludzi
	Koala	Brak danych	infekcje dróg oddechowych u koali
	Equine	Brak danych	schorzenia dróg oddechowych u koni

Objaśnienie: * wykazano (23), że w obrębie tych dwóch gatunków są szczepy różniące się pod względem immunologicznym, co sugeruje występowanie wśród nich immunotypów

tych zwierząt *Ch. psittaci* – szczep Ab7 i 1B oraz *Ch. pecorum* – szczep iB1 (4), zarejestrowano także wzrost limfocytów T (receptor CD2), Th (receptor CD4) i Tc/Ts (receptor CD8). Analogiczny wzrost komórek B stwierdzono u myszy zakażonych eksperymentalnie *Ch. trachomatis* – biotyp LGV i trachoma oraz *Ch. psittaci* – szczep MnPn (17). Obraz taki, to jest wzrost limfocytów B i Th, zaobserwowano również u indyków po immunizacji białkiem MOMP *Chl. psittaci* – szczep 84/55 (serotyp D) (18). Natomiast w wyniku infekcji naturalnej *Ch. psittaci* ludzi (16) zauważono, że nie zawsze zakażenie to powoduje zmiany w puli limfocytów T, ale *in vitro* wpływa na ich transformację i proliferację w wyniku oddziaływania konkawaliny A, mitogenu szkarłatki i fitohemaglutyniny. Analogiczne zakażenie owiec *Chl. abortus* powodowało wzrost liczby limfocytów B oraz limfocytów T z receptorem CD4⁺, CD8⁺ i z receptorem TCR $\gamma\delta$ (6). Podobny obraz jak u owiec, opisano u bydła w naturalnej infekcji *Chl. psittaci* (22), u których zanotowano wzrost liczby limfocytów B oraz limfocytów T (receptor CD2), Th (receptor CD4) i Tc/Ts (receptor CD8). Trzeba dodać, że w innych badaniach z wykorzystaniem różnych modeli doświadczalnych (człowiek, mysz, owca, bydło, indyk, linie komórkowe) stwierdzono także, że zakażenie *Chlamydia sp.* lub *Chlamydophila sp.* powoduje zwiększenie liczby limfocytów T (2, 12, 14, 19, 26) oraz limfocytów B (4, 19, 21, 24).

Reasumując dotychczasowe obserwacje należy stwierdzić, że mimo iż wykazano rolę limfocytów T i B oraz ich subpopulacji u zwierząt i ludzi zakażonych i/lub immunizowanych bakteriami *Chlamydia sp.* lub *Chlamydophila sp.*, brak jest z tego zakresu badań dotyczących dynamiki tych komórek. Stąd celem było określenie liczby tych komórek w czasie, we krwi obwodowej u królików – zwierząt modelowych dla ludzi i zwierząt, immunizowanych dwoma powszechnie występującymi w środowisku szczepami *Chlamydophila sp.*

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 40 królikach mieszańcach, podzielonych na 4 grupy po 10 zwierząt każda, o masie ciała 2,5 kg do 4,0 kg, oznaczonych jako zwierzęta grupy CV-III (1). W trakcie prowadzenia badań króliki przebywały w wivarium Katedry Mikrobiologii i Immunologii, w którym parametry zoohigieniczne i bytowe odpowiadały normom obowiązującym w kraju (25).

Każdemu zwierzęciu z dwóch grup królików immunizowanych podano w mięśnie kończyny tylnej antygen *Chlamydophila psittaci* – szczep 6BC izolowany od człowieka zainfekowanego od papugi oraz *Chlamydophila abortus* – szczep CAMP R-24 izolowany z płuc poronionego płodu owcy, rozpuszczony w 1,0 ml jałowej soli fizjologicznej o koncentracji białka 50 $\mu\text{g/ml}$, w pierwszym i siódmym dniu doświadczenia. Zwierzętom z dwóch grup kontrolnych w tym samym czasie podano także domięśniowo analogiczną ilość jałowego płynu fizjologicznego.

Krew do badań pobrano poprzez wenflon z żyły brzożnej ucha na wersenian sodowy w pierwszym dniu – tzn. przed podaniem *Chlamydophila sp.* – w grupie królików immunizowanych oraz otrzymujących jałowy roztwór soli fizjologicznej – w grupach zwierząt kontrolnych. Następne badania krwi u królików doświadczalnych, przeprowadzono 8-krotnie w odstępach 7-dniowych, to jest 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49. i 56. dnia po immunizacji.

Oznaczanie limfocytów T i B i ich subpopulacji. Oznaczenie wykonano na cytometrze przepływowym (Cytoron Absolute, firmy Ortho) wg metodyki opisanej przez Deptułę i wsp. (8). Do oznaczenia limfocytów zastosowano przeciwciała monoklonalne (mouse anti-rabbit) firmy Serotec do identyfikacji limfocytów T (receptor CD5⁺), Th (receptor CD4⁺), Tc/Ts (receptor CD8⁺), B (receptor IgM – mu chain) oraz limfocytów z receptorem CD25⁺.

Badania serologiczne. Obecność i miano przeciwciał dla *Chlamydophila sp.* w surowicy królików określono testem OWD (odczyn wiązania dopełniacza), który wykonano zgodnie z instrukcją (15), według której za miano dodatnie przyjmuje się hamowanie hemolizy na co najmniej dwa plusy (++) w rozcieńczeniu 1 : 32 i wyższych.

Analiza statystyczna. Wyniki badań odpornościowych poddano analizie statystycznej testem t-Studenta przy $p = 0,05$, porównując uzyskane wartości badanych parametrów odpornościowych u zwierząt grup zakażonych do wartości u królików z grup kontrolnych i przedstawiono w postaci średnich arytmetycznych i odchylenia standardowego (SD \pm) w tab. 2 i 3. Wyniki serologiczne przedstawiono w tab. 4.

Wyniki i omówienie

Analiza wyników wykazała, że zarówno *Chlamydophila psittaci* – szczep 6BC, jak i *Chlamydophila abortus* – szczep CAMP R-24 powodują statystycznie istotny wzrost, jak i spadek wartości liczby limfocytów T, Th, Tc/Ts i limfocytów z receptorem CD25 oraz tylko wzrost limfocytów B (tab. 2, 3).

Oceniając liczbę limfocytów T u zwierząt immunizowanych *Chl. psittaci*, stwierdza się statystycznie istotny wzrost w 14. i 35. dniu oraz spadek w 7., 42. i 49. dniu, zaś u królików immunizowanych *Chl. abortus* zarejestrowano jedynie statystycznie istotny wzrost w 14., 35. i 42. dniu badania. Liczba limfocytów Th u zwierząt immunizowanych *Chl. psittaci* wykazała statystycznie istotny spadek w 7., 14. i 56. dniu, zaś u królików stymulowanych *Chl. abortus* tylko spadek w 14. dniu doświadczenia. Oceniając liczbę limfocytów Tc/Ts u zwierząt immunizowanych *Chl. psittaci*, stwierdzono ich statystycznie istotny wzrost w 28. i 35. dniu oraz spadek w 42. dniu doświadczenia, zaś w przypadku immunizacji *Chl. abortus* analogiczne różnice dotyczyły w tym parametrze wzrostu (7., 14., 21., 28., 49. dzień) oraz spadku (42. dzień doświadczenia). Natomiast liczba limfocytów B w przypadku królików immunizowanych zarówno *Chl. psittaci*, jak i *Chl. abortus* wykazała statystycznie istotne różnice tylko w postaci wzrostu, przypadające w 14., 28., 42., 49. i 56. dniu doświadczenia. Oceniając liczbę limfo-

Tab. 2. Liczba limfocytów i ich subpopulacji we krwi obwodowej u królików immunizowanych *Chlamydomphila psittaci* – szczep 6BC (\bar{x} i SD \pm)

Limfocyty z określonym receptorem CD (%)	Wartości w poszczególnych dniach																	
	1 ↓		7 ↓		14		21		28		35		42		49		56	
	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K
Limfocyty T (CD5 ⁺)	55,9 7,1	52,3 8,7	47,1 3,9	60,4* 3,6	50,5* 9,1	42,4 8,0	57,0 10,0	52,0 13,8	58,0 10,7	55,4 13,9	58,5* 6,9	44,3 6,6	34,3 10,3	48,5* 10,5	47,9 5,6	53,1* 6,6	54,4 10,0	55,2 9,5
Limfocyty Th (CD4 ⁺)	34,2 8,6	32,6 7,8	37,4 6,6	44,5* 7,7	34,2 8,5	50,2* 8,6	35,4 7,4	38,8 9,0	34,4 6,6	32,3 6,7	35,8 10,9	32,9 11,1	31,8 7,0	32,4 7,3	36,6 7,8	33,9 8,0	37,1 8,9	43,5* 8,2
Limfocyty Tc/Ts (CD8 ⁺)	16,4 3,3	17,6 2,9	14,9 3,6	13,7 3,7	14,9 3,0	12,5 3,5	15,7 5,2	13,8 4,7	17,5* 2,1	14,5 1,2	23,3* 8,5	15,1 7,0	13,8 3,7	22,1* 2,7	11,4 2,4	14,1 3,6	14,2 1,1	14,5 2,2
Limfocyty B (IgM)	16,3 3,5	8,8 2,1	12,6 4,2	8,4 4,3	14,1* 3,4	4,8 1,5	9,6 3,4	8,6 3,0	12,9* 2,9	5,0 2,2	10,9 3,1	12,6 1,5	20,5* 3,3	16,5 3,5	24,8* 1,6	18,6 1,4	20,2* 3,7	16,1 2,2
Limfocyty CD25 ⁺	7,3 2,6	6,5 2,9	7,4 3,8	7,6 4,4	5,6* 1,4	3,0 1,4	2,2 0,5	4,3* 0,7	3,7 1,3	3,1 1,4	4,3 1,3	3,4 1,5	10,5* 2,6	7,6 2,0	12,0* 2,6	8,7 2,7	8,7 1,5	8,8 2,1

Objaśnienia: Z – zwierzęta immunizowane; K – zwierzęta kontrolne; ↓ – dzień immunizacji; * różnica statystycznie istotna przy $p \leq 0,05$

Tab. 3. Liczba limfocytów i ich subpopulacji we krwi obwodowej u królików immunizowanych *Chlamydomphila abortus* – szczep CAMP R-24 (\bar{x} i SD \pm)

Limfocyty z określonym receptorem CD (%)	Wartości w poszczególnych dniach																	
	1 ↓		7 ↓		14		21		28		35		42		49		56	
	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K
Limfocyty T (CD5 ⁺)	58,1 7,5	52,3 8,7	55,1 12,0	60,4 11,6	55,7* 5,3	42,4 6,0	58,3 6,5	52,0 7,8	59,6 6,1	55,4 7,9	55,5* 6,9	44,3 6,6	56,0* 7,0	48,5 10,5	55,9 3,6	53,1 3,6	55,3 4,4	55,2 5,0
Limfocyty Th (CD4 ⁺)	39,1 7,4	32,6 7,8	38,0 7,3	44,5 7,7	36,3 6,3	50,2* 8,6	39,3 8,3	38,8 7,0	36,9 5,2	32,3 6,7	34,7 7,8	32,9 8,1	39,0 7,9	32,4 5,3	37,6 3,8	33,9 4,0	37,9 7,1	43,5 7,2
Limfocyty Tc/Ts (CD8 ⁺)	19,0 4,8	17,6 4,9	17,8* 3,9	13,7 3,7	16,6* 4,1	12,5 3,5	16,1* 3,3	13,8 2,7	17,9* 1,9	14,5 1,2	17,7 2,2	15,1 2,0	16,0 2,7	22,1* 2,7	18,7* 3,7	14,1 3,6	16,7 1,5	14,5 2,2
Limfocyty B (IgM)	10,0 2,5	8,8 2,1	9,1 2,8	8,4 2,3	11,8* 1,3	4,8 0,5	7,3 2,0	8,6 2,0	11,3* 3,5	5,0 2,2	14,8 1,4	12,6 1,5	22,5* 3,2	16,5 3,5	23,1* 3,0	18,6 1,4	24,1* 2,5	16,1 2,2
Limfocyty CD25 ⁺	4,7 1,8	6,5 1,9	6,7 1,6	7,6 1,4	3,1 0,9	3,0 1,4	3,5 1,6	4,3 1,7	2,7 1,5	3,1 1,4	3,3 0,5	3,4 1,0	11,0* 1,6	7,6 1,0	14,4* 1,4	8,7 0,7	10,7 1,8	8,8 1,1

Objaśnienia: jak w tab. 2.

Tab. 4. Wyniki badań serologicznych u królików immunizowanych *Chl. psittaci* i *Chl. abortus*

Dzień badania	<i>Chlamydomphila psittaci</i> – szczep 6BC						<i>Chlamydomphila abortus</i> – szczep CAMP R-24					
	Rozcieńczenie surowicy											
	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64
1.	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
7.	--	++++	+	--	--	--	--	+++	+	+	--	--
14.	++++	++++	++	+	--	--	++++	++++	++	--	--	--
21.	++++	++++	+	--	--	--	++++	++++	+++	--	--	--
28.	++++	++++	++	+	+	--	++++	++++	++	--	--	--
35.	++++	++++	++++	+++	+	--	++++	++++	++++	+++	+	+
42.	++++	++++	++++	++++	+	--	++++	++++	++++	++++	+	--
49.	++++	++++	++++	++++	++	++	++++	++++	++++	++++	+	--
56.	++++	++++	++++	++++	++	+	++++	++++	++++	++++	++	--

Objaśnienia: hamowanie hemolizy określone na podstawie rozmiaru osadu krwinek oraz intensywności zabarwienia płynu nad krwinkami oznaczoną plusami od 1 do 4; hemoliza na dwa plusy (++) i wyżej w rozcieńczeniu 1 : 32 – to miano dodatnie (15)

cytów z receptorem CD25, zarejestrowano u zwierząt immunizowanych *Chl. psittaci* statystycznie istotny wzrost w 14., 42. i 49. dniu oraz spadek w 21. dniu badania, zaś w przypadku *Chl. abortus* różnice te występują w postaci wzrostu tylko w 42. i 49. dniu badania.

Analiza wyników badań serologicznych (tab. 4) wykazała, że dodatnie miana według obowiązującej instrukcji (15) pojawiają się u królików immunizowanych *Chl. psittaci* – szczep 6BC w 49. i 56. dniu badania, zaś u zwierząt otrzymujących *Chl. abortus* – szczep CAMP R-24, w 56. dniu doświadczenia.

Ocena liczby limfocytów T uzyskanej w układzie dynamicznym u królików immunizowanych tak *Chl. psittaci*, jak i *Chl. abortus* wykazała, że zmiany ich są nieco w odmiennym czasie i manifestują się zarówno wzrostem, jak i spadkiem limfocytów T – CD5⁺, Tc/Ts – CD8⁺ oraz limfocytów z receptorem CD25⁺ i tylko spadkiem limfocytów Th – CD4⁺, co świadczy o roli tych komórek w odporności przeciw chlamydialnej. Wprawdzie jest to zgodne z wynikami dotychczasowych badań (2-4, 6, 7, 12, 14, 16, 18-20, 22, 26, 27), które jednak nie określały czasu występowania zmian, jako że nie były prowadzone w układzie dynamicznym. Stwierdzony udział tych komórek w odpowiedzi przeciwchlamydialnej, wyrażający się zmianami liczby limfocytów T i ich subpopulacji u królików immunizowanych zarówno *Chl. psittaci*, jak i *Chl. abortus*, znajduje po części potwierdzenie w badaniach Montes de Oca i wsp. (20) i Del Rio (7). Badacze ci (7, 20) u myszy zakażonych *Chlamydophila abortus* (dawniejszy biotyp 1 *Ch. psittaci*), w wątrobie i śledzionie zarejestrowali tylko wzrost liczby limfocytów T z receptorami CD8 i CD4. Natomiast Buendia i wsp. (4) w śledzionie myszy zakażonych *Chlamydophila psittaci* stwierdzili nie tylko wzrost limfocytów T z receptorem CD4, ale także spadek limfocytów T z receptorem CD8. U owiec zakażonych *Chl. abortus* zanotowano w ich łożysku tylko wzrost limfocytów T z receptorem CD4⁺, CD8⁺ oraz z receptorem TCRγδ (6). Również tylko wzrost liczby limfocytów T (CD2), Th (CD4⁺) i Tc/Ts (CD8⁺) we krwi obwodowej zanotowano u bydła przy współistniejącej infekcji *Chl. psittaci* (22). Zbliżone rezultaty opisano także we krwi u indyków immunizowanych plazmidem kodującym białko MOMP *Chl. psittaci* – szczep 84/55 (serotyp D), u których zarejestrowano zwiększoną aktywność limfocytów Th (18), a także u ludzi w naturalnym zakażeniu *Ch. psittaci* (16). Dodać należy, że cytowane wyniki badań trudno jednoznacznie odnosić do rezultatów badań własnych, jako że dynamika zmian komórek immunokompetentnych, w tym limfocytów T i ich subpopulacji, jest nieco odmienna we krwi obwodowej w stosunku do śledziony, wątroby czy też łożyska. Trudny do zinterpretowania obraz w stosunku do rezultatów wyników własnych zanotowano u myszy zakażonych *Chlamydophila pecorum*, u których w śledzionie zarejestrowano wzrost limfocytów Th oraz spadek limfocytów Tc/Ts (4), a także u myszy

w drogach rodnych zainfekowanych *Ch. muridarum*, u których stwierdzono wzrost liczby limfocytów Th (19). Analogiczne rezultaty uzyskano w przypadku infekcji naturalnej *Chlamydia trachomatis* u człowieka (2, 14) oraz myszy eksperymentalnie zakażonych tym zarazkiem (12, 26), gdzie wykazano wzrost liczby limfocytów T, a w szczególności limfocytów Th (14, 26) i Tc/Ts (2, 12). Wyniki te potwierdzono u ludzi zakażonych naturalnie *Chl. pneumoniae* (3) oraz myszy eksperymentalnie zainfekowanych tą bakterią (27), u których stwierdzono zwiększoną proliferację limfocytów T (3) oraz zwiększoną aktywność głównie limfocytów Tc/Ts (27).

Uzyskany w obecnych badaniach tylko wzrost liczby limfocytów B we krwi obwodowej u królików immunizowanych *Chl. psittaci* i *Chl. abortus*, potwierdza obserwacje Levitta i wsp. (17), którzy *in vitro* wykazali na modelu mysim, że zakażenie *Ch. psittaci* – szczep MnPn i *Ch. trachomatis* – biotyp LGV stymuluje ich limfocyty B do proliferacji. Także Del Rio i wsp. (7) u myszy zakażonych *Chl. abortus* (dawniej biotyp 1 *Ch. psittaci*) zarejestrowali wzrost w śledzionie i wątrobie liczby limfocytów B. Analogiczny rezultat, to jest wzrost liczby limfocytów B, otrzymano w łożysku u owiec zakażonych *Chl. abortus* (6). Natomiast odmienny rezultat w zakresie liczby limfocytów B, otrzymali Buendia i wsp. (4), którzy wykazali, że infekcja myszy *Ch. psittaci* – szczep AB7 i 1B oraz *Ch. pecorum* – szczep iB1, powoduje w śledzionie obniżenie liczby tych komórek. Odmienny obraz od tego ostatniego, otrzymali Maxion i wsp. (19) u myszy zakażonych eksperymentalnie *Ch. muridarum*, gdzie stwierdzono wzrost liczby limfocytów B w ich drogach rodnych. Również wzrost liczby limfocytów B we krwi obwodowej zanotowano u bydła przy zakażeniu współistniejącym *Chl. psittaci* (22), jak też u indyków po immunizacji plazmidem kodującym białko MOMP *Chl. psittaci* (18). Udział limfocytów B w odpowiedzi przeciw chlamydialnej potwierdzili także Morrison i wsp. (21), badając wpływ reinfekcji *Ch. trachomatis* u myszy z deplecją limfocytów B, u których wykazano, że zwierzęta pozbawione tych komórek są bardziej podatne na powtórny infekcję tymi bakteriami. Ponadto zespół Ramseya (24) wykazał u myszy zainfekowanych *Ch. trachomatis*, że w przypadku braku aktywności limfocytów B indukowana jest rekompensacyjnie odpowiedź ze strony innych mechanizmów swoistych, a mianowicie odpowiedź typu późnego – warunkowana limfocytami T. Te ostatnie obserwacje potwierdził także zespół Buendia (5) u myszy mających komórki B o mniejszej aktywności zakażonych eksperymentalnie *Chl. abortus* – szczep AB7, u których stwierdzono wzrost w surowicy krwi prozapalnych cytokin (IFN-γ, TGF-β, TNF-α, IL-6, IL-10) oraz zwiększona liczbę neutrofilów w śledzionie, wątrobie, płucach i nerkach.

Z przedstawionych obserwacji własnych oraz z badań wykonanych przez inne zespoły (2-7, 12, 14,

16-22, 24, 26, 27) wynika, że ze względu tylko na zmiany liczby limfocytów T i B należy uznać, że komórki te stanowią bardzo istotny element obrony w zakażeniach bakteriami *Chlamydia sp.* i *Chlamydo-phila sp.* Badania te wykazały, że najważniejszymi komórkami biorącymi udział w odpowiedzi przeciw-chlamydialnej u ludzi i zwierząt (laboratoryjnych i gospodarskich), ze względu na czas występowania zmian, są limfocyty Tc/Ts oraz limfocyty Th, a także limfocyty B. Badania te wykazały również, że wzrost dotyczył głównie liczby limfocytów B, choć także limfocytów Tc/Ts, T oraz limfocytów z receptorem CD25, zaś spadek limfocytów Th i zmiany te przypadały na okres od 7.-14. dnia do 49.-56. dnia po immunizacji. Najdłużej zmiany utrzymywały się w zakresie liczby limfocytów B oraz limfocytów Tc/Ts. Zarejestrowany w badaniach własnych czas wzrostu i spadku liczby limfocytów T, B oraz ich subpopulacji jest tym, czego brakowało w obserwacjach do tej pory przeprowadzonych, jako że doświadczenia te były wykonane w układach statycznych, nie określając czasu zmian, które zaprezentowano obecnie i to stanowi nowy element w charakteryzowanej odporności przeciw chlamydialnej.

Piśmiennictwo

- Anon.: Karty informacyjne do założeń technologicznych produkcji zwierzęcej: Zwierzęta laboratoryjne, [w:] Mat. informacyjno-szkoleniowe Sekcji ds. Zwierząt laboratoryjnych ZG SITR, Warszawa 1987, 2, 26-77.
- Beatty P. R., Stephens R. S.: CD8⁺ T lymphocyte-mediated lysis of Chlamydia-infected L cells using an endogenous antigen pathway. *J. Immun.* 1994, 153, 4588-4595.
- Boer de O. J., van der Wal A. C., Houtkamp M. A., Ossewaarde J. M., Teeling P., Becker A. E.: Unstable atherosclerotic plaques contain T-cells that respond to Chlamydia pneumoniae. *Cardiovascular Res.* 2000, 48, 402-408.
- Buendia A. J., Sanchez J., Del Rio L., Garces B., del Carmen Gallego M., Caro M. R., Bernabe A., Salinas J.: Differences in the immune response against ruminant chlamydial strains in a murine model. *Vet. Res.* 2000, 30, 495-507.
- Buendia A. J., Del Rio L., Ortega N., Sanchez J., Gallego M. C., Caro M. R., Navarro J. A., Cuello F., Salinas J.: B-cell-deficient mice show an exacerbated inflammatory response in a model of Chlamydo-phila abortus infection. *Infect. Immun.* 2002, 70, 6911-6918.
- Buxton D., Anderson I. E., Longbottom D., Livingstone M., Wattedegera S., Entrican G.: Ovine chlamydial abortion: characterization of the inflammatory immune response in placental tissues. *J. Comp. Path.* 2002, 127, 133-141.
- Del Rio L., Buendia A. J., Sanchez J., Garces B., Caro M. R., Gallego M. C., Bernabe A., Cuello F., Salinas J.: Chlamydo-phila abortus (Chlamydia psittaci serotype 1) clearance is associated with the early recruitment of CD8⁺ T cells in a mouse model. *J. Comp. Pathol.* 2000, 123, 171-181.
- Deptula W., Kostrzewa A., Stosik M., Tokarz-Deptula B., Wiktorowicz K.: Subpopulations of peripheral blood lymphocytes in rabbits. *Nowiny Lekarskie* 1998, 67, 377-382.
- Deptula W., Pawlikowska M., Travniček M.: Nowe dane na temat systematyki chlamydii. *Post. Mikrobiol.* 2002, 41, 71-83.
- Deptula W., Pawlikowska M., Travniček M.: Chlamydo-filozja u zwierząt i ludzi. *Medycyna Wet.* 2002, 58, 337-340.
- Everett K. D., Bush R. M., Andersen A. A.: Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *Int. J. Syst. Bact.* 1999, 49, 415-440.
- Fling S. P., Sutherland A. R., Steele L. N., Hess B., D'Orazio S. E. F., Maisonneuve J.-F., Lampe M. F., Probst P., Starnbach M. N.: CD8⁺ T cell recognize an inclusion membrane-associated protein from vacuolar pathogen Chlamydia trachomatis. *Proc. natn. Acad. Sci. USA* 2001, 98, 1160-1165.
- Garrity G. M.: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Second Edition. Volume 1. The Archaea and the deeply branching and phototropic bacteria. Boone D., Castenholz R. W. (ed.), Springer-Verlag, New York 2001.
- Goodall J. C., Yeo G., Huang M., Raggiacchi R., Gaston J. S. H.: Identification of Chlamydia trachomatis antigens recognized by human CD4⁺ T lymphocytes by screening an expression library. *Eur. J. Immun.* 2001, 31, 1513-1522.
- Instrukcja Głównego Lekarza Weterynarii Nr GIWzVIII/400/lab-50/2004 z dnia 25 listopada 2004 r. dotycząca przeprowadzania badania serologicznej diagnostyki chlamydiozy bydła i enzootycznego ronienia owiec z wykorzystaniem mikrometody odczynu wiązania dopełniacza (OWD), z elementami szacowania niepewności pomiaru.
- Konopka L., Koba S., Partyka M., Maślanka K., Kryczka W., Szerszeń B., Bartosz B.: Disturbances of cell-mediated immunity in ornithosis. *Arch. Immun. Ther.* 1984, 32, 177-184.
- Levitt D., Danen R., Bard J.: Both species of Chlamydia and two biovars of Chlamydia trachomatis stimulate mouse B lymphocytes. *J. Immun.* 1986, 136, 4249-4254.
- Loock van M., Lambin S., Volckaert G., Goddeeris B. M., Vanrompay D.: Influence of maternal antibodies on Chlamydo-phila psittaci-specific immune responses in turkeys elicited by naked DNA. *Vaccine* 2004, 22, 1616-1623.
- Maxion H. K., Liu W., Chang M.-H., Kelly K.: The infecting dose of Chlamydia muridarum modulates the innate immune response and ascending infection. *Infect. Immun.* 2004, 72, 6330-6340.
- Montes de Oca R., Buendia A. J., Del Rio L., Sanchez J., Salinas J., Navarro J. A.: Polymorphonuclear neutrophils are necessary for the recruitment of CD8⁺ T cells in the liver in a pregnant mouse of Chlamydo-phila abortus (Chlamydia psittaci serotype 1) infection. *Infect. Immun.* 2000, 68, 1746-1751.
- Morrison S. G., Su H., Caldwell H. D., Morrison R. P.: Immunity to murine Chlamydia trachomatis genital tract reinfection involves B cells and CD4⁺ T cell but not CD8⁺ T cell. *Infect. Immun.* 2000, 68, 6979-6987.
- Niemczuk K., Bednarek D.: Changes in the peripheral leukocyte phenotype of calves in clinical cases of bronchopneumonia complicated with chlamydial co-infectious agent. *Pol. J. Vet. Sci.* 2003, 6, 125-129.
- Pawlikowska M.: Kształtowanie się wybranych parametrów odporności u królików immunizowanych różnymi szczepami Chlamydia sp. Praca doktorska, Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Szczeciński, Szczecin 2003.
- Ramsey K. H., Soderberg L. S. F., Rank R. G.: Resolution of chlamydial genital infection in B-cell deficient mice and immunity to reinfection. *Infect. Immun.* 1988, 56, 1320-1325.
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 24.02.2005 roku w sprawie szczegółowych warunków utrzymywania zwierząt w hodowlach zwierząt laboratoryjnych oraz w jednostkach prowadzących obserwacje lub testy (Dz. U. Nr 39, poz. 374).
- Shaw J., Grund V., Durling L., Crane D., Caldwell H. D.: Dendritic cells pulsed with a recombinant chlamydial major outer membrane protein antigen elicit a CD4⁺ type 2 rather than type 1 immune response that is not protective. *Infect. Immun.* 2002, 70, 1097-1105.
- Wizel B., Starcher B. C., Samten B., Chronos Z., Barnes P. F., Dzuris J., Higashimoto Y., Appella E., Sette A.: Multiple Chlamydia pneumoniae antigens prime CD8⁺ Tc1 responses that inhibit intracellular of this vacuolar pathogen. *J. Immun.* 2002, 169, 2524-2535.

Adres autora: dr n. biol. Małgorzata Pawlikowska, ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin; e-mail: kurp13@sus.univ.szczecin.pl