

Robert Flisiak, Alicja Wiercińska-Drapała, Danuta Prokopowicz

ODPOWIEDŹ IMMUNOLOGICZNA U CHORYCH Z ZAPALENIEM STAWÓW W PRZEBIEGU BORELIOZY Z LYME

Klinika Obserwacyjno-Zakaźna Akademii Medycznej w Białymstoku
Kierownik: Prof. zw. dr hab. *D. Prokopowicz*

U chorych z zapaleniem stawów w przebiegu boreliozy z Lyme wykazano supresję odporności komórkowej wyrażoną obniżeniem odsetka limfocytów T, zwłaszcza subpopulacji CD4+. Towarzyszyła temu aktywacja odpowiedzi humoralnej objawiająca się wzrostem odsetka limfocytów B i zwiększeniem syntezy immunoglobulin M, składowych dopełniacza C3 i C4.

Zjawiska immunologiczne mają zasadnicze znaczenie w patogenezie wielu chorób zakaźnych, warunkując ich przebieg i rokowanie. Jednocześnie stanowią one istotny element wspomagający rozpoznanie, a badania nad nimi dostarczają podstaw do opracowania metod efektywnej profilaktyki. Ma to szczególne znaczenie w odniesieniu do zakażeń *Borrelia burgdorferi*, wzbudzających ostatnio duże zainteresowanie w środowisku medycznym całego świata, głównie ze względu na prowadzone w ostatnich latach badania nad swoistą szczepionką [8, 16, 18]. Uogólniony przebieg kliniczny boreliozy z Lyme, powolne ustępowanie objawów nawet po skutecznej terapii, a także nieodwracalność niektórych objawów, zwłaszcza późnych, wskazują na znaczenie zjawisk immunologicznych w patogenezie tej choroby [24, 25]. Ich ocena może mieć znaczenie w rokowaniu i monitorowaniu skuteczności leczenia.

Celem prezentowanej pracy jest ocena stanu odporności komórkowej i humoralnej chorych z zapaleniem stawów w przebiegu boreliozy z Lyme.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono u 14 pacjentów (7 kobiet i 7 mężczyzn) w wieku od 18 do 57 lat (średnio: $38,5 \pm 9,7$) z zapaleniem stawów w przebiegu boreliozy z Lyme. Rozpoznanie choroby ustalano w oparciu o powszechnie zaakceptowane kryteria kliniczne Centers for Disease Control [20].

Badania serologiczne przeprowadzono za pomocą fluorescencyjnej modyfikacji metody immunoenzymatycznej (ELFA), stosując zestaw VIDAS Lyme Screen II (LYT) firmy bioMérieux (Francja), którym wykrywano przeciwciała (total) skierowane przeciw antygenowi flagellarnemu. Odczytu dokonywano za pomocą automatu

mini-VIDAS (firma bioMérieux/Francja). W surowicach pacjentów wykluczono możliwość reakcji krzyżowych związanych z obecnością czynnika reumatoidalnego lub przeciwciał przeciw krętkom błędnym.

Ocena wskaźników odpowiedzi immunologicznej obejmowała oznaczenie:

– stężenia immunoglobulin G, A i M w surowicy, metodą radialnej immunodyfuzji w żelu agarowym z wykorzystaniem odczynników firmy *Behring-Werke* (Niemcy) [7].

– stężenia składowych dopełniacza C3 i C4 w surowicy metodą radialnej immunodyfuzji w żelu agarowym z wykorzystaniem odczynników firmy bioMérieux (Francja).

– stężenia krążących kompleksów immunologicznych (KKI) w surowicy, metodą precipitacji glikolem polietylenowym 6000 [5].

– odsetka limfocytów B i T we krwi, metodami rozetkowymi [19].

– odsetka subpopulacji limfocytów T: CD4+ i CD8+ we krwi, metodą immunofluorescencji bezpośredniej z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych firmy Ortho (USA).

Wyniki badań wskaźników immunologicznych porównywano z wartościami prawidłowymi uzyskanymi w oparciu o badanie 20 zdrowych ochotników stanowiących środowiskową grupę kontrolną.

Obliczenia statystyczne przeprowadzono za pomocą testu *t* Studenta przedstawiając dane w postaci wartości średnich i błędu standardowego. W gromadzeniu i opracowaniu statystycznym wykorzystano oprogramowania Microsoft Excel 5.0 (Microsoft Corporation/USA) na komputerze 486DX2/66.

WYNIKI

U 9 chorych zmiany najczęściej dotyczyły stawów kolanowych, co stanowi 64% obserwowanych. U 7 (50%) osób zapalenie stawów było ograniczone do jednego stawu: u 4 osób – kolanowego, a u 3 – ramiennego, natomiast u pozostałych przebiegało jako zapalenie wielostawowe. U 5 osób poza zajęciem narządu ruchu stwierdzano inne objawy stadium zakażenia wczesnego rozsianego w przebiegu boreliozy z Lyme: u 3 zaburzenia przewodnictwa w mięśniu sercowym, a u 2 wczesnej neuroboreliozy (zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych). Zmiany stawowe były poprzedzone rumieniem wędrującym (*erythema migrans*), będącym objawem stadium wczesnego ograniczonego, u 4 pacjentów.

U chorych z zapaleniem stawów w przebiegu boreliozy z Lyme stwierdzono zmienioną odpowiedź immunologiczną, co przedstawiono w tabeli I. W zakresie odporności typu komórkowego wykazano odsetki limfocytów T znamienne niższe, w porównaniu z wartościami prawidłowymi. Dotyczyło to zwłaszcza subpopulacji CD4+, co przy prawidłowych odsetkach CD8+, było przyczyną znamienego obniżenia wskaźnika CD4+/CD8+. W zakresie odpowiedzi humoralnej obserwowano istotne statystycznie zwiększenie odsetków limfocytów B. Wiązało się to ze znamienne zwiększoną syntezą immunoglobulin klasy M przy prawidłowych poziomach A i G. Towarzyszyło temu podwyższenie stężeń składowych dopełniacza C3 i C4, przy nie zmienionym poziomie krążących kompleksów immunologicznych.

Tabela I. Wartości wskaźników odpowiedzi immunologicznej komórkowej i humoralnej u chorych z zapaleniem stawów w przebiegu boreliozy z Lyme, w porównaniu z wartościami prawidłowymi.

		KKI*	Składowe dopełniacza			Limfocyty					Immunoglobuliny		
			C3	C4	T	B	CD4+	CD8+	CD4+/CD8+	G	A	M	
		[g/l]			[%]					[g/l]			
Chorzy n=14	× ±SEM	3,25 0,25	1,77 0,21	0,52 0,15	63,8 1,0	26,0 1,2	56,5 2,5	58,0 2,5	0,97 0,03	12,9 1,5	2,94 0,45	1,56 0,20	
Wartości prawidłowe n=20	× ±SEM	3,50 0,19	1,41 0,03	0,29 0,01	72,6 0,5	21,2 0,5	71,6 2,0	54,1 2,9	1,38 0,08	12,6 0,4	3,25 0,13	0,87 0,04	
Wartość p		0,689	0,004	0,005	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,386	<0,0001	0,757	0,352	<0,0001	

* KKI – krążące kompleksy immunologiczne

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przedstawione wyniki wskazują na znaczącą rolę ogólnoustrojowych zjawisk immunologicznych w patogeniezie boreliozy z Lyme. Są one zgodne zwłaszcza z hipotezą o roli odpowiedzi ze strony limfocytów T w patogeniezie boreliozy z Lyme, którą potwierdza spostrzeżenie że białko OspA *Borrelia burgdorferi* jest preferencyjnie rozpoznawane przez limfocyty T-pomocnicze (wykazujące determinantę antygenową CD4+), pochodzące od pacjentów z opornym na leczenie zapaleniem stawów [17]. Wykazana w prezentowanej pracy supresja odporności komórkowej może sprzyjać rozsiewowi i ewentualnie przetrwaniu zakażenia, poprzez rozwinięcie się tolerancji immunologicznej w stosunku do krętków *Borrelia burgdorferi* [24]. Za taką interpretacją przemawiają wyniki badań doświadczalnych, w których Keane-Myers i wsp. [15] wykazali że limfocyty CD4+ są niezbędne dla immunologicznej kontroli liczby krętków w stawach, a ich niedobór powoduje cięższy przebieg zapalenia stawów. Wiele wskazuje na uwarunkowanie tego zjawiska częstszym występowaniem antygenów II klasy zgodności tkankowej (HLA-DR4 i HLA-DR2) u chorych z zapaleniem stawów w przebiegu boreliozy z Lyme [21, 23]. Natomiast Chiao i wsp. [4] wykazali, że krętki *Borrelia burgdorferi* hamują aktywność limfocytów. Konsekwencją takiej immunosupresji, wykazanej również w prezentowanej pracy, może być utrudnienie eliminacji bakterii z zajętych tkanek.

Z kolei wykazana w prezentowanej pracy wzmożona synteza immunoglobulin klasy M jest wynikiem aktywacji swoistej odpowiedzi humoralnej, typowej dla wczesnego stadium zakażenia *Borrelia burgdorferi*. Odpowiedź ta jest prawdopodobnie uwarunkowana ekspresją antygenowych struktur lipoproteinowych i glikolipidowych, wykazujących aktywność mitogenną w stosunku do limfocytów B [13]. Swoiste przeciwciała klasy M skierowane zwłaszcza przeciw białkom OspA, OspC oraz 41-kDa, są wykrywane zależnie od stosowanej metody, u 39–100% chorych w wczesnej fazie boreliozy z Lyme [1, 3, 11, 12, 22]. Wykazany w pracy wzrost poziomów składowych dopełniacza może być przejawem uczynienia układu dopełniacza uczestniczącego w zależnej od przeciwciał aktywności bakteriobójczej (ADCK: antibody-dependent, complement-mediated killing), co potwierdzono w badaniach na zwierzętach [2, 14].

WNIOSKI

1. U chorych z zapaleniem stawów w przebiegu boreliozy z Lyme wykazano supresję odporności komórkowej wyrażoną obniżeniem odsetków limfocytów T, co dotyczyło zwłaszcza subpopulacji CD4+.

2. Towarzyszyła temu aktywacja odpowiedzi humoralnej wyrażona wzrostem odsetków limfocytów B i nasileniem produkcji przeciwciał klasy IgM.

R. Flisiak, A. Wiercińska-Drapalo, D. Prokopowicz

IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS WITH LYME ARTHRITIS

SUMMARY

Cell mediated as well as humoral immune response was evaluated in 14 Lyme arthritis patients. Significant decrease of T cells percentage was observed in comparison to normal values. It was related particularly to CD4+ subset and resulted in significant decrease of CD4+/CD8+ ratio. Statistically significant increase of B cells percentage was accompanied by elevated concentrations of immunoglobulin M, complement components C3 and C4. Immunoglobulins A and G, as well as circulating immune complexes remained on the normal level. These results indicate suppression of cellular and activation of humoral immune response in patients with Lyme arthritis.

PIŚMIENNICTWO

1. *Aguero-Rosenfeld M.E.* i wsp.: 1993, 31, 3090. – 2. *Aydintug M.K., Gu Y., Philipp M.T.*: *Infect. Immun.*, 1994, 62, 4929. – 3. *Berardi V.P., Weeks K.E., Steere A.C.*: *J. Infect. Dis.*, 1988, 158, 754. – 4. *Chiao J.W.* i wsp.: *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 1994, 8, 151. – 5. *Diesel W.* i wsp.: *Dt. Gesundh.-Wesen*, 1978, 33, 1982. – 6. *Dobracki W.* i wsp.: *Materiały Naukowe XIII Zjazdu PTEiLChZ, Poznań*, 1994, 425. – 7. *Fahey J.L., McKelvey E.M.*: *J. Immunol.*, 1965, 94, 84. – 8. *Fikrig E.* i wsp.: *J. Exp. Med.*, 1995, 181, 215. – 9. *Flisiak R.* i wsp.: *Przeg. Epid.* 1994, 48, 211. – 10. *Flisiak R.* i wsp.: *Przeg. Epid.*, 1995, 49, 251.
11. *Flisiak R.* i wsp.: *Diagn. Lab.*, 1995, 31, 43. – 12. *Fung B.P.* i wsp.: *Infect-Immun.* 1994, 62, 3213. – 13. *Honarvar N.* i wsp.: *Immunology*, 1994, 82, 389. – 14. *Isogai E.* i wsp.: *Microbiol., Immunol.*, 1994, 38, 753. – 15. *Keane-Myers A., Nickell S.P.*: *J. Immunol.*, 1995, 154, 1770. – 16. *Keller D.* i wsp.: *JAMA*, 1994, 271, 1764. – 17. *Lengl-Janssen B.* i wsp.: *J. Exp. Med.*, 1994, 180, 2069. – 18. *Lovrich S.D.* i wsp.: *J. Infect. Dis.*, 1994, 170, 115. – 19. *Nowak J.*: *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 1974, 52, 51. – 20. *Rahn D.W., Malawista S.E.*: *Ann. Intern. Med.*, 1991, 114, 472.
21. *Roessner K.* i wsp.: *Eur. J. Immunol.*, 1994, 24, 320. – 22. *Schutzer S.E.* i wsp.: *J. Clin. Invest.*, 1994, 94, 454. – 23. *Steere A.C., Dwyer E., Winchester R.*: *N. Engl. J. Med.*, 1990, 323, 219. – 24. *Steere A.C.*: *Scand. J. Infect. Dis.*, 1991, suppl. 77, 51. – 25. *Steere A.C.*: *Am. J. Med.*, 1995, 98, 44.

Adres: Klinika Obserwacyjno-Zakaźna AM w Białymstoku
15-540 Białystok, ul. Żurawia 14