

JOANNA KOŁODZIEJCZYK

*Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN
Pasteura 3, 02-093 Warszawa*

TOCZENIE SIĘ GRANULOCYTÓW — PIERWSZY ETAP PRZECHODZENIA TYCH KOMÓREK PRZEZ ŚCIANY NACZYŃ KRWIONOŚNYCH

Granulocyty wraz z makrofagami, limfocytami i monocytami pełnią funkcje obronne, chroniąc organizm przed bakteriami, czynnikami wywołującymi alergię, czasem komórkami nowotworowymi (GUYTON 1986, SPRINGER 1995). Granulocyty reagują bardzo szybko na zagrożenie organizmu i pierwsze zjawiają się w pobliżu ognisk zapalnych. Biorą one udział w nieswoistych reakcjach odpornościowych, a o ich skuteczności decyduje znaczna ruchliwość oraz zdolność do chemotaksji i fagocytozy.

Granulocyty powstają w komórkach szpiku kostnego, gdzie dojrzewają, są magazynowane i skąd są uwalniane do krwiobiegu. W naczyniach krwionośnych krążą przez 4 do 10 godzin. Część granulocytów przechodzi z krwi do tkanek, inne zostają zatrzymane w zatokach naczyniowych, wątrobie i śledzionie, gdzie tworzą rezerwę dyspozycyjną, uruchamianą w razie naruszenia równowagi w organizmie. Wraz z pojawieniem się czynnika zapalnego produkcja granulocytów obojętnochłonnych (neutrofilii) nasila się i wzrasta ich liczba we krwi w ciągu pierwszych godzin infekcji (EDWARDS 1994). Po pojawieniu się w organizmie czynnika inwazyjnego zaatakowane tkanki zaczynają wydzielać czynnik granulocytozy (leukocytozy), w skład którego wchodzi między innymi: histamina, serotonina, prostaglandyny i limfokiny (ATHERTON i BORN 1972, KUIJPERS i współaut. 1991). Substancje te dyfundują z ogniska zapalnego do krwi i następnie do szpiku, gdzie pobudzają namnażanie neutrofilii. W kilka godzin po wystąpieniu ostrego stanu zapalnego liczba neutrofilii we krwi zwiększa się i osiąga 15 000 do 25 000 komórek w 1 mm sześciennym (neutrofilia lub leukocytoza obojętnochłonna); (GUYTON 1986).

Granulocyty różnią się powinowactwem ziarnistości cytoplazmatycznych do barwników, morfologią jądra oraz funkcjami pełnionymi w organizmie. Wspomniane już granulocyty obojętnochłonne (wiążące barwniki obojętne) zwane są też, ze względu na płatowate jądro leukocytami polimorfonuklearnymi (polimorfojądrowymi). Stanowią one 2/3 wszystkich białych krwinek we krwi obwodowej.

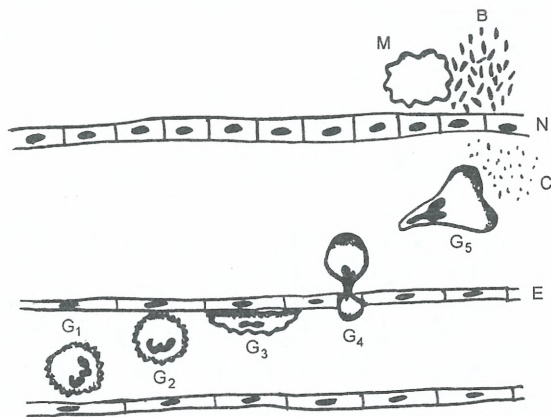
ZACHOWANIE SIĘ GRANULOCYTÓW OBOJĘTNOCHŁONNYCH W POBLIŻU OGNISKA ZAPALNEGO

Jedną z pierwszych reakcji na uszkodzenie tkanki lub infekcję jest skupianie się granulocytów obojętnochłonnych przy ścianach naczyń krwionośnych w pobliżu zagrożonego miejsca, poprzedzone toczeniem się ich wzdłuż tych ścian. Toczące się granulocyty mogą następnie przyłączyć (zaadherować) do wyściełającego naczynie śródbłonna (endotelium) (ATHERTON i BORN 1972). Tendencję przylegania białych krwinek, krążących we krwi do ścian naczyń i związek tego zjawiska z występującym w organizmie stanem zapalnym zaobserwowali już ponad sto pięćdziesiąt lat temu ADDISON (1843) i WALLER (1846).

Ukierunkowaną migrację neutrofilii ze strumienia krwi do ognisk zapalnych rozpoczyna ich przeciskanie się pomiędzy komórkami endotelium (diapedeza). Przemieszczanie się leukocytów poprzez ściany naczyń do tkanek objętych infekcją zanotował po raz pierwszy WALLER w ubiegłym stuleciu (1846), a na ich sposób poruszania się ruchem ameboidalnym wskazał Liberkuhn w 1870 roku. W rejonie ogniska zapalnego granulocyty uwalniają do otaczającego środowiska zawartość granul wewnątrz-

komórkowych, w tym peroksydazę, enzymy lizosomalne, fosfatazy zasadowe. Wytwarzają też toksycznie działające metabolity tlenowe (wolne rodniki). W ten sposób neutrofile niszczą drobnoustroje, które następnie są wchłaniane w procesie fagocytozy.

Krażące w strumieniu krwi granulocyty obojętnochłonne mają kształt kulisty i mocno pofalowaną powierzchnię. Średnica ich waha się w granicach od 10 do 12 μm . W normalnych warunkach nie adherują one do komórek śród-



Rys. 1. Kolejne etapy migracji granulocytów w organizmie podczas reakcji obronnej, wg DUNON i IMHOF 1996.

G1 — granulocyt unoszony przez strumień krwi, G2 — granulocyt tocący się po wewnętrznej ścianie naczyń krwionośnych, G3 — granulocyt zaadherowany do ściany naczyń, G4 — granulocyt przeciskający się pomiędzy komórkami endotelium, G5 — granulocyt migrujący w przestrzeni międzykomórkowej, M — makrofag, B — skupisko bakterii, N — nabłonek, C — cząsteczki chemoatraktantów, E — endotelium (śródbłonek).

błonek naczyń krwionośnych (rys. 1). Substancje naczyniowo-aktywne, takie jak histamina i trombina, wydzielane w ognisku zapalnym, oddziałują na naczynia krwionośne. Obniżają napięcie mięśni gładkich, powodują rozszerzenie naczyń, zwiększenie, a zarazem spowolnienie przepływającego strumienia krwi. W stymulowanych komórkach śródbłonek podnosi się poziom wolnego wapnia i następuje zwiększenie przepuszczalności naczyń dzięki dośrodkowemu obkurczeniu się tych komórek. Zmienione warunki przepływu kierują neutrofile ku brzożnej strefie strumienia krwi. Po osiągnięciu marginalnego położenia zaczynają one powoli toczyć się wzdłuż ścian naczyń (rys. 1). Ponieważ granulocyty polimorfonuklearne nie mogą poruszać się swobodnie po wewnętrznej powierzchni naczyń, przez które przepływa krew, toczenie jest tym zjawiskiem, które umożliwia

im przemieszczenie się do miejsca, w którym przedostaną się przez ścianę naczyń ku otaczającej je tkance (BUTCHER 1991, LAWRENCE i SPRINGER 1991).

Toczenie się neutrofilów obserwuje się prawie wyłącznie w drobnych naczyniach żylnych (żyłkach postwłośniczkowych). Bardzo rzadko zjawisko to występuje w tętniczkach (McEVER 1992, GODIN i współaut. 1993, SPRINGER 1995). W obu rodzajach naczyń panują inne warunki hydrodynamiczne przepływu. Pulsujący przepływ krwi w tętniczkach utrudnia toczenie neutrofilów wzdłuż ich ścian. Prawdopodobnie nie jest to jednak jedyną przyczyną ograniczenia toczenia do naczyń żylnych. Uważa się, że przechodzeniu granulocytów przez ścianę tych właśnie naczyń sprzyja budowa śródbłonek żyłek, między innymi stosunkowo mała ilość połączeń międzykomórkowych (ATHERTON i BORN 1972, 1973, GODIN i współaut. 1993).

Toczenie znacznie zwalnia przepływ neutrofilów przez znajdujące się w pobliżu ognisk zapalnych naczynia. Neutrofile toczą się w nich z prędkością 30–50 $\mu\text{m}/\text{sek}$, podczas gdy średnia prędkość strumienia krwi w żyłkach waha się od 200 do 900 $\mu\text{m}/\text{sek}$ (ATHERTON i BORN 1972, 1973). Toczenie granulocytów obojętnochłonnych jest zjawiskiem wynikającym z równowagi między siłami przylegania neutrofilów do śródbłonek i siłami tnącymi, działającymi na ściany naczyń podczas przepływu krwi (GODIN i współaut. 1993). W miarę rozwoju reakcji zapalnej liczba toczących się neutrofilów znacznie wzrasta i stopniowo powierzchnia śródbłonek w pobliżu ogniska zapalnego zostaje nimi szczelnie wybrukowana (GODIN i współaut. 1993, LAWRENCE i SPRINGER 1991). Spowolnienie przemieszczania się neutrofilów ułatwia im reakcję na sygnały, pochodzące z komórek śródbłonek i objętych zapaleniem tkanek.

MOLEKULARNE PODSTAWY TOCZENIA SIĘ GRANULOCYTÓW OBOJĘTNOCHŁONNYCH

Już ponad sto lat temu COHNHEIM (1889) postulował występowanie molekularnych zmian w komórkach śródbłonek podczas stanu zapalnego. Stwierdzono, że przemieszczanie się do miejsc zapalnych, krążących we krwi neutrofilów jest możliwe dzięki wzajemnym interakcjom pomiędzy cząsteczkami zlokalizowanymi zarówno na powierzchni granulocytów, jak też na powierzchni komórek śródbłonek.

Zmiany na powierzchni śródbłonek

Śródbłonek jest nie tylko elementem strukturalnym ściany naczyń. Uczestniczy on również w większości funkcji układu krwionoś-

nego, między innymi kontroluje komórki krążące we krwi, ułatwiając zarówno ich wnikanie do naczyń (intrawazacja), jak i odwrotnie — przechodzenie z naczyń do otaczającej je tkanki (ekstrawazacja). Komórki śródbłonka tworzą populację heterogenną, w obrębie której różnice zależą nie tylko od umiejscowienia naczyń w organizmie, ale także od jego rodzaju i rozmiarów. Również macierz zewnątrzkomórkowa może wywierać wpływ na stan śródbłonka, zmieniając na przykład jego adhezywność.

W interakcje granulocytów z powierzchnią endotelium są zaangażowane trzy rodziny receptorów adhezyjnych. Są to selektyny, integryny i immunoglobuliny (OSBORN 1990, LAWRENCE i SPRINGER 1991, GODIN i współaut. 1993, SPRINGER 1995). W toczeniu oraz nawiązywaniu pierwszych kontaktów pomiędzy neutrofilami i śródbłonkiem pośredniczą selektyny, pojawiające się na powierzchni komórek śródbłonka pod wpływem mediatorów procesu zapalnego. Substancje te, wydzielane na przykład przez makrofagi stymulowane przez bakterie, aktywują komórki endotelium, powodując zmianę w ekspresji określonych genów, której wynikiem jest między innymi pojawienie się cząsteczek adhezyjnych na powierzchni komórek śródbłonka lub zmiany konformacyjne w takich cząsteczkach. Do ważniejszych mediatorów procesu zapalnego, syntetyzowanych przez pobudzone komórki śródbłonka należą wspomniane już trombina i histamina oraz cytokiny, takie jak interleukina 1 (IL1) i czynnik martwicy nowotworu (TNF, tumor necrosis factor) (POBER i COTRAN 1990, SPRINGER 1995). Selektyny kierują wybiórczym kontaktem między komórkami. Wiążą się one z odpowiednimi ligandami występującymi na powierzchni granulocytów i zwalniają ruch tych krwinek. Selektyna P (GMP-140, granule-membrane-protein 140) jest syntetyzowana i magazynowana w wewnątrzkomórkowych granulach sekrecyjnych komórek endotelialnych (ciałkach Weibel-Palade), skąd pod wpływem czynników takich jak histamina czy trombina jest uwalniana na powierzchnię śródbłonka. Pozostaje ona na powierzchni endotelium przez krótki czas — *in vitro* około 30 minut. Następnie ulega internalizacji na drodze endocytozy (MC EVER 1991, LAWRENCE i SPRINGER 1991, LORANT i współaut. 1991, MOORE i współaut. 1991, MC EVER 1992). Wbudowanie selektyny-P w błonę komórek endotelialnych umożliwia neutrofilom nawiązywanie kontaktu ze ścianami naczyń w pobliżu ogniska zapalnego. Receptor ten jest odpowiedzialny też za zapoczątkowanie toczenia neutrofilii (McEVER 1991, LAWRENCE, SPRINGER 1991, McEVER 1992,

SPRINGER 1995). Jego ligandem na powierzchni granulocytów jest glikoproteina CD 15 (tab. 1).

Tabela 1. Cząsteczki adhezyjne na powierzchni śródbłonka pośredniczące w interakcjach z leukocytami

	Nazwa	Ligandy na granulocytach	Funkcja
Selektyny	selektyna P (GMP-140)	CD 15	toczenie
	selektyna E (ELAM-1)	CD 15	toczenie
Integryny	ICAM-1	LFA-1	adhezja, migracja
	ICAM-2	LFA-1	adhezja, migracja
	VCAM-1	VLA-4 (CD 49d/CD29)	adhezja, migracja

Drugim selektynowym receptorem, pojawiającym się na powierzchni komórek śródbłonka jest selektyna E, inaczej zwana cząsteczką adhezji leukocytów do śródbłonka ELAM-1 (endothelial-leukocyt adhesion molecule-1). Selektyna-E pojawia się na powierzchni komórek endotelium między innymi pod wpływem interleukiny-1 i TNF. Receptor ten inicjuje wczesną odpowiedź neutrofilii na wystąpienie w organizmie odczynu zapalnego i podobnie jak selektyna P umożliwia ich kontakt z komórkami śródbłonka. Selektyna-E współdziała ze specyficznymi resztami węglowodanowymi na powierzchni neutrofilii. Nawiązanie kontaktu poprzez receptory selektynowe umożliwia udział innych typów cząsteczek adhezyjnych w dalszych etapach przylegania i migracji białych ciałek krwi (MCEVER 1991, LAWRENCE i SPRINGER 1991, SIU i współaut. 1991, MCEVER 1992, SPRINGER 1995). Regulowana ekspresja selektyny P i E w aktywowanym śródbłonku wywołuje zlokalizowanie kontaktów niestymulowanych neutrofilii z obszarem endotelium, sąsiadującym z ogniskiem zapalnym (SPRINGER 1995). Jest to zjawisko specyficzne, zależne od stanu śródbłonka.

Na powierzchni komórek śródbłonka indukowanego cytokinami, takimi jak IL-1 i TNF, wzrasta odpowiednio poziom cząsteczek adhezji międzykomórkowej ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) i cząsteczek adhezji naczyniowej VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1). Obie te cząsteczki są integrynami, odpowiednio z podjednostkami beta 2 i beta 1. Cząsteczki ICAM-1 (uaktywnione przez cytokiny wydzielane w ognisku zapalnym, w ciągu kilku godzin po wystąpieniu stanu zapalnego), podobnie jak drugiej wymienionej integryny —

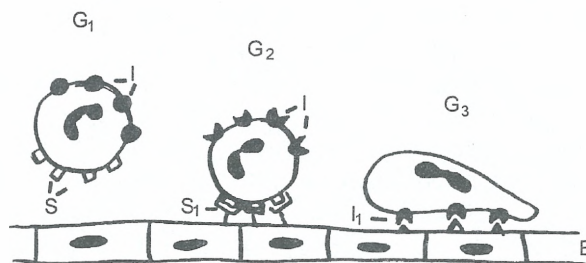
VCAM-1, odgrywają rolę czynnika regulującego wzajemne oddziaływanie neutrofilii i komórek endotelialnych, nasilając zarówno te interakcje, jak i ekstrawazację leukocytów w pobliżu miejsc zapalnych (tab. 1).

Spowodowane działaniem selektyn spowolnienie przepływu leukocytów zwiększa częstość ich kontaktów ze śródbłonkiem oraz wydzielanymi przez jego komórki pod wpływem mediatorów stanu zapalnego chemoatraktantami, takimi jak PAF. Cząsteczki PAF zanim znajdą się w strumieniu krwi, wiążą się z proteoglikanami powierzchni śródbłonka (CD 44, acidic, sulphated transmembrane protein), skąd łatwiej mogą wejść w styczność z receptorami na powierzchni granulocytów, aktywując zarazem niektóre integryny tych komórek (BENGTSSON i współaut. 1990, McEVER 1991, 1992, GODIN i współaut. 1993). Czynniki aktywacji płytek PAF jest jedną z silniej działających substancji chemotaktycznych. Dlatego odgrywa on ważną rolę w gromadzeniu się neutrofilii przy ścianach naczyń krwionośnych, a następnie ich adhezji i migracji. PAF jest biologicznie aktywnym fosfolipidem, syntetyzowanym w siateczce śródbłonkowej komórek endotelium, w krótkim czasie po ich stymulacji, a następnie przenoszonym do błony komórkowej (McEVER 1991, LORANT i współaut. 1991). Znajdujący się na powierzchni endotelium PAF może następnie nawiązywać kontakt z odpowiednimi receptorami toczących się granulocytów. Czynniki aktywacji płytek może przemieszczać się z powierzchni endotelium na receptory neutrofilowe. PAF może też pozostawać na powierzchni komórek śródbłonka i tam być rozpoznawany przez receptory powierzchniowe neutrofilii (KUIJPERS i współaut. 1991, LORANT i współaut. 1991). Stwierdzono ścisły związek czasowy pomiędzy gromadzeniem się PAF na powierzchni komórek śródbłonka i jego degradacją, a pomiędzy rozwojem adhezji zależnej od endotelium i jej zanikiem.

Zmiany na powierzchni granulocytów

Zarówno toczenie neutrofilii, jak i ich adhezja do ścian naczyń krwionośnych są możliwe nie tylko dzięki obecności specyficznych cząsteczek adhezyjnych na powierzchni śródbłonka, ale też i cząsteczek, znajdujących się na powierzchni granulocytów. Na powierzchni leukocytów krążących we krwi cząsteczki te znajdują się najczęściej w formie nieaktywnej. Pod wpływem jednak wspomnianych wyżej czynników chemotaktycznych lub cytokin ulegają one szybkim zmianom ilościowym i uaktywniają się. Umożliwia to nawiązanie ściślejszych kontaktów pomiędzy krążącymi neutrofilami i komórkami śródbłonka. Na powierzchni neutrofilii wy-

stępuje selektyna L oraz integryny, takie jak LFA-1, inaczej CD11a/CD18 (lymphocyte function-associated antigen-1) i Mac 1, czyli CD11b/CD18 (rys. 2). Około 90% uaktywnionej



Rys. 2. Białka adhezyjne biorące udział w kontaktach granulocytów z komórkami endotelium podczas toczenia i adhezji leukocytów (wg SIU i współaut. 1991).

G1 — granulocyt unoszony strumieniem krwi, G2 — granulocyt toczący się, G3 — granulocyt zaadherowany do komórki endotelium, I — integryny, S — selektyny na powierzchni granulocytu, I1 — ICAM-1, S1 — ELAM na powierzchni endotelium.

selektyny L gromadzi się na mikrowypustkach neutrofilii, wysuwających się o około 0,3 mm ponad powierzchnię komórki, co zwiększa dostępność tego receptora dla odpowiednich ligandów na komórkach śródbłonka.

Dla selektyny L takimi ligandami są węglowodanowe cząsteczki Gly CAM-1 (glycosylation-dependent cell adhesion molecule-1) obecne na powierzchni stymulowanego endotelium oraz CD 34 (mucin-like cluster of differentiation 34), znajdujące się stale na powierzchni tych komórek. Endotelialnymi ligandami dla integryn neutrofilowych są odpowiednio ICAM-1, ICAM-2 dla LFA-1 oraz ICAM-1 lub fibrynogen dla Mac-1 (tab. 2; MACKAY 1993, WARDLAW i WALSH 1994, SPRINGER 1995, STEWART i współaut. 1995, HENDEY i współaut. 1996).

Selektyna L, podobnie jak selektyny E i P, bierze udział w toczeniu granulocytów, pełni też rolę aktywatora cząsteczek LFA-1 i Mac-1 (VON-ANDRIAN i współaut. 1991). Ilość integryn na powierzchni granulocytów zwiększa się dziesięciokrotnie dzięki ich uwolnieniu z drugorzędnych granul sekrecyjnych (tab. 2; BENGTSSON i współaut. 1990). Aktywacja może być wywołana takimi czynnikami jak mediatory stanów zapalnych, czynniki chemotaktyczne czy mitogeny, a także przez selektyny L i P (GODIN i współaut. 1993, ETZIONI i współaut. 1995). Aktywowane integryny CD11/CD18 wiążą się do cząsteczek ICAM-1 i ICAM-2 na powierzchni komórek endotelium, umożliwiając tym samym adhezję neutrofilii do śródbłonka (rys. 2; GODIN i współaut. 1993, SPRINGER 1995, STEWART i współaut.

1995) oraz później ich ukierunkowaną migrację do ognisk zapalnych. W przeciwieństwie do pierwszych kontaktów między granulocytami a śródbłonkiem, w których pośredniczą selektyny i które objawiają się toczeniem leukocytów po powierzchni śródbłonka, kontakty w których biorą udział integryny z powierzchni granulocytów i immunoglobuliny z powierzchni endotelium zapewniają leukocytom trwałą i silną adhezję do podłoża.

Tabela 2. Cząsteczki adhezyjne na powierzchni granulocytów, biorące udział w interakcjach z komórkami śródbłonka

	Nazwa	Ligandy na śródbłonku	Funkcja
Selektyny	selektyna- (LECAM-1)	Gly CAM-1 (CD-34)	toczenie adhezja
Integryny	LFA-1 (CD11a/CD18)	ICAM-1 ICAM-2	adhezja, migracja
	MAC-1 (CD11b/CD18)	ICAM-1	migracja

Butcher zaproponował w 1991 roku dwustopniowy model interakcji pomiędzy leukocytami polimorfonuklearnymi i komórkami endotelium w czasie ostrego stanu zapalnego (BUTCHER 1991). Wydzielane między innymi przez makrofagi mediatory stanu zapalnego powodują przede wszystkim aktywację komórek śródbłonka oraz szybkie uaktywnienie receptorów toczenia, szczególnie LECAM-1 na powierzchni krążących neutrofilów. Pierwszy etap — toczenie jest zjawiskiem odwracalnym. Jeśli toczące się neutrofile nie zetkną się z odpowiednio silnym bodźcem chemotaktycznym, są ponownie uwalniane do krwi. Przypuszcza się, że toczenie umożliwia wydłużenie czasu reakcji stykania się neutrofilów z komórkami śródbłonka i/lub czynnikami chemotaktycznymi w pobliżu ogniska zapalnego. Zjawisko to ułatwia też kontakt neutrofilów ze śródbłonkiem i warunkuje ich aktywację przez komórki endotelialne, co prowadzi następnie do trwałej adhezji do ścian naczyń (VON ANDRIAN i współaut. 1991), będącej drugim etapem współdziałania leukocytów z powierzchnią śródbłonka.

ADHEZJA I LOKOMOCJA GRANULOCYTÓW OBOJĘTNOCHIONNYCH

Trwała adhezja neutrofilów do śródbłonka jest drugim etapem w ich wędrówce, poprzedzającym przechodzenie ze strumienia krwi do ognisk zapalnych (rys. 1). Adhezywność podłoża może mieć wpływ na szybkość i kierunek lokomocji neutrofilów. Podobnie jak toczenie, trwała

adhezję neutrofilów do powierzchni śródbłonka obserwuje się prawie wyłącznie w żyłkach postwłośniczkowych (McEVER 1992, GODIN i współaut. 1993). Na powierzchni komórek śródbłonka tych żyłek występują dużo większe ilości P-selektyny niż w endotelium tętniczek, co tłumaczy lepsze warunki adhezji w żyłkach (SPRINGER 1995). Adhezja jest zależna także od innych parametrów, między innymi od lokalnej szybkości przepływu krwi oraz od ładunku powierzchniowego krążących komórek. Stwierdzono, że obniżenie ładunku powierzchniowego neutrofilów pociąga za sobą ich skupianie się, a następnie adhezję do powierzchni naczynia.

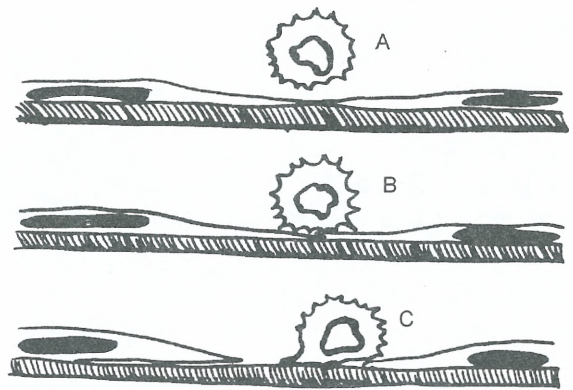
Adhezja jest procesem skomplikowanym i wielostopniowym, obejmującym różne mechanizmy o określonej specyficy. W pewnych warunkach adhezja neutrofilów do śródbłonka może nastąpić szybko i pojawić się już po kilku minutach od zaistnienia bodźca. Ale czasem od stymulacji do adhezji mogą upłynąć godziny. Prawdopodobnie różnice te są zależne od czynników wywołujących stan zapalny lub uszkodzenie tkanek. Można więc sądzić, że molekularne mechanizmy adhezji są odmiennie wywoływane lub regulowane. W każdym jednak przypadku adhezja neutrofilów do endotelium polega na wzajemnym oddziaływaniu na siebie dwóch komórek i jest podtrzymywana przez specyficzne wiązanie receptorów błonowych jednej komórki do ligandów drugiej.

Adhezja i migracja neutrofilów jest możliwa dzięki odpowiednim przekształceniom cytoszkieletu. Głównym elementem cytoszkieletu leukocytów są filamenty aktynowe (F-aktyna), znajdujące się w dynamicznej równowadze z monomeryczną G-aktyną. Pod wpływem receptorów adhezyjnych zachodzą w neutrofilach powtarzalne cykle polimeryzacji G-aktyny do F-aktyny i odwrotnie (OMANN i PORASIK 1989). W neutrofilach, podobnie jak w innych leukocytach, istnieją co najmniej dwie pule F-aktyny. Stabilnej F-aktynie, stanowiącej mniejszą część ogólnej F-aktyny komórkowej, towarzyszy niewielka ilość żelsoliny. Ta F-aktyna jest zlokalizowana w obszarach podbłonowych komórki. Drugą pulę, obejmującą większość aktyny komórkowej, stanowi labilna F-aktyna bogata w żelsolinę. Jest ona rozproszona w komórce i skupia się przejściowo w obszarach tworzenia i rozpadu filamentów (FECHHEIMER i ZIGMOND 1983, SULLIVAN i MANDELL 1983, WATTS i HOWARD 1992, WANG i współaut. 1993). Można przypuszczać, że te dwie pule aktynowe pełnią w neutrofilach ważne funkcje podczas migracji (BENGTSON i współaut. 1990, KULJPERS i współaut. 1991). W adherujących komórkach filamenty aktynowe gromadzą się głównie w dolnej

powierzchni, przylegającej do podłoża. Tworzą tam płytkowate skupienia, które sąsiadują z miejscami przyczepu (BOYLES i BAINTON 1972). W czasie lokomocji punkty kontaktu błony komórkowej z podłożem są zmienne, łatwo zrywają się i tworzą w innym miejscu.

ADHEZJA I LOKOMOCJA KOMÓREK NOWOTWOROWYCH

Zaaderowane do śródbłonna neutrofile opuszczają następnie naczynia, przeciskając się pomiędzy komórkami endotelium i przedostają się do ognisk zapalnych (GODIN i współaut. 1993). Zdarza się, że ten sposób przechodzenia przez endotelium wykorzystują też komórki nowotworowe. Poprzez naczynia włosowate przedostają się one do większych naczyń, w których w strumieniu krwi są unoszone do odległych okolic organizmu. Tam przenikają przez śródbłonek i migrują w głąb tkanek, jak leukocyty (rys. 3). W ten sposób w narządach odległych od pierwotnego ogniska nowotworowego powstają przerzuty (DUNON i IMHOF 1996). W komórkach nowotworowych mogą występować cząsteczki adhezywne, takie jak w leukocytach, reagujące z odpowiednimi ligandami na powierzchni. M. Bevilacqua z Harvard Medical School w 1989 roku stwierdził, że komórki czerniaka wiążą się z VCAM-1 na endotelium, a w tym samym roku J. Johnson wykazała, że występowanie cząsteczki adhezywnej, podobnej do ICAM-1, powoduje rozwój nowotworu (DUNON i IMHOF 1996). Również interleukina-1 i czynnik martwicy nowotworu, indukujące wytwarzanie selektyn na powierzchni komórek endotelium powodują zwiększenie ilości metastaz nowotwo-



Rys. 3. Kolejne etapy migracji komórek nowotworowych w organizmie podczas tworzenia metastaz (wg NICOLSON 1982).

A — Komórka nowotworowa tocząca się wzdłuż ściany naczynia krwionośnego, B — komórka nowotworowa zaaderowana do powierzchni endotelium, C — komórka nowotworowa przeciskająca się pomiędzy komórkami endotelium.

rowych u zwierząt doświadczalnych. Ostatnio stwierdzono też obecność selektyny-P na powierzchni komórek raka trzustki (SUIT-2) (IWAMURA i współaut. 1997). Pokazuje to nie tylko podobieństwa między mechanizmami, umożliwiającymi migrację obu rodzajów komórek prawidłowych — leukocytów i patologicznych — komórek nowotworowych, ale również pozwala szukać nowych sposobów terapii przeciwnowotworowych poprzez próby wpływania na te mechanizmy.

ROLLING OF GRANULOCYTES — THE FIRST STEP IN THEIR MIGRATION THROUGH THE WALLS OF BLOOD VESSELS

Summary

Neutrophilic granulocytes play an important role in efficient defence against infectious pathogens, tissue damage and inflammation. They derive from the bone marrow cells and may be found in the bloodstream or in the tissues. Granulocytes emigrate from the bloodstream in response to molecular changes on the surface of blood vessels, that signal injury or infection. The direct movement of leukocytes from the blood circulation into the sites of inflamma-

tion is an active, complex process (rolling, adhesion and migration), which requires cooperative interactions between endothelial and leukocyte adhesion molecules (selectins and integrins). Transformations of actin play an important role in neutrophil migration. The tumor cells may migrate from the bloodstream just in the same way as leukocytes.

LITERATURA

- ADDISON W., 1843, *Experimental and practical researches on the structure and function of blood corpuscles; on inflammation and on the origin and nature of tubercles in the lungs*. Trans. Provinc. Med. Surg. Ass. 11, 223-306.
- ATHERTON A., BORN G., 1972. *Quantitative investigations of the adhesiveness of circulating polymorphonuclear leukocytes to blood vessel walls*. J. Physiol. 222, 447-474.
- ATHERTON A., BORN G. 1973, *Relationship between the velocity of rolling granulocytes and that of the blood flow in venules*. J. Physiol. 233, 157-165.
- BENGTSSON T., JACONI M. E., GUSTAFSON M., MAGNUSSON K-E., THELER J-M., LEW D. P., STENDAHL O., 1993. *Actin dynamics in human neutrophils during adhesion and phagocytosis is controlled by changes in intracellular free calcium*. Eur. J. Cell Biol. 62, 49-58.

- BOYLES J., BAINTON D. F., 1972. Changing patterns of plasma membrane-associated filaments during the initial phases of polymorphonuclear leukocyte adherence. *J. Cell Biol.* 82, 347-368.
- BUTCHER E., 1991. Leukocyte-endothelial cell recognition: three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell* 67, 1033-1036.
- COHNHEIM J., 1889. *Lectures on general pathology: A handbook for practitioners and students.* London: The New Sydenham Society.
- DUNON D., IMHOF B. A., 1996. *Inflammation et cancer: les cellules „passe-muzaille”.* Le Recherche 283, 64-68.
- EDWARDS S. W., 1994. *Biochemistry and physiology of the neutrophil.* Cambridge University Press.
- ETZIONI A., PHILLIPS L. M., PAULSON J. C., HARLAN J. M., 1995. *Leukocyte adhesion deficiency (LAD) II.* [W:] MARSH J., GOODE J. A. (red.), *Cell adhesion and human disease.* (Ciba Foundation Symposium, London, 1994), J. Wiley and Sons, 51-62.
- FECHHEIMER M., ZIGMOND H., 1983. Changes in cytoskeletal proteins of polymorphonuclear leukocytes induced by chemotactic peptides. *Cell Motil.* 3, 349-361.
- GODIN C., CAPRANI A., DUFAUX J., FLAUD M., 1993. Interactions between neutrophils and endothelial cells. *J. Cell. Sci.* 106, 441-452.
- GUYTON A., 1986. *Textbook of medical physiology.* W. B. Sanders Company, 51-59.
- HENDEY B., LAWSON M., MARCANTONIO E. E., MAXFIELD F. R., 1996. Intracellular calcium and calcineurin regulate neutrophil motility on vitronectin through a receptor identified by antibodies to integrins alpha i beta. *Blood* 87 (5), 2038-2048.
- IWAMURA T., CAFFREY T. C., KITAMURA N., YAMANAHORI H., SEGTOGUCHI T., HOLLINGSWORTH M. A., 1997. P-selectin expression in a metastatic pancreatic tumor cell line (SUIT-2). *Cancer Res.* 57, 1206-1212.
- KUIJPERS T., HAKKERT B., HOGERWERF M., LEEUWENBERG J., ROOS D., 1991. Role of endothelial leukocyte adhesion molecule-1 and platelet-activating factor in neutrophil adherence to IL-1-prestimulated endothelial cells. *J. Immunol.* 147, 1369-1376.
- LAWRENCE M.B., SPRINGER T. A., 1991. Leukocytes roll on a selectin at physiologic flow rates: distinction from and prerequisite for adhesion through integrins. *Cell* 65, 859-873.
- LORANT D. E., PATEL K. D., MCINTYRE T. M., MCEVER R. P., PRESCOTT S. M., ZIMMERMAN G. A., 1991. Coexpression of GMP-140 and PAF by endothelium stimulated by histamine or thrombin: a juxtacrine system for adhesion and activation of neutrophils. *J. Cell. Biol.* 115 (1), 223-234.
- MACKAY C. R., 1993. *Cell adhesion in the immune system.* Immunology Today 14 (3), 99-102.
- MCEVER R., 1991. GMP-140: a receptor for neutrophils and monocytes on activated platelets and endothelium. *J. Cell Biochem.* 45, 156-161.
- MCEVER R., 1992. Leukocyte-endothelial cell interactions. *Current Biology* 4, 840-849.
- MOORE K. L., VARKI A., MCEVER R.P., 1991. GMP-140 binds to a glycoprotein receptor on human neutrophils: evidence for a lectin-like interaction. *J. Cell Biol.* 112 (3), 491-499.
- NICOLSON G. L., 1982. Metastatic tumor cell attachment and invasion assay utilizing vascular endothelial cell monolayers. *J. Histochem. Cytoch.* 30, 214-220.
- OMANN G. M., PORASIK M. M., 1989. Oscillating actin polymerization/depolymerization responses in human polymorphonuclear leukocytes. *J. Biol. Chem.* 264, 16355.
- OSBORN L., 1990. Leukocyte adhesion to endothelium in inflammation. *Cell* 62, 3-6.
- POBER J. S., COTRAN R. S., 1990. Cytokines and endothelial cell biology. *Physiol. Rev.* 70 (2), 427-451.
- SIU K. L., LEE S., RAMOS R.A., LOBB R., ROSA M., CHI-ROSSO G., WRIGHT S. D., 1991. Endothelial-leukocyte adhesion molecule 1 stimulates the adhesive activity of leukocyte integrin CR3 (CD 11b/CD 18, Mac-1) on human neutrophils. *J. Exp. Med.* 173, 1493-1500.
- SPRINGER T. A., 1995. Traffic signals on endothelium for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration. *Ann. Rev. Physiol.* 57, 827-872.
- STEWART M., THIEL M., HOGG N., 1995. Leukocyte integrins. Current opinion in Cell Biology 7, 690-696.
- SULLIWAN J. A., MANDELL G. L., 1983. Motility of human polymorphonuclear neutrophils: microscopic analysis of substrate adhesion and distribution of F-actin. *Cell Motility* 3, 31.
- VON ANDRIAN U., CHAMBERS D., MCELOY L., BARGATZE R., ARFORS K., BUTCHER E., 1991. Two-step model of leukocyte-endothelial cell interaction in inflammation: distinct roles for LECAM-1 and the leukocyte B2 integrins in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 7538-7542.
- WAGNER R., 1838. *Erlauterungstafeln zur Physiologie und Entwicklungsgeschichte.* Leipzig: Leopold Voss.
- WALLER A., 1846 *Microscopic examination of some principal tissues of the animal frame as observed in the tongue of the living frog, toad, etc.* Lond. Edinb. Dubl. Phil. Mag. 29, 271-278.
- WANG J. S., PAVLOTSKY N., TAUBER A., ZANER K. S., 1993. Assembly dynamics of actin adherent human neutrophils. *Cell Motil. and Cytoskelet.* 26, 340-348.
- WARDLAW A. J., WALSH G. M., 1994. Neutrophil adhesion receptors. [W:] HELLEWEL P. G., WILLIAMS T. J. (red.) *The handbook of immunopharmacology. Immunopharmacology of neutrophils.* Academic Press, London, 133-157.
- WATTS R. A., HOWARD T. H., 1992. Evidence for a gelsolin-rich, labile F-actin pool in human polymorphonuclear leukocytes. *Cell Motil. and Cytoskelet.* 21, 25-37.