



Różne oblicza drobnoustrojów

Korzystne i szkodliwe aspekty interakcji gospodarz-mikroorganizm

Karolina Rudnicka¹, Beata Sadowska², Marek Fol³, Henryka Długońska⁴,
Wiesława Rudnicka³, Barbara Różalska², Antoni Różalski⁵, Magdalena Chmiela¹

Czym jest patogen? Jak różnić bakterie sprzyjające człowiekowi od tych, które mu szkodzą? Jakie kryteria musi spełnić drobnoustrój, by zakwalifikować go do grona *mikrobów-szkodników*, czyli patogenów bakteryjnych, a jakie sprawiają, że z ich obecności makroorganizm czerpie korzyści? Najprostszy podział może opierać się na bilansie strat i korzyści płynących z relacji gospodarz-drobnoustrój [1]. Gdy w powyższych relacjach dominują negatywne skutki, organizm został skolonizowany przez drobnoustroje chorobotwórcze (patogenne). Natomiast, gdy przeważają korzyści, mamy do czynienia z bakteriami wchodzącymi w skład mikroflory fizjologicznej tzw. *mikrobiomu* (mikrobioty), który ostatnio stał się przedmiotem wielu nowatorskich badań. Odzwierciedla on sieć wielokierunkowych sygnałów pomiędzy różnymi gatunkami drobnoustrojów w zasiedlanym przez nie organizmie, a także interakcje pomiędzy mikroorganizmami a komórkami gospodarza, w tym komórkami układu odpor-

nościowego [2–3]. Skład jakościowy mikrobiomu człowieka nosi pewne cechy stałości, ale jednocześnie jest zróżnicowany osobniczo i podlega zmienności związanej z wiekiem gospodarza, sposobem odżywiania, warunkami socjalno-bytowymi oraz tradycją kulturową. Wśród zjawisk, które mogą zależeć od składu mikroflory człowieka, wymienia się przede wszystkim jego podatność lub odporność na określone choroby zakaźne i niezakaźne oraz np. tendencję do tycia [4]. Naturalna mikroflora ma także wpływ na intensywność i profil odporności indukowanej przez szczepienia ochronne [5]. O wyjątkowym znaczeniu naturalnej mikrobioty bakteryjnej zasiedlającej układ pokarmowy, oddechowy, moczopłciowy, oczu czy skóry, najlepiej świadczy głębokie upośledzenie mechanizmów odpornościowych występujące u zwierząt wolnych od mikroorganizmów (ang. *germ free*), które nie mają kontaktu z drobnoustrojami środowiskowymi. Wiadomo natomiast, że organizm człowieka już od chwili narodzenia jest

zasiedlany przez bakterie wchodzące w skład naturalnej mikrobioty matki i otaczającego środowiska, które są konieczne dla prawidłowego rozwoju układu odpornościowego. Fakt obserwowanej u zwierząt *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, poprzez nadużywanie preparatów odkażających i ograniczenie kontaktu z drobnoustrojami środowiskowymi, utrudnia wytworzenie się u niego właściwej mikrobioty naturalnej i czyni organizm dziecka podatnym na rozwój chorób alergicznych [6].

Doceniając fizjologiczne znaczenie naturalnej mikroflory w życiu ludzi i zwierząt nie możemy zapominać, że w jej składzie znajdują się także drobnoustroje potencjalnie chorobotwórcze takie jak: *Staphylococcus aureus* (błony śluzowe, skóra), *Porphyromonas gingivalis* (błona śluzowa jamy

ustnej), *Propionibacterium acnes* (skóra, mieszki włosowe) czy *Bacteroides fragilis*, *Clostridium difficile* i *Escherichia coli* (jelita), które w warunkach sprzyjających mogą stać się groźne, a nawet śmiertelnie niebezpieczne dla człowieka. Niektóre zakażenia wywoływane przez drobnoustroje oportunistyczne (np. zapalenie otrzewnej lub zakażenie krwi) mogą być następstwem przeniesienia drobnoustrojów np. *Bacteroides fragilis* z jelita do tkanek fizjologicznie jałowych podczas zabiegów operacyjnych. Inną przyczyną rozwoju zakażeń oportunistycznych może być zakłócenie równowagi w obrębie naturalnej mikroflory, m.in. przez stosowanie antybiotyków, niszczących bakterie wrażliwe i stwarzających tym samym warunki do nadmiernego namnażania się bakterii antybiotykoopornych, takich jak *Clostridium difficile*, czego następstwem może być rozwój rzekomobłoniastego zapalenia jelit [6–9].

Lepsze poznanie czynników wirulencji drobnoustrojów, ich niezwykłego zróżnicowania oraz specjalizacji stanowi



podstawę opracowania metod prewencji zakażeń i łagodzenia ich konsekwencji. Czynniki wirulencji, takie jak inwazyjne oraz toksyny, działają szybko, niszcząc komórki gospodarza i prowadząc do destrukcji tkanek, a w konsekwencji dysfunkcji organów. Natomiast komponenty powierzchniowe, tj. adhezyny, lipoproteiny oraz glikokoniu-gaty są szczególnie ważne w pierwszych etapach kolonizacji, pozwalają bowiem na przyleganie (adhezję) oraz namnażanie, a także na tworzenie społeczności mikroorganizmów zwanych biofilmami. Te jedno- lub wielogatunkowe przestrzenne struktury drobnoustrojów mogą posiadać organizację płaską (warstwową) lub wyniesioną w postaci kolumn (formy „grzybkowate”), poprzecinaną kanałami wodnymi. Biofilm tworzą skupiska komórek bakteryjnych (mikrokolonie) otoczone zewnątrzkomórkową-substancją polimerową – EPS (ang. *extracellular polymeric substance*), w skład której wchodzi między innymi polisacharydy, białka, lipidy, zewnątrzkomórkowy DNA (eDNA) i woda. EPS pełni rolę bariery fizycznej i chemicznej, która w istotny sposób ogranicza wpływ czynników zewnętrznych na komórki drobnoustrojów pozostające w strukturze biofilmu. Tym samym, jest to jeden z mechanizmów decydujących o podwyższonej oporności biofilmów na działanie czynników środowiskowych, w tym mechanizmów obronnych makroorganizmu oraz stosowanych antybiotyków. Poszczególne komórki drob-

noustrojów, w zależności od położenia w mikrokolonii, często wykazują odmienną aktywność metaboliczną, co wiąże się z pełnieniem przez nie określonych funkcji na rzecz całej społeczności. Te najbardziej aktywne metabolicznie znajdują się w warstwach powierzchniowych i odpowiadają za dostarczanie składników odżywczych. Natomiast w głębi biofilmu ukryte są komórki o spowolnionym metabolizmie, określane mianem *persisters* („uparte”), wykazujące szczególną oporność i przeznaczone do odbudowy struktury biofilmu w przypadku zniszczenia jego warstw zewnętrznych. Biofilm przyrównuje się nawet do prymitywnego organizmu wielokomórkowego – jedyne, jaki mogą tworzyć organizmy prokariotyczne [10-16]. Biofilmy drobnoustrojów zwykle osadzone są na powierzchni stałej, choć niedawno rozszerzono pojęcie biofilmu także o „wolno pływające” skupiska komórek. Może to być zarówno powierzchnia abiotyczna, np. grudki gleby, kamienie, rury kanalizacyjne, w przypadku biofilmów naturalnych (środowiskowych), czy powierzchnie przyrządów medycznych (tzw. biomateriałów), np. cewników naczyniowych, urologicznych, protez stawowych i kostnych, implantów zębów, sztucznych zastawek serca, soczewek kontaktowych itp. w przypadku biofilmów patologicznych. Zasiadleniu przez biofilmy ulegają również powierzchnie biotyczne, włączając w to tkanki organizmów wyższych. Większość

naturalnych mikrobiomów w organizmie człowieka występuje właśnie w postaci biofilmu, jak płytki nazębne, drobnoustroje jelitowe, mikroorganizmy w górnym odcinku układu oddechowego, a nawet drobnoustroje skórne tworzące mikrokolonie między keratynocytami. Możemy zatem mówić o biofilmach fizjologicznych, których obecność jest nie tylko korzystna, ale czasem wręcz niezbędna dla organizmu człowieka. Z drugiej strony, biofilmy są również często tworzone przez drobnoustroje patogenne lub warunkowo chorobotwórcze, zwłaszcza po ich translokacji do tkanek fizjologicznie jałowych. Warto podkreślić, iż tkanki uszkodzone, niedotlenione czy martwicze są szczególnie łatwo zasiedlane przez drobnoustroje, a rozwijający się w nich biofilm dodatkowo nasila miejscowy odczyn zapalny, utrudniając przywrócenie prawidłowej perfuzji tkanek i przebieg fizjologicznych procesów naprawczych. Obecność biofilmów początkowo wiązano przede wszystkim z patogenezą infekcji towarzyszących stosowaniu wspomnianych wyżej użytkowych biomateriałów medycznych. Aktualnie jednak etiologii biofilmowej upatruje się w różnych typach zakażeń, zwłaszcza przewlekłych i nawracających. Udział biofilmów drobnoustrojów wykazano między innymi w przewlekłych zakażeniach ran (np. pooperacyjnych, odleżynowych, oparzeniowych, „cukrzycowych”), infekcjach otolaryngologicznych, zakażeniach oskrzelowo-płuc-

nych (np. u chorych na mukowiscydozę), nawracających zakażeniach urologiczno-ginekologicznych, a nawet w niektórych infekcjach ogólnoustrojowych o charakterze sepsy [17-22]. Natomiast znana, podwyższona oporność biofilmów na antybiotyki, przesądza o trudnościach w leczeniu zakażeń o takim podłożu [20, 23-26]. Tym samym powstawanie biofilmów patologicznych należy zaliczyć do ważnych czynników patogenności drobnoustrojów. Szeroko zakrojone badania nad strukturą biofilmów, ich fizjologią, mechanizmami oporności, a także nad nowymi strategiami ich zwalczania, z wykorzystaniem substancji pochodzenia naturalnego (np. bakteriocyn, biosurfaktantów, polifenoli roślinnych czy olejków eterycznych), jakie od wielu lat są prowadzone w Pracowni Biologii Zakażeń UŁ pod kierownictwem prof. dr hab. Barbary Różalskiej, stanowią jeden z wiodących nurtów współczesnych badań naukowych.

Czynnikami bakteryjnymi o wielokierunkowym działaniu, zarówno pozytywnym, jak i niezwykle szkodliwym, z którymi organizm człowieka styka się od pierwszych chwil życia, są lipopolisacharydy (LPS) bakterii Gram-ujemnych. To właśnie cząsteczki LPS są w głównej mierze odpowiedzialne za wspomniane wyżej dojrzenie systemu obronnego niemowląt i dzieci pod wpływem naturalnej mikrobioty. Z drugiej strony, wielokierunkowa i wymykająca się ciągle naszemu poznaniu, aktywność



lipopolisacharydów determinuje przebieg zakażeń i towarzyszących im procesów patologicznych wywołanych przez bakterie Gram-ujemne. Rozwój badań nad mikrobiomem człowieka może stać się źródłem wiedzy o roli LPS w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej gospodarza, w toku zakażeń wywołanych przez różne drobnoustroje chorobotwórcze, a także niezakaźne czynniki inwazyjne [27].

Skupiając uwagę czytelnika na endotoksynach bakterii Gram-ujemnych pragniemy zaznaczyć znaczącą rolę badań prowadzonych w Instytucie Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii Uniwersytetu Łódzkiego w poznawaniu struktury i funkcji tych złożonych cząsteczek. Sięgając do historii warto wspomnieć opracowanie pierwszej metody uzyskiwania z komórek Gram-ujemnych bakterii jelitowych preparatów LPS obdarzonych aktywnością biologiczną przez prof. dr hab. Bernarda Zabłockiego, twórcę szkoły mikrobiologicznej w Uniwersytecie Łódzkim. Nowoczesne i dostarczające gruntownej wiedzy badania o strukturze LPS bakterii *Proteus* sp., wywołujących głównie zakażenia układu moczowo-płciowego i prowadzących do powstawania kamieni w układzie moczowym, rozpoczęła i rozwinięła prof. dr hab. Krystyna Kotelko. Dla innowacyjności uzyskiwanych wyników badań nad strukturą LPS istotne znaczenie miała współpraca z badaczami z Francji i utrzymywana do dziś współpraca

z naukowcami z Niemiec. Kontynuatorem badań nad strukturą LPS bakterii z rodzaju *Proteus* był prof. dr hab. Zygmunt Sidorczyk wraz z Zespołem. Obecnie w Zakładzie Immunobiologii Bakterii UŁ pod kierownictwem prof. dr hab. Antoniego Różalskiego prowadzone są badania nad LPS drobnoustrojów z rodzaju *Proteus* i *Providencia*. Dąży się w nich do ustalenia związku pomiędzy strukturą i funkcją endotoksyn tych bakterii. We współpracy z badaczami niemieckimi i rosyjskimi zidentyfikowano pod względem chemicznym oraz w kontekście swoistości serologicznej ogromną kolekcję lipopolisacharydów m.in. bakterii z rodzaju *Proteus*. Charakter powyższych badań nie sprowadza się wyłącznie do funkcji poznawczej, ale ma również znaczenie diagnostyczne oraz potencjał aplikacyjny w odniesieniu do konstrukcji szczepionek przeciwko zakażeniom wywołanym przez te drobnoustroje, szczególnie w układzie moczowym [28-34].

Badania prowadzone nad lipopolisacharydami Gram-ujemnych bakterii *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), zakażających 50-90% dorosłych ludzi na całym świecie, zostały zainicjowane w Katedrze Immunologii i Biologii Infekcyjnej UŁ przez prof. dr hab. Magdalenę Mikołajczyk-Chmielę, niedługo po wykryciu tych bakterii przez Marshalla i Warrena, w 1983 r. Duże znaczenie, zarówno w rozpoczęciu tych badań, jak i w ich dynamicznym rozwoju, miała ścisła współpraca z badaczami ze Szwecji,

Irlandii, Francji, a także z klinicystami Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki oraz Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. U znacznego odsetka osób zakażonych *H. pylori* dochodzi do rozwoju zapalenia błony śluzowej żołądka lub dwunastnicy, wrzodów tych narządów a nawet nowotworów, podczas gdy, u części osób zakażenie ma przebieg bezobjawowy. Aktualnie prowadzone są badania zmierzające do określenia czynników predysponujących do rozwoju poszczególnych postaci zakażenia *H. pylori* i możliwości ich przeciwdziałania. Ważnym ustaleniem zespołu było wykazanie, że struktura chemiczna lipopolisacharydu *H. pylori* może mieć wpływ na przebieg zakażenia wywołwanego przez te bakterie [35-39].

Lipopolisacharydy bakteryjne można podzielić na te o typowej budowie chemicznej, w której wyróżnić można: lipid A, oligosacharydową część rdzeniową oraz polisacharydowy łańcuch O-swoisty (antygen O). Najbardziej wewnętrzną, związaną z błoną komórki bakteryjnej część lipidowa odpowiedzialna jest za endotoksyczne właściwości LPS i stanowi najbardziej konserwatywny element, niepodlegający znaczącym zmianom w obrębie gatunku. W strukturze lipidu A występuje szkielet zbudowany z dwóch cząsteczek glukozaminy, podstawiony różną liczbą kwasów tłuszczowych (zwykle od 4 do 7) [27-40], które mogą determinować właściwości biologiczne lipopolisacharydów ujawniające się jedynie po ich wcześniejszym rozpozna-

niu przez receptory obecne na komórkach gospodarza lub rozpuszczalne cząsteczki wiążące LPS. Do jednej z grup receptorów rozpoznających konserwatywne wzorce bakteryjne, tzw. PAMPs (ang. *pathogen associated molecular patterns*), w tym LPS, należą receptory Toll-podobne (ang. *Toll-like receptors*), takie jak TLR2 rozpoznający lipoproteiny, TLR9 łączący się z białkami rzęsek bakteryjnych i wreszcie TLR4 wchodzący w interakcje z kwasami tłuszczowymi lipidu A cząsteczek lipopolisacharydów [41-42]. Zgodnie z najnowszymi badaniami ekspresja cząsteczek TLR4 na komórkach gospodarza jest ściśle związana z „przewidywanym” nasileniem stymulacji. Stąd, przykładowo, komórki nabłonkowe jelita mające stały kontakt z LPS *E. coli* wykazują niezwykle słabą ekspresję TLR4, dzięki czemu nie ulegają konstytutywnej aktywacji, która mogłaby być indukowana przez mikrobiotę jelitową. Natomiast komórki śródbłonki naczyń, które w warunkach fizjologicznych nie mają kontaktu z lipopolisacharydami bakteryjnymi, ekspozycja na swojej powierzchni liczne receptory TLR4, które pełnią rolę „alarmin”, monitorujących krew w poszukiwaniu niebezpiecznych dla organizmu cząsteczek LPS. Po połączeniu się cząsteczek TLR4 na komórkach makroorganizmu z typową cząsteczką LPS, dochodzi do wzbudzenia kaskady sygnałów, które aktywują czynniki transkrypcyjne i produkcję cytokin zapalnych, takich jak TNF- α [41]. Obecność i aktywność



rozpuszczalnych mediatorów uogólnionej reakcji zapalnej w organizmie gospodarza jest bezpośrednią przyczyną objawów sepsy. Z najnowszych badań nad strukturą i aktywnością lipopolisacharydów bakteryjnych wynika, iż nie wszystkie LPS pobudzają komórki do produkcji mediatorów zapalenia za pośrednictwem receptorów TLR4. Jak się okazało, atypowe lipopolisacharydy, zawierające w strukturze lipidu A niewiele kwasów tłuszczowych, produkowane m.in. przez bakterie z gatunku *H. pylori*, *B. fragilis* lub *P. gingivalis*, nie pobudzają komórek odpornościowych w takim stopniu, jak LPS *E. coli* czy *Salmonella*. Zastosowanie

metod krystalograficznych pozwoliło na stworzenie przestrzennych modeli obrazujących interakcje TLR4-LPS, które ujawniły, że 5 z 6 kwasów tłuszczowych, w strukturze LPS tych gatunków, wiąże się z cząsteczką MD2 kompleksu TLR natomiast kolejne kwasy wchodzi w bezpośredni kontakt z receptorem TLR4 i to one odpowiadają za przeniesienie sygnału aktywacji w głąb komórki. Wynika z tego, że ponad 100-1000 krotnie słabsza aktywność endotoksyczna LPS *H. pylori* czy *P. gingivalis*, niż LPS *E. coli*, jest konsekwencją budowy chemicznej lipidu A. Brak dodatkowych kwasów tłuszczowych prowadzi do blokowania, a nie

aktywacji TLR4, co wskazuje na antagonistyczne działanie tych lipopolisacharydów [40,43]. Co ciekawe, słabe właściwości endotoksyczne często pokrywają się z niską immunogennością lipopolisacharydów. Wyniki badań Zespołu Gastroimmunologii Katedry Immunologii i Biologii Infekcyjnej UŁ wykazały, że LPS *H. pylori* osłabia aktywność cytotoksyczną naturalnych komórek zabijających - komórek NK (natural killers), hamując w nich biosyntezę cytokin prozapalnych: interleukiny (IL)-2 oraz interferonu gamma (IFN- γ), a pobudzając je do wydzielania IL-10, cytokiny o silnych właściwościach immunoregulatorowych. Po-

nadto stwierdzono, że LPS *H. pylori* wykazuje właściwości antyfagocytarne względem ludzkich komórek żernych oraz hamuje proliferację obwodowych limfocytów [37-39]. Komponenty cukrowe LPS *H. pylori*, tzw. determinanty antygenowe Lewis (X,Y), mogą wchodzić w interakcje z receptorami typu lektynowego, tj. DC-SIGN, obecnymi na komórkach dendrytycznych i na tej drodze modulować ich aktywność [36]. Antygeny Lewis są strukturami występującymi zarówno na powierzchni pałeczek *H. pylori*, jak i na komórkach gospodarza, dzięki czemu bakterie te mogą być słabo rozpoznawane przez komórki odpornościowe i unikać



W naszej ofercie:

- mikrowagi
- wagi analityczne, precyzyjne i przemysłowe
- komparatory
- wagosuszarki
- pH-/jonometry i elektrody
- pipety automatyczne
- aparaty do miareczkowania
- systemy analizy termicznej
- gęstościomierze, refraktometry, wiskozymetry
- automatyczne reaktory laboratoryjne
- systemy pomiarowe pH-/Redox, O₂, przewodności, zmętnienia



Mettler-Toledo Sp. z o.o., 02-822 Warszawa, ul. Poleczki 21
tel. (22) 545 06 80; fax (22) 545 06 88
e-mail: Polska@mt.com, www.mt.com





eliminacji. Zjawisko to określane terminem *mimikra antygenowa* jest pewnego rodzaju kamuflażem, który sprawia, że drobnoustroje posiadające na swojej powierzchni struktury identyczne lub podobne do komponentów gospodarza, nie są skutecznie rozpoznawane i eliminowane przez jego komórki odpornościowe [44-45]. Wymienione powyżej właściwości *H. pylori* mogą być wynikiem trwającej ponad 50 000 lat współewolucji tych bakterii i organizmu człowieka, która doprowadziła do immunologicznego *status quo* pomiędzy patogenem a gospodarzem. U 15% zakażonych *H. pylori* ten stan równowagi ulega zachwianiu, co prowadzi do rozwoju reakcji zapalnej w błonie śluzowej żołądka, wrzodów żołądka lub dwunastnicy, a nawet zmian nowotworowych. Poznanie atypowych cząsteczek bakteryjnych LPS o właściwościach antagonistycznych względem receptora TLR4 otworzyło nowe kierunki badań zmierzających do opracowania syntetycznych antagonistów endotoksyn oraz cząsteczek o potencjalnych właściwościach adiuwantowych i szczepionkowych. Lipid A *Salmonella minnesota* R595 posiadający jedną grupę fosforylową, tzw. MPL (ang. *monophosphoryl lipid A*), jest stosowany jako adiuwant w szczepieniach przeciwko wirusowi zapalenia wątroby typu B (wzw B) oraz ludzkiemu wirusowi *papilloma*. Badania nad syntezą i modyfikacjami bakteryjnych glikokoniugatów prowadzone w Katedrze Nauk Chemicznych Uniwersy-

tetu w Neapolu oraz w Instytucie Biochemii Strukturalnej w Borstel zmierzają do stworzenia wielkocząsteczkowych komponentów o potencjalnym zastosowaniu w farmakologii [46].

Podwójne oblicze ujawniają również te spośród patogenów bakteryjnych, które od wieków, po dzień dzisiejszy wzbudzają strach i obawy. Jednym z nich jest prątek gruźlicy – *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) wywołujący gruźlicę u ludzi. Poszukiwania preparatu szczepionkowego zapobiegającego rozwojowi gruźlicy zaowocowały powstaniem na początku XX w. szczepionki BCG, zawierającej atenuowany (niechorobotwórczy) szczep *M. bovis* BCG (Bacille Calmette Guérin), wyprowadzony z pierwotnie chorobotwórczego dla bydła i ludzi prątka bydlęcego. Masowe za stosowanie tej szczepionki na przestrzeni dziesięcioleci pozwoliło ujawnić jej słabe strony – ograniczoną skuteczność szacowaną od 0 do 75% (w zależności od regionu geograficznego) i wąski zakres protekcji ograniczony głównie do dzieci, szczególnie w przypadku prosówki i gruźlicy centralnego układu nerwowego (CUN), podczas gdy to gruźlica płuc jest najpowszechniejszą i najbardziej śmiertelną formą tej choroby [47-48]. Opracowanie bardziej skutecznych preparatów szczepionkowych (w tym opierających się na zastosowaniu zmodyfikowanych szczepów *M. tuberculosis*) i zidentyfikowanie tarcz dla nowo opracowywanych przeciwgruźliczych chemioterapeutyków wymaga pozna-

nia, w jaki sposób prątek gruźlicy jest w stanie długotrwale przetrwać w organizmie gospodarza i skutecznie unikać jego mechanizmów odpornościowych [49]. Badania prowadzone w Zespole prof. dr hab. Wiesławy Rudnickiej (Zakład Immunologii Komórkowej UŁ) zmierzają do znalezienia odpowiedzi na te pytania. Służy temu ocena między innymi różnych parametrów immunologicznych oraz polimorfizmów genów determinujących fenotyp i aktywność komórek istotnych w odporności na gruźlicę u osób zdrowych, szczepionych BCG [50-51]. Badania polimorfizmu genów warunkujących aktywność makrofagów oraz funkcje tych komórek w populacjach ludzi zdrowych lub chorych dostarczą danych pozwalających wyjaśnić podłoże genetyczne i immunologiczne podatności ludzi na chorobotwórcze działanie prątków gruźlicy, a jak wynika z badań wstępnych, mogą również przyczynić się do opracowania nowych sposobów diagnostyki gruźlicy i oceny efektów szczepień BCG. Badania te są prowadzone we współpracy z Uniwersytetem w Oulu (Finlandia), Kliniką Chorób Płuc Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz Wojewódzkim Zespołem Leczenia Gruźlicy Chorób Płuc i Rehabilitacji w Łodzi. W kontekście walki z gruźlicą, we współpracy z Uniwersytetem Teksańskim w Tyler, USA, badane są też molekularne mechanizmy warunkujące niewrażliwość prątków gruźlicy na aktywność bakteriobójczą makrofagów,

co w przyszłości pozwoliłoby wskazać nowe tarcze dla leków przeciwgruźliczych [52-55]. Natomiast we współpracy z Uniwersytetem Medycznym w Łodzi charakteryzowane są lokalne szczepy kliniczne *M. tuberculosis* w kontekście ich zjadliwości odnoszonej do międzyszczepowych podobieństw/różnic genetycznych [56-57]. Zespół Zakładu Immunologii Komórkowej prowadzi także badania nad zastosowaniem antygenów szczepionkowych, pochodzących ze słabo zjadliwych prątków BCG, modyfikowanych genetycznie, w regulowaniu odpowiedzi immunologicznej na alergeny roztoczy kurzu domowego. Częstość chorób alergicznych wzrasta niepokojąco w krajach rozwiniętych, a około 80% chorych z alergią to osoby uczulone na alergeny kurzu domowego. Rozpoczęcie tych badań z wykorzystaniem najnowszej wiedzy o komórkach dendrytycznych, poznawanie których stanowi jeden z najbardziej aktualnych problemów badawczych, było możliwe dzięki przyznanemu stypendium Marie Curie (5. Program Ramowy Unii Europejskiej), realizowanemu we współpracy z naukowcami z Instytutu Pasteura Uniwersytetu w Lille oraz z alergologami z Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Ważny element każdego złożonego ekosystemu stanowią także pasożyty eukariotyczne, w tym kosmopolityczny pierwotniak *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), bezwzględny wewnątrzkomórkowy patogen, określany często mianem „pasożyta sukcesu ekologiczne-



go". Z bardzo dużą częstością zaraża on populacje zwierząt ciepłostających oraz ludzi i jako typowy patogen oportunistyczny jest szczególnie groźny dla żywicieli o obniżonej odporności, u których powoduje uogólnione i burzliwe przebiegające infekcje, skutkujące np. poronieniem i wadami wrodzonymi u płodu czy neurotoksoplazmozą u chorych na AIDS. Pierwotna inwazja *T. gondii* u dorosłych osobników ze sprawnym systemem odpornościowym wzbudza silną odpowiedź immunologiczną, wskutek czego parazytemia ulega stłumieniu, ale pierwotniaki nie są całkowicie eliminowane. Ulegają one konwersji w wolno namnażające się, „drzemiące” formy rozwojowe – bradyzoity, a te (zamknięte w cystach) utrzymują się w organizmie żywiciela z reguły przez całe jego życie, zasiedlając preferencyjnie mózg, mięśnie i gałkę oczną. Koegzystencja pasożyta i żywiciela ma z reguły charakter łagodny, ale każde załamanie odporności grozi reaktywacją przewlekłego, utajonego zarażenia [54].

Określenie „subkliniczna” toksoplazmoza straciło ostatnio rację bytu, gdyż okazało się, że infekcja *T. gondii* indukuje różnorodne zmiany behawioralne i mentalne u żywicieli (np. u myszy utratę awersji przed kotami czy spadek superego i współczynnika IQ u ludzi) i może być czynnikiem zapoczątkowującym rozwój niektórych schorzeń układu nerwowego (m.in. schizofrenii) [59] czy pokarmowego [60]. Wpływ pasożyta na żywicieli może się wkrótce okazać znacznie większy niż dotychczas uważano. Najnowsze, wyrafinowane badania molekularne z zastosowaniem technik obrazowych wykazały bowiem, że toksoplazma „wstrzykuje” swoje białka efektorowe nawet do tych komórek żywicielskich, do których potem nie wnika [61]. Tematyka badań prowadzonych w Zakładzie Immunoparazytologii (pod kierunkiem prof. dr hab. Henryki Długońskiej) na *Toxoplasma gondii* jest zróżnicowana. Poszukując przyczyn i mechanizmów manipulowania żywicielem oraz unikania reakcji odporności-

wych przez *T. gondii*, bada się interakcje pasożyta z białkami żywicieli. Wykazano dotychczas m.in., że komórki *Toxoplasma gondii* wiążą dwa bardzo istotne w odporności białka: laktoferynę i prolaktynę, peptydowy hormon o szerokiej aktywności cytokinowej [62], a długotrwała obecność pasożyta w mózgu zmienia znacząco chemizm mózgu i przebieg procesów neurotransmisji, zwłaszcza przekazywanie sygnałów na szlakach dopaminergicznych i glutaminergicznych [63-64]. Ponieważ obecnie stosowane metody chemioterapii toksoplazmozy są nieefektywne i toksyczne dla żywicieli, we współpracy z Uniwersytetem Medycznym w Lublinie oraz Łodzi, testowane są nowo syntetyzowane związki chemiczne (np. z grupy tiosemikarbazydów) pod kątem ich selektywnego antypasożytniczego działania i potencjalnej przydatności w leczeniu toksoplazmozy. Wyzwanie dla immunoparazytologów stanowi także brak skutecznych szczepionek profilaktycznych i terapeutycznych przeciw toksoplazmozie

w ludzi i zwierząt. W Zakładzie Immunoparazytologii, przy współdziałaniu pracowników Instytutu Biologii Medycznej PAN, podejmowane są więc próby konstrukcji szczepionek nowych generacji, w postaci DNA kodującego antygeny protekcyjne *T. gondii* lub w postaci białek tego pasożyta, wyprodukowanych metodami biotechnologicznymi w komórkach rekombinowanych bakterii *E. coli* lub drożdży *Pichia pastoris* [65]. Szczególne zainteresowanie skierowano przed kilku laty na białka roptrii, specyficznych organelli sekrecyjnych pasożyta, ponieważ pełnią one kluczową rolę biologiczną odpowiadając za penetrację *T. gondii* do komórek żywiciela [66]. Najbardziej obiecujące białkowe antygeny, wsparte przez wyselekcjonowane doświadczalnie adiuwanty promujące rozwój ochronnej odporności z udziałem limfocytów pomocniczych Th1, wejdą w skład poliwalentnej, podjednostkowej szczepionki, której efektywność zostanie najpierw określona na mysim modelu doświadczalnym.

Celem Warsztatów **MIKROBIOT–MICROBIOLOGY IN HEALTH AND ENVIRONMENTAL PROTECTION**, cyklicznie organizowanych przez Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii Uniwersytetu Łódzkiego, jest stworzenie szansy na nawiązanie współpracy badaczy polskich, zwłaszcza młodych, z wykładowcami renomowanych zagranicznych jednostek naukowych. Należy oczekiwać, że efektem tej współpracy będzie rozszerzenie innowacyjnych badań służących wykorzystaniu pożytecznej dla człowieka aktywności drobnoustrojów oraz rozwiązaniu problemów zdrowotnych, będących skutkiem zarówno chorób zakaźnych, jak i niezakaźnych.



Warto dodać, że czasami obecność *T. gondii* jest korzystna dla żywiciela. Ostatnio stwierdzono, że toksoplazma chroni komórki żywiciela przed równoczesnym rozwojem zakażenia innym bezwzględnie wewnątrzkomórkowym patogenem, bakteriami *Chlamydia trachomatis*, powodując ich zagłodzenie [67]. Ponadto, przez blokowanie degranulacji komórek tucznych *T. gondii* zapobiega uwalnianiu mediatorów alergii wczesnej [68]. Należy również podkreślić, że *T. gondii* jest od lat modelowym obiektem w badaniach nad innymi spokrewnionymi, a tak ważnymi klinicznie pierwotniakami jak np. zarodźce malarii. Spełnia więc wówczas pożyteczną rolę, podobnie jak wymienione wcześniej rekombinowane, niechorobotwórcze szczepy bakterii *E. coli* czy drożdży *Pichia pastoris*, które z kolei wytwarzają pożądane białka szczepionkowe i diagnostyczne *T. gondii*, będące preparatami o dużym potencjale aplikacyjnym. Badania wskazują ponadto, że niepatogenne i niewytwarzające cyst tkankowych szczepy *T. gondii* mogą pełnić w przyszłości funkcję bardzo sprawnego wektora przenoszącego do wnętrza komórek zwierzęcych geny szczepionkowe kodujące antygeny protekcyjne różnych patogennych, a dotychczas nieujarzmionych drobnoustrojów [69]. To oblicze toksoplazmy jest więc zdecydowanie bardziej przyjazne zarówno dla ludzi, jak i zwierząt.

Z powyższych rozważań wynika, że granica pomiędzy pożytecznym drobnoustrojem,

a niebezpiecznym patogenem, to nie tylko bilans strat i korzyści, ale także zdolność drobnoustrojów do adaptacji w odpowiedzi na zmieniające się środowisko w organizmie gospodarza oraz modulacji procesów odpornościowych. Badacze podejmują próby poznania mechanizmów przystosowawczych drobnoustrojów i ich właściwości immunomodulacyjnych, a w dalszej perspektywie wykorzystania tej wiedzy w praktyce, przy opracowywaniu preparatów leczniczych w oparciu o naturalne komponenty bakteryjne lub syntezowane de novo struktury o potencjalnych właściwościach wspomagających układ odpornościowy człowieka i zwierząt.

Literatura

[1] Baxt L.A., Garza-Mayers A.C., Goldberg M.B. Bacterial subversion of host innate immune pathways. *Science*. 2013;340(6133):697-701.
 [2] Kelly D., Mulder I.E.. Microbiome and immunological interactions. *Nutr Rev*. 2012, Suppl 1: S18-30.
 [3] Kipanyula M.J., Seke Etet F., Vecchio L. Farahna M., Nukenine E.N., Nwabo Kamdje A.H. Signaling pathways bridging microbial-triggered inflammation and cancer. *Cell Signal*. 2013;25(2): 403-16.
 [4] 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.
 [5] Długońska H., Grzybowski M. Personalized vaccination? II. The role of natural microbiota in a vaccine-induced

immunity. *Ann Parasitol*. 2011, 57: 71-76.
 [6] 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.
 [7] Jeppsson B., Mangell P., Thorlacius H. Use of probiotics as prophylaxis for postoperative infections. *Nutrients*. 2011; 3(5): 604-12.
 [8] 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.
 [9] Perry A., Lambert P. *Propionibacterium acnes*: infection beyond the skin. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011; 9(12): 1149-56.
 [10] Branda S.S., Vik A., Friedman L., Kolter R.: Biofilms: the matrix revisited. *Trends Microbiol*. 2005, 13: 20-26.
 [11] Costerton J. W. i wsp.: New methods for the detection of orthopedic and other biofilm infections. *FEMS Immunol. Med. Microbiol*. 2011; 61: 133-40.
 [12] Hall-Stoodley L., Costerton J.W., Stoodley P.: Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases. *Nature Rev. Microbiol*. 2004; 2: 95-107.
 [13] Monds R.D., O'Toole G.A.: The developmental model of microbial biofilms: ten years of a paradigm up for review. *Trends Microbiol*. 2009; 17(2): 73-87.
 [14] Różalska B.: Biofilmy drobnoustrojów i ich rola w zakażeniach. *Sepsis*, 2008; 1: 49-53.

[15] Różalska B., Budzyńska A., Paszkiewicz M., Sadowska B.: Biofilmy mieszane bakteryjno-grzybowe, czy należy się ich bać? *Forum Zakażeń*, 2012; 3(1): 25-29.
 [16] Sadowska B., Więckowska-Szakiel M., Rudnicka W., Różalska B.: Mono- or two-species populations of staphylococci – what is more dangerous for us? *Polish J. Environ. Stud.*, 2005; 14 (II): 725-733.
 [17] Burmølle M. i wsp.: Biofilms in chronic infections - a matter of opportunity - monospecies biofilms in multispecies infections. *FEMS Immunol. Med. Microbiol*. 2010; 59: 324-36.
 [18] Leid J.G., Cope E.: Population level virulence in polymicrobial communities associated with chronic disease. *Front Biol*. 2011; 6: 435-45.
 [19] Różalska B., Sadowska B.: Immunobiologia zakażeń urologicznych-udział biofilmów. *Sepsis*, 2009; 2: 207-13.
 [20] Różalska B., Walencka E., Sadowska B.: Wykrywanie biofilmów stanowiących problemy medyczne i perspektywy ich eradykacji. *Zakażenia*, 2010; 1: 13-21.
 [21] Sadowska B., Bonar A., von Eiff C., Proctor R.A., Chmiela M., Rudnicka W., Różalska B.: Characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from airways of cystic fibrosis patients and their small-colony variants. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2002; 32: 191-197.
 [22] Sadowska B, Walencka E, Wieckowska-Szakiel M, Różalska B. Bacteria competing with the adhesion and biofilm formation by *Staphylococcus*



- aureus. *Folia Microbiol.* 2010; 55(5):497-501.
- [23] Kuźma Ł., Wysokińska H., Różalski M., Budzyńska A., Więckowska-Szakiel M., Sadowska B., Paszkiewicz M., Kisiel W., Różalska B.: Antimicrobial and anti-biofilm properties of new taxidione derivative from hairy roots of *Salvia austriaca*. *Phytomed.* 2012; 19: 1285-1287.
- [24] Leid J.G.: Bacterial biofilms resist key host defenses. *Microbe*, 2009; 4: 66-70.
- [25] Thurlow L.R., Hanke M.L., Fritz T. i wsp.: Staphylococcus aureus biofilms prevent macrophage phagocytosis and attenuate inflammation in vivo. *J. Immunol.* 2011; 186: 6585-6596.
- [26] Walencka E., Więckowska-Szakiel M., Różalska S., Sadowska B., Różalska B.: A surface-active agent from *Saccharomyces cerevisiae* influence staphylococcal adhesion and biofilm development. *Z. Naturforsch. C*, 2007; 62c: 433-438.
- [27] Focà A, Liberto MC, Quirino A, Matera G. Lipopolysaccharides: from erinyes to charites. *Mediators Inflamm.* 2012;2012:684274.
- [28] Knirel Y.A., Perepelov A.V., Kondakova A.N., Senchenkova S.N., Sidorczyk Z., Rozalski A., Kaca W. Structure and serology of O-antigens as the basis for classification of *Proteus* strains. *Innate Immun.* 2011; 17(1):70-96.
- [29] Ovchinnikova O.G., Liu B., Guo D., Kocharova N.A., Bialczak-Kokot M., Shashkov A.S., Feng L., Rozalski A., Wang L., Knirel Y.A. Structural, serological, and genetic characterization of the O-antigen of *Providencia alcalifaciens* O40. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2012; 66(3): 382-92.
- [30] Maszewska A., Torzewska A., Staczek P., Różalski A. Enterocyte-like Caco-2 cells as a model for in vitro studies of diarrhoeagenic *Providencia alcalifaciens* invasion. *Microb Pathog.* 2010; 49(5): 285-93.
- [31] Siwinska M., Shashkov A.S., Kondakova A.N., Drzewiecka D., Zablotni A., Arbatsky N.P., Valueva O.A., Zych K, Sidorczyk Z, Knirel YA. Structure of the alanine-containing O-polysaccharide and serological cross-reactivity of the lipopolysaccharide of *Proteus vulgaris* HSC 438 classified into a new *Proteus* serogroup, O76. *Microbiology.* 2013; 159(Pt 6):1036-43.
- [32] Palusiak A., Sidorczyk Z.. Characterization of epitope specificity of *Proteus penneri* 7 lipopolysaccharide core region. *Acta Biochim Pol.* 2010; 57(4): 529-32.
- [33] Knirel Y.A. Perepelov A.V., Kondakova A.N., Senchenkova S.N., Sidorczyk Z., Rozalski A., Kaca W. Structure and serology of O-antigens as the basis for classification of *Proteus* strains. *Innate Immun.* 2011; 17(1): 70-96.
- [34] Drzewiecka D., Arbatsky N.P., Staczek P., Shashkov A.S., Knirel Y.A., Sidorczyk Z. Structural and serological studies of the O-polysaccharide of strains from a newly created *Proteus* O78 serogroup prevalent in Polish patients. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2010 58(2):269-76.
- [35] 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]
- [36] 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.
- [37] 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.
- [38] 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.
- [39] Grebowska A., Moran A.P., Matusiak A., Bak-Romanişzyn 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.
- [40] Maeshima N., Fernandez R.C. Recognition of lipid A variants by the TLR4-MD-2 receptor complex. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013; 3: 3.
- [41] Kawai T., Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol.* 2010; 11(5): 373-84.
- [42] Diacovich L., Gorvel J.P. Bacterial manipulation of innate immunity to promote infection. *Nat Rev Microbiol.* 2010; 8(2):117-28.
- [43] Basset C., Holton J., Rachel O'Mahony, Roitt I. Innate immunity and pathogen-host interactions. *Vaccine.* 2003; 21: 12-23.
- [44] 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., Yamaoka Y., Mégraud F., Otto K., Reichard U., Katzowitzsch E., Wang X., Achtman M., Suerbaum S. Traces of human migrations in *Helicobacter pylori* populations. *Science.* 2003; 299(5612): 1582-5.
- [45] Atherton J.C., Blaser M.J. Coadaptation of *Helicobacter pylori* and humans: ancient history, modern implications *J Clin Invest.* 2009; 119(9): 2475-87.
- [46] Matsuuara M.: Structural modifications of bacterial lipopolysaccharide that facilitate Gram-negative bacteria evasion of host innate immunity. *Frontiers in Immunol.* 2013; 4:doi:10.3389/fimmu.2013.00109.
- [47] Fol M.: *Mycobacterium tuberculosis* – jak przetrwać na wrogim terenie? *Post. Mikrobiol.*, 2008; 47: 387-392.



- [48] Fol M., Zawadzka K., Druszczyńska M., Kowalewicz-Kulbat M., Rudnicka W.: Szczepienia przeciwprąt-kowe – BCG i co dalej? *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 93-103.
- [49] Druszczyńska M., Kowalewicz-Kulbat M., Fol M., Włodarczyk M., Rudnicka W.: Latent M. tuberculosis infection pathogenesis, diagnosis, treatment and prevention strategies. *Pol. J. Microbiol.*, 2012; 61(1): 3-10.
- [50] Druszczyńska M., Włodarczyk M., Janiszewska-Drobinska B., Kielnierowski G., Zawadzka J., Kowalewicz-Kulbat M., Fol M., Szpakowski P.L., Rudnicka K., Chmiela M., Rudnicka W.: Monocyte signal transduction receptors in active and latent tuberculosis. *Clin. Dev. Immunol.*, 2013, 2013:851452, doi: 10.1155/2013/851452.
- [51] Druszczyńska M., Włodarczyk M., Fol M., Rudnicka W.: Rozpoznawanie antygenów prątków przez fagocyty. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 28-39.
- [52] Fol M., Chauhan A., Nair N.K., Maloney E., Moomey M., Jagannath C., Madiraju M.V.V.S., Rajagopalan M.: Modulation of Mycobacterium tuberculosis proliferation by MtrA, an essential two-component response regulator. *Mol. Microbiol.*, 2006; 60: 643-657.
- [53] Maloney E., Stankowska D., Zhang J., Fol M., Cheng Q., Lun S., Bishai W.R., Rajagopalan M., Chatterjee D., Madiraju M.V.: The two-domain LysX protein of Mycobacterium tuberculosis is required for production of lysinylated phosphatidylglycerol and resistance to cationic antimicrobial peptides. *PLOS Pathogens*, 2009, 5, e1000534.
- [54] Fol M., Głobińska A., Stączek P., Kowalewicz-Kulbat M., Druszczyńska M., Madiraju M.V., Rudnicka W. The lack of L-PG production and the repercussions of it in regards to M. tuberculosis interactions with mononuclear phagocytes. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.*, 2013; 60(2): 127-144.
- [55] Fol M., Iwan-Barańska L., Stączek P., Krupiński M., Różalska S., Kowalewicz-Kulbat M., Druszczyńska M., Madiraju M.V.V.S., Kaczmarczyk D., Rudnicka W.: Interactions of mtrA overexpressing M. tuberculosis strain with mononuclear phagocytes. *Adv. Med. Sci.*, 2013; 58(1): 172-183, 2013.
- [56] Vrba-Pech A., Fol M., Rudnicka K., Krawczyk M., Kwiatkowska S.: Diversity of clinical M. tuberculosis isolates from Łódź area based on the sensitivity to human neutrophil peptide-1 (HNP-1). *Sepsis*, 2010; 3(4): 203-207.
- [57] Vrba-Pech A., Fol M., Kowalewicz-Kulbat M., Druszczyńska M., Krawczyk M., Kwiatkowska S.: Virulence of clinical Mycobacterium tuberculosis strains in Lodz, Poland. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2013; 17(8): 1082-1087.
- [58] Tenter A.M., Heckerth A.R., Weiss L.M. Toxoplasma gondii: from animals to humans. *Int. J. Parasitol.*, 2000; 30: 1217-1258.
- [59] McConkey G.A., Martin H.L., Bristow G.C., Webster J.P. Toxoplasma gondii and behaviour – location, location, location? *J. Exp. Biol.*, 2013; 216: 113-119.
- [60] Prandota J. Gastrointestinal tract abnormalities in autism, inflammatory bowel disease and many other clinical entities may be due to T. gondii infection. 2012, 1: 256. doi: 10.4172/scientific-reports.256.
- [61] Koshy A.A., Dietrich H.K., Christian, D.A., Melehan J.H., Shastri, A.J., Hunter, C.A., Boothroyd, J.C. Toxoplasma co-opts host cells it does not invade. *PLoS Pathogens*, 2012, 8: e1002825.
- [62] Dzitko K., Gatkowska J., Płociński P., Dziadek B., Długońska H. 2010. The effect of prolactin (PRL) on the growth of Toxoplasma gondii tachyzoites in vitro. *Parasitol. Res.*, 2010; 107: 199-204.
- [63] Gatkowska J., Wiczorek M., Dziadek B., Dzitko K., Długońska H. Behavioral changes in mouse caused by Toxoplasma gondii invasion of brain. *Parasitol. Res.* 2012; 111: 53-58.
- [64] Haroon F., Händel U., Angenstein F., Goldschmidt J., Kreutzmann P., Lison H., Fischer K.D., Scheich H., Wetzel W., Schlüter D., Budinger E. Toxoplasma gondii actively inhibits neuronal function in chronically infected mice. *PLoS One*, 2011; 7: e35516.
- [65] Dziadek B., Gatkowska J., Grzybowski M., Dziadek J., Dzitko K., Długońska H. Toxoplasma gondii: The vaccine potential of three trivalent antigen-cocktails composed of recombinant ROP2, ROP4, GRA4 and SAG1 proteins against chronic toxoplasmosis in BALB/c mice. *Exp. Parasitol.*, 2011; 131: 133-138.
- [66] Długońska H. Toxoplasma rhoptries: unique secretory organelles and source of promising vaccine proteins for immunoprevention of toxoplasmosis. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2008; 632424.
- [67] Romano J.D., de Beaumont C., Carrasco J.A., Ehrenman K., Bavoil P.M., Coppens I. Fierce competition between Toxoplasma and Chlamydia for host cell structure in dually infected cells. *Eukaryot. Cell*, 2013; 12: 265-277.
- [68] Smith N.L., Abi Abdallah D.S., Butcher B.A., Denkers E.Y., Baird B. Holowka D. Toxoplasma gondii inhibits degranulation by suppressing phospholipase C-mediated Ca²⁺ mobilization. *Front. Microbiol.*, 2013, 4: 179.
- [69] Zou J, Huang XX, Yin GW, Ding Y, Liu XY, Wang H, Chen QJ, Suo X. Evaluation of Toxoplasma gondii as a live vaccine vector in susceptible and resistant hosts. *Parasites & Vectors*, 2011; 4: 168.

¹⁾ Karolina Rudnicka, Magdalena Chmiela – Pracownia Gastroimmunologii,

²⁾ Beata Sadowska, Barbara Różalska – Pracownia Biologii Zakazeń,

³⁾ Marek Fol, Wiesława Rudnicka – Zakład Immunologii Komórkowej,

⁴⁾ Henryka Długońska – Zakład Immunoparazytologii,

⁵⁾ Antoni Różalski – Zakład Immunobiologii Bakterii,

Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź