

## GENETYCZNE ASPEKTY ZJAWISKA ZMIENNOŚCI ANTYGENOWEJ PIERWOTNIAKÓW \*

TADEUSZ HUBERT DZBEŃSKI

Państwowy Zakład Higieny, Warszawa

Niezwykle interesującą cechą niektórych pierwotniaków jest zdolność przeobrażania charakteru antygenowego pod wpływem zmian zachodzących w otaczającym je środowisku. Pierwotniaki wolnożyjące, takie jak np. *Paramecium*, przybierają odmienną formę antygenową w wyniku zmian temperatury lub zasolenia środowiska, lub niekiedy w następstwie zadziałania wytworzoną surowicą odpornościową (Beale, 1974). Pierwotniaki pasożytnicze natomiast zmieniają w toku inwazji charakter antygenowy przede wszystkim pod wpływem przeciwciał wytworzonych przez żywiciela. Zdolnością tą są obdarzone trypanosomy afrykańskie z grupy *Salivaria* (Lumsden, 1965), prawdopodobnie niektóre gatunki trypanosom z grupy *Stercoraria* (Dzbeński, 1974), babeszje (Phillips, 1971; Curnow, 1973) oraz kilka gatunków plazmodiów, m. in. *Plasmodium knowlesi* (Brown i Brown, 1965; Brown i wsp., 1968; Voller i Rossan, 1969a; Butcher i Cohen, 1972), *P. berghei* (Briggs i Welde, 1969), *P. cynomolgi bastianelli* (Voller i Rossan, 1969b).

W czasie inwazji wymienionymi gatunkami pasożytów pojawiają się we krwi zarażonego żywiciela sukcesywne fale parazytemii. Poszczególne fale są utworzone przez populacje odmiennych antygenowo osobników, które stanowią warianty antygenowe macierzystego szczepu pasożyta. Każdy z wariantów pobudza wytwarzanie swoistych przeciwciał, będąc w tym czasie odpornym na działanie przeciwciał wytworzonych we wcześniejszych stadiach inwazji. Zjawisko to nazwano zmiennością antygenową i opisano po raz pierwszy na początku obecnego stulecia w przewlekłej inwazji *Trypanosoma equinum*.

Po kilku lub kilkunastu dniach inwazji trypanosomami z grupy *Salivaria* pojawiają się we krwi zarażonego żywiciela pasożyty, które

---

\* Referat wygłoszony na sympozjum pt. „Genetyczne problemy w parazytologii”, które odbyło się w Warszawie, dnia 25 XI 1977 r.

dostają się tutaj z pierwotnego ogniska choroby. Liczba pasożytów w krwiobiegach szybko narasta, osiągając szczyt w ciągu paru dni, potem zaś gwałtownie opada. Redukcja liczby pasożytów następuje w czasie pojawiania się pierwszych przeciwciał. Niebawem ukazują się w krwiobiegach trypanosomy o odmiennym charakterze antygenowym i intensywnie się namnażając osiągają szczyt liczebności w ciągu kilku dni, później zaś gwałtownie znikają z krwiobiegów pod wpływem działania nowych swoistych przeciwciał. Proces takich zmian antygenowych jest w przypadkach nie leczonych kontynuowany aż do śmierci żywiciela (Gray, 1967).

U trypanosom kompleksu *T. brucei* nowe warianty antygenowe są wytwarzane w odstępach 2 - 4 dni, przy czym żaden z nich nie pojawia się w toku inwazji powtórnie. Dokładna liczba wariantów jakie mogą powstać w czasie inwazji nie została jeszcze ustalona. W jednym z opublikowanych przypadków doliczono się przeszło 20 wariantów (Osaki, 1959). Określenie odrębności antygenowej wariantu jest procedurą kosztowną i pracochłonną. Obliczono, że dla ustalenia odrębności antygenowej 100 wariantów trzeba zużyć 100 000 myszy (Watkins, 1964), zatem określenie całkowitej liczby wariantów jakie mogą się pojawić w toku inwazji przekracza możliwości pojedynczego laboratorium.

Poszczególne fale parazytemii nie składają się z osobników identycznych w sensie antygenowym, ale bywają niejednokrotnie mieszaniną paru wariantów. W mieszaninie tej przeważa jednak jeden, ściśle określony wariant, który najefektywniej stymuluje tworzenie przeciwciał i pod ich wpływem jest z organizmu eliminowany. Warianty takie nazywane są dominującymi. Pojawiają się zawsze we wczesnych stadiach inwazji. Warianty izolowane w późnych stadiach inwazji są na ogół mało immunogenne i mniej wrażliwe na działanie przeciwciał. Należy w tym miejscu zaznaczyć, że zmienność antygenowa nie jest następstwem selekcji wariantów spośród heterogennej populacji pasożytów przeniesionych już przez wektora, albowiem stwierdzono występowanie tego zjawiska także u populacji wyhodowanych z pojedynczego organizmu (Inoki, 1960; Gray, 1965a).

Dany szereg pasożyta wykazuje tendencję do tworzenia określonej sekwencji wariantów w czasie inwazji u różnych żywicieli. Stwierdzono ponadto, iż poszczególne warianty nawracają do postaci wyjściowej, macierzystej, po wielokrotnym pasażu przez małe zwierzęta laboratoryjne lub w czasie rozwoju cyklicznego u wektora, muchy tse - tse (Broom i Brown, 1940; Gray, 1965b).

Zjawisko zmienności antygenowej odzwierciedla mechanizm, przy pomocy którego pasożyt unika skutków reakcji obronnych organizmu żywicielskiego. Zjawisko to doskonale tłumaczy chroniczny przebieg

trypanosomatozy afrykańskiej i nawroty występujące w przebiegu malarii.

Zmienność antygenowa z biochemicznego punktu widzenia jest zmianą charakteru antygenu powierzchniowego pierwotniaka. Antygen ten jest substancją niejednorodną, składa się bowiem co najmniej z 7 komponentów białkowo-wielocukrowych o wspólnej determinancie antygenowej (Humphryes, 1970; Njogu i Humphryes, 1972). Ciężar cząsteczkowy antygenu wynosi około  $9 \times 10^4$  (LePage, 1968). Według badań przeprowadzonych przez Crossa (1975) w skład antygeny powierzchniowego każdego osobnika *T. brucei* wchodzi około  $7 \times 10^6$  cząsteczek glikoproteiny utworzonej z 600 reszt aminokwasowych i 20 monosacharydowych.

Antygen powierzchniowy trypanosom jest zlokalizowany w zewnętrznej otoczce pasożyta. Otoczka ta stanowi rodzaj gładkiej pochewki o grubości 12 - 15 nm, która otacza cały organizm pasożyta (Vickerman, 1969). Formy rozwojowe pasożyta występujące w żołądku wektora oraz postaci z hodowli nie mają takiej otoczki. Uzyskują ją dopiero formy meta-cykliczne w gruczołach ślinowych owada (u form hodowlanych pasożyta nie stwierdzono zjawiska zmienności antygenowej). Podobnego typu strukturę stwierdzono również u merozoitów *P. berghei yoelii* i *P. gallinaceum* in vivo (Ladda i wsp., 1969) oraz merozoitów *P. knowlesi* in vitro (Miller i wsp., 1975).

Jaka jest natura zjawiska zmienności antygenowej pierwotniaków? Czy odzwierciedla ono zmiany genotypu, czy też tylko fenotypu komórki?

Zmiany genotypu komórki mogą powstać w następstwie przegrupowania w obrębie cząsteczki kwasu dezoksyrybonukleinowego (DNA). Przegrupowania te nazywają się rekombinacjami. Prowadzą one do wytworzenia się nowych ugrupowań materiału genetycznego, które nadają odmienne właściwości powstałym rekombinantom. Wśród rekombinacji genotypowych należy wymienić procesy koniugacji, transformacji i transdukcji.

Podczas koniugacji komórki łączą się ze sobą, u bakterii za pośrednictwem fimbrii płciowych (Meynell i wsp., 1968), przekazują materiał genetyczny, następnie zaś rozłączają się i dzielą. Procesu tego nie udało się stwierdzić u pierwotniaków podlegających zjawisku zmienności (z wyjątkiem orzęsków), u trypanosom np. nie obserwowano nigdy łączenia się 2 osobników ze sobą. Według powszechnie akceptowanej opinii pierwotniaki te namnażają się wyłącznie na drodze bezpłciowej. Proces namnażania płciowego występuje natomiast u *Plasmodium* i, być może, u *Babesia*, odbywa się jednak wyłącznie w organizmie wektora. Osobniki wytworzone w cyklu rozwoju płciowego pasożyta nie wykazują zjawiska zmienności, ulegają mu wyłącznie pasożyty powstające w czasie

rozwoju bezpłciowego w organizmie żywiciela kręgowca. Zjawisko zmienności antygenowej pierwotniaków nie jest więc następstwem procesu koniugacji. Nie tłumaczy go również transformacja genetyczna oraz transdukcja.

Transformacją nazywamy przeniesienie cechy dziedzicznej z jednego drobnoustroju na drugi za pośrednictwem kwasu dezoksyrybonukleinowego (DNA). Doświadczenia nad występowaniem transformacji u bakterii prowadzono w warunkach sztucznych *in vitro*. Wprawdzie proces ten może zachodzić również *in vivo* (u pneumokoków), brak jednak potwierdzenia czy występuje w warunkach naturalnych. Z prac przeprowadzonych przez Amreina (1965a, b) wiemy już, że transformacja nie występuje u *T. equiperdum* i *T. cruzi*.

Ostatnią z dyskutowanych rekombinacji jest transdukcja. Transdukcja jest procesem bardzo rzadkim (od  $1 \times 10^{-6}$  do  $1 \times 10^{-9}$ ), zbyt rzadko występującym, aby tłumaczyć częstość zmian występujących w przebiegu zjawiska zmienności antygenowej, co więcej, proces ten jest następstwem przeniesienia materiału genetycznego reprezentującego pojedynczą cechę przez wirusa infekującego komórkę. Nie opisano dotychczas wirusów infekujących pierwotniaki podlegające zjawisku zmienności. Wyjątkiem jest doniesienie Terzakisa (1969) o obecności wirusów w ookinetach i wczesnych stadiach rozwojowych oocyst *P. gallinaceum* oraz doniesienie Daviesa i Howellsa (1971) na temat występowania wirusów w oocystach *P. berghei berghei* u *Anopheles stephensi*. Obserwacje te dotyczyły form rozwojowych *Plasmodium* w organizmie wektora, a więc postaci nie ulegających zmienności antygenowej.

Ponieważ nie stwierdzono wirusów infekujących pasożyty wykazujące cechę zmienności, nie ma podstawy sądzić, że zjawisko to jest następstwem stanu analogicznego do konwersji lizogennej u bakterii. Konwersja lizogenna występuje u bakterii po włączeniu cząsteczki DNA bakteriofaga do genoforu bakteryjnego. Lizogenne bakterie stają się odporne na infekcję takim samym lub pokrewnym gatunkiem faga, niekiedy zaś nabywają innych cech, jak np. zdolności wytwarzania nowych antygenów powierzchniowych lub toksyn.

Aczkolwiek rekombinacje genetyczne nie leżą u podstaw zjawiska zmienności antygenowej, niemniej jednak wśród pierwotniaków występują; co więcej, są powody by sądzić, że rekombinacje powstają u pierwotniaków w stopniu daleko większym od tego, który udało się już ustalić. Stwierdzono występowanie rekombinacji u *P. b. yoelii* skarmiając komary na szczurach (*Grammomys surdaster*) zarażonych mieszaniną pasożytów pochodzących ze szczepów 17X i 33X. Pasożyty linii użytych do doświadczeń różniły się między sobą cechą odporności na pirymetaminę oraz elektroforegramami izomerazy glukozofosforanowej.

Po odbyciu cyklu sporogonicznego w organizmie wektora pasożyty wykazywały cechy właściwe obu liniom wyjściowym (Walliker i wsp., 1971, 1973).

Bardzo znanym przykładem rekombinacji jest koniugacja zachodząca u orzęsków, zarówno wolnożyjących, jak i pasożytniczych. Podczas koniugacji dwa osobniki (należące do jednego syngenu) łączą się czasowo na niewielkim obszarze powierzchni, makronukleus każdego z nich ulega rozpadowi, a mikronukleus ulega dwukrotnemu podziałowi wytwarzając 4 jądra, z których 3 ulegają degeneracji, a czwarte dzieli się dając pronuclei: stacjonarne i wędrujące o haploidalnej liczbie chromosomów. Po wymianie pronuclei osobniki koniugujące oddzielają się i odtwarzają aparat jądrowy. Pokolenia osobników koniugujących mają cechy właściwe obu koniugantom.

Orzęski należą też do tych pierwotniaków, u których stwierdzono po raz pierwszy występowanie wirusów. Niektóre szczepy *Paramecium aurelia* powodują śmierć innych szczepów, które znajdują się w tym samym środowisku. W cytoplazmie osobników należących do szczepów zabijających (killer strains) znajdują się cząstki kappa. Są to Gram-ujemne bakterie endosymbiotyczne, zawierające niekiedy ciała R (Beale i wsp. 1969). Ciało R jest zwiniętą w rulon taśmą szerokości 0,5  $\mu\text{m}$  i długości 14  $\mu\text{m}$ , wewnątrz której stwierdzono obecność struktur wirusopodobnych. Cząstki kappa wolne od ciałek R mogą niekiedy po dostaniu się do wnętrza *Paramecium* pozbawionego tych cząstek przekształcić je w szczep zabijający. Cząstki kappa z wykształconymi ciałkami R nie posiadają tej właściwości. Są one prawdopodobnie pozbawione możliwości reprodukcji. Cytowane fakty można połączyć ze sobą w logicznie brzmiącą całość przyjmując, że w cząstkach kappa pozbawionych ciałek R elementy wirusopodobne znajdują się w stanie prowirusa. Indukcja wirusa prowadzi do wytworzenia struktur wirusopodobnych i ciałek R, przy czym białko formowanego wirusa jest toksyczne dla osobników wrażliwych szczepów *Paramecium* (Preer i Preer, 1967).

Inną grupą pierwotniaków, u których opisano występowanie wirusów, są ameby. Stwierdzono je ponad wszelką wątpliwość u ameb rodzaju *Naegleria*, zarówno u osobników wyizolowanych z próbek ziemi (*N. gruberi*), jak i u osobników pochodzących ze zmian chorobowych u człowieka (*N. fowleri*) (Schuster, 1969; Dunnebacke i Schuster, 1974). Stwierdzono również istnienie wirusów DNA infekujących amebę z rodzaju *Entamoeba* (Diamond i wsp., 1972; Mattern i wsp., 1972; Hruska i wsp., 1973), a także wirusów RNA, które zidentyfikowano ostatnio jako rhabdoviruses (Bird i wsp., 1974; Bird McCaul, 1976). Odkrycia te stworzyły teoretyczne przesłanki, na których można oprzeć rozumowanie wyjaśniające wirulencję niektórych szczepów *E. histolytica*: cecha wiru-

lencji odzwierciedla prawdopodobnie u ameb stan lizogenny bądź też jest następstwem transdukcji.

Za występowaniem stanu lizogenego u osobników niektórych szczepów *E. histolytica* wydają się przemawiać następujące fakty: a) liczba wirusów przypadających na określoną liczbę ameb w hodowli ma wartości względnie stałe, b) ameby szczepu zainfekowanego wirusem nie ulegają lizie pod wpływem tego wirusa, c) obecność wirusa można wykazać za pomocą innego szczepu ameb, które po zainfekowaniu ulegają lizie, d) posługując się swoistą surowicą odpornościową nie można wyeliminować wirusa z hodowli ameb (Hruska i wsp., 1973).

Wyniki kilku prac (m. in. Phillipsa i Bartgisa, 1954; Wittnera i Rosenbaum, 1970) wykazały także ogromny wpływ flory bakteryjnej na wirulencję szczepów *E. histolytica*. Ponieważ wzrost wirulencji obserwowano tylko u ameb hodowanych wspólnie z żywymi bakteriami odpowiednich szczepów, można sądzić, że istnieje jakiś czynnik o charakterze episomalnym, który bakterie przekazują amebom zmieniając tą drogą ich wirulencję (Wittner i Rosenbaum, 1970). Stopniowa utrata wirulencji przez większość szczepów w czasie hodowli ameb *in vitro* oraz względnie szybkie odzyskiwanie utraconej cechy w warunkach ponownej hodowli z odpowiednimi szczepami bakteryjnymi wydają się potwierdzać słuszność poglądu na temat istnienia czynnika wirulencji o charakterze episomalnym.

Przedstawiony pogląd ma charakter ogromnie spekulatywny, nie wiadomo bowiem, czy zachodzi w naturze wymiana materiału genetycznego między organizmami należącymi do Procaryota a Eucaryota, jeśli jednak wymiana takowa istnieje, to niewątpliwie największą ku temu sposobność mają wśród pierwotniaków ameby w świetle przewodu pokarmowego swojego żywiciela.

Przedstawione mechanizmy zmienności genotypowej drobnoustrojów, które nie są odpowiedzialne za zmienność antygenową pierwotniaków, dyskutowano wyłącznie dla wyczerpania całokształtu zagadnienia; badacze zmienności antygenowej pierwotniaków ograniczyli już bowiem rozważania nad mechanizmem tego zjawiska do odpowiedzi na pytanie, czy jest to zmienność fenotypowa, czy też następstwo spontanicznych mutacji i selekcji powstałych mutantów przez przeciwciała wytworzone w organizmie żywiciela. Próby odpowiedzi na to pytanie doprowadziły do powstania 2 teorii: mutacyjnej i adaptacyjnej.

Teoria mutacyjna miała niegdyś licznych zwolenników (np. Watkins, 1964; Seed i Gam, 1966), obliczony bowiem wskaźnik prawdopodobnych mutacji doskonale tłumaczył częstotliwość powstawania nowych wariantów. Prawdopodobieństwo mutacji występuje u populacji liczącej  $10^5 \cdot 17$  osobników *T. brucei* lub  $10^5$  osobników *T. equiperdum*

(Cantrell, 1958). Słabą stroną teorii mutacyjnej jest brak wytłumaczenia dla toku zmienności, który przebiega według względnie ustalonego wzoru (warianty dominujące pojawiają się zawsze w pierwszych tygodniach inwazji) oraz dla procesu wytwarzania podobnych wariantów u różnych żywicieli przez określony klon lub wariant antygenowy pasożyta. Zwolennikom teorii mutacyjnej trudno również podać przyczynę nawrotu wariantów do macierzystej formy antygenowej w czasie transmisji cyklicznej pasożyta lub pasażu na małych zwierzętach laboratoryjnych. Proces ten miałby być następstwem mutacji wstecznych. Występowanie mutacji wstecznych zawsze w tych samych okolicznościach i na tak dużą skalę wydaje się jednak mało prawdopodobne. Wymienione cechy zmienności antygenowej, które tak trudno wyjaśnić za pomocą teorii mutacyjnej, są natomiast łatwo interpretowane przez teorię adaptacyjną. W myśl tej teorii zmiany w charakterze antygenów powierzchniowych pasożyta wynikają z czasowych adaptacji wewnątrzkomórkowego systemu syntetyzującego w odpowiedzi na bodźce płynące ze środowiska (Gray, 1967). Zmienność antygenowa pierwotniaków pasożytniczych byłaby więc tylko zmiennością fenotypu. Stwierdzenie to wspierają dane z obserwacji nad zmiennością organizmów wolnożyjących. Podczas jednej z prac wyróżniono u *Paramecium* co najmniej 12 typów antygenowych, organizm ten ma więc co najmniej 12 loci chromosomalnych, przy czym w każdym z locus występuje jeszcze bliżej nie sprecyzowana ilość alleli (badano dotychczas 6) determinujących powstawanie podtypów antygenowych pierwotniaka. Podtypy alleliczne *Paramecium* dają z reguły krzyżowe reakcje serologiczne w odczynie immobilizacyjnym, reakcji krzyżowych nie stwierdza się natomiast między nie allelicznymi wariantami antygenowymi pierwotniaka (Beale, 1974). Podtypy alleliczne wykazują większe pokrewieństwo biochemiczne i serologiczne w porównaniu z wariantami nie allelicznymi. Gdyby zjawisko zmienności antygenowej pierwotniaków pasożytniczych było następstwem mutacji i selekcji powstałych mutantów przez wytworzone przeciwciała, wtedy zmiany w charakterze antygenowym mutantów powinny być tak rozległe, aby uniemożliwić występowanie reakcji krzyżowych z surowicami wytworzonymi przeciw innym wariantom. Sytuacja taka nie może zaistnieć, ponieważ nawet podtypy alleliczne dają wyraźne reakcje krzyżowe (u *Paramecium*).

Odrzucając teorię mutacyjną można twierdzić, że wszystkie osobniki danego szczepu pasożyta posiadają identyczną informację genetyczną określającą strukturę antygenową. Aktualna tożsamość antygenowa osobnika jest determinowana aktywnością określonego genu. Pod wpływem bodźców działających na organizm w środowisku następuje zahamowa-

nie czynności tego genu, przy jednoczesnej derepresji genu warunkującego syntezę odmiennego antygeny powierzchniowego.

Słabą stroną teorii adaptacyjnej jest brak bezpośredniego dowodu na syntetyzowanie nowego antygeny powierzchniowego u tego pasożyta, który utracił antygen poprzedni. Brak również danych, w jaki sposób bodziec działający na receptor zlokalizowany na powierzchni komórki jest przekazywany do jej wnętrza, aczkolwiek wydaje się, że następstwem zadziałania substancji bodźcowej na receptor zlokalizowany w błonie plazmatycznej komórki jest wytwarzanie się substancji chemicznej wewnątrz komórki, która przekazuje informację do wnętrza komórki działając jako „second messenger”.

Substancja bodźcowa przy kontakcie z powierzchnią stymulowanej komórki prowadzi do allosterycznych przegrupowań receptora, które odpowiadają jej konfiguracji przestrzennej. Takie allosteryczne zmiany receptora mogą stanowić sygnał bezpośrednio aktywujący układ enzymatyczny wewnątrzkomórkowego mediatora bodźców (Dresser, 1976). Jedy-nym poznanym dotychczas systemem przekazującym sygnały do jądra komórki jest układ: receptor powierzchniowy komórki — kompleks cyk-lazy adenylowej, który może wytworzyć cykliczny AMP wewnątrz komórki po związaniu pozakomórkowej substancji bodźcowej przez re-ceptor. Wytwarzanie cAMP przez ten układ jak się wydaje jest nega-tywnie skorelowane z poziomem wewnątrzkomórkowego cGMP (Gold-berg i wsp., 1973). W jaki to jednak sposób cyklaza adenylowa może pełnić funkcję jedynego pośrednika między błoną a jądrem komórki, skoro organizm potrafi różnicować bodźce płynące ze środowiska? Sy-tuację tę można wyjaśnić przyjmując, że proces różnicowania bodźców nie jest prostym odzwierciedleniem aktywności cyklazy adenylowej, ale następstwem odmiennych proporcji między cAMP a cGMP, jakie kształ-tują się we wnętrzu komórki w wyniku zadziałania różnych bodźców. Różnicowanie bodźców może być także następstwem zadziałania cAMP na jądro komórki w zależności od fazy jej cyklu rozwojowego, tzn. jądro komórki może inaczej interpretować ten sam sygnał np. w fazie Go, a ina-czej we wczesnej fazie G1. Nie można wykluczyć także możliwości, że istnieje jak dotychczas nie zdefiniowany system sygnałów między błoną a jądrem komórki, który nie ma powiązania z układem cAMP/cGMP (Dresser, 1976). W świetle przedstawionych uwag zastrzeżenia odnośnie do teorii adaptacyjnej stają się mało przekonujące.

Jeżeli zmiana charakteru antygenowego jest odpowiedzią na bodźce (przeciwciała) docierające do komórki ze środowiska, to odpowiedź taka musi następować w szybkim tempie, w ciągu kilkunastu lub kilkudziesięciu godzin, zanim natężenie bodźców (stężenie przeciwciał) osiągnie wartości letalne. Można oczywiście wyobrazić sobie sytuację, w której



zmiana charakteru antygenowego będzie się odbywała w nieco wolniejszym tempie, przy dużym bowiem stężeniu przeciwciał osobniki ulegające zmienności mogą zrzucić zewnętrzną otoczkę antygenową razem z okrywającą je warstwą przeciwciał i syntetyzować nową dopiero po pewnym czasie. Sytuacja taka byłaby analogiczna do opisanej dla orzęsków z rodzaju *Tetrahymena*, które w środowisku homologicznej surowicy odpornościowej uwalniają się z okrywającej powłoki przeciwciał i antygenu powierzchniowego, pozostają przy życiu i syntetyzują antygen powierzchniowy de novo dopiero po pewnym czasie (Harrison, 1965). Ponieważ wśród pasożytów izolowanych z organizmu żywiciela nie opisano dotychczas osobników „nagich” (pozbawionych zewnętrznej otoczki antygenowej), wydaje się, że taka dramatyczna droga zmiany antygenu powierzchniowego jest mniej prawdopodobna od sposobu polegającego na stopniowej, choć szybkiej, wymianie antygenu starego na nowy. Metoda stopniowej wymiany antygenów wydaje się bardziej zgodna ze współczesnymi poglądami na fizjologię komórki.

Makrocząsteczki zlokalizowane na powierzchni komórki ulegają ciągłym przegrupowaniom i wymianie, przy czym część z nich jest zrzucana do środowiska komórki. Odrzucone makrocząsteczki spełniały w komórce funkcje receptorów, determinantów antygenowych lub enzymów. Pozbywając się tych cząsteczek komórka utrzymuje swoją powierzchnię w stanie dziewiczym, uwalnia się od wszelkich powiązań między receptorami powierzchni a czynnikami środowiska, uwrażliwia się na działanie świeżych bodźców, staje się podatna na odbiór nowych sygnałów. Procesy odnowy struktury powierzchni mają charakter ciągły i odbywają się w maksymalnym tempie (Doljanski i Kapeller, 1976). Celem utrzymania wysokiego tempa odnowy komórka zużywa ogromne ilości energii. Jak uzasadnić potrzebę istnienia tego typu przemiany materii? Odpowiedzi na to pytanie można się doszukać w poglądach Szent-Györgyiego na materię ożywioną (cyt. wg Doljanskiego i Kapellera, 1976).

Według Szent-Györgyiego stabilność układów nieożywionych występuje przy minimum wolnej energii układu i maksimum entropii. Jest to stabilność fizyczna. W układach ożywionych stabilność jest osiągana w warunkach wręcz odmiennych: przy minimum entropii i maksimum wolnej energii. Jest to stabilność biologiczna. Stan stabilności fizycznej po przełożeniu na język biologiczny oznacza śmierć. Życie zdąża do osiągnięcia stanu stabilności biologicznej, który może być utrzymany wyłącznie przez funkcję. Jeżeli funkcja ustaje, układ zaczyna zmierzać w kierunku stabilności fizycznej.

Zestawiając zamieszczone w referacie dane, teorie i hipotezy w formę najbardziej lapidarną otrzymujemy następujące streszczenie. Żywy

metabolizm pierwotniaków pasożytniczych ułatwia im sprawne przeprowadzanie różnorodnych funkcji, umożliwia m. in. szybką syntezę antygenu powierzchniowego. Czynność syntezy antygeny powierzchniowego doprowadziła do wykształcenia zewnętrznej otoczki pasożyta, która jest strukturą lokalizującą antygeny zmienne komórki. Rola tej struktury polega na chronieniu pasożyta przed atakiem sił obronnych organizmu żywiciela. Ustalenie tożsamości antygenowej pasożyta powoduje przekształcenie jego struktury powierzchniowej w formę nierozpoznawalną dla aparatu immunologicznego żywiciela. Procesy doboru i syntezy antygeny powierzchniowego znajdują się pod kontrolą aparatu genetycznego pasożyta, który odziedziczył cechę plastycznego reagowania na bodźce docierające do niego ze środowiska i przekazuje ją generacjom następnym. Obniżenie metabolizmu pasożyta, które w czasie zabiegów terapeutycznych osiąga się stosując środki antymetaboliczne, prowadzi do osłabienia lub zaniku funkcji syntezy antygenów zmiennych. Pasożyt staje się wówczas podatny na działanie sił obronnych organizmu żywiciela, traci stabilność biologiczną — ginie.

Adres autora:

00 - 791 Warszawa, Chocimska 24

#### LITERATURA

1. Amrein, Y. U.: Genetic transfer in trypanosomes. I. Syngamy in *Trypanosoma cruzi*. — *Expl. Parasit.*, 17, 261 - 263, 1965a.
2. Amrein, Y. U.: Genetic transfer in trypanosomes. II. Genetic transformation in *Trypanosoma equiperdum*. — *Expl. Parasit.*, 17, 264 - 267, 1965b.
3. Beale, G. H., Jurand, A., Preer, J. R.: The classes of endosymbionts of *Paramecium aurelia*. — *J. Cell Sci.*, 5, 65 - 91, 1969.
4. Beale, G. H.: Genetics of antigenic variation in *Paramecium*: a model system. — W „Ciba Foundation Symposium 25 (new series)”. Associated Scientific Publishers, Amsterdam. 21 - 27, 1974.
5. Bird, R. G., McCaul, T. F., Knight, R.: Rhabdovirus-like particles of *Entamoeba histolytica*. — *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 68, 2, 1974.
6. Bird, R. G., McCaul, T. F.: The rhabdoviruses of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba invadens*. — *Ann. trop. Med. Parasit.* 70, 81 - 93, 1976.
7. Briggs, N. T., Wellde, B. T.: Some characteristics of *Plasmodium berghei* „relapsing” in immunized mice. — *Milit. Med.*, 134, 1243 - 1249, 1969.
8. Broom, J. C., Brown, H. C.: Studies in trypanosomiasis. IV. Notes on the serological characters of *Trypanosoma brucei* after cyclical development in *Glossina morsitans*. — *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 34, 53 - 64, 1940.
9. Brown, K. N., Brown, I. N.: Immunity to malaria: antigenic variation in chronic infections of *Plasmodium knowlesi*. — *Nature*, 208, 1286, 1965.

10. Brown, I. N., Brown, K. N., Hills, L. A.: Immunity to malaria: the antibody response to antigenic variation by *Plasmodium knowlesi*. — *Immunology*, 14, 127 - 138, 1968.
11. Butcher, G. A., Cohen, S.: Antigenic variation and protective immunity in *Plasmodium knowlesi* malaria. — *Immunology*, 23, 503 - 521, 1972.
12. Cantrell, W.: Mutation rate and antigenic variation in *Trypanosoma equiperdum*. — *J. infect. Dis.*, 103, 263 - 271, 1958.
13. Cross, G. A. M.: Identification, purification and properties of clone-specific glycoprotein antigens constituting the surface coat of *Trypanosoma brucei*. — *Parasitology*, 71, 393 - 417, 1975.
14. Curnow, J. A.: Studies on antigenic changes and strain differences in *Babesia argentina* infections. — *Aust. vet. J.*, 49, 279 - 283, 1973.
15. Davies, E. E., Howells, R. E.: A pathogen of the malaria parasite. — *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 65, 13 - 14, 1971.
16. Diamond, L. S., Mattern, C. F. T., Bartgis, I. L.: Viruses of *Entamoeba histolytica*. I. Identification of transmissible virus-like agents. — *J. Virol.*, 9, 326 - 341, 1972.
17. Doljanski, F., Kapeller, M.: Cell surface shedding — the phenomenon and its possible significance. — *J. theor. Biol.*, 62, 253 - 270, 1976.
18. Dresser, D. W.: Tolerance induction as a model for cell differentiation. — *Brit. med. Bull.*, 32, 147 - 151, 1976.
19. Dunnebacke, T. H., Schuster, F. L.: An infections agent associated with amebas of the genus *Naegleria*. — *J. Protozool.*, 21, 327 - 329, 1974.
20. Dzbeński, T. H.: Exoantigens of *Trypanosoma cruzi* in vivo. — *Tropen-med. Parasit.*, 25, 485 - 491, 1974.
21. Gray, A. R.: Antigenic variation in clones of *Trypanosoma brucei*. Immunological relationships of the clones. — *Ann. trop. Med. Parasit.*, 59, 27 - 36, 1965a.
22. Gray, A. R.: Antigenic variation in a strain of *Trypanosoma brucei* transmitted by *Glossina morsitans* and *G. palpalis*. — *J. gen. Microbiol.*, 41, 195 - 214, 1965b.
23. Gray, A. R.: Some principles of the immunology of trypanosomiasis. — *Bull. Wld. Hlth Org.*, 37, 177 - 193, 1967.
24. Goldberg, N. D., O'Dea, R. F., Haddox, M. K.: Cyclic GMP. — *W Advances in Cyclic Nucleotide Research*, P. Greengard, G. A. Robin, Raven Press, New York, 3, 155 - 223, 1973.
25. Harrison, J. A.: General aspects of immunological reactions with bacteria and protozoa. — *W „Biological specificity and growth”, E. G. Butler, Princeton University Press, 141 - 156, 1955.*
26. Hruska, J. F., Mattern, C. F. T., Diamond, L. S., Keister, D. B.: Viruses of *Entamoeba histolytica*. III. Properties of the polyhedral virus of the HB-301 strain. — *J. Virol.*, 11, 129 - 136, 1973.
27. Humphries, K. C.: Isoelectric focusing of *Trypanosoma brucei* subgroup antigens in polyacrylamide gel thin layers. — *J. Chromatography*, 49, 503 - 510, 1970.
28. Inoki, S., Nakabayashi, T., Fukukita, S., Osaki, H.: Studies on the immunological variation in *Trypanosoma gambiense*. V. Antigenic constitution of the relapse type strain in respect to its reversibility to the original type. — *Biken's J.*, 3, 339 - 350, 1960.
29. Ladda, R., Aikawa, M., Sprinz, H.: Penetration of erythrocytes by

- merozoites of mammalian and avian malarial parasites. — *J. Parasit.*, 55, 633 - 644, 1969.
30. LePage, R. W. F.: Further studies on the variable antigens of *T. brucei*. — *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 62, 131, 1968.
  31. Lumsden, W. H. R.: Biological aspects of trypanosomiasis research. — *Adv. Parasitol.*, Academic Press, London, 3, 1 - 49, 1965.
  32. Mattern, C. F. T., Diamond, L. S., Daniel, W. A.: Viruses of *Entamoeba histolytica*. II. Morphogenesis of the polyhedral particle (ABRM<sub>2</sub> → HK - 9) → HB - 301 and the filamentous agent (ABRM)<sub>2</sub> → HK - 9. — *J. Virol.*, 9, 342 - 358, 1972.
  33. Meynell, E., Meynell, G. G., Datta, N.: Phylogenetic relationships of drug resistance factors and other transmissible bacterial plasmids. — *Bact. Rev.*, 32, 55 - 83, 1968.
  34. Miller, L. H., Aikawa, M., Dvorak, J. A.: Malaria (*Plasmodium knowlesi*) merozoites: immunity and the surface coat. — *J. Immun.*, 114, 1237 - 1242, 1975.
  35. Njogu, A. R., Humphryes, K. C.: The nature of the 4S antigens of the brucei subgroup trypanosomes. — *Expl Parasit.*, 31, 178 - 187, 1972.
  36. Otsaki, H.: Studies on the immunological variation in *T. gambiense* (serotypes and the mode of relapse). — *Biken's J.*, 2, 113 - 127, 1959.
  37. Phillips, B. P., Bartgis, I. L.: Effects of growth in vitro with selected microbial associates and of encystation and excystation on the virulence of *Entamoeba histolytica* for guinea pigs. — *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 3, 621 - 627, 1954.
  38. Phillips, R. S.: Antigenic variation in *Babesia rodhaini* demonstrated by immunization with irradiated parasites. — *Parasitology*, 63, 315 - 322, 1971.
  39. Preer, J. R., Preer, L. B.: Virus-like bodies in killer paramecia. — *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 58, 1774 - 1781, 1967.
  40. Schuster, F. L.: Intranuclear virus-like bodies in the amoeboflagellate *Naegleria gruberi*. — *J. Protozool.*, 16, 724 - 727, 1969.
  41. Seed, J. R., Gam, A. A.: Passive immunity to experimental trypanosomiasis. — *J. Parasit.*, 52, 1134 - 1140, 1966.
  42. Terzakis, J. A.: A protozoan virus. — *Milit. Med.*, 134, 916 - 921, 1969.
  43. Vickerman, K.: On the surface coat and flagellar adhesion in trypanosomes. — *J. Cell Sci.*, 5, 163 - 193, 1969.
  44. Voller, A., Rossan, R. N.: Immunological studies on simian malaria. III. Immunity to challenge and antigenic variation in *P. knowlesi*. — *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 63, 507 - 523, 1969a.
  45. Voller, A., Rossan, R. N.: Immunological studies on simian malaria. I. Antigenic variants of *Plasmodium cynomolgi bastianelli*. — *Trans. R. Soc. Med. Hyg.*, 63, 46 - 56, 1969b.
  46. Walliker, D., Carter, R., Morgan, S.: Genetic recombination in malaria parasites. — *Nature*, 232, 561 - 562, 1971.
  47. Walliker, D., Carter, R., Morgan, S.: Genetic recombination in *Plasmodium berghei*. — *Parasitology*, 66, 309 - 320, 1973.
  48. Watkins, J. F.: Observations on antigenic variation in a strain of *Trypanosoma brucei* growing in mice. — *J. Hyg. Camb.*, 62, 69 - 80, 1964.
  49. Wittner, M., Rosenbaum, R. M.: Role of bacteria in modifying virulence of *Entamoeba histolytica*. Studies of amoebae from axenic cultures. — *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 19, 755 - 761, 1970.

GENETIC ASPECTS OF THE PHENOMENON OF ANTIGENIC VARIATION  
IN PROTOZOA

by

T. H. DZBEŃSKI

The phenomenon of antigenic variation in protozoa is described and then there are discussed biochemical features of some variable protozoan antigens, surface structures which localize these antigens, and the genetic background of the variation. It is concluded, that the function of synthesis of the variable antigens created a surface coat which contains the antigens and protects the parasite against the reaction of host immune system. When an antigenic character of the coat is recognized, the parasite synthesizes another one which appears new to the host. Selection and synthesis of cell surface antigens is regulated by a set of genes which are switched on and off in response to extracellular signals. The parasite has to invest an enormous amount of energy to ensure rapid changes of its antigenic character. High metabolism of parasites undergoing variation meets these requirements. However, when the metabolism is slowed down, e.g. in result of treatment with metabolic inhibitors, the parasite loses the ability of rapid synthesis of its surface antigens and becomes vulnerable to the immune system of the host.

## Dyskusja

**Prof. M. Prost**

W referacie przedstawiono dwie teorie — mutacyjną i adaptacyjną, dotyczące zmienności antygenowej. Dowodem na słuszność pierwszej byłoby uzyskanie tych samych cech w pokoleniach następnych. Natomiast teoria adaptacyjna tłumaczy możliwość powrotu do stanu poprzedniego. Byłyby to zatem zmiany nie strukturalne, lecz funkcjonalne. Która z nich jest więc słuszniejsza i czy były sprawdzone doświadczalnie?

**Dr T. Dzbeński**

Obie teorie są spekulacjami opartymi na dowodach pośrednich. Słuszniejsza wydaje się być teoria adaptacyjna i ta jest przyjmowana przez większość autorów. Zmiany charakteru antygenowego pierwotniaków można tłumaczyć, podobnie jak różnicowanie się komórek organizmu, represją i depresją genową. Za tą teorią przemawiają też wyniki doświadczeń prowadzonych na wolno żyjących pierwotniakach (typy alleliczne *Paramecium*).

**Doc. S. Kazubski**

Czy sekwencja zmian antygenowych jest zawsze taka sama i jaki jest okres trwania tych zmian?

**Dr T. Dzbeński**

Sekwencja zmian jest dość stała. Dla *Trypanosoma brucei* wynosi ona 4 - 5 dni, a więc trwa w ciągu całej generacji. Zmiany te są dość trwałe. Na przykład w Afryce w dwa lata po przeprowadzonych badaniach udało się znaleźć te same albo pokrewne warianty. Być może właściwości antygenowe trypanosom nawracają do postaci wyjściowej w żywicielu pośrednim (*Glossina*) i ten fakt potwierdzałby przypuszczenie, że mamy do czynienia z represją i depresją antygenową.

**Doc. E. Dyrerowa**

Omawiane w referacie pierwotniaki, jak *Naegleria*, inne wolno żyjące ameby, *Paramecium* itd., w laboratoriach prowadzone są na pałeczkach *Escherichia*. Są to zwykle szczepy lizogenne, zawierające fagi T, które mogą być odpowiedzialne za zmiany cech szczepów, np. powstawanie szczepów patogenicznych. Używając w hodowlach bakterii z zabitym fagiem można by liczbę niewiadomych zredukować. Szczególnie w przypadku szczepów *Naegleria*, wywołujących zapalenie opon mózgowych, nie można wykluczyć udziału wirusa. Podobne zjawisko, tzw. killer strains, stwierdzono u *Paramecium*.

**Dr T. Dzbeński**

Za zjawiska zmienności antygenowej nie są odpowiedzialne rekombinacje genetyczne, chociaż zmienność genetyczna w ogóle u pierwotniaków występuje. Nie ma wątpliwości, że u ameb występują wirusy. Można więc sobie bez trudu wyobrazić, że wirulencja szczepów ameb jest analogiczna do konwersji lizogennej u bakterii. Prof. Kunicki powiedział w swoim referacie, że zmienność mikroorganizmów jest następstwem zmienności genotypowej. Tak jest u organizmów roślinnych. Natomiast u pierwotniaków zmienność ma przede wszystkim charakter fenotypowy — czyli co innego leży u podłoża zmienności antygenowej u bakterii, a co innego u pierwotniaków.