

JOANNA KOŁODZIEJCZYK

Instytut Biologii Doświadczalnej
im. M. Nenckiego PAN
Warszawa

MAKROFAGI — MIGRUJĄCE I FAGOCYTUJĄCE KOMÓRKI UKŁADU OBRONNEGO

Makrofagi, należące do białych ciałek krwi (leukocytów), stanowią istotną linię obrony organizmu, reagując aktywnie na czynniki naruszające jego homeostazę. Komórki te biorą udział u nieswoistych reakcjach odpornościowych. Mają one zdolność migracji i fagocytozy, tj. wchłaniania i trawienia ciał obcych, drobnoustrojów oraz uszkodzonych i martwych komórek. Makrofagi, podobnie jak wiele innych komórek systemu obronnego, powstają w szpiku kostnym. Ze szpiku uwalniane są do krwi cyrkulujące formy makrofagów, zwane monocytami. Komórki te pozostają w krwiobiegu przez krótki czas (do 48 godz.), po czym migrują do różnych tkanek organizmu. Zależnie od lokalizacji i pełnionych funkcji, makrofagi przybierają różne formy morfologiczne. W tkance łącznej występują więc makrofagi — histiocyty, w wątrobie — komórki Kupffera, w płucach — makrofagi alweolarne. Makrofagi gromadzą się też w węzłach limfatycznych.

WPROWADZENIE

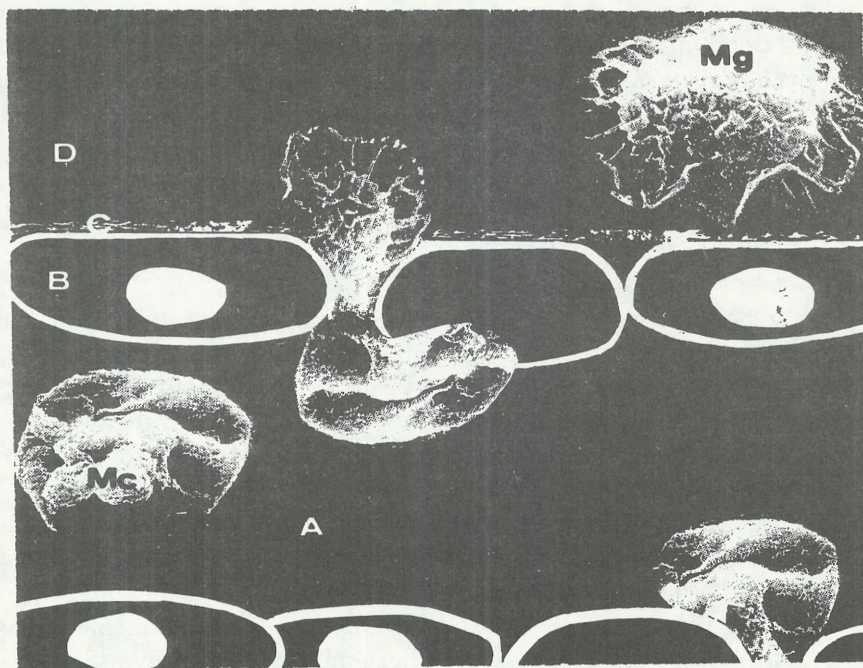
Wraz z pojawieniem się w organizmie czynnika inwazyjnego, makrofagi zaczynają migrować do miejsca infekcji. Migracja ich jest związana z występowaniem pozytywnej chemotaksji, wywoływanej przez substancje wydzielane w miejscu zapalnym. Chemotaksję leukocytów opisał po raz pierwszy L e b e r w roku 1888, obserwując ruchy tych komórek w podrażnionej rogówce królika (Mc C u t c h e o n 1946).

Chemotaksja odgrywa podstawową rolę nie tylko w kierowaniu makrofagów do miejsc zapalnych, ale i w zatrzymywaniu ich w tych rejonach. Czynniki powodujące przyciąganie i gromadzenie się makrofagów w obszarze zagrożonym mogą być różne, w zależności od tego, czy mamy do czynienia z infekcją bakteryjną, wirusową, urazem mechanicznym czy termicznym. Zasięg odpowiedzi na uszkodzenie lub zakażenie też jest różny i zależy od ogólnej kondycji organizmu, wieku, a także od rodzaju urazu lub czynnika inwazyjnego. Niezależnie jednak od tych różnic, przebieg samej odpowiedzi immunologicznej jest zawsze podobny. Inicjuje ją pojawienie się w miejscu zainfekowanym

substancji przyciągających makrofagi i inne leukocyty, uwalnianych bądź przez uszkodzone tkanki gospodarza, bądź przez organizmy obce. Oprócz substancji oddziałujących bezpośrednio i kierunkowo, do czynników chemotaktycznych należą też związki, które nie mając właściwości chemotaktycznych *per se*, indukują powstawanie atraktantów. Do takich substancji należą między innymi kompleksy antygen—przeciwciało, czy *gamma*-globuliny (Keller, Sorkin 1968; Mc Cutcheon 1946).

Oprócz przyciągania makrofagów do ognisk zapalnych, czynniki chemotaktyczne odgrywają też rolę w reakcjach komórek odpornościowych na przeszczepy, w chorobach alergicznych, w niektórych chorobach autoimmunologicznych (Keller, Sorkin 1968).

Najwcześniejszą, prawie natychmiastową odpowiedzią organizmu na uszkodzenie jest zwiększony napływ krwi do obszaru zapalnego. Naczynia krwionośne w tym rejonie stają się przepuszczalne dla białek, których rola polega również na indukowaniu lokomocji leukocytów. Po odebraniu bodźca komórki układu obronnego opuszczają naczynia krwionośne (ekstrawazacja) i przeciskając się między komórkami śródbłónka (diapedeza, rys. 1) przenikają do uszkodzonych tkanek (Keller, Sorkin 1968; Marchesi, Gowans 1964; Mc Cutcheon 1946). Początk-



Rys. 1. Schemat przedstawiający wydostawanie się makrofagów z naczyń krwionośnych (diapedeza). A — światło naczynia krwionośnego, B — komórki śródbłónka, C — błona podstawna, D — przestrzeń międzykomórkowa, Mc — monocyty unoszone prądem krwi, Mg — makrofag wędrujący w przestrzeni międzykomórkowej

kowo licznie przeważają leukocyty polimorfonuklearne, które szybciej reagują na obecność substancji chemotaktycznych, ale w miarę upływu czasu proporcje zmieniają się i wzrasta liczba makrofagów. Czas odpowiedzi chemotaktycznej makrofagów szacuje się na około 4–5 godz. (W a r d 1968). Procentowy wzrost ich ilości w późniejszych fazach walki z infekcją można tłumaczyć dłuższą przeżywalnością makrofagów, a także zachowaną przez nie zdolnością do podziałów poza szpikiem kostnym, w rejonie, w którym aktualnie działają.

Pozytywna chemotaksja makrofagów nie zawsze jest etapem walki z infekcją w organizmie, czasem jest ona istotnym czynnikiem w patogenezie pewnych chorób. Tak jest na przykład w przypadku stwardnienia tętnic, gdzie adhezja makrofagów do ścian naczyń krwionośnych w pierwszych etapach tej choroby zachodzi pod wpływem białkowego czynnika chemotaktycznego MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein — 1). Substancja ta wydzielana jest przez komórki mięśni gładkich naczyń, endotelium i prawdopodobnie przez limfocyty. MCP-1 odgrywa ważną rolę w migracji makrofagów do przestrzeni subendotelialnej i w ich adhezji do ścian naczyń krwionośnych, w których tworzą patologiczne złogi i uszkodzenia (Y l a - H e r t u a l a i in. 1991). Ten przykład patogenego działania migrujących makrofagów nie zmienia jednak faktu, że migracje tych komórek mają podstawowe znaczenie przede wszystkim w reakcjach obronnych organizmu.

Związana z chemotaksją migracja jest zawsze pierwszą odpowiedzią makrofagów na zagrożenie organizmu. Końcowym etapem w walce tych komórek z infekcją jest fagocytoza, tj. niszczenie obcych organizmów przez ich wchłonięcie i strawienie. Mechanizmy molekularne obu tych zjawisk są zbliżone.

LOKOMOCJA MAKROFAGÓW

GENEROWANIE SIŁY MOTORYCZNEJ

Większość makrofagów osiąga średnicę 30–40 μm (B e s s i s 1973). Makrofagi nieruchome mają okrągławy kształt i mało pofałdowaną błonę komórkową (I n g l o t 1987) (rys. 1 — Mc). Makrofagi migrujące mają błonę silnie pomarszczoną, tworzącą liczne hialinowe wypustki i rozległe, rozplaszczone lamellipodia (rys. 1 — Mf). Błona migrujących makrofagów jest ruchliwa, faluje, jedne fałdy zanikają, a na ich miejsce powstają nowe (B e s s i s 1973; H a r t w i g, S h e v l i n 1986; R o g e r s 1983). Szczególnie aktywne są pozbawione organelli, hialinowe obszary na obrzeżach komórki, definiowane przez niektórych badaczy jako korteks. Rejon ten pełni zasadniczą rolę w lokomocji makrofagów, w formowaniu różniących się kształtem i wielkością pseudopodiów, przejściowych struktur lokomotorycznych wytwarzanych podczas migracji i fagocytozy. Pojawianie się nowych pseudopodiów jest precyzyjnie skorelowane z wycofywaniem wcześniej utworzonych (S t o s s e l 1982). Makrofagi poruszają się z prędkością około 20 $\mu\text{m}/\text{min}$ (T r a c z y k, T r z e b s k i 1989).

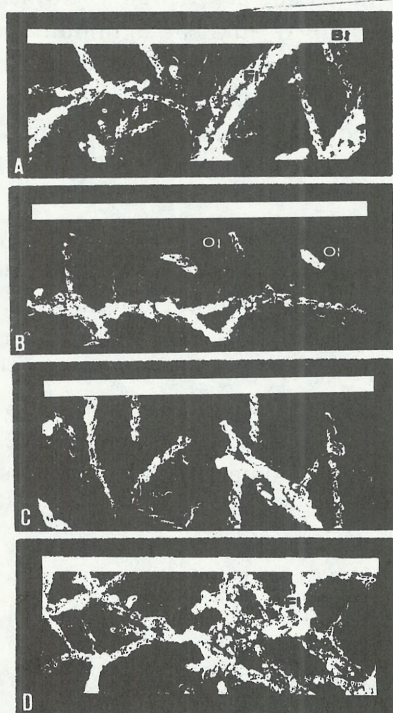
. Jedną z pierwszych teorii ruchu leukocytów (nie różnicowano jeszcze wtedy białych ciałek krwi) traktowała te komórki jako krople płynu, mające tendencję do przybierania sferycznego kształtu. Przemieszczanie ich uważano za pasywną reakcję cytoplazmy wynikłą z obniżenia napięcia powierzchniowego (McCutcheon 1946). Następnie przez długi czas uważano, że u podstaw ruchu makrofagów leżą przekształcenia kortykalnej cytoplazmy, która jako układ koloidalny może występować w postaci żelu lub ulegać solifikacji. Zżelowana cytoplazma umożliwiałaby wywieranie napięcia skurczowego o różnym nasileniu, generującego siłę motoryczną konieczną dla ruchu komórki (Lewis 1939).

Obecnie, gdy dysponujemy szeroką gamą metod badawczych, w tym mikroskopią elektronową i immunofluorescencją, możliwe stało się poznanie molekularnych podstaw ruchu makrofagów. Już pierwsze obserwacje w transmisyjnym mikroskopie elektronowym uwiarygodniły struktury cytoplazmatyczne znajdujące się pod błoną i z nią związane (Boyles, Bainton 1979). Okazało się, że kortykalna cytoplazma makrofagów zawiera gęstą, trójwymiarową sieć filamentów aktynowych i związanych z nimi białek (Rogers 1983; Yin, Hartwig 1988; Yin, Stossel 1980). Elementy sieci rozgałęziają się głównie pod kątem prostym (Hartwig, Shevlin 1986). Włókienka aktynowe są stosunkowo proste i sztywne (Nagashima, Asakura 1980), osiągają średnicę 4–10 nm i długość około 0,5 μm (Reaven, Axline 1973; Yin, Hartwig 1988). Stwierdzono, że aktyna pochodząca z makrofagów wiąże ciężką meromiozynę w sposób typowy dla filamentów aktynowych pochodzących z mięśni (Allison, Davies, De Petris 1971). Filamenty aktynowe stanowią ponad 95% ogólnej puli filamentów sieci kortykalnej w makrofagach (Yin, Hartwig 1988). Sieć ta nie jest jednak strukturą statyczną i trwałą. Struktury aktynowe są dynamiczne, mogą się rozpadać, przemieszczać i odtwarzać od nowa. W konsekwencji oprócz fibrylarnej F-aktyny, w cytoplazmie makrofagów występują też monomery G-aktyny. Przekształcenia aktyny, a więc polimeryzacja i depolimeryzacja tego białka leżą właśnie u podstaw ruchu makrofagów (Yin, Hartwig 1988).

Filamenty aktynowe w komórkach makrofagów mogą być uporządkowane w rozmaite współdziałające struktury, od anizotropowych równoległych wiązek (stress fibers), aż do izotropowych ortogonalnych sieci (Yin, Hartwig 1988). Organizacja wielobiałkowej struktury w cytoplazmie makrofagów regulowana jest w tych komórkach na kilku poziomach. Za utrzymanie ortogonalnej sieci filamentów aktynowych, bądź jej rozpad, a więc za zmienny stan cytoszkieletu, odpowiedzialne są między innymi białka wiążące aktynę (actin binding proteins). Dotychczas udało się zlokalizować i scharakteryzować wiele takich białek. W cytoplazmie makrofagów wykryto obecność dużej ilości profiliny (Di Nuble, Southwick 1985; Korn 1982; Yin, Hartwig 1988) i żel-soliny (Yin, Hartwig 1988; Yin, Stossel 1980), a także akumentynę (Southwick, Hartwig 1982). Profilina jest jednym z białek wiążących się z monomerami aktynowymi i przez to zmniejszających zdolność aktyny do

tworzenia filamentów. Żelsolina, skracająca filamente aktynowe, jest głównym białkiem regulującym przekształcenia żelu aktynowego w sol. Wykryta została po raz pierwszy w makrofagach z płuc królika (Yin, Stossel 1979). W cytoplazmie makrofagów żelsolina występuje w wysokich stężeniach (Yin, Hartwig 1988). Interakcje żelsoliny i aktyny w komórkach są złożone i uzależnione od wielu czynników.

Próba wyjaśnienia udziału żelsoliny w lokomocji makrofagów jest hipoteza opracowana przez Yin i Hartwiga (1988) (rys. 2). Według tej hipotezy w korykalnej cytoplazmie makrofagów spoczynkowych filamente aktynowe zorganizowane są w trójwymiarową sieć (rys. 2A), a żelsolina w postaci wolnej znajduje się w cytoplazmie. Stymulacja powoduje zmiany w niektórych fosfolipidach błony komórkowej. Ulegają one przekształceniom w inne związki, m.in. w trójfosforan inozytolu. Ten ostatni powoduje uwolnienie jonów wapnia z magazynów wewnątrzkomórkowych. Jony wapnia aktywują cząsteczki żelsoliny. Żelsolina łącząc się z filamentami aktynowymi fragmentuje je. Powstają



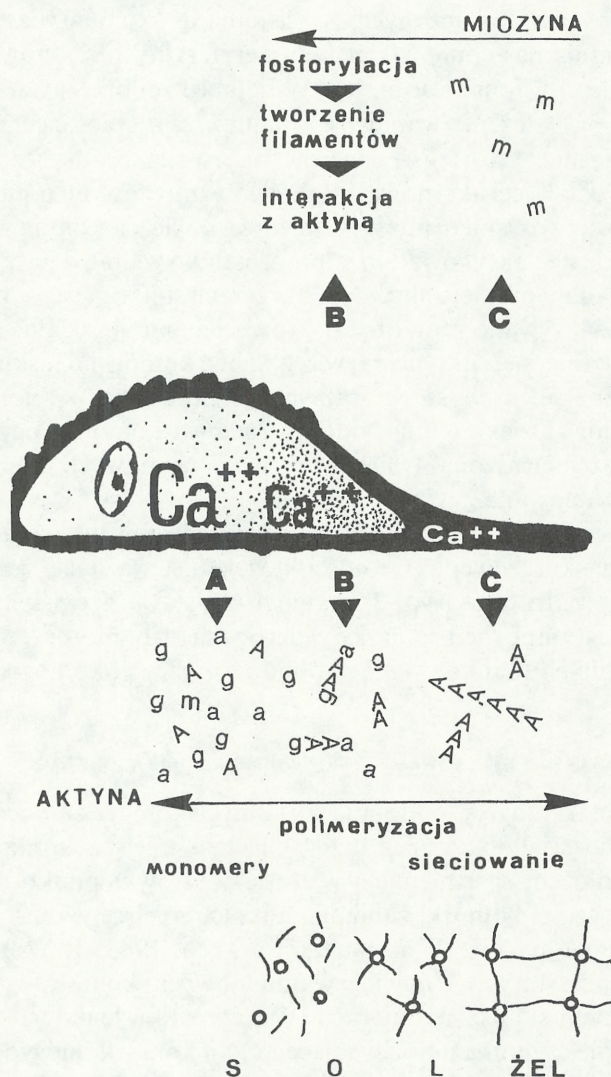
Rys. 2. Struktury aktynowe i ich związki z błoną podczas lokomocji makrofaga. A — trójwymiarowa sieć filamentów aktynowych połączona z błoną komórkową, B — częściowa depolimeryzacja aktyny — oligomery aktynowe swobodnie dyfundują w cytoplazmie, C — ponowne nawiązywanie łączności rosnących polimerów aktynowych z błoną, D — odbudowanie trójwymiarowej sieci filamentów połączonej z błoną, Bł — błona komórkowa, Ol — oligomery aktynowe, Fl — filamente aktynowe (wg Yin, Hartwig 1988)

liczne krótkie aktynowe oligomery, które mogą swobodnie dyfundować w cytoplazmie. Wskutek tych przemian zachodzi lokalne odrywanie cytoszkieletu aktynowego od błony komórkowej (rys. 2B), co prawdopodobnie jest początkiem powstania pseudopodium. Następnie wolny wapń cytosolowy jest ponownie gromadzony w wewnątrzkomórkowych magazynach, a oligomery aktynowe dyfundują w kierunku błony (rys. 2C). Następuje uwolnienie cząsteczek żelsoliny z oligomerów aktynowych, ponowna polimeryzacja aktyny i odtworzenie sieci filamentów (rys. 2D). Wielofunkcyjność żelsoliny i uzależnienie jej działania od obecności jonów wapnia sugeruje obecność funkcjonalnych i regulacyjnych domen w cząsteczce tego białka. Stwierdzono, że żelsolina zawiera co najmniej trzy miejsca wiążące aktynę (Yin, Hartwig 1988).

Odrywanie, a następnie odsuwanie filamentowej sieci aktynowej od błony frontu wysuwanego pseudopodium wiąże się bezpośrednio z kierunkową lokomocją ameboidalnych komórek. Zjawisko to uwidoczniło się po raz pierwszy w fibroblastach (H e a t h 1981, 1983). Stwierdzono, że rozwarstwienie korteksu i odsunięcie jego części filamentarnej zachodzi również w swobodnie żyjących amebach (G r ę b e c k i 1990). Wyniki badań immunofluorescencyjnych (K ł o p o c k a , S t o c k e m , G r ę b e c k i 1988) potwierdziły, że i w tym przypadku przemieszczająca się warstwa zbudowana jest z aktyny. Jest to jeszcze jedno potwierdzenie zgodności podstaw molekularnych zjawisk ruchowych w przemieszczających się ruchem ameboidalnym, swobodnie żyjących i tkankowych komórkach ruchliwych.

Białkiem, mającym również wpływ na stan aktyny w komórkach makrofagów jest akumentyna (S t o s s e l 1982). Białko to, wyizolowane po raz pierwszy z ludzkich leukocytów polimorfonuklearnych, występuje w makrofagach w bardzo wysokim stężeniu jednej cząsteczki na każde 5 monomerów aktynowych (S o u t h w i c k , H a r t w i g 1982; S t o s s e l 1982). Akumentyna również oddziałuje na długość filamentów aktynowych, choć jej zdolność wiązania się z nimi jest mniejsza, niż w przypadku żelsoliny. Różnice między akumentyną i żelsoliną pozwalają na współdziałanie obu tych białek w komórce i precyzyjną kontrolę długości filamentów aktyny (S o u t h w i c k , H a r t w i g 1982; S t o s s e l 1982).

Propozycje Yin i Hartwiga (1988) wyjaśniające biochemiczne podstawy ruchu makrofagów, wiążą się w pewnym stopniu z hipotezą opracowaną przez Stossela (1982). Autor ten przedstawił model zmian przestrzennej organizacji cytoplazmy kortykalnej podczas migracji makrofagów, zależnych od stężenia jonów wapnia w komórce. Poziom wolnego wapnia w cytoplazmie makrofagów jest zmienny. Jego fluktuacje kontroluje między innymi wapniowa pompa jonowa. Zmieniające się stężenie wapnia komórkowego reguluje strukturę sieci aktynowej, wpływając tym samym na zjawiska ruchowe. Według Stossela, komponenty sieci aktynowej, a więc aktyna, profilina, żelsolina i akumentyna są produkowane w tych obszarach komórki, gdzie poziom wolnego wapnia jest wysoki (rys. 3A). W wysokim stężeniu wapnia cząsteczki



Rys. 3. Schemat formowania cytoplazmy kortykalnej w komórce makrofaga (wg Stosela 1982). A, B, C (duże litery z grotami strzał) wskazują regiony komórki o różnych stężeniach Ca^{++} , A — region o stężeniu najwyższym, B — strefa przejściowa, C — obszar o najniższym stężeniu wolnego wapnia. Litery bez strzałek symbolizują pojedyncze cząsteczki białek: A — monomery aktynowe, a — akumentyna, g — żelsolina, m — miozyna

Opis rysunku: W regionie A (o najwyższym poziomie wapnia) syntetyzowane są monomery aktynowe (A), a także cząsteczki białek wiążących się z aktyną — akumentyna (a) wiąże się do „pointed”, a żelsolina (g) do „barbed” zakończeń oligomerów aktynowych. Oba te białka blokują polimerizację aktyny. W regionie B — o niższym poziomie wapnia, następuje odrywanie żelsoliny, a następnie akumentyny — rozpoczyna się budowanie filamentów aktynowych. Dalszym etapem, odbywającym się już w regionie C o najniższym poziomie Ca^{2+} — jest sieciowanie aktynowych polimerów i związana z tym żelifikacja cytoplazmy. Zmiany miozyny, również związane ze stężeniem Ca^{2+} (region C) idą w przeciwnym kierunku. Monomery miozyny występują w regionie o najniższym poziomie Ca^{2+} (region C). W regionie B o wyższym poziomie wapnia — następuje fosforylacja miozyny, która w tych warunkach tworzy biopolarne filamenti i reaguje z aktyną, generując siłę motoryczną i powodując przemieszczenie aktyny w komórce.

zelsoliny ulegają aktywacji. Tworzą się jednostki, zbudowane z krótkich filamentów aktynowych, połączonych z żelsoliną i akumentyną (ryc. 3B). Jednostki te dyfundują następnie w kierunku peryferyjnych rejonów komórki, gdzie poziom wolnego wapnia jest niższy. W najbardziej brzeźnych obszarach makrofagów (ryc. 3C) stężenie wapnia jest najniższe, a spłot sieci aktynowej najsilniejszy. Tu właśnie, w korteksie generowana jest siła motoryczna i formują się pseudopodia. Udział sieci aktynowej w lokalizowaniu nowych pseudopodiów nie zawsze wiąże się z tworzeniem lub zrywaniem jej połączeń z błoną. *S t o s s e l* sugeruje, że rosnąca sieć aktynowa może po prostu wywierać nacisk na błonę, pchając ją w pożądanym kierunku. Na obrzeżach migrującego makrofaga zachodzi zjawisko, nazywane „tug-of-war” (przeciąganie liny). Polega ono na formowaniu kortykałnej sieci aktynowej w regionach komórki o niskim stężeniu wapnia, z udziałem elementów strukturalnych pochodzących z rejonów o wyższym jego stężeniu. Dzięki temu podczas ruchów komórki ogólna masa korteksu pozostaje nienaruszona. Dlatego też tworzenie nowych pseudopodiów jest precyzyjnie skorelowane z wycofywaniem starych.

Obecność cząsteczek miozyny w kortykałnej cytoplazmie makrofagów wiąże się z jej udziałem w skurczowej aktywności korteksu. Uważa się, że interakcja aktyny z miozyną (patrz opis ryc. 3) stanowi podstawę zjawisk ruchowych w makrofagach i jest odpowiedzialna za generowanie siły motorycznej w tych i innych ameboidalnych tkankowych i swobodnie żyjących komórkach.

ADHEZJA — RECEPTORY POWIERZCHNIOWE W MIGRACJI I FAGOCYTOZIE

Dla lokomocji makrofagów, podobnie jak i innych komórek ameboidalnych, konieczna jest adhezja. Połączone z cytoszkieletem miejsca kontaktu błony komórkowej z podłożem są zmienne. W czasie wędrówki punkty przyczepu w środkowo-tylnej części komórki zanikają, a na ich miejsce w części wiodącej pojawiają się nowe (*A m a t o*, *U n a n u e*, *T a y l o r* 1983; *R o g e r s* 1983). Łatwość w zrywaniu starych i nawiązywaniu nowych kontaktów jest podstawowym warunkiem skutecznej migracji. W przypadku leukocytów adhezja pełni dodatkowo rolę czynnika umożliwiającego tym komórkom wydostanie się ze strumienia krwi, w którym są one biernie unoszone. Aby leukocyty (makrofagi) mogły wędrować ku ognisku zapalnemu, muszą one najpierw zatrzymać się i przylgnąć do komórek śródbłónki w pobliżu celu wędrówki. Zatrzymywanie się i skupianie leukocytów przy ścianach naczynia nosi nazwę marginacji. Marginacja, a potem diapedeza odbywa się z pomocą adhezyjnych glikoproteinowych receptorów znajdujących się bądź na powierzchni leukocytów, (LAM-1, CD 11 a, b, c), bądź na powierzchni komórek endotelialnych (GMP 140, CD 62, ELAM-1). Większość wymienionych wyżej receptorów należy do grupy selektyn. Selektyny, zwane inaczej receptorami lektynowymi lub lektynopodobnymi, mają homologiczne do lektynowych domeny końcowe NH_2 . Pozwala im to wiązać się z odpowiednimi ligandami innych komórek. Typowym

przedstawicielem tej rodziny receptorów jest GMP-140 (granule-membrane-protein 140). W wyniku stymulacji komórek endotelialnych histaminą, białkiem uwalnianym w obszarze zapalnym, GMP-140 jest zwalniany z wewnętrzkomórkowych granul sekrecyjnych (ciałek Weibel-Palade'a), przenoszony ku peryferiom komórki i wbudowywany w jej błonę. Obecność tego receptora na powierzchni komórek endotelialnych jest ograniczona w czasie (*in vitro* około 30 min), a następnie ulega on internalizacji na drodze endocytozy. Pojawienie się selektyn takich jak GMP-140, czy ELAM-1 (endothelial-leukocyt adhesion molecule — 1) na powierzchni aktywowanych komórek endotelialnych pozwala na zlokalizowaną adhezję monocytów do ścian naczynia krwionośnego w pobliżu ogniska zapalnego.

Diapedeza stanowi następny etap wędrówki monocytów. Tym razem decydującą rolę odgrywają receptory z grupy integryn (dokładnie integryny CD 11/CD 18, znajdujące się na powierzchni leukocytów. Są one wbudowywane do błony leukocyta dopiero po jego stymulacji przez komórki endotelialne. Według innego przypuszczenia, receptory te znajdują się na błonie leukocyta zawsze, lecz w postaci nieczynnej, a stymulacja powoduje w nich takie zmiany konformacyjne, które decydują o ich aktywności. I wreszcie bierze się pod uwagę możliwość, że w wyniku stymulacji następują na powierzchni komórki przegrupowania tych receptorów.

Znakomitym przykładem ilustrującym zależność lokomocji (i fagocytozy) od receptorów powierzchniowych związanych z adhezją komórek są konsekwencje defektu występującego właśnie w receptorze CD 11/CD 18. Rezultatem tego defektu jest syndrom noszący nazwę LAD (leukocyte adhesion deficiency). Ludzie cierpiący na to schorzenie zapadają na nawracające, zagrażające życiu infekcje bakteryjne lub grzybicze, gram-dodatnie i gram-ujemne. U pacjentów, u których występuje syndrom LAD, stwierdza się krańcową leukocytozę, a mimo to organizm ich nie potrafi zwalczyć infekcji. Dzieje się tak dlatego, że leukocyty polimorfonuklearne i makrofagi tych osób nie mają zdolności adhezji, a co za tym idzie — diapedezy. Komórki te nie mogą wydostać się z naczyń krwionośnych i dotrzeć do ogniska zapalnego. Leukocyty takie nie mogą również przylegać do patogenów (nawet opsonizowanych), a więc niemożliwa jest również fagocytoza bakterii. W tym przypadku więc brak adhezji makrofagów do komórek endotelium i ciał obcych powoduje ogromne zagrożenie organizmu i upośledzenie jego zdolności obronnych (Wright, Detmers 1988).

Po diapedezie makrofagi muszą sforsować podścielającą endotelium błonę podstawną. Nawiązują kontakt z jej stałym składnikiem — lamininą, a następnie za pomocą odpowiednich enzymów proteolitycznych, takich jak kolagenaza IV, czy heparanaza, degradują błonę miejscowo. Przez powstały otwór makrofagi przedostają się na teren interstycjalnej stromy. Elementy strukturalne stromy — włókna kolagenów interstycjalnych, fibronektyna, to szlaki komunikacyjne wędrujących komórek. Makrofagi (i inne ruchliwe komórki organizmu) nawią-

zują z nimi kontakt za pomocą integryn. Te uniwersalne heterodimery mogą łączyć cytoszkielet komórki ze wszystkimi elementami pozakomórkowej macierzy i, jak już wspomniano, łatwo nawiązują i łatwo zrywają kontakty z ligandami podłoża. Poprzez pozakomórkową macierz makrofagi docierają do chorych tkanek. Tu właśnie zachodzi ostatni etap akcji obronnej — fagocytoza.

Warto przypomnieć, że podczas fagocytozy w komórkach makrofagów zachodzą podobne zjawiska, jak podczas migracji. Makrofagi spoczynkowe mają jednolitą, cienką warstwę filamentów podścielających równomiernie całą błonę komórkową z jej licznymi drobnymi fałdami i wypustkami. Makrofagi fagocytyzujące zachowują natomiast cienką warstwę peryferyjnych filamentów tylko w obszarach niezaangażowanych w fagocytozę. W regionach komórki, przylegających do fagocytyzowanego obiektu, wytwarzają one pseudopodia wypełnione gęstą siecią filamentów aktynowych (podobnie jak w nibynóżce lokomotorycznej — patrz rys. 3). Nie wnikając w dalsze szczegóły możemy powiedzieć, że pseudopodia te (Berlin, Oliver 1978) otaczają obce ciała przylegające do ich powierzchni i zamykając je w fagosomach wprowadzają do wnętrza komórki. Tam następuje trawienie z udziałem enzymów wydzielanych przez lizosomy. Czynnikiem sprzyjającym fagocytozie jest opsonizacja fagocytyzowanego obiektu. Ogólnie rzecz biorąc, zjawisko to polega na otaczaniu takiego obiektu białkami osocza — opsoninami, co ułatwia przyłgnięcie jego powierzchni do powierzchni makrofaga (Traczyk, Trzebski 1989). Z makrofagami współdziałają też inne białka osocza, np. lizozym, układ dopełniacza oraz properdyny i bakteriocydyny. Białka te naruszają błonę bakterii czyniąc je bardziej dostępnymi dla fagocytyzujących makrofagów.

W artykule tym starano się pokrótce przedstawić rolę makrofagów jako czynnych komórek układu obronnego naszego organizmu. Wypełnianie funkcji obronnych przez te komórki możliwe jest między innymi dzięki temu, że makrofagi mają zdolność przylegania — adhezji. Adhezja do podłoża, wytwarzanie siły motorycznej oraz polaryzacja komórki umożliwiają makrofagom przemieszczanie się w organizmie, co stanowi podstawowy warunek skuteczności ich działania.

MACROPHAGES — MIGRATING AND PHAGOCYTIZING CELLS OF IMMUNE SYSTEM

Summary

Macrophages play an important role in antigen recognition and induction of the immune response, as well as removal of debris and destruction of target cells. They derive from the bone marrow cells and may be found in the bloodstream (monocytes) or in the tissue. Macrophages participate in the inflammatory response. Their positive chemotaxis plays a major role in this process, especially in the accumulation of macrophages in the injured tissues. Chemotactic stimulation of

macrophages may result in directional migration of these cells to the inflammatory sites. The common pattern of the response of organism to an inflammatory process, and the role of macrophages in it, are described on the first pages of the article. In the second part, the morphology of the macrophages and spatial organization of macrophage cortical cytoplasm (actin network) are described. The structure of macrophages actin cytoskeleton is controlled at several levels by Ca^{2+} — dependent actin binding proteins. Receptor stimulation induces a massive actin polymerization at the cell cortex, changes in macrophage shape and active cellular movements. Selectins and integrins are the families of cell surface proteins that mediate macrophage adhesion and migration to the inflammation sites. Their role in these phenomena and in phagocytosis is referred in the last part of the present article.

LITERATURA

- Allison A.C., Davies P., De Petris S. — *Role of contractile microfilaments in macrophage movement and endocytosis*. Nature New Biol. 232: 153–155, 1971.
- Amato P., Unanue E., Taylor D. — *Distribution of actin in spreading macrophages: A comparative study on living and fixed cells*. J. Cell. Biol. 96, 3: 750–726, 1983.
- Berlin R.D., Oliver J.M. — *Analogous ultrastructure and surface properties during capping and phagocytosis in leucocytes*. J. Cell. Biol. 77: 789–804, 1978.
- Bessis M. — *Living blood cells and their ultrastructure*. Springer-Verlag, 477–517, 1973.
- Boyles J., Bainton D.F. — *Changing patterns of plasma membrane associated filaments during the initial phases of polymorphonuclear leucocyte adherence*. J. Cell. Biol. 82: 347–369, 1979.
- Di Nuble M.J., Southwick F.S. — *Effects of macrophage profilin on actin in the presence of acumentin and gelsolin*. J. Biol. Chem. 260: 7402–7409, 1985.
- Gordon S., Perry V.H., Rabinowitz S., Chung L-P., Rosen H. — *Plasma membrane receptors of the mononuclear phagocyte system. Macrophage plasma membrane receptors: structure and function*. Gordon S. (red.), J. Cell. Science, Suppl 9, 1–27, 1988.
- Grębecki A. — *Dynamics of the contractile system in the pseudopodial tips of normally locomoting amoebae, demonstrated in vivo by video-enhancement*. Protoplasma 154: 98–111, 1990.
- Hartwig J.H., Shevlin P. — *The architecture of actin filaments and the ultrastructural location of actin-binding protein in the periphery of lung macrophages*. J. Cell. Biol. 103: 1007–1021, 1986.
- Heath J.P. — *Arcs: curved microfilament bundles beneath the dorsal surface of the leading lamellae of moving chick embryo fibroblasts*. Cell. Biol. Int. Rep. 5: 975–980, 1981.
- Heath J.P. — *Behaviour and structure of the leading lamella in moving fibroblasts. I. Occurrence and centripetal movement of arched microfilament bundles beneath the dorsal cell surface*. J. Cell. Biol. 60: 331–354, 1983.
- Inglot A.D. — *Zbuntowane komórki*. Warszawa, KAW 1987.
- Keller K.U., Sorkin E. — *Chemotaxis of leucocytes*. Experientia 24: 641–652, 1968.
- Kłopotcka W., Stockem W., Grębecki A. — *Fine structure and distribution of contractile layers in Amoeba proteus preincubated at high temperature*. Protoplasma 147: 117–124, 1988.
- Korn E.D. — *Actin polymerization and its regulation by proteins from nonmuscle cells*. Physiol. Rev. 62: 672–737, 1982.
- Lewis W.H. — *The role of a superficial plasmagel layer in changes of form, locomotion and division of cells in tissue cultures*. Arch. Exp. Zellforsch. 23: 1–7, 1939.
- Marchesi V.T., Gowans J.L. — *The migration of lymphocytes through the endotelium of venules in lymph nodes: an electron microscope study*. Proc. Royal Soc. 975: 283–291, 1964.
- Mc Cutcheon M. — *Chemotaxis in leucocytes*. Physiol. Rev. 26, 3: 319–337, 1946.
- Mc Ever R.P. — *GMP-140: A receptor for neutrophils and monocytes on activated platelets and endothelium*. J. Cell. Biochem. 45: 156–161, 1991.
- Nagashima H., Asakura S. — *Dark-field light microscopic study of the flexibility of F-actin complexes*. J. Molec. Biol. 136: 169–182, 1980.

- Reaven E.P., Axline S.G. — *Subplasmalemmal microfilaments and microtubules in resting and phagocytizing cultivated macrophages*. J. Cell. Biol. 59: 12–27, 1973.
- Rogers A.W. — *Cells and tissues. An introduction to histology and cell biology*. Acad. Press, 1983.
- Southwick F.S., Hartwig J.H. — *Acumentin, a protein in macrophages which caps the "pointed" end of actin filaments*. Nature 297: 303–307, 1982.
- Stossel T.P. — *The spatial organization of cortical cytoplasm in macrophages*. Modern cell biology. Satir B.H. (red.), Alan R. Liss Inc., New York, 1982.
- Traczyk W., Trzebski A. — *Fizjologia człowieka z elementami fizjologii stosowanej i klinicznej*. Warszawa, PZWŁ 1989.
- Ward P.A. — *Chemotaxis of mononuclear cells*. J. Exp. Med. 128: 45: 1201–1221, 1968.
- Wright S.D., Detmers P.A. — *Adhesion-promoting receptors on phagocytes. Macrophage plasma membrane receptors: structure and function*. Gordon S. (red.), J. Cell. Sci., Suppl. 9: 99–121, 1988.
- Yin H.L., Hartwig J.H. — *The structure of the macrophage actin skeleton. Macrophage plasma membrane receptors: structure and function*. Gordon S. (red.), J. Cell. Sci., Suppl. 9: 169–185, 1988.
- Yin H.L., Stossel T.P. — *Control of cytoplasmic actin gel — sol transformation by gelsolin, a calcium-dependent regulatory protein*. Nature 281: 583–586, 1979.
- Yin H.L., Stossel T.P. — *Purification and structural properties of gelsolin: a Ca^{++} — activated regulatory protein of macrophages*. J. Biol. Chemistry 255, 19: 9490–9493, 1980.
- Yla-Herttuala S., Lipton B.A., Rosenfeld M.E., Sarkioja T., Yoshimura T., Leonard E.J., Witztum J.L., Steinberg D. — *Expression of monocyte chemoattractant protein 1 in macrophage-rich areas of human and rabbit atherosclerotic lesions*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 5252–5256, 1991.