

Afrikansk sömnsjuka och den sjukdomsalstrande parasiten

Johan Frankelius

Populärvetenskaplig sammanfattning av Självständigt arbete i biologi 2014

Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Afrikansk sömnsjuka eller human afrikansk trypanosomiasis (HAT) är en inhemsk parasit-sjukdom som förekommer i spridda områden i Afrika söder om Sahara. Totalt miljoner människor lever i dessa riskområden. Den sprids genombett från tsetseflugor av släktet Glossina, smittoöverföraren av det sjukdomsalstrande gisseldjuret Trypanosoma brucei. Trypanosomer av arten T. brucei överförs via tsetseflugan till människor främst från vilda djur eller boskap och från andra människor. De lever och förökar sig utanför cellerna i blodet, lymfan, vävnadsvätskan och, i ett senare skede av HAT, i ryggmärgsvätskan hos människan. T. brucei delas upp i tre till formen identiska underarter, varav T.b. gambiense och T.b. rhodesiense infekterar människor. Den förra finns i västra och centrala Afrika och orsakar västafrikansk HAT, den senare i östra och södra Afrika och orsakar östafrikansk HAT. Infektion med dessa två har dödlig utgång om inte den infekterade får behandling. Att sjukdomen är svår att få kontroll över beror till stor del på att trypanosomerna i blodet ständigt ändrar molekylstrukturerna på sina cellmembraner och därigenom hindrar människan från att utveckla immunitet. Denna egenskap hos parasiten är orsaken till att man inte har lyckats utveckla ett effektivt vaccin mot HAT.

Sjukdomsbilden

Kännetecknande för afrikansk sömnsjuka (HAT) är att sjukdomen delas upp i två urskiljbara stadier. Det hemolymfatiska stadiet är det första där trypanosomerna uppehåller sig i blodet och lymfsystemet, medan det meningoencefaliska stadiet är det andra där parasiterna har passerat blod-hjärnbarriären och spritt sig i det centrala nervsystemet (CNS). Det första stadiet föregås av lokala symtom som ger sig till känna några dagar efter tsetseflugans bitt. Vid bittstället kan ett smärtsamt skarpt avgränsat och förhårdnat sår uppkomma. Det åtföljs vanligen av en regional lymfkörtelförstoring. Ett av de vanligaste symtomen vid första stadiet av HAT är kronisk och periodiskt återkommande feber. Febertopparna uppkommer i samband med att parasiterna förökar sig i blodet. För västafrikansk HAT inträder det andra stadiet av sjukdomen efter ett antal månader, för östafrikansk HAT endast efter ett antal veckor. Det andra stadiet resulterar i kronisk hjärnsjukdom, kännetecknad bl.a. av sömnrubbingar och neurologiska och psykiatriska störningar.

Tsetseflugan, parasiten och människan

T. brucei genomgår en komplicerad livscykel i insektsvektorn (tsetseflugan) och däggdjursvärden (människan), där flera utvecklingsstadier av parasiten kan urskiljas. Tre av dessa trypanosomformer förökar sig genom tudelning: den långa smala trypomastigoten som finns i blodet hos människan, samt den procykliska trypomastigoten och epimastigoten som båda finns inuti tsetseflugan. Tre utvecklingsformer av parasiten fortplantar sig inte: den meso-

cykliska trypomastigoten och den metacykliska trypomastigoten som båda finns inuti tsetseflugan, samt den korta trubbiga trypomastigoten som finns i blodet hos människan. Den metacykliska formen är det sista utvecklingsstadiet i tsetseflugan och är den form som infekterar människan, medan den korta trubbiga formen är det sista utvecklingsstadiet i människan och är den form som infekterar tsetseflugan.

Tsetseflugan infekteras av blodtrypomastigoter när den suger blod från en smittad människa. Det infekterade blodet förs till tsetseflugans mittarm, där parasiten omvandlas till den procykliska formen. I en annan del av tsetseflugans mage omvandlas denna form till mesocykliska trypomastigoter. Dessa fortsätter därefter att förflytta sig till tsetseflugans spottkörtlar samtidigt som de omvandlas till epimastigoter. I spottkörtlarna omvandlas dessa i sin tur till metacykliska trypomastigoter. När tsetseflugan sedan biter en människa överförs dessa infektiösa trypomastigoter via tsetseflugans saliv till lymfan, varifrån de tar sig in i blodet, där de omvandlas till långa smala trypomastigoter. Därefter sprider sig dessa först åter till lymfan och till interstitialvätskan, och i ett senare skede av infektionen till CNS. Den långa smala formen omvandlas så småningom till den korta trubbiga formen, vilken har kapacitet att infektera en ny tsetsefluga.

Antigenisk variation

När trypanosomer uppehåller sig i blodet är de hela tiden i kontakt med immunsystemet och de använder därför olika strategier för att undslippa den immunologiska responsen, däribland antigenisk variation. Antigenisk variation innebär att trypanosomerna i blodet ändrar en viss typ av glykoprotein, ett s.k. VSG (eng. *variant surface glycoprotein*), som finns på cellytan, till en annan, vars struktur skiljer sig från den förra. Ett VSG agerar som ett antigen, dvs. inducerar bildandet av antikroppar. Periodisk antigenisk variation förekommer endast hos den långa smala reproducerande trypomastigoten. Cirka tio miljoner identiska VSG-molekyler uttrycks på blodtrypomastigoternas cellyta, som därigenom täcks av ett homogent glykoproteinlager.

Det afrikanska trypanosomgenomet innehåller mer än 1 500 olika VSG-gener, av vilka en stor del är s.k. pseudogener, dvs. icke-funktionella gener. Hos blodformparasiten (den långa smala trypomastigoten) är det dock endast en VSG-gen i taget som transkriberas från en av många expressionssäten (se nedan). Vidare uttrycker en population blodformparasiter i sin helhet endast en VSG-typ.

VSG-molekyler aktiverar effektivt immunsystemet, vilket gör att en adaptiv immunologisk respons riktad mot ett visst VSG avdödar de trypanosomer som uttrycker just detta VSG. Vid varje celldelning finns dock möjligheten att en dottercell kommer att uttrycka ett annat VSG än det som modercellen uttrycker. Detta nya VSG (VSG^b) kommer emellertid inte att kännas igen av de antikroppar som genererades som svar på det tidigare uttryckta VSG:t (VSG^a). Att utveckla en immunologisk respons på ett visst VSG tar flera dagar och under den tiden hinner de trypanosomer som genomgick VSG-skifte (från VSG^a till VSG^b) snabbt att reproducera sig och en fraktion av dem genomgå ännu ett VSG-skifte (från VSG^b till VSG^c) innan im-

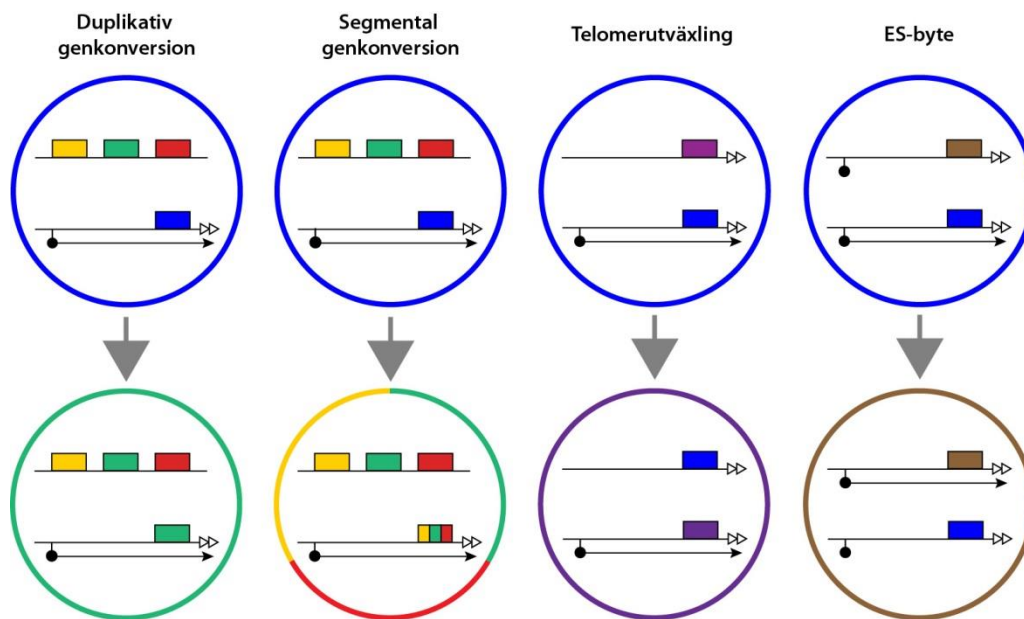
munsystemet hunnit upptäcka den andra generationens VSG (VSG^b). Upprepning av denna cykel gör ett utsläckande av den infekterande trypanosompopulationen omöjlig och möjliggör istället kronisk förekomst av parasiter i extracellulärvätskan (vätskan som omger cellerna i kroppen) hos däggdjursvärden. Resultatet av denna process är på varandra följande vågor av trypanosomer i blodet.

T. brucei nukleära genom uppskattas innehålla omkring 100 kromosomer: 11 par megakromosomer och ett obestämt antal intermediära kromosomer och minikromosomer. De cirka 1 500 icke-uttryckta (tysta) VSG-generna och VSG-pseudogenerna är utspridda bland de tre olika kromosomtyperna, medan de VSG-gener som uttrycks alltid är belägna intill vissa av megabas- och intermediärkromosomernas telomerer (kromosomändar) i s.k. expressionssäten (ES). Antalet blodforms-ES i *T. brucei* genom har inte fastlagts, men kan uppgå till omkring 20. Ett ES består av de DNA-sekvenser som sträcker sig mellan VSG-promotorn och telomerrepetitionsskvenserna: en VSG-gen intill telomeren, ett antal s.k. ES-associerade gener (ESAG) och en serie av 70 bp (baspar)-upprepningssekvenser uppströms från VSG-genen. Antalet olika ESAG i ett ES är vanligen mellan fem och tio, där vissa av dem är pseudo-ESAG. ES:t föregås vanligen av en 10–40 kb lång serie av 50 bp-upprepningssekvenser.



En schematisk illustration av ett expressionssäte (ES) hos blodformen av *T. brucei*. Promotorn i ena änden av kromosomen, som representeras av den horisontella linjen, indikeras med en liten ifylld cirkel. Telomerupprepningssekvenserna illustreras med två små trianglar. ES:t består av ett flertal olika ESAG (ES-associerade gener), här illustrerade med ofärgade rektanglar, samt en VSG-gen (blå rektangel) intill telomeren. Vissa ESAG är pseudogener, vilka illustreras med Ψ (psi). Karakteristiska upprepningssekvenser uppströms från promotorn (50 bp-upprepningar) och uppströms från VSG-genen (70 bp-upprepningar) illustreras med lodrätt streckade rektanglar. Transkriptionen indikeras med en pil, som utgår från promotorn. (Omarbetad efter Rudenko & Taylor 2006.)

Det finns flera olika mekanismer för hur *T. brucei* byter sitt aktiva VSG mot ett annat. Duplikativ genkonversion, segmental genkonversion och telomerutväxling är mekanismer som baseras på s.k. homolog rekombination, medan ES-byte baseras på transkriptionsreglering. Vid duplikativ genkonversion kopieras en tyst VSG-gen från ett kluster av VSG-gener och förs in i det aktiva ES:et, medan den föregående VSG-genen däri avlägsnas. Segmental genkonversion är en snarlik process, med den skillnaden att segment från flera VSG-gener – inte sällan pseudo-VSG-gener – kopieras och infogas i ES:et, som då kommer att innehålla en aktiv mosaik-VSG-gen. Segmenten från olika VSG-gener kan kombineras på många olika sätt. Det gör det möjligt för parasiten att generera en närmast oändlig mängd VSG-lagervarianter. Vid telomerutväxling sker ömsesidig rekombination mellan två telomerer och närliggande sekvenser. VSG-skifte kan också ske genom ES-byte, där det aktiva ES:et tystas ned samtidigt som ett annat ES aktiveras.



Mekanismer för VSG-sifte vid antigenisk variation hos *T. brucei*. I figuren visas sex olika VSG-gener representerade av sex rektanglar i olika färger (gul, grön, röd, blå, lila och brun). Cirklarna indikerar vilken VSG-gen som en blodformtrypanosom eller en blodformtrypanosompopulation uttrycker vid ett visst skede. Den VSG-gen som uttrycks före ett VSG-sifte illustreras med en blå rektangel och transkriberas från ett ES beläget intill telomeren. Pilarna mellan cirklarna representerar VSG-sifte. För ytterligare beskrivning av använda symboler, se den förra figuren. (Omarbetad efter Rudenko 2011 och Rudenko & Taylor 2006.)

Behandling

Vilken typ av behandling som sätts in mot HAT beror på vilket sjukdomsstadium patienten befinner sig i. Läkemedlen som används vid det första sjukdomsstadiet är mindre toxiska och enklare att ge än de som ges vid det andra stadiet, där läkemedlet måste ta sig igenom blod-hjärnbarriären för att kunna nå och ha verkan på parasiten. Ju tidigare sjukdomen upptäcks desto större är sannolikheten att patienten kommer att tillfriskna. Trypanosomdödande läkemedel kan fås kostnadsfritt från WHO. Vid behandling av det första stadiet av västafrikansk HAT och östafrikansk HAT ges pentamidin respektive suramin. De vanligaste biverkningarna av pentamidin är smärta som uppkommer efter injektion, lågt blodsocker (hypoglykemi) och lågt blodtryck (hypotoni). Allergiska reaktioner och problem relaterade till urinvägarna kan uppstå vid medicinering med suramin. Vid behandling av det andra stadiet av HAT används melarsopol och eflornitin. Eflornitin är dock verksamt endast mot västafrikansk HAT. Melarsopol innehåller arsenik och är förenat med många allvarliga biverkningar, t.ex. hjärnsjukdom (encefalopati), leversjukdom (hepatopati) och sjukdom i perifera nervsystemet (neuropati). Vidare har en ökad resistens mot melarsopol noterats hos parasiten från flera områden. Eflornitin är inte lika toxiskt som melarsopol, men behandlingen av patienter med läkemedlet är besvärlig att utföra. Eflornitin kan dock (sedan 2009) kombineras med nifurtimox, vilket förenklar behandlingen.

Experiment med trypanosomer odlade i laboratorium vid Umeå universitet har visat att acivicin, ett cellhämmande medel (cytostatikum) som kan genomtränga blod-hjärnbarriären, skulle kunna användas vid behandling av andra stadiet av HAT utan att läkemedlet får giftverkan på CNS. Acivicin verkar genom att hämma enzymet CTP-syntetas. CTP (cytidintrifosfat) behövs för bildningen av nukleinsyror och fosfolipider. Hämning av just detta enzym, med hjälp av acivicin, skulle därför kunna vara ett sätt att döda parasiten. En fördel med acivicin jämfört med melarsoprol och eflornitin är att läkemedlet kan ges i tablettform, vilket skulle göra behandlingen enklare att utföra än vid behandling med melarsoprol eller eflornitin.

Framtidsutsikt

Tack vare ökade insatser för att få HAT under kontroll har antalet nya rapporterade fall av sjukdomen de senaste åren minskat från 37 991 (år 2005) till 7 197 (år 2012). Det verkliga antalet fall uppskattas för närvarande till 30 000, från att ha uppskattats till 50 000–70 000 år 2005. Att det verkliga antalet årligen insjuknade i HAT är okänt beror på att majoriteten av de infekterade lever i områden där möjligheten att komma under läkarvård är liten eller obefintlig. Fortsatta ansträngningar samt nya tillvägagångssätt krävs dock för att HAT skall kunna anses vara eliminerad såsom ett allmänt hälsoproblem. För att nå dit behövs nya diagnostiska metoder, effektivare och säkrare läkemedel samt nya verktyg för vektorkontroll.

Vidare läsning

Frankelius, J. 2014. Human afrikansk trypanosomiasis (sömnssjuka) och *Trypanosoma brucei* – den patogena zooflagellaten. Självständigt arbete i biologi. Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet.