

Aneta Iżycka¹, Ewa Jabłońska¹, Sławomir Pancewicz, Joanna Zajkowska,
Renata Świerżbińska, Maciej Kondrusik, Tomasz Iżycki

ZACHOWANIE SIĘ RECEPTORÓW GRANULOCYTÓW FcR IgG I CR ORAZ KRAŻĄCYCH KOMPLEKSÓW IMMUNOLOGICZNYCH U CHORYCH Z BORELIOZĄ Z LYME

¹ Zakład Immunopatologii Akademii Medycznej w Białymstoku
p.o. kierownika: dr n. med. E. Jabłońska

Klinika Chorób Pasożytniczych i Neuroinfekcji Akademii Medycznej w Białymstoku
Kierownik: prof. dr hab. med. T. Hermanowska-Szapakowicz

Celem pracy była ocena wybranych funkcji dotyczących aktywności fagocytarnej neutrofilii (PMN) u chorych z boreliozą z Lyme. Wykazano spadek odsetka PMN z receptorami dla fragmentu Fc IgG (FcR) i dla składników dopełniacza (CR) oraz wzrost poziomu krążących kompleksów immunologicznych w surowicy krwi przed leczeniem i ich normalizację po leczeniu. Uzyskane wyniki wskazują na obniżenie odporności komórkowej nieswoistej, która może wpływać na ogólną odpowiedź ze strony układu odpornościowego u chorych z boreliozą z Lyme.

Krętkowica kleszczowa czyli borelioza z Lyme (choroba z Lyme) należy do najczęściej spotykanych w Polsce chorób przenoszonych przez kleszcze z rodzaju *Ixodidae* (14, 18).

Borelioza jest chorobą o zróżnicowanym często przewlekłym przebiegu. Czynnikiem etiologicznym jest bakteria spiralna *Borrelia burgdorferi* (*B.b.*), której rezerwuarem są kleszcze. Przewlekłe zakażenie krętkiem *B.b.* może być jednym z powodów długotrwałego utrzymywania się procesu zapalnego, prowadzącego do zmian w układzie immunologicznym (3, 4, 9, 18). Skuteczność obrony organizmu przed zakażeniem w znacznym stopniu zależy od sprawności mechanizmów odporności komórkowej nieswoistej (8, 19).

Jednym z podstawowych elementów odporności komórkowej nieswoistej są neutrofile (PMN). PMN stanowią największą liczebnie pulę komórek fagocytydujących we krwi obwodowej. Zjawisku fagocytozy towarzyszy uwalnianie się reaktywnych form tlenu, cytokin, prostaglandyn i szeregu mediatorów, uczestniczących w procesie zapalenia, znajdujących się w ziarnistościach swoistych i azurofilnych.

Poza zdolnością do fagocytozy neutrofile wykazują zdolność adherencji do śródbłonek naczyń, zdolność migracji i chemotaksji. Większość tych czynności uwarunkowana jest obecnością swoistych receptorów błonowych. Receptory łączą się z odpowiednimi ligandami, co prowadzi do aktywacji PMN. Za pośrednictwem

receptorów błonowych zachodzi proces regulacji fizjologicznych czynności komórki, co warunkuje jej udział w reakcjach zarówno odpowiedzi swoistej jak i nieswoistej. Istotną rolę z punktu widzenia procesu fagocytozy pełnią receptory dla fragmentu Fc IgG (FcR) i składnika C3 dopełniacza (CR). Receptory FcR indukują właściwą fagocytozę, natomiast receptory CR odpowiadają głównie za wiązanie cząstek opsonizowanych. Oba typy receptorów pełnią istotną rolę w klirensie krążących kompleksów immunologicznych (KKI) (7, 8, 16, 19).

W przebiegu boreliozy stwierdzono wysokie stężenie KKI, co może sugerować niesprawną funkcję komórek zaangażowanych w usuwanie ich z krążenia.

Celem pracy była ocena ekspresji receptorów powierzchniowych PMN dla fragmentu FcIgG i składnika C3 dopełniacza oraz poziomu KKI w surowicy chorych z boreliozą z Lyme.

MATERIAŁ I METODY

Badaniem objęto 28 osób w tym 15 kobiet i 13 mężczyzn w wieku 20–70 lat (średnio 45 lat) z rozpoznaniem choroby z Lyme leczonych w Klinice Chorób Pasożytniczych i Neuroinfekcji AMB.

Pierwsze badanie wykonywano przed leczeniem – ostra faza choroby, drugie po 2–3 tygodniowej antybiotykoterapii, badanie trzecie prowadzono po około 6 miesiącach od ustąpienia objawów chorobowych. Grupę kontrolną stanowiło 15 osób zdrowych w tym 5 kobiet i 10 mężczyzn w wieku od 20 do 60 lat (średnio 40 lat).

Pobierano dwie próbki krwi: jedną na heparynę, drugą bez użycia antykoagulantu. Do oceny ekspresji receptorów FcR i CR stosowano testy rozetowe wg *Bueschera* w modyfikacji *Jabłońskiej* (1, 7). Do badania receptorów FcR zastosowano test rozetowy EA, a receptory CR oznaczano testem EAC. W obu testach użyto erytrocytów barana i surowicę hemolityczną królika liofilizowaną dla krwinek barana, a w teście EAC – dodatkowo dopełniacza ludzkiego. Do izolacji PMN stosowano 3% roztwór żelatyny.

Wyniki przedstawiono jako odsetek komórek tworzących rozety.

Poziom KKI oznaczano metodą precypitacji z 5% glikolem polietylenowym wg *Świerszczyńskiej* (17). Wartość ekstynkcji odczytywano na spektrofotometrze DU 640 firmy Beckman przy długości fali 280 nm. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej stosując test t-Studenta.

WYNIKI

Jak wynika z tabeli nr I, w badanej grupie chorych przed leczeniem stwierdzono istotny spadek odsetka PMN z receptorami FcR w teście EA (40,10%) w stosunku do grupy kontrolnej (53,90%) ($p < 0,05$). To istotne obniżenie utrzymywało się w badaniu drugim (44,21%), po 3-tygodniowym leczeniu antybiotykami. W badaniu trzecim, dokonanym po 6 miesiącach od zakończenia terapii, obserwowano wzrost ekspresji granulocytarnych receptorów FcR, a uzyskana wartość średnia (51,6%) nie różniła się istotnie od wartości grupy kontrolnej. Uzyskany odsetek PMN z receptorami FcR w tym badaniu był istotnie wyższy w porównaniu z badaniem pierwszym i drugim (tab. I).

Tabela I. Odsetek neutrofilów (PMN) wykazujących ekspresję receptorów FcR i CR oraz kompleksów immunologicznych (KKI) u chorych z boreliozą z Lyme

Badane parametry	Badanie I n=28		Badanie II n=14		Badanie III n=8		Grupa kontrolna n=15	
	\bar{x}	\pm SD	\bar{x}	\pm SD	\bar{x}	\pm SD	\bar{x}	\pm SD
EA (%)	40,10*	6,74	44,21*	6,55	51,62 ^{b,c}	5,68	53,90	4,81
EAC (%)	46,82*	7,13	50,28*	5,58	57,25 ^{b,c}	4,33	58,80	4,72
KKI (E ₂₈₀)**	0,522*	0,361	0,124 ^a	0,057	0,110 ^b	0,037	0,113	0,073

* – różnica istotna statystycznie w stosunku do grupy kontrolnej

a – różnica istotna statystycznie między badaniem I a badaniem II

b – różnica istotna statystycznie między badaniem I a badaniem III

c – różnica istotna statystycznie między badaniem II, a badaniem III ($p < 0,05$)

** – odczyt ekstynkcji przy długości fali 280 nm przy użyciu spektrofotometru firmy Beckman DU 640

Podobne wyniki uzyskano w teście EAC, oceniającym zachowanie się receptorów CR. W badaniu pierwszym odsetek PMN z receptorami CR uległ istotnemu obniżeniu (46,82%), w porównaniu ze średnią wartością grupy kontrolnej (58,8%). Również w badaniu drugim obserwowano istotny spadek odsetka PMN z receptorem CR (50,2%) w porównaniu z grupą kontrolną. W badaniu trzecim odsetek ten wynoszący 57,25% nie różnił się już od wartości stwierdzonej w grupie kontrolnej (tab. I).

Poddano też ocenie średnie wartości poziomu KKI w badanej grupie chorych. Poziom KKI oznaczany metodą strąceniową PEG w grupie badanej przed leczeniem (0,522) był istotnie wyższy niż w grupie kontrolnej (0,113) (tab. I). W badaniu drugim (0,124) poziom ten uległ istotnemu obniżeniu w porównaniu z badaniem pierwszym. Uzyskana wartość KKI w badaniu trzecim (0,110) nie różniła się istotnie od wartości grupy kontrolnej, wykazując jednocześnie istotne obniżenie ich poziomu w porównaniu z badaniem pierwszym (tab. I).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przedstawione wyniki badań własnych przeprowadzonych u chorych z boreliozą z Lyme wykazały obniżenie odsetka PMN z receptorami Fc dla fragmentu IgG i składnika C3 dopełniacza. Jednocześnie w okresie ostrym choroby obserwowano wzrost poziomu KKI w surowicy chorych. W dostępnym piśmiennictwie jest stosunkowo niewiele danych dotyczących zachowania się granulocytarnych receptorów FcR CR oraz KKI u chorych z boreliozą z Lyme (1).

Obserwowany w badaniach własnych wzrost poziomu KKI w ostrej fazie choroby przed leczeniem w porównaniu z grupą kontrolną można tłumaczyć wzmoczoną produkcją przeciwciał przeciw *B.b.* wchodzących w skład KKI. *Pancewicz* i wsp. oraz *Flisiak* i wsp. obserwowali podwyższony poziom przeciwciał klasy IgM u chorych z boreliozą, który wraz z poprawą kliniczną ulegał obniżeniu (5, 14).

Podwyższony poziom KKI w surowicy może sprzyjać ich odkładaniu się w tkankach prowadząc do tkankowych zmian zapalnych obserwowanych szczególnie w nieleczonych postaciach boreliozy z Lyme (10, 11, 20).

Obserwowany wzrost KKI u chorych z boreliozą może też być następstwem obniżenia odsetka PMN z receptorami FcR i CR. Przyczyny upośledzenia ekspresji receptorów FcR i CR mogą być różne. *Naes* i wsp. zaobserwowali spadek odsetka PMN z receptorami FcR i CR u chorych z niektórymi zakażeniami bakteryjnymi i wirusowymi, między innymi w aseptycznym zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych i mononukleozie zakaźnej (12, 13). *Frank* i wsp. w zmniejszonej ilości PMN z receptorami FcR upatrują jednej z przyczyn nieprawidłowego klirensu KKI (6). Wyniki badań własnych również wydają się potwierdzać związek między odsetkiem PMN z receptorami FcR i CR a zachowaniem się KKI u chorych z boreliozą. Nagromadzenie się kompleksów immunologicznych pociąga zwykle za sobą poszerzenie stanu zapalnego poprzez napływ komórek zaangażowanych w proces zapalny. Z drugiej strony zmniejszenie ilości PMN posiadających receptory FcR i CR może stanowić przyczynę zaburzeń aktywności mechanizmów odporności nieswoistej, prowadząc do upośledzonej odpowiedzi na istniejący proces zakażenia, jak też do rozwoju lub przedłużania się procesów zapalnych, wywołanych zakażeniem krętkiem *B. burgdorferi*. Zastosowane trzytygodniowe leczenie spowodowało normalizację badanych parametrów nie różniących się od wartości grupy kontrolnej.

Zachowanie się receptorów FcR i CR oraz KKI może być pomocne w ocenie stanu odporności, jak i skuteczności stosowanej terapii u chorych z chorobą z Lyme.

WNIOSKI

1. We krwi obwodowej chorych z boreliozą z Lyme stwierdzono istotny spadek odsetka PMN wykazujących ekspresję receptorów FcR i CR, mogący mieć wpływ na upośledzenie przebiegu reakcji odporności komórkowej w tej jednostce chorobowej.

2. W surowicy tych chorych równocześnie stwierdzono istotny wzrost poziomu krążących kompleksów immunologicznych.

3. Zastosowana antybiotykoterapia wpłynęła na normalizację badanych parametrów.

A. Iżycka, E. Jabłońska, S. Pancewicz, J. Zajkowska, R. Świerzbńska, M. Kondrusik, T. Iżycki

CHANGES IN GRANULOCYTIC RECEPTORS FOR Fc IgG FRAGMENT, CR RECEPTORS AND IMMUNE COMPLEXES IN PATIENTS WITH LYME BORRELIOSIS

SUMMARY

This study aimed to estimate some PMN functions, involving phagocytic activity in patients with Lyme borreliosis. Decreased percentage PMN with FcR and CR receptors was observed. Increased immune complexes levels in the serum of patients before, and their normalization after treatment were found. These results indicate a depression of non-specific cellular response, which can influence the general immune system in patients with Lyme borreliosis.

PIŚMIENNICTWO

1. Benach J.L., Fleit H.B., Habicht G.S., Colleman J.L., Bosler E.M., Lane B.P.: *J. Infect. Dis.*, 1984, 150, 497. – 2. Beuescher E.S., Gallin J.: *J Immunol. Methods*, 1983, 61, 141. – 3. Burgdorfer W.: *Science* 1982, 216, 1317. – 4. Burgdorfer W.: *Infection*, 1991, 19, 4, 257. – 5. Flisiak R., Wiercińska-Drapała A., Prokopowicz D.: *Przeg. Epid.*, 1996, 50, 3, 254. – 6. Frank M.M., Hamburger J.M., Brown E.: *Ann. Inter. Med.*, 1983, 98, 206. – 7. Jabłońska E., Pietruska Z.: *Endokryn. Pol.*, 1991, 42, 3. – 8. Jakóbisiak K.: *Immunologia 1995 PZWL W-wa*. – 9. Kocięcka W., Szkaradkiewicz A.: *Materiały Polsko-Litewskiej Konferencji Naukowej. Poznań 1993*. – 10. Kuratowska T., Lutyński A., Dwilewicz-Trojaczek J.: *Wybrane zagadnienia z immunologii klinicznej. PZWL W-wa 1982*.
11. Maszkiewicz W.: *Wiad. Lek.*, 1982, 35, 1145. – 12. Naess A., Halstensen A.J., Solberg C.O.: *Inter. Arch. Aller. Appl. Immunol.*, 1985, 78, 25. – 13. Naess A., Solberg C.O., Tonder O.: *Acta Pathol. Microbiol., Immunol. Scand. C.*, 1985, 93, 37. – 14. Pancewicz S., Januszkiewicz A., Hermanowska-Szapkowicz: *Przeg. Epid.*, 1996, 50, 4, 375. – 15. Paluch E., Joachim H.L.: *J. Nat. Cancer. Inst.*, 1978, 61, 319. – 16. Pazdur J., Nowaczyk M., Baczyńska K., Plachecka M.: *Reumatologia* 1980, 28, 2. – 17. Świerszczyńska Z., Rohułtowska U., Woźniczko-Orłowska G., Zajbek I.: *Reumatologia* 1979, 17, 269. – 18. Tylewska-Wierzbanowska St.: *Nowa Medycyna* 1995, 1. – 19. Zemman K.: *Pol. J. Immunol.* 1993, 18, 21, 3.

Adres: Zakład Immunopatologii AM w Białymstoku
ul. Kilińskiego 1, 15-230 Białystok