



Jak drobnoustroje nami sterują

Immunomodulacyjne właściwości mikroorganizmów

*Elżbieta Ograczyk¹⁾, Bartłomiej Micota²⁾, Eliza Miszczyk³⁾, Adrian Gajewski³⁾,
Marcin Włodarczyk¹⁾, Karolina Rudnicka³⁾, Beata Sadowska²⁾*

Organizm człowieka już od chwili narodzin spotyka się z wieloma wyzwaniami – zarówno związanymi z rozwojem i adaptacją do nowego otoczenia, jak również kolonizacją przez drobnoustroje. Już w pierwszych godzinach życia układ odpornościowy noworodka wchodzi w interakcje z mikroorganizmami pochodzącymi z otoczenia: powietrza, przedmiotów czy skóry matki [30, 31].

Mikroflora naturalna czyli mikrobiota

Większość drobnoustrojów zasiedlających skórę i błony śluzowe to mikroorganizmy wchodzące w skład mikroflory naturalnej tzw. mikrobioty, niezbędnej dla właściwego rozwoju człowieka. Fakt, obserwowanej u zwierząt niezasiedlonych przez drobnoustroje (tzw. germ free), nasilonej tendencji do rozwoju reakcji alergicznych, poparty wynikami badań epidemiologicznych schorzeń alergicznych u ludzi, doprowadził do postawienia hipotezy, że nadmierna ochrona organizmu dziecka przed drobnoustrojami środowiskowymi (np. poprzez nadużywanie preparatów odkażających) utrudnia wytworzenie się u niego właściwej mikrobioty naturalnej i czyni organizm dziecka podatnym na rozwój chorób alergicznych [47]. Doceniając fizjologiczne znaczenie natu-

ralnej mikroflory w życiu ludzi i zwierząt nie możemy zapominać o drobnoustrojach chorobotwórczych, które w warunkach sprzyjających mogą stać się groźne, a nawet śmiertelnie niebezpieczne dla organizmu. Warunkami sprzyjającymi rozwojowi zakażeń są m.in. intensywne i długotrwałe antybiotykoterapia eliminująca mikroflorę naturalną, czy obniżenie odporności wrodzonej lub wywołane ciężką chorobą podstawową, długotrwałym obciążającym leczeniem, ciążą lub ogólnym wyniszczeniem organizmu [4, 34, 45]. Układ odpornościowy człowieka został podzielony na wrodzony i nabyty. Różnice pomiędzy nimi dotyczą zarówno receptorów rozpoznających patogeny, komórek biorących udział w kształtowaniu reakcji odpornościowych oraz szybkości i swoistości odpowiedzi [3, 13].

Odporność wrodzona i swoista

Odporność wrodzona jest ewolucyjnie starsza, nie jest swoista, tzn. działa na każdy rodzaj drobnoustrojów chorobotwórczych lub/i naturalnych pojawiających się w tkankach fizjologicznie jałowych, reaguje szybko i nie wymaga wcześniejszego kontaktu z komponentami drobnoustrojów czyli z antygenami. Odporność swoista natomiast jest ewolucyjnie młodsza, bardziej złożona i precyzyjna (swoista) czyli ukierunkowana na konkretny patogen. Do jej pobudzenia wymagany jest uprzedni kontakt z antygenami danego drobnoustroju. Komórki odporności swoistej „uczą się” reagować na antygen i nauka ta początkowo wymaga czasu, a po kolejnym kontakcie tzw. „komórki pamięci” wykorzystują nabytą wcześniej wiedzę reagując celnie i szybko na zagrażający organizmowi pa-

togen. Efektywna odpowiedź organizmu jest ściśle uzależniona od współdziałania mechanizmów wrodzonej i nabytej odporności. Na odporność wrodzoną składa się nie tylko spójność warstwy komórek skóry i błon śluzowych, rozpuszczalne biobójcze cząsteczki, takie jak defensyny czy lizozym (składnik łez, śliny), ale również komórki, które można nazwać „zwiadowcami” lub „siłami szybkiego reagowania”, do których należą: makrofagi (MØ), komórki dendrytyczne (KD), granulocyty oraz komórki naturalnie cytotoksyczne – tzw. Natural Killer (NK). Każda z powyższych grup komórek ma swoją specjalną misję. Makrofagi jako „zwiadowcy” przeszukują tkanki w poszukiwaniu obcych czynników zakaźnych, a po ich rozpoznaniu pochłaniają je w procesie fagocytozy i prezentują antygeny komórkom odporności swoistej, takim jak limfocyty



T i B. KD natomiast po przechwyceniu obcego antygeny nie tylko przetwarzają go i prezentują innym komórkom układu odpornościowego, ale w zależności od natury pochłoniętego antygeny wydzielają też cytokiny (rozpuszczalne cząsteczki sygnałowe, dzięki którym komórki odpornościowe komunikują się i wpływają wzajemnie na siebie) i w ten sposób ukierunkowują reakcje odpowiedzi swoistej. Komórki NK rozpoznają wszystkie komórki wyglądające „podejrzanie”, przykładowo nie posiadające wystarczającej ilości receptorów charakterystycznych dla komórek zdrowych, komórki zmienione nowotworowo czy komórki zakażone bakteriami, wirusami lub pasożytami. W odpowiedzi uwalniają ze swoich ziarnistości substancje o właściwościach cytotolitycznych tworzące pory w komórkach docelowych. Ostatecznie zmienione/zakażone komórki są niszczone. Na miejscu lizy zaś pojawiają się granulocyty i makrofagi „sprzątające miej-

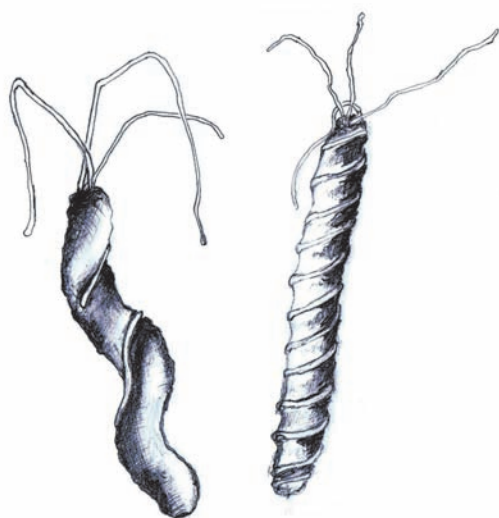
sce zbrodni” czyli pochłaniające pozostałości, które mogłyby naruszyć równowagę i wzbudzić niepotrzebne „zamieszanie” – lokalną reakcję zapalną [3]. Komórki odporności wrodzonej pełniące rolę „strażników” działają szybko, a skuteczność ich pracy zależy od współdziałania i komunikowania się. Jeśli któryś z powyższych elementów zawiedzie, kolejne również staną się nieskuteczne. Tę zależność wykorzystują mikroorganizmy, które „opracowały” sposoby manipulowania komórkami odporności wrodzonej w taki sposób, aby pozostać niezauważonymi w organizmie gospodarza i unikać mechanizmów efektorowych prowadzących ostatecznie do eliminacji zakażenia. Drobnoustroje takie można znaleźć wśród wszystkich grup patogenów (wirusów, bakterii, pasożytów, grzybów) i zwykle powodują one zakażenia o charakterze przewlekłym, w których pierwsze etapy kolonizacji i fazy ostrej są raczej krótkie i szyb-

ko przeradzają się w postaci chroniczną. Bakterie z gatunku *Helicobacter pylori*, *Mycobacterium tuberculosis* czy *Staphylococcus aureus*, pomimo mikroskopijnych rozmiarów, są znane z umiejętności wymykania się spod kontroli układu odpornościowego.

Helicobacter pylori – lokator od wieków

Helicobacter pylori to Gram-ujemne, nieprzetrawialne bakterie zasiedlające ponad połowę populacji ludzi na świecie. U 20% zakażonych pałeczki te wywołują zapalenie błony śluzowej żołądka i dwunastnicy, wrzody żołądka i raka tego narządu [2, 15]. Dzięki zastosowaniu nowoczesnych technik genetycznych, uzupełnionych badaniami epidemiologicznymi i historycznymi, dowiedziono, że różnorodność genetyczna *H. pylori* zmniejsza się wraz z odległością od Afryki Wschodniej – miejsca pochodzenia współczesnych ludzi. Przy pomocy wieloczynnikowej analizy genetycznej badacze stworzyli symulację, która ujawniła, iż bakterie te rozprzestrzeniły się z Afryki Wschodniej około 58000 lat temu i towarzyszyły człowiekowi jeszcze przed rozpoczęciem migracji z Afryki [19]. W toku swojej „koewolucji” pałeczki *H. pylori* wytworzyły szereg mechanizmów pozwalających na ich dynamiczną adaptację do zmieniających się warunków panujących w organizmie gospodarza rys. 1 [10]. Jeden z forteli, jaki stosują bakterie *H. pylori* by przeżyć w niesprzyjających warunkach błony śluzowej żołądka i kwaśnym pH soku żołąd-

kowego, jest wytwarzanie enzymu – ureazy, która hydrolizując mocznik (składnik soku żołądkowego) prowadzi do alkalizacji otoczenia, umożliwiając przeżycie i namnażanie się tych bakterii. Co więcej, pałeczki *H. pylori* stosują pewnego rodzaju „kamouflaż” określany mianem mimikry antygenowej. Otóż w powierzchniowych strukturach tych bakterii występują lipopolisacharydy (LPS), które posiadają tzw. cząsteczki Lewis występujące zarówno na powierzchni pałeczek *H. pylori*, jak i na komórkach gospodarza. Dzięki temu bakterie te są słabiej rozpoznawane jako obce przez komórki odpornościowe gospodarza i tym samym mogą unikać eliminacji [11]. Ostatnie badania wykazały również, że pałeczki *H. pylori* po kontakcie z komórkami dendrytycznymi, modulują ich aktywność. W efekcie czego KD, zamiast alarmować i pobudzać limfocyty do aktywacji, proliferacji i walki z zagrożeniem, wzbudzają w nich wydzielanie cytokin hamujących i regulujących działanie układu odpornościowego. Interleukina 10 (IL-10) jest najlepszym przykładem takiej substancji [42]. Badania prowadzone w Katedrze Immunologii i Biologii Infekcyjnej UŁ, wykazały, że LPS *H. pylori* osłabia aktywność cytotoksyczną komórek NK, pełniących ważną rolę w nieswoistej odpowiedzi przeciwważnej. Hamuje w nich biosyntezę cytokin prozapalnych (IL-2 i IFN- γ), które należą do cytokin pobudzających ich aktywność, i jednocześnie stymuluje je do wydzielania

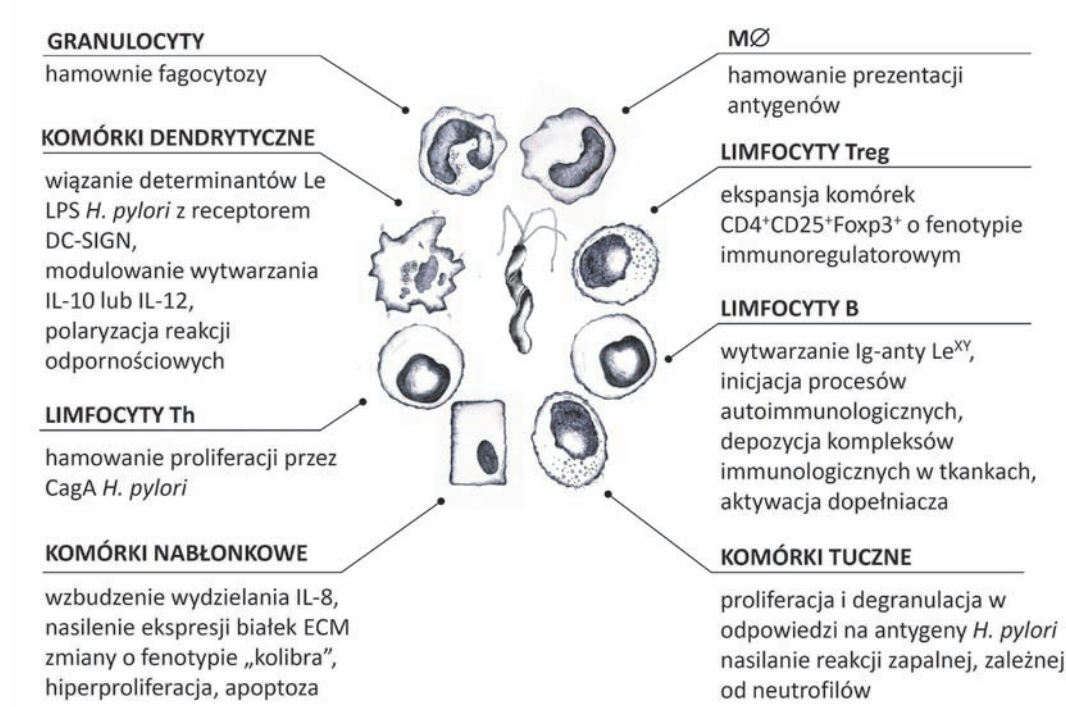


Rys. 1. Zróżnicowanie form pałeczkowatych *H. pylori*: forma S-kształtna (z lewej strony), forma helikalna (z prawej strony) [aut. K. Rudnicka, 50]



IL-10 – cytokiny o silnych właściwościach immunoregulatorowych [39, 48, 49]. Ponadto stwierdzono, że LPS *H. pylori* osłabia zdolność pochłaniania tych bakterii przez granulocyty oraz hamuje podziały limfocytów obwodowych [21, 22]. Przy czym zdolność dzielenia się limfocytów jest niezbędna do utworzenia odpowiednio dużej populacji komórek przeznaczonych do walki z zakażeniem.

Badania nad immunomodulacyjnymi właściwościami komponentów bakterii mogą być prowadzone zarówno w warunkach laboratoryjnych – *in vitro*, jak i na modelach zwierzęcych, które imitują zakażenie występujące *in vivo* u ludzi. Jedynym naturalnym rezerwuarem pałeczek *H. pylori* jest błona śluzowa żołądka i dwunastnicy człowieka, jednak ze względu na ograniczenia związane z prowadzeniem badań *in vivo* na ludziach, w badaniach nad przebiegiem zakażenia *H. pylori* szeroko wykorzystywane są modele zwierzęce. Badania te dostarczają wiedzy na temat mechanizmów regulujących reakcje odpornościowe, są również pomocne w opracowaniu nowych metod leczenia, a także umożliwiają przewidywanie niekorzystnych skutków ich działania. Szczególne modele zwierzęce pozwalają na prześledzenie naturalnej historii, zarówno ostrego, jak i przewlekłego zakażenia *H. pylori* w powiązaniu ze zmianami patologicznymi i przebiegiem procesów odpornościowych oraz odniesienie uzyskanej wiedzy do etiopatogenezy zakażeń



Rys. 2. Właściwości immunomodulacyjne pałeczek *H. pylori* wobec komórek gospodarza [skrótly: DC-SIGN (dendritic cell-specific ICAM-3 grabbing nonintegrin, nieintegryna swoista dla komórek dendrytycznych wiążąca ICAM-3); IL (interleukina); ECM (extracellular matrix, macierz zewnątrzkomórkowa); Le (Lewis); MØ (makrofag); LPS (lipopolisacharyd); Th (T helper, limfocyty pomocnicze); Treg (limfocyty regulatorowe)] [aut. K. Rudnicka]

występujących u ludzi [40]. Immunomodulacyjne właściwości komponentów *H. pylori* zostały zbadane m.in. na modelu wykorzystującym świnki morskie. W tym celu zwierzęta laboratoryjne zakażano zawiesiną pałeczek *H. pylori* i po 4 tygodniach oceniano wpływ istniejącego zakażenia na aktywność komórek odporności wrodzonej – NK i monocytów/makrofagów. Wykazano, że LPS *H. pylori* prowadzi do zaburzenia prezentacji antygeny przez monocyty/makrofagi limfocytom T, prawdopodobnie na drodze hamowania ich dojrzewania do funkcji prezentacji antygeny. W konsekwencji *H. pylori* przyczynia się do zaburzenia inicjacji rozwoju adaptacyjnej swoistej odpowiedzi immunologicznej

[40]. Rysunek 2 przedstawia immunomodulacyjne właściwości *H. pylori* względem komórek gospodarza. W zakażeniach z udziałem *H. pylori* warto zwrócić uwagę nie tylko na zmiany w obrębie błony śluzowej żołądka (jej erozję), a w dalszej konsekwencji chorobę wrzodową czy zmiany nowotworowe, ale także na inne konsekwencje. W momencie, gdy w żołądku osoby zakażonej *H. pylori* rozwija się stan zapalny błony śluzowej, to w następstwie może on prowadzić do uszkodzenia naturalnej bariery, jaką stanowi warstwa komórek nabłonka żołądka. Wówczas komponenty antygenowe pałeczek *H. pylori* mogą przedostać się do krwioobiegu. Rozpatruje się więc teorię udziału

drobnoustrojów, wśród których wymienia się właśnie pałeczki *H. pylori*, w patogenezie miażdżycy, a w konsekwencji chorobie niedokrwiennej serca. Ścisłej ujmując zakłada się, że bakterie te, biorąc udział w przewlekłej reakcji zapalnej, mogą wpływać na rozwój i progresję zmian miażdżycowych w naczyniach krwionośnych [7]. Pierwsze doniesienia na ten temat pojawiały się już na początku lat 90. XX w. [8]. Wyjaśnienie tej hipotezy jest ważne z punktu widzenia epidemiologicznego i zarazem społecznego. Choroba niedokrwienności serca oraz miażdżycy uznawane są bowiem za choroby cywilizacyjne XXI wieku. Jeśli do całości obrazu dodamy badania epidemiologiczne



wskazujące, iż połowa populacji ludzi jest zakażona *H. pylori*, to problem wydaje się bardzo poważny, stanowiąc wyzwanie, zarówno dla diagnostyki, jak i leczenia tych schorzeń. Udział *H. pylori* w patogenezie i rozwoju choroby niedokrwiennej serca, znajduje się w ostatnim czasie w obszarze badań Pracowni Gastroimmunologii Katedry Immunologii i Biologii Infekcyjnej UŁ. W przeprowadzonych do tej pory badaniach dowiedziono, iż u ponad połowy osób zakażonych pałeczkami *H. pylori* obserwuje się zaburzenia frakcji lipidowej w surowicy krwi, co stanowi czynnik ryzyka i jednocześnie jest markerem zmian miażdżycowych [37].

***Mycobacterium tuberculosis* – bez ustanku w akcji**

Drobnoustrojami „wyspecjalizowanymi” w unikaniu odporności wrodzonej gospodarza są także prątki gruźlicy – *Mycobacterium tuberculosis*. Obecne dane epidemiologiczne wskazują, że gruźlica (TB) pozostaje ogóln światowym problemem, którego nie rozwiązała ani dostępna terapia, ani stosowana na szeroką skalę szczepionka przeciwgruźlicza BCG. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) 1/3 populacji świata jest zakażona prątkami *M. tuberculosis* [20]. Najniższy współczynnik zachorowania na gruźlicę odnotowuje się w krajach wysoko rozwiniętych, w tym w większości państw zachodniej Europy, Kanadzie, Stanach Zjednoczonych Ameryki, Australii oraz Nowej Zelandii. Najwięcej nowych przypadków

tej choroby odnotowuje się w krajach południowej Afryki: Mozambiku, Zimbabwe oraz w Korei Północnej [20]. Pierwsze wzmianki o gruźlicy pojawiły się już w starożytnej Grecji, chociaż badania archeologiczne egipskich mumii (3000 p.n.e.) dostarczyły dowodów, że już wtedy choroba ta zbierała śmiertelność. Jedną z hipotez zakłada powstanie rodzaju *Mycobacterium* już w jurze czyli ok. 150 mln lat temu [12]. Według Gutierrez i wsp. przodek *M. tuberculosis* mógł zakażać człowieka już 3 mln lat temu, jednak dopiero udomowienie bydła (ok. 10 000 lat temu) pozwoliło prątkom *M. bovis* na przełamanie bariery zwierzę-człowiek, co przyczyniło się do powstania nowego gatunku prątków – *M. tuberculosis* [12, 17, 18, 24, 41].

Prątki gruźlicy są Gram-dodatnimi, lekko wygiętymi pałeczkami tlenowymi lub mikroaerofilnymi, których czas generacji wynosi od 18 do 24 godzin. Ściana komórkowa prątków ma dość unikatową w świecie bakterii budowę – poza peptydoglikanem i polisacharydami zawiera także nietypowe glikolipidy i lipidy, w tym długołańcuchowe kwasy mykolowe [9, 17, 18]. Taka budowa ściany komórkowej prątków warunkuje ich kwasooporność. Prątki *M. tuberculosis* nie wytwarzają przetrwalników, ale mają zdolność do wchodzenia w stan spoczynkowy, charakteryzujący się obniżoną aktywnością metaboliczną oraz opornością na niekorzystne warunki środowiskowe [18]. Co więcej, naturalna oporność prątków na

wiele antybiotyków sprawia, iż leczenie gruźlicy jest trudne, a niekiedy nawet niemożliwe. Ta oporność związana jest nie tylko z hydrofobową ścianą komórkową, która tworzy nieprzepuszczalną dla leków barierę, lecz determinowana jest również obecnością licznych genów lekooporności. Poza tym wysoka lekooporność prątków, potęgowana jest dodatkowo przez liczne mutacje w obrębie genomu będące konsekwencją nieodpowiedniego (trwającego zbyt krótko lub przerwane) leczenia [9, 18].

Do zakażenia prątkami *M. tuberculosis* najczęściej dochodzi na drodze inhalacyjnej, poprzez kropelki aerozolu wydzielane podczas mówienia bądź kasłania osób z aktywną gruźlicą (prątkujących) [14, 23, 43, 46, 54]. Bakterie te przedostają się do pęcherzyków płucnych, gdzie są rozpoznawane i fagocytowane (pochlaniane) przez komórki funkcjonujące w ramach odporności wrodzonej – makrofagi alweolarne, neutrofile oraz komórki dendrytyczne. Ocenia się, że w fagolizosomach aktywnych makrofagów strawieniu ulega 90% wnikaających do organizmu prątków gruźlicy. Zainfekowane komórki uwalniają cytokiny prozapalne, które rekrutują do miejsca toczącego się procesu zapalnego kolejne komórki układu odpornościowego, głównie komórki dendrytyczne oraz neutrofile, funkcjonujące jako profesjonalne fagocyty i regulujące procesy wrodzonej odporności komórkowej poprzez wydzielane cytokiny i mediatory reakcji zapalnej [23]. Jednak

słabo aktywne makrofagi stają się niszą życiową dla rozwijających się w nich prątków, które ostatecznie powodują zniszczenie makrofagów, co skutkuje rozsiewem tych bakterii [23, 43, 46, 51, 54]. Związane jest to ze zdolnością prątków do hamowania uwalniania białka TACO (ang. *tryptophan-aspartate-containing coat protein*) z fagosomu, który to proces warunkuje powstawanie fagolizosomów – organelli fagocytów niezbędnych do przeprowadzania wewnątrzkomórkowego zabijania drobnoustrojów. Tym samym prątki gruźlicy pozostają żywe w słabo aktywnych makrofagach [55]. Analiza genomu *M. tuberculosis* ujawniła szereg genów regulatorowych, które uczestniczą w dojrzewaniu fagosomów, będąc jednocześnie niezbędnymi do przeżycia prątków w makrofagach, zarówno w przebiegu ostrej, jak i przewlekłej infekcji. Kluczową rolę odgrywają tutaj dwuskładnikowe systemy regulatorowe 2CR (ang. *two-component regulatory system*). Jak dotąd w genomie prątków zidentyfikowano 11 par systemów regulatorowych, odpowiadających za przeżywanie wewnątrz makrofagów oraz uczestniczących w regulowaniu odpowiedzi na stres związany z ograniczonym dostępem do tlenu. Prątki *M. tuberculosis* wykorzystują równocześnie wiele strategii pozwalających im na przeżycie w niekorzystnych warunkach panujących wewnątrz makrofagów. Znajdujące się tam bakterie narażone są na działanie reaktywnych form tlenu i azotu, przeciw-



bakteryjnych białek kationowych (CAMPs – ang. *cationic antimicrobial peptides*), w tym HNP-1 (ang. *human neutrophil peptide-1*) oraz lizozymu, które uszkodzają prątkowe DNA, a także zaburzają integralność bogatej w komponenty lipidowe ściany komórkowej tych bakterii. Prątki *M. tuberculosis* posiadają gen *lysX* kodujący dwudomenowe białko, które warunkuje powstawanie lizynowanego fosfatydyloglicerolu (L-PG), nadającego prątkom oporność na CAMPs poprzez utrzymanie integralności ich ściany komórkowej [35, 36]. Jednakże, pomimo intensywnych badań, obecna wiedza nie pozwala przewidywać skutków zakażenia *M. tuberculosis* na podstawie dających się mierzyć parametrów odpowiedzi odpornościowej na te patogeny. Pełniejsze zrozumienie zależności pomiędzy komórkowymi i sekrecyjnymi indikatorami odpowiedzi odpornościowej gospodarza na prątki *M. tuberculosis* w bezobjawowych zakażeniach utajonych oraz w aktywnej gruźlicy może usprawnić diagnozowanie i leczenie chorych oraz opracowywanie nowych sposobów profilaktyki gruźlicy. Zagadnienia te znajdują się w obszarze zainteresowań badawczych pracowników i doktorantów Zakład Immunologii Komórkowej Katedry Immunologii i Biologii Infekcyjnej UŁ.

***Staphylococcus aureus* – wszechobecny i podstępny**

Innym drobnoustrojem, posiadającym szeroki wachlarz czynników wirulencji (in. zjadliwości, chorobotwórczości)

wykształconych w toku tysięcy lat ewolucji, jest *Staphylococcus aureus* (gronkowiec złocisty). To jeden z najbardziej znanych, a zarazem najbardziej powszechnych i niestety nadal groźnych patogenów człowieka. Szacuje się, iż co trzecia osoba jest stałym nosicielem tych bakterii (zwykle na błonach śluzowych jamy nosowo-gardłowej), a przejściowe nosicielstwo sięga nawet 60% populacji ludzkiej. W warunkach fizjologicznych gronkowce złociste izoluje się również ze skóry i układu pokarmowego [29, 53]. Najczęstsze zmiany chorobowe wywoływane przez gronkowce dotyczą skóry i tkanek miękkich – są to ropnie, czyraki, zapalenie mieszków włosowych, a także ropne zakażenia ran pooperacyjnych czy pourazowych (zazwyczaj przewlekłe, trudno gojące). *S. aureus* mogą być również przyczyną zatruc pokarmowych, zakażeń układu oddechowego, układu moczowego, kości i szpiku kostnego, zapalenia wsierdza i mięśnia sercowego, zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych czy sepsy [5, 32, 53]. Wraz z postępem medycyny i coraz powszechniejszym wykorzystaniem biomateriałów medycznych (np. cewniki naczyniowe i urologiczne, sztuczne zastawki serca, protezy stawów i kości) narasta także problem związany z ich częstym zasiedlaniem przez gronkowce (zwykle tworzące na powierzchni biomateriałów biofilm) i rozwojem zakażeń im towarzyszących [33, 44, 53].

Dysponując tak potężną bronią, jak układ odpornościowy, pojawia się pytanie dlaczego

czasami jesteśmy bezradni w starciu z gronkowcami? Co sprawia, że nasze mechanizmy obronne zawodzą? Sukces drobnoustroju mierzony efektem końcowym w postaci pełnoobjawowego zakażenia zależy przede wszystkim od umiejętności unikania mechanizmów obronnych (głównie nieswoistych) funkcjonujących w tzw. wrotach zakażenia (miejscu проникnięcia drobnoustrojów do organizmu). Natomiast o gronkowcach wiadomo, że wydzielają szereg produktów działających hamująco na mechanizmy obronne gospodarza i ułatwiających im rozprzestrzenianie w organizmie. *S. aureus* przede wszystkim wykazują zdolność blokowania chemotaksji czyli ruchu komórek

fagocytarnych (odpowiedzialnych za pochłanianie i zabijanie drobnoustrojów) w kierunku miejsca zakażenia. Białka gronkowcowe, takie jak SSL-5 czy Eap, łącząc się z powierzchniowymi receptorami na komórkach śródbłonki naczyń krwionośnych, blokują miejsca przyczepu dla fagocytów i tym samym pierwszy etap chemotaksji – przechodzenie tych komórek z krwiobiegu do tkanek [1, 27, 53]. Niektóre szczepy gronkowców wytwarzają białko CHIPS (ang. *chemotaxis inhibitory protein of S. aureus*) wiążące się z receptorami fagocytów rozpoznającymi składnik C5a dopełniacza czy formylowane peptydy, co w konsekwencji prowadzi do swojego rodzaju „obojętności” leukocytów



Dedykowane oprogramowanie dla laboratoriów **DGSoft-LIMS**

- rejestruje dane z aparatury pomiarowej,
- gromadzi dokumentację elektroniczną,
- umożliwia wystawianie certyfikatów jakości,
- wspomaga proces walidacji,
- współpracuje z pozostałymi systemami informatycznymi,
- wspomaga pracę kontroli jakości.



Pełna oferta na www.dgsoft.pl

DGSoft Sp. z o.o., ul. Wojska Polskiego 8, 41-200 Sosnowiec
tel. 32 720 25 43, e-mail: biuro@dgsoft.pl



na te chemoatraktanty i zablokowania procesu chemotaksji [16, 32, 53]. Warto również zwrócić uwagę na gronkowcowe białko SCIN (ang. *staphylococcal complement inhibitor*) będące inhibitorem aktywacji dopełniacza – systemu białek uczestniczących w opsonofagocytozie i prowadzących do nieswoistej lizy komórek, w tym komórek drobnoustrojów. Unikanie pochłaniania i zabijania przez fagocyty (procesu fagocytozy) jest ważnym elementem przystosowawczym gronkowców, który te drobnoustroje dopracowały do perfekcji. Dzięki powierzchniowym białkom określanym mianem czynników skupiania (ang. *clumping factor*) komórki tych bakterii mają zdolność wiązania obecnego w surowicy fibrynogenu, tworząc większe i tym samym trudniejsze do pochłonięcia agregaty oraz pokrywając swoją powierzchnię swojego rodzaju „płaszczem ochronnym” uniemożliwiającym wiązanie się swoistych przeciwciał czy aktywację dopełniacza. Gronkowcowe białko A (SpA) wiąże natomiast swoiste przeciwciała w odwrotnej orientacji niż w klasycznych kompleksach antygen-przeciwciało (fragmentem Fc), a co za tym idzie uniemożliwia rozpoznanie tak opłaszczonych gronkowców przez receptory dla przeciwciał obecne na fagocytach. Ważnym mechanizmem unikania fagocytozy jest także produkcja przez *S. aureus* stafilokinazy aktywującej proteolityczną degradację przeciwciał, białek komplementu i zewnątrzkomórkowej macierzy oraz blokującej aktywność defensyn [16,

25, 32, 53]. Gronkowce złoście wytwarzają również szereg toksyn wykazujących aktywność cytotoksyczną w stosunku do leukocytów, prowadząc (w zależności od stężenia) do apoptozy lub nekrozy tych komórek. Wśród tego typu toksyn można wymienić hemolizynę α (α -toksynę), leukocydynę Panton-Valentine (PVL) czy toksynę zespołu wstrząsu toksycznego (TSST-1) [5, 26, 56]. Część komórek drobnoustrojów zostaje jednak finalnie pochłonięta przez komórki żerne, ale nawet wtedy gronkowce nie pozostają zupełnie bezbronne. Wewnątrzkomórkowe zabijanie drobnoustrojów w fagocytach może opierać się zarówno o mechanizmy tlenowe, związane z powstawaniem tzw. reaktywnych form tlenu (RFT), jak i o aktywność enzymatyczną substancji zawartych w ziarnistościach lizosomalnych. Podczas wybuchu tlenowego w komórkach fagocytarnych dochodzi do wytwarzania RFT, takich jak nadtlenek wodoru (H_2O_2), anionorodnik ponadtlenkowy ($O_2^{\cdot-}$), tlen singletowy (1O_2) czy rodniki hydroksylowe (HO^{\cdot}) [16, 28]. Drobnoustroje chronią się przed toksycznym działaniem tych związków między innymi poprzez specyficzne enzymy prowadzące do przekształcania RFT w formy mniej aktywne. Gronkowce produkują chociażby katalazę rozkładającą nadtlenek wodoru do wody i tlenu oraz dysmutazę ponadtlenkową inaktywującą anionorodnik ponadtlenkowy. Zaś wytwarzany przez wiele szczepów *S. aureus* barwnik karotenoidowy – stafiloksanina usuwa RFT z otoczenia bakterii. Wymienione czynniki wirulen-

cji skutecznie interferują z mechanizmami obronnymi organizmu gospodarza warunkując przeżycie gronkowców we wrotach zakażenia, a produkcja enzymów, takich jak hialuronidaza, koagulaza, fibrylizyna, proteazy, lipazy czy nukleazy dodatkowo umożliwiają *S. aureus* szybką penetrację głębszych tkanek [16, 32, 56]. Przedstawiony panel czynników wirulencji gronkowców i łatwość z jaką tworzą biofilmy na powierzchniach biotycznych i abiotycznych, w połączeniu z narastającą opornością tych drobnoustrojów na antybiotyki, przesądza o zajmowaniu przez *S. aureus* jednego z czołowych miejsc wśród najpoważniejszych patogenów człowieka [33, 44, 53, 57]. Zakażenia gronkowcowe nadal stanowią poważny problem medyczny i epidemiologiczny, zmuszając do poszukiwania nowych grup związków (w tym pochodzenia naturalnego) o potencjale terapeutycznym. W Pracowni Biologii Zakażeń Katedry Immunologii i Biologii Infekcyjnej UŁ prowadzone są między innymi prace nad naturalnymi ekstraktami roślinnymi bogatymi w związki polifenolowe czy olejkami eterycznymi, które w perspektywie mogłyby przyczynić się, samodzielnie lub w połączeniu z klasycznymi antybiotykami, do bardziej skutecznej i szybszej eradykacji zakażeń o etiologii gronkowcowej [6, 38, 52].

Literatura

[1] Athanasopoulos A.N, Economopoulou M., Orlova V.V., Sobke A., Schneider D., Weber H., Augustin H. G., Eming S.A.,

Schubert U., Linn T., Nawroth P.P., Hussain M., Hammes H.P., Herrmann M., Preissner K.T., Chavakis T. The extracellular adherence protein (Eap) of *Staphylococcus aureus* inhibits wound healing by interfering with host defense and repair mechanisms. *Blood*. 2006; 107(7): 2720-2727.
 [2] Atherton J.C., Blaser M.J. 2009. Coadaptation of *Helicobacter pylori* and humans: ancient history, modern implications. *J. Clin. Invest.*, 119(9): 2475-2487.
 [3] Basset C., Holton J., Rachel O'Mahony, Roitt I. Innate immunity and pathogen-host interactions. *Vaccine*. 2003; 21: 12-23.
 [4] Baxt L.A., Garza-Mayers A.C., Goldberg M.B. Bacterial subversion of host innate immune pathways. *Science*. 2013;340(6133): 697-701.
 [5] Boyle-Vavra S., Daum R.S. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the role of Pantone-Valentine leukocidin. *Lab Invest*. 2007; 87: 3-9.
 [6] Budzyńska A., Więckowska-Szakiel M., Sadowska B., Kalemba D., Różalska B. Antibiofilm activity of selected plant essential oils and their major components. *Pol J Microbiol*. 2011; 60(1): 35-41.
 [7] Chałubiński M., Wojdan K., Dorantowicz R., Jackowska P., Gorzelak P., Broncel M. 2012. Comprehensive insight into immune regulatory mechanisms and vascular wall determinants of atherogenesis – emerging perspectives of immunomodulation. *Arch Med Sci*, 9,1: 159-165.
 [8] Chmiela M., Gajewski A., Rudnicka K. 2015. *Helicobacter*



- pylori* vs coronary heart disease – searching for connections. *World J Cardiol*, 7: 187-203.
- [9] Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, Gordon SV, Eiglmeier K, Gas S, Barry CE 3rd, Tekaia F, Badcock K, Basham D, Brown D, Chillingworth T, Connor R, Davies R, Devlin K, Feltwell T, Gentles S, Hamlin N, Holroyd S, Hornsby T, Jagels K, Krogh A, McLean J, Moule S, Murphy L, Oliver K, Osborne J, Quail MA, Rajandream MA, Rogers J, Rutter S, Seeger K, Skelton J, Squares R, Squares S, Sulston JE, Taylor K, Whitehead S, Barrell BG. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*. 1998; 393(6685): 537-544.
- [10] Correa P, Piazuelo M.B. 2012. Evolutionary history of the *Helicobacter pylori* genome: implications for gastric carcinogenesis. *Gut Liver*, 6(1): 21-28.
- [11] Cullen T.W., Giles D.K., Wolf L.N., Ecobichon C., Boneca I.G., Trent M.S. 2011. *Helicobacter pylori* versus the host: remodelling of the bacterial outer membrane is required for survival in the gastric mucosa. *PLoS Pathogens*, 7(12): e1002454.
- [12] Daniel TM. The history of tuberculosis. *Respir Med*. 2006; 100(11): 1862-1870.
- [13] Diacovich L., Gorvel J.P. Bacterial manipulation of innate immunity to promote infection. *Nat Rev Microbiol*. 2010; 8(2): 117-28.
- [14] Dorhoi A, Reece ST, Kaufmann SH. *For better or for worse: the immune response against Mycobacterium tuberculosis* balances pathology and protection. *Immunol Rev*. 2011; 240(1): 235-251.
- [15] Falush D., Wirth T., Linz B., Pritchard J.K., Stephens M., Kidd M., Blaser M.J., Graham D.Y., Vacher S., Perez-Perez G.I., Yamamoto Y., Mégraud F., Otto K., Reichard U., Katzowitsch E., Wang X., Achtman M., Suerbaum S. Traces of human migrations in *Helicobacter pylori*.
- [16] Fijałkowski K., Czernomysy-Furowicz D., Ferlas M. *Staphylococcus aureus* kontra układ immunologiczny, *Post Mikrobiol.* 2008; 47(2): 497-511.
- [17] Forrellad MA, Klepp L, Gioffré A, Sabio y García J, Morbidoni HR, de la Paz Santangelo M, Cataldi AA, Bigi F. *Virulence factors of the Mycobacterium tuberculosis complex*. *Virulence*. 2013; 4(1): 3-66.
- [18] Gengenbacher M, Kaufmann SH. *Mycobacterium tuberculosis: success through dormancy*. *FEMS Microbiol Rev*. 2012; 36(3): 514-532.
- [19] Gilbreath J.J., Cody W.L., Merrell D.S., Hendrixson D.R. 2011. Change is good: variations in common biological mechanisms in the epsilon-proteobacterial genera *Campylobacter* and *Helicobacter*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 75(1): 84-132.
- [20] Global tuberculosis report. WHO.
- [21] Grebowska A., Moran A.P., Bielanski W., Matusiak A., Rechcinski T., Rudnicka K., Baranowska A., Rudnicka W., Chmiela M. *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide activity in human peripheral blood mononuclear leukocyte cultures. *J Physiol Pharmacol*. 2010; 61(4): 437-42.
- [22] Grebowska A., Moran A.P., Matusiak A., Bak-Romaniszyn L., Czkwianianc E., Rechciński T., Walencka M., Płaneta-Małecka I., Rudnicka W., Chmiela M. Anti-phagocytic activity of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide (LPS)-possible modulation of the innate immune response to these bacteria. *Pol J Microbiol*. 2008; 57(3): 185-92.
- [23] Gupta A, Kaul A, Tsolaki AG, Kishore U, Bhakta S. *Mycobacterium tuberculosis: immune evasion, latency and reactivation*. *Immunobiology*. 2012; 217(3): 363-374
- [24] Gutierrez MC, Brisse S, Brosch R, Fabre M, Omaïs B, Marmiesse M, Supply P, Vincent V. Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathog*. 2005; 1(1): e5
- [25] Hair P.S., Echague C.G., Sholl A.M., Watkins J.A., Geoghegan J.A., Foster T.J., Cunliffe K.M. Clumping factor A interaction with complement factor I increases C3b cleavage on the bacterial surface of *Staphylococcus aureus*, and decreases complement-mediated phagocytosis. *Infect Immun*. 2010; 78(4): 1717-1727.
- [26] Helbin W., Polakowska K., Międzobrodzki J. Czynniki wirulencji *Staphylococcus aureus* zależne od bakteriofagów, *Post Mikrobiol.* 2012; 51(4): 291-298.
- [27] Itoh S, Hamada E, Kamoshida G, Takeshita K, Oku T, Tsuji T. Staphylococcal superantigen-like protein 5 inhibits matrix metalloproteinase 9 from human neutrophils. *Infect Immun*. 2010; 78(7): 3298-3305.
- [28] Jann N.J., Schmalzer M., Ferracin F., Landmann R. TLR2 enhances NADPH oxidase activity and killing of *Staphylococcus aureus* by PMN. *Immunol Lett*. 2011; 135(1-2): 17-23.
- [29] Johannessen M., Sollid J.E., Hanssen A.-M. Host and microbe determinants that may influence the success of *S. aureus* colonization. *Frontiers*

Zostań członkiem

Klubu Polskich Laboratoriów Badawczych



www.pollab.pl



- in Cellular and Infection Microbiology, vol. 2, s. 1-14, 2012.
- [30] Kamada N., Seo S.U., Chen G.Y., Núñez G. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nat Rev Immunol.* 2013 May;13(5):321-35. doi: 10.1038/nri3430.
- [31] Kelly D., Mulder I.E.. Microbiome and immunological interactions. *Nutr Rev.* 2012, Suppl 1: S18-30.
- [32] Kim H.K., Thammavongsa V., Schneewind O., Missiakas D. Recurrent infections and immune evasion strategies of *Staphylococcus aureus*. *Curr Opin Microbiol.* 2012; 15(1): 92-99.
- [33] Leid JG, Cope E. Population level virulence in polymicrobial communities associated with chronic disease. *Front Biol.* 2011; 6(6): 435-445.
- [34] Lessa F.C., Gould C.V., McDonald L.C. Current status of *Clostridium difficile* infection epidemiology. *Clin Infect Dis.* 2012;55 Suppl 2:S65-70.
- [35] Maloney E, Lun S, Stankowska D, Guo H, Rajagoopalan M, Bishai WR, Madiraju MV. Alterations in phospholipid catabolism in *Mycobacterium tuberculosis lysX* mutant. *Front Microbiol.* 2011; 2: 19
- [36] Maloney E, Stankowska D, Zhang J, Fol M, Cheng QJ, Lun S, Bishai WR, Rajagopalan M, Chatterjee D, Madiraju MV. The two-domain *LysX* protein of *Mycobacterium tuberculosis* is required for production of lysinylated phosphatidylglycerol and resistance to cationic antimicrobial peptides. *PLoS Pathog.* 2009; 5(7): e1000534.
- [37] Matusiak A., Chałubiński M., Broncel M., Rechciński T., Rudnicka K., Miszczyk E., Walencka M., Strapagiel D., Gajewski A., Chmiela M. 2014. Putative consequences of exposure to *H. pylori* infection in patients with coronary heart disease (CHD) in terms of humoral immune response and inflammation. *Arch Med Sci, w druku.*
- [38] Micota B., Sadowska B., Podśędek A., Redzyna M., Różalska B. *Leonurus cardiaca* L. herb – a derived extract and an ursolic acid as a factor affecting the adhesion capacity of *Staphylococcus aureus* in the context of infective endocarditis. *Acta Biochim Pol.* 2014; 61(2): 385-388.
- [39] Miszczyk E., Rudnicka K., Moran A.P., Fol M., Kowalewicz-Kulbat M., Druszczyńska M., Matusiak A., Walencka M., Rudnicka W., Chmiela M. Interaction of *Helicobacter pylori* with C-type lectin dendritic cell-specific ICAM grabbing nonintegrin. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:206463.
- [40] Miszczyk E., Walencka M., Mikołajczyk-Chmiela M., „Modele zwierzęce w badaniach nad przebiegiem zakażeń *Helicobacter pylori*”. *Postępy Hig Med Dosw* 2014; 68: 603-615.
- [41] Neill SD, Skuce RA, Pollock JM. Tuberculosis – new light from an old window. *J Appl Microbiol.* 2005; 98: 1261-1269.
- [42] Oertali M., Muller A. 2012. *Helicobacter pylori* targets dendritic cells to induce immune tolerance, promote persistence and confer protection against allergic asthma. *Gut Microbes,* 3(6): 566–571.
- [43] Ottenhoff TH. The knowns and unknowns of the immunopathogenesis of tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2012; 16(11): 1424-1432.
- [44] Otto M. Staphylococcal biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2008; 322: 207-228.
- [45] Perry A., Lambert P. *Propionibacterium acnes*: infection beyond the skin. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2011; 9(12): 1149-56.
- [46] Pieters J. *Mycobacterium tuberculosis* and the macrophage: maintaining a balance. *Cell Host Microbe.* 2008; 3(6): 399-407.
- [47] Prescott S.L. Early-life environmental determinants of allergic diseases and the wider pandemic of inflammatory noncommunicable diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;131(1): 23-30.
- [48] Rudnicka K., Matusiak A., Miszczyk E., Rudnicka W., Tenderenda M., Chmiela M. Immunophenotype of peripheral blood natural killer cells and IL-10 serum levels in relation to *Helicobacter pylori* status. *APMIS.* 2013 Jun 12. doi: 10.1111/apm.12120. [Epub ahead of print].
- [49] Rudnicka K., Włodarczyk M., Moran A.P., Rechciński T., Miszczyk E., Matusiak A., Szczesna E., Walencka M., Rudnicka W., Chmiela M. *Helicobacter pylori* antigens as potential modulators of lymphocytes' cytotoxic activity. *Microbiol Immunol.* 2012; 56(1): 62-75.
- [50] Rudnicka K., Graczykowski M., Tenderenda M., Chmiela M. Formy morfologiczne *Helicobacter pylori* i ich przypuszczalna rola w transmisji zakażeń. *Postępy Hig Med Dosw,* 2014; 68: 227-237.
- [51] Rudnicka W. Molekularne mechanizmy odporności na gruźlicę. *Post Mikrobiol.* 2004; 43: 107-127.
- [52] Sadowska B., Paszkiewicz M., Podśędek A., Redzyna M., Różalska B. *Vaccinium myrtillus* leaves and *Frangula alnus* bark derived extracts as potential antistaphylococcal agents. *Acta Biochim Pol.* 2014; 61(1): 163-169.
- [53] Sadowska B., Różalska B. Gronkowce – na co jeszcze je stać? *Post Mikrobiol.* 2010; 49(3): 173-178.
- [54] Saunders BM, Britton WJ. Life and death in the granuloma: immunopathology of tuberculosis. *Immunol Cell Biol.* 2007; 85(2): 103-111.
- [55] Schäfer G, Jacobs M, Wilkinson RJ, Brown GD. Non-opsonic recognition of *Mycobacterium tuberculosis* by phagocytes. *J Innate Immun.* 2009; 1(3): 231-243.
- [56] Smagur J., Guzik K., Magiera L., Bzowska M., Gruca M., Thogersen I.B., Enghild J.J., Potempa J. A new pathway of staphylococcal pathogenesis: apoptosis-like death induced by staphopain B in human neutrophils and monocytes. *J Innate Immun.* 2009; 1(2): 98-108.
- [57] Szymanek-Majchrzak K., Młynarczyk A., Młynarczyk G. Oporność *Staphylococcus aureus* na glikopeptydy. *Post Mikrobiol.* 2013; 52(2): 171-184.

¹⁾ Zakład Immunologii Komórkowej, ²⁾ Pracownia Biologii Zakażeń, ³⁾ Pracownia Gastroimmunologii; Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź