

Institutul de medicină și farmacie din Cluj, Catedra de parazitologie
(cond.: conf. V. Dahnovici)

DISCUȚII ASUPRA UNOR PROBLEME DE IMUNOBIOLOGIE A HELMINTOZELOR

V. Dahnovici, M. Bornuz

Dintre complexele mecanisme ale reactivității organismelor la invazia helmintică, cele mai interesante și mai studiate sînt cele ale fenomenelor cu caracter imunologic. Aceste probleme, abordate încă acum vreo 50 ani, după o îndelungată perioadă de încercări mai mult descurajante, au fost readuse în ultimul timp în actualitate, datorită unor succese obținute în urma ameliorării tehnicilor de investigație.

Lăsînd la o parte considerațiile de ordin istoric, amintim totuși că la progresul cunoștințelor noastre un aport considerabil au adus, sovieticii *Babadjanov, Cuzin, Davtean, Leikina, Podiapolscaia, Schultz* și *Sihobalova*.

Azi o serie de cercetători din țara noastră abordează probleme de imunologie antihelmintică: *Sorescu* și *Panaiteșcu* au publicat în 1958 date experimentale asupra reacției de micro-precipitare *Leikina* în ascarioză: *Lupașcu, Hacig* și *Solomon* au prezentat un amplu și documentat raport asupra diagnosticului imunologic în helmintoze și *Panaiteșcu* un referat asupra diagnosticului de laborator al ludatidozei umane, la Simpozionul de helmintologie din Iași, în 1959, iar *Strejan* a publicat o trecere în revistă a datelor de imunobiologie a helmintozelor.

Cu toate acestea, și mai ales pentru că în Institutul Cantacuzino și în alte laboratoare din țară sînt în curs cercetări aparținînd acestui domeniu, am crezut că o confruntare a punctelor noastre de vedere rezultate din experiența originală sau străină de pînă acum, ar putea contribui la jalonarea obiectivelor de investigație.

Problemele de imunitate în helmintoze au fost studiate sub trei aspecte: cel teoretic — al mecanismelor patogenetice —, cel tehnic — al imuno-diagnosticului — și cel practic al vaccinului — sau sero — profilaxiei helmintozelor. Expunerea noastră atinge doar cîteva probleme legate de primele două aspecte menționate.

Trebuie să admitem ca indiscutabil faptul că helmintii, indiferent de tipul, de stadiul lor evolutiv sau de localizare, manifestă calități antigenice, și în funcție de reactivitatea gazdelor, determină constant la acestea manifestări alergice-imunologice. Intensitatea, durata și particularitățile acestor reacții sînt însă variabile și condiționate de tipul helmintului (adică de posibilitățile sale antigenice), de sediul său (adică de durata și intensitatea contactului său cu mediul intern al gazdei), și în sfîrșit, de intensitatea și frecvența reinfestărilor. Varietatea modalităților și grade de manifestare ale imunității antihelmintice au fost expuse în sistematizările lui *Davtean* și *Schultz* (1949), sau ale lui *Podiapolscaia* și *Capsutin* în (1958), peste ale căror detalii trecem, întrucît ele sînt cunoscute și unanim acceptate.

Mecanismul de constituire al imunității antihelmintice este analog celui de origine bacteriană. Această analogie a dus la acceptarea punctului de vedere al unor imunologi, conform căruia mobilizarea sistemului reticulo-histiocitar fix și a macrofașelor, apariția celulelor plasmoidiale, aglomerările eozinofile și hiperplazia conjunctivă din jurul helmintilor pătrunși în țesuturi ar constitui fenomene de „imunitate celulară” (*Strejan*).

Studii de mai mulți ani, efectuate de noi în direcția reactivității tisulare a diferitelor animale de laborator față de invazia larvelor de *Ascariis*, ne-au arătat în mod neîndoios că toate manifestările celulare menționate (care filogenetic se situează de altfel pe o treaptă de reactivitate inferioară adevăratelor fenomene imunologice), se produc în lipsa oricărui contact prealabil cu agentul declanșator (deci fără sensibilizare), diminuează în intensitate în loc să crească în cursul contactelor repetate și îmbracă un caracter inflamator comparabil reacției granulomatoase „de corp străin”. Chiar eozinocitoza locală ce se instalează în jurul helmintilor intratisulari, de la prima invazie, după ce a fost mult timp considerată de histopatologi ca o manifestare indubitabil alergică, apare azi datorită unei acțiuni direct eozinocitice a parazitului și fără nici o contingență cu alergia.

Toate aceste manifestări tisulare din helmintoze, pot fi socotite ca fenomene imunologice numai în accepția pe care o dă *Moscovschi* reactivității imunologice, ca „totalitate a proprietăților macro-organismului (gazdei) care determină interdependența lui cu parazitul dat, cu microbii patogeni, și în sens mai larg chiar cu antigeni care nu mai sînt vii... deci cu totalitatea proprietăților pe care le-a avut încă înaintea întâlnirii, sau care s-au dezvoltat în timpul conviețuirii cu agentul”... (citat după *Podiapolscaia* și *Capustin*).

Se admite că organismele bacteriene constituie adevărate mozaicuri antigenice. Această observație este cu mult mai valabilă pentru paraziții metazoari ca helmintii. Diversarele țesuturi ale helmintilor (*Canning*, 1929), produșii de excreție sau de secreție (*Vanni* 1938, *Macheboeuf* și *Mandoul* 1939), și chiar stadiile evolutive diferite (*Leikin* 1956, *Newsome* 1958 etc.), pot fi sediul elaborării unor variate substanțe antigenice cu urmări a particularităților metabolice. De asemenea molecule proteice sau complexe lipo-oligo-proteice ce apar în unele faze ale dezintegrării unor helmintii, sau ca urmare a extracției chimice, pot avea rol sensibilizant sau toxic (*Vinifki*, 1935 și alții). Toate aceste substanțe antigenice sînt departe de a fi pe deplin studiate. Se presupune însă că doar cîteva antigene, încă aproape necunoscute, pot provoca imunitate (de protecție); celelalte duc la elaborarea de precipitine (*Campbell*, 1939) sînt antigeni *Forssman* (*Olivier*, *Gonzales* 1953, *Soulsby* 1958), sau haptene (*Fust* și *Gurtner* 1949). Acestea din urmă, în combinație cu proteine provenite din țesuturile lezate ale gazdelor par să determine unele fenomene alergice, nespecifice, uneori de tip întîrziat, analoge celor semnalate de *Charpy* în 1957. Chiar atunci nu sînt capabile să producă imunitate (de protecție), aceste antigene trebuie studiate pentru a putea aprecia aportul lor în modificările de reactivitate ale gazdelor, sau pentru utilizare în scop diagnostic. Interesul față de astfel de cercetări poate fi ilustrat de evoluția cunoștințelor de imunobiologie a echinococozii. Multă vreme, în echinococoză nu s-a putut stabili o concordanță între rezultatele precoce și tardiv pozitive ale intradermo-reacției Casoni pe de o parte, și între aceste reacții și cea de deviere a complementului, a lui *Weinberg* și *Pirvu* pe de altă parte. Studiul aprofundat al structurii antigenice a lichidului hidatic a lămurit această problemă. *Thiodet* și *Lemaire* prin ultrafiltrare, *Perez-Fontana* și *Scarlatrini* prin congelări repetate, au separat din lichidul hidatic două fracții diferite: una polizaharidică, ultrafiltrabilă, alergizantă, a cărei difuziune constantă în organism e decelabilă la 90% din purtătorii de echinococ prin reacția Casoni precoce; alta protidică, macromoleculară, nefiltrabilă și anaflactizantă, care difuzînd doar în cazuri particulare, e responsabilă de pozitivitatea reacțiilor *Weinberg*—*Pirvu* și Casoni tardivă, la un număr restrîns de purtători.

Din cele expuse pînă aici rezultă că structura antigenică a helmintilor este extrem de complexă, dar și variabilă în același timp. În decursul invaziei cu o specie determinată de helminț, pe lîngă faptul că asupra gazdei acționează simultan sau izolat numeroși factori cu calități antigenice diverse, influențînd contextul ei reactiv, trebuie avut în vedere în același timp că însăși această structură antigenică se modifică în funcție de stadiul evolutiv al parazitului. Pe de altă parte, imunitatea contactului helmințului cu mediul intern nu este aceeași în decursul tuturor stadiilor.

Un prim grup de helminți, constituit din trematozi, stadiile larvare ale unor cestozii și unii nematozi ca *Trichinella spiralis* sau filariile determină prin parazitismul lor permanent intratisular manifestări imunologice nete. Necesități practice au făcut ca imunodiagnosticul lor să fie bine studiat. Fără a intra în detalii, vom aminti cîteva date:

Travinski (1937) a studiat reacția de precipitare în distomatoză și a apreciat-o ca sensibilă și specifică. În schistosomatoză *Fairley* (1925) a obținut 88% rezultate pozitive utilizând reacția de deviere a complementului în care antigenul era un extract alcoolic din licat de moluște inlestate cu cercari de *Schistosoma mansoni*. *Bratigny* aprecia ca foarte utilă această reacție încă în 1934. *Oliver-Gonzales*, apoi *Newsome* (1958), experimentând reacții de precipitare în schistosomatoză, cu antigeni extrași din ouă de *S. mansoni* și *S. japonicum*, se declară nesatisfăcuți de specificitatea lor și înclină pentru reacția de deviere a complementului.

În filarioză, *Stefjanopulo* (1951), studiază intradermo-reacția și reacția de deviere a complementului, apreciind că pozitivitatea lor justifică instituirea tratamentului anti-parazitar.

Reacția de deviere a complementului a fost recomandată de *Bobrov* în cisticercoză și în general, se pare că în localizările intratisulare (care dau un mare titru de anticorpi), reacția de deviere a complementului, specifică și simplă ca execuție este de preferat.

Helminții care după o fază de transit sanguin și visceral au o localizare intestinală (ascariidul, *Strongyloides stercoralis*, *ankylostoma*), declanșează manifestări imunologice mai complexe.

În cazul ascariidozei, de exemplu, contactul cel mai strins între vierme și gazdă se realizează în decursul ciclului preenteric, când ca urmare a sensibilizării față de antigenii larvari, începând cu ziua 8—10-a, animalele de experiență elaborează precipitine, care însă după trei luni dispar (*Leikina, Sorescu și Panaitescu*). În faza de parazitism intestinal cu viermi adulți, sensibilizarea gazdei se face față de alte substanțe antigenice, complete, față de haptene sau antigeni Forssman. Contextul imunologic este altul. Precipitinele antilarvare sînt dispărute (reacția de microprecipitare *Leikina* se negaivează), în schimb, în unele cazuri se pozitivază reacția de deviere a complementului față de antigenul polizaharidic *Babadjanov*, care însă nu are dect o specificitate de grup. Se pot uocosi reacții de precipitare (ringtestul lui *Fust și Gurtner* 1949) față de extractele totale sau față de extractele albuminoide. Extractele lipidice din ascariizi se comportă ca antigeni parțiali, sau semihapteni.

În colaborare cu *Vaida și Gross* noi am studiat comparativ între anii 1949 și 1952 teste cutanate, de precipitare și de deviere a complementului, cu antigen *Babadjanov*. Am utilizat de asemenea ca antigen pentru reacțiile de precipitare și de deviere a complementului un extract total apos din ascariizi proaspeți. Antigenul *Babadjanov* nu s-a prețat pentru utilizare ca test cutanat precum a semnalat autorul însuși în schimb a dovedit sensibilitate pentru reacția de deviere a complementului, dar nu și specificitate.

Extractul total apos, deși ușor de obținut, prezintă în schimb dezavantaje mai prin faptul că se alterează rapid și variază calitativ de la un eșantion de preparare la altul.

În realitate nici unul din antigenii studiați pînă în prezent în ascarioză nu a dat rezultate pe deplin satisfăcătoare; și dacă studiul aprofundat al diverselor fracțiuni apare necesar din punct de vedere experimental, pare în schimb foarte probabil că imuno-diagnosticul poate fi servit mai mult de cercetarea unor grupuri antigenice complexe, a căror moleculă gluco-proteică, puțin alterată de procedeele biochimice de extracție, să fie cât mai apropiată de structuralitatea naturală a stadiului parazit ar căutat. Studii electrooretice și cromatografice începute de cîva timp ar putea aduce contribuții substanțiale în acest sens.

Sub raport tehnic, în laza intestinală a ascariidozei se pare ca reacțiile de precipitare sau de floclurare sînt de preferat celei de deviere a complementului. Această din urmă pe lingă faptul că nu apare suficient de specifică (în stadiul actual de cunoștință se pot obține doar reacții de grup), nu este nici suficient de sensibilă la titrul scăzut de anticorpi ce caracterizează parazitismul intestinal. Reacția de precipitare în schimb, pe lingă avantajul unei mari specificități mai otrea și altice: pune în evidență precipitine la un titru foarte scăzut, se pretează la studiul haptenelor și în tehnica precipitării n gel, permite studiul amestecurilor complexe de antigene.

O mențiune specială merită reacția de aglutinare cu antigen hofilizat, adsorbit pe emulsie de colodion, propusă de *Coudert și Coly* (1956). Această reacție, sensibilă, de mare specificitate, prezintă o dificultate în prepararea emulsiei cu particule de colodiu de 4—5 microni. Mai simplă ca execuție pare reacția de aglutinare cu antigen polizaharidic adsorbit pe particule de carmin (*Leikina* 1956).

Reacția de hemaglutinare pasivă (*Soulsby* 1956), pare de asemenea să ofere perspective interesante în studiul acestui grup de helminți.

Helminții cu localizare strict intestinală ridică mai puține probleme de diagnostic. Probabil de aceea aspectele de imunobiologie legate de imuno-diagnostic au fost mai puțin studiate în cazul lor.

În oxiuroză și tricocefaloză, ca și în scaridoză de altfel, un mare interes pot prezenta testele cutanate, dar sensul care trebuie acordat acestora nu este atât cel al diagnosticării parazitismului, cât cel de punere în evidență a „intoleranței” gazdei. În cazuri de parazitism moderat, decelat prin coproscopie, reacția cutanată alergică pozitivă față de alergenul verminos permite interpretarea unor manifestări clinice delicate. Devine posibilă diferențierea cazurilor de parazitism manifest de cele de parazitism „tolerat”.

În concluzie :

Pentru orientarea ulterioară a cercetărilor de imunobiologie în helmintoze și mai ales, a celor de imuno-diagnostic, se impune în primul rând o verificare critică și experimentală a datelor deja existente, pentru a putea trece la cercetări sistematizate cu metodele optime, pe un număr concludent de cazuri. O astfel de selecție a metodelor ar putea asigura într-un viitor nu prea îndepărtat, trecerea de la cercetarea experimentală la utilizarea largă a imuno-diagnosticului helmintozelor în practica medicală și veterinară.

Sosit la redacție : 25 iunie 1960.

Bibliografie

1. BRATIGNY J. — Contribution à l'étude de Bilharzioses. Teza. Viter 1934.
2. CANNING G. A. — Am. J. Hyg. 1929 vol. 9, p. 107; 3. CUZIN M., BABDJANOV S. N., POLIACOVA O. — Biochimia nr. 1. 1949. p. 65; 4. COUDERT J., COLY M. — Ann. Par. Hum. Comp. 1956, nr. 5/6; 5. COUDERT J. — Sem. Hop. Paris (Path. Biol.) 1957, t. 33; 6. CHARPY J. — Sem. Hop. Paris (Path. Biol.) 1957, t. 33; 7. DAHNOVICI V., BORNUZ M. — Ses. Șt. I.M.F. Cluj 1957. Volum de autoreferate, ed. I.M.F. Cluj 1957 p. 92; 8. DAHNOVICI V., BORNUZ M. — Articole și lucrări științifice 1957. Ed. I.M.F. Cluj, p. 123; 9. DAHNOVICI V., BORNUZ M. — Articole și lucrări științifice 1959. Ed. I.M.F. Cluj, p. 93; 10. Encyclopédie Médico-Chirurgicale, vol. II. Maladies Infectieuses; 11. FUST B., GURTNER H. — Berichte über die allgemeine und spezielle Path. vol. I, nr. 5/7 p. 258. 1949; 12. LEIKINA E. S. — Med. Par. (Moscova) nr. 2. 1956; 13. LAVIER G. — Le sang. 1957, nr. 5. p. 468; 14. LUPĂȘCU, HACIG, SOLOMON — Simpozionul de helmintologie Iași 1959; 15. MACHEBOEUF M., MANDOU L., C. R. Soc. Biol. t. 132. 1939. p. 124; 16. MAHON JUNE — Nature 1958, nr. 4607, p. 464; 17. NEWSOME J. — Am. trop. med. par. 1958, t. 52, p. 82; 18. OLIVER — GONZALES—RICE Inst. Pamphl. 1958 vol. 45, nr. 1 p. 141; 19. PANAITESCU D. — Simpozionul de helmintologie Iași 1959; 20. PODIAPOLSCAIA V. P., KAPUSTIN V. T. — Helmintozele omului, Medghiz, 1958; 21. SIHOBALOVA N. P. — Izd. An. SSSR. Moscova. 1950; 22. SORESCU, A. PANAITESCU D. — Arch. Roum. de Path. Exp. t. 17, nr. 3. 1958; 23. STREJAN G. — Microb. Parazit. Epid. nr. 6. 1958, p. 509; 24. SOULSBY E. J. L. — J. Coep. Path. 1958 t. 18, p. 380; 25. SOULSBY E. J. L. — J. Helm. 1956, nr. 2/3, p. 129; 26. STEFANOPULO J., PAYET M. — Gaz. Med. France 1938; v. 45, nr. 6, p. 319; 27. SCHULTZ R. — Bull. Off. Intern. Epizooties. 1958, vol. 49, nr. 11—12, p. 265; 28. THIODET J. — Algérie Médicale. 1955. v. 59, nr. 3, p. 151; 29. TRAVINSKI H. — Zentralblatt f. Bact. 1937, vol. I, 139, p. 90; 30. VANNI V. — C. R. Soc. Biol. t. 129. 1938, p. 1052; 31. ZILBER L. A. — Bazele imunologiei. Ed. Med. 1959.