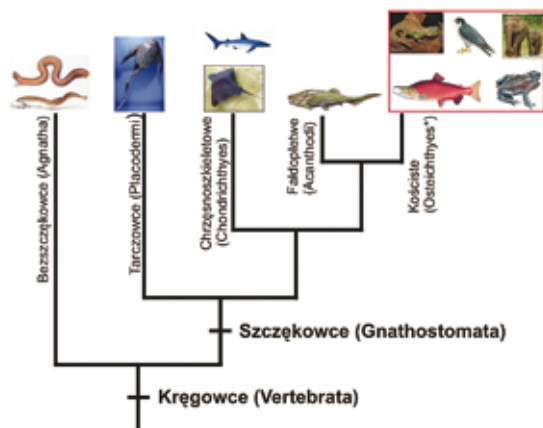




Ryc. 6. Filogenetyczne pokrewieństwa wśród kręgowców wskazujące grupę tarczowców, Placodermi jako grupę wyjściową dla szczękowców Gnathostomata. * – takson Osteichthyes zawiera ryby promieniopłetwe (Actinopterygii) oraz mięśniopłetwe (Sarcopterygii), do którego należą ryby dwudyszne latimerie oraz wszystkie czworonogi, czyli płazy, gady, ptaki i ssaki, tworzące grupę owodniowców (Tetrapoda = Amphibia + Amniota).

występująca powszechnie wśród tarczowców i jako jedyna wśród chrzęstnoszkieletowych została odziedziczona po wspólnym przodku, to być może jest to cecha pierwotna dla szczękowców, która pojawiła się już na początku paleozoiku (Ryc. 6).

Słowniczek:

Lecytotrofia – wykorzystywanie podczas rozwoju zarodków zapasów żółtka nagromadzonego przed zapłodnieniem; występuje u organizmów jajorodnych i żyworodnych.

Matrotrofia – wykorzystywanie przez zarodki w trakcie inkubacji różnego rodzaju substancji tworzonych przez organizm samicy.

Oofagia – wykorzystywanie przez inkubowane zarodki jako pokarm kolejnych generacji oocytów (np. żarłacz, Salamandra atra).

Adelfofagia – wykorzystywanie przez inkubowane zarodki jako pokarm zarodków powstałych z później zapłodnionych jaj (np. rekin piaszkowy).

Histotrofia – odżywanie się zarodków sekrecjami tworzonymi do światła jajowodu lub jajnika; np. mleczko maciczne, trofone-maty (np. ryby chrzęstnoszkieletowe, niektóre płazy beznogie).

Histofagia – odżywanie się zarodków tkankami samicy np. nabłonkiem jajowodu (niektóre płazy beznogie np. marszczelcowate).

Placentotrofia – przekazywanie substancji odżywczych zarodkom przez łożysko, powstałe dzięki przyleganiu tkanek zarodka i samicy.

Łożysko – narząd powstały dzięki ścisłemu przyleganiu lub fuzji tkanek zarodka i samicy wykorzystywany do wymiany substancji pokarmowych i metabolitów.

■ Dr hab. Anna Pecio jest adiunktem w Zakładzie Anatomii Porównawczej Instytutu Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. E-mail: anna.pecio@uj.edu.pl.

NEUTROFILE – NIEUSTRASZENI POGROMCY PATOGENÓW

Łukasz Pijanowski, Magdalena Chadzińska (Kraków)

Neutrofile, zwane inaczej granulocytami obojętno-chłonnymi lub leukocytami polimorfonuklearnymi (ang. *polymorphonuclear leukocytes*, PMN) są najliczniejszymi komórkami układu odpornościowego krążącymi we krwi i stanowią aż 50–70% wszystkich leukocytów. W ciągu jednego dnia w stanie fizjologicznym produkowane jest ok. 10^{11} neutrofilów. Proces tworzenia leukocytów, określanej jako granulocytopo- eza odbywa się w szpiku kostnym, gdzie neutrofile powstają z multipotencjalnych komórek macierzystych. Ze szpiku kostnego PMN dostają się do krążenia, w którym żyją 7–10 godzin, po czym umierają prze- ważnie na drodze apoptozy (programowana śmierć komórkowa). Neutrofile są komórkami ostatecznie zróżnicowanymi i nie są zdolne do namnażania się.

Po czym można poznać neutrofile?

Jak już wspomniano neutrofile są inaczej nazywa- ne leukocytami polimorfonuklearnymi, czyli wielo- jądrzastymi. Nazwa ta ma związek z kształtem ich jądra komórkowego, które jest podzielone na płyty.

Liczba płytek jądra ma ścisły związek z tym jak dłu- go granulocyty obojętno-chłonne znajdują się w krą- żeniu. Komórki, które niedawno opuściły szpik kost- ny i dostały się do krążenia mają jądro podzielone na dwa segmenty, natomiast w miarę dojrzewania liczba segmentów zwiększa się, aż do pięciu. Liczba płytek jądra może mieć znaczenie diagnostyczne. Okazuje się bowiem, że zwiększanie się ich liczby powyżej pięciu, czyli tzw. hipersegmentacja często jest zwią- zana z występowaniem takich chorób jak: białaczka, przewlekłe zapalenie nerek, nowotwory, sepsa, czy niedobór witaminy B₁₂ i kwasu foliowego. Ponadto w związku z funkcją pełnioną przez PMN posiada- ją one w cytoplazmie liczne ziarnistości zawierające białka o aktywności przeciwbakteryjnej, przeciwi- rusowej i przeciwgrzybiczej (Ryc. 1).

Można wyróżnić cztery typy ziarnistości neutrofilów: pierwszorzędowe, drugorzędowe, trzeciorzędowe oraz wydzielnicze. Nazwy ziarnistości związane są z kolej- nością ich pojawiania się w trakcie różnicowania się komórek. Kolejność pojawiania się ziarnistości na po- szczególnych etapach różnicowania PMN determinuje

także ich zdolność do egzocytozy (uwalniania swojej zawartości na zewnątrz komórki). Te spośród nich, które wykształciły się stosunkowo wcześnie w niewielkim



Ryc. 1. Ziarnistości obecne w cytoplazmie neutrofilu.

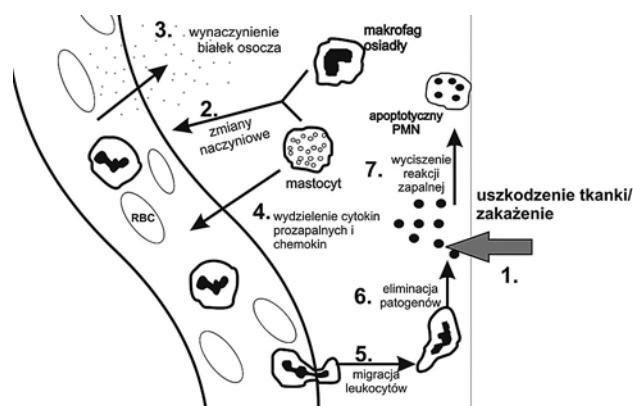
BPI – czynnik bakteriobójczy zwiększający przepuszczalność (ang. *bactericidal permeability increasing factor*), MMP-9 – metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej 9 (ang. *matrix metalloproteinase 9*), CD35 (CR1) – receptor dla składnika dopełniacza (ang. *complement receptor 1*).

stopniu ulegają egzocytozie, natomiast ziarnistości trzeciorzędowe oraz pęcherzyki wydzielnicze, które powstają w późniejszych stadiach dojrzewania PMN z łatwością uwalniają swoją zawartość na zewnątrz.

Ziarnistości pierwszorzędowe (azurofilne) zawierają przede wszystkim białka o aktywności przeciwbakteryjnej, przeciwwirusowej i przeciwgrzybiczej oraz liczne enzymy, takie jak np. proteazy. Z kolei najliczniejsze ziarnistości drugorzędowe zawierają białka o silnym działaniu przeciwbakteryjnym, jak np. laktoferyna. Ziarnistości trzeciorzędowe zostały wyodrębnione na podstawie obecności enzymu żelatynazy B, stąd też inna nazwa tych ziarnistości to ziarnistości żelatynazowe. Do ziarnistości neutrofilu zalicza się także pęcherzyki wydzielnicze. Ich cechą charakterystyczną jest obecność białek błonowych, co tłumaczone jest sposobem powstawania tych ziarnistości. Badania wykazały bowiem, że pęcherzyki wydzielnicze powstają na drodze endocytozy, a więc wpuklenia błony komórkowej do wnętrza komórki i odcięcia powstałego w ten sposób pęcherzyka. W ten sposób białka wchodzące poprzednio w skład zewnętrznej błony PMN stają się składnikiem wewnątrzkomórkowych pęcherzyków wydzielniczych. Dodatkowo okazało się, iż ziarnistości te są wyjątkowo wrażliwe na stymulację. Pod wpływem stymulantów dochodzi do całkowitego połączenia pęcherzyków wydzielniczych z błoną komórkową neutrofilu i tym samym dostarczenia białek błonowych na zewnątrz granulocytów obojętnochłonnych.

Co robią neutrofile w miejscu zapalenia?

W stanie fizjologicznym neutrofile znajdują się w krwiobiegu, natomiast pod wpływem bodźców zapalnych natychmiast migrują z naczyń krwionośnych do ogniska zapalnego, czyli miejsca zakażenia bądź uszkodzenia tkanek (Ryc. 2). Czynniki, które powodują migrację PMN mogą być czynniki pochodzenia bakteryjnego np. formylowane peptydy bakteryjne

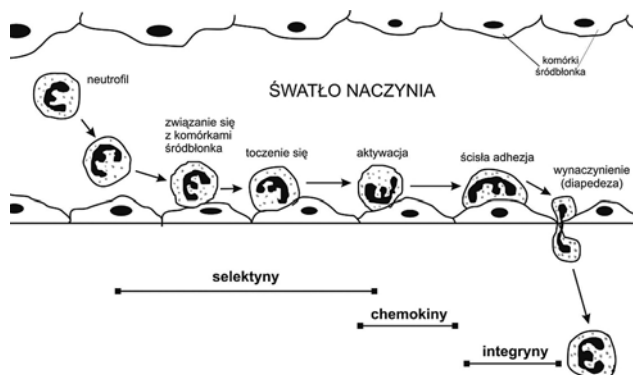


Ryc. 2. Przebieg reakcji zapalnej. Opis w tekście.

(fMLP), czynniki wydzielane po uszkodzeniu tkanek np. mitochondria obumierających komórek, czy też czynniki wydzielane przez same neutrofile lub inne komórki biorące udział w reakcji zapalnej, np. leukotrien B₄ (LTB₄), czy chemokiny (np. interleukina 8, IL-8). Czas potrzebny na przemieszczenie się neutrofilu z naczyń do tkanek wynosi 15–45 min.

Pojawienie się w ustroju patogenów i/lub uszkodzenie tkanek gospodarza są czynnikami, które inicjują rozwój reakcji zapalnej. Po wnikięciu do ustroju patogeny natychmiast zostają zidentyfikowane jako obce, poprzez rozpoznanie obecnych na ich powierzchni charakterystycznych, konserwatywnych ewolucyjnie struktur, tzw. wzorców molekularnych związanych z patogenem (ang. *pathogen associated molecular patterns*, PAMP) lub uszkodzeniem tkanek (ang. *damage associated molecular patterns*, DAMP). Pierwszymi komórkami, które dokonują tej identyfikacji są obecne w tkankach tzw. leukocyty osiadłe, głównie makrofagi i mastocyty. Struktury PAMP i DAMP są rozpoznawane przez specjalne receptory obecne na leukocytach – tzw. receptory rozpoznające wzorce, PRR (ang. *pathogen recognition receptors*). Związanie receptorów PRR z odpowiednimi strukturami PAMP lub DAMP powoduje aktywację leukocytów osiadłych, które rozpoczynają produkcję i wydzielanie mediatorów zapalnych w ściśle określonej kolejności. Najpierw są to mediatorzy wazoaktywne, czyli czynniki aktywne naczyniowo, jak aminy biogenne

(histamina i serotonina), mediatory lipidowe (prostaglandyny i leukotrieny), czy czynnik aktywujący płytki krwi (ang. *platelet activating factor*, PAF). Czynniki te oddziałują na śródbłonek lokalnych naczyń krwionośnych powodując skurcze mięśniówki naczyń, zwiększenie odstępów pomiędzy komórkami śródbłonna, a co za tym idzie zwiększenie średnicy naczyń krwionośnych i ich przepuszczalności (Ryc. 2). W konsekwencji dochodzi do wysięku osocza wraz z zawartymi w nim białkami do ogniska zapalenia. Kolejnymi mediatorami produkowanymi przez leukocyty osiadłe są cytokiny prozapalne (np. interleukina 1 β) i chemokiny (np. IL-8), które aktywują leukocyty krwi oraz pobudzają ich migrację w kierunku tkanek objętych zapaleniem. W tym celu komórki układu odpornościowego muszą opuścić naczynia krwionośne, czyli musi dojść do wynaczynienia leukocytów, określanego także mianem diapedezy (Ryc. 3).



Ryc. 3. Kolejne etapy wynaczynienia leukocytów.

Proces wynaczynienia leukocytów kontrolowany jest przez szereg cząsteczek adhezyjnych i sygnalizacyjnych. Na początku neutrofile wiążą się ze ścianą naczyń, poprzez oddziaływania białek zwanych selektynami z ich cukrowymi ligandami, co prowadzi do toczenia się komórek po śródbłonku. Następnie czynniki chemotaktyczne, takie jak chemokiny obecne na powierzchni śródbłonna naczyniowego prowadzą do aktywacji leukocytów. Zaktywowane leukocyty wiążą się poprzez występujące na ich powierzchni integryny (białka adhezyjne) ze swoistymi ligandami znajdującymi się na śródbłonku – cząsteczkami immunoglobulinopodobnymi ICAM (ang. *Inter-Cellular Adhesion Molecules*) i VCAM (ang. *Vascular Cell Adhesion Molecules*) prowadząc do ich ścisłej adhezji do śródbłonna. Ostatecznie leukocyty przeciskają się pomiędzy komórkami śródbłonna i migrują przez ścianę naczynia krwionośnego (właściwa diapedeza) oraz leżącą poniżej warstwę błony podstawnej, do czego wykorzystywane są odpowiednie enzymy, takie jak żelatynaza B, czy elastaza neutrofilowa.

Podczas reakcji zapalnej na neutrofile znajdujące się w łożysku naczyniowym oraz na komórki, które uległy już wynaczynieniu oddziałują specjalne czynniki (chemoatraktanty), które ukierunkowują ruch leukocytów w stronę ogniska zapalnego. Proces, w którym PMN migrują ku wzrastającemu stężeniu chemoatraktantów jest określany jako chemotaksja. Chemoatraktanty, takie jak formylowane peptydy pochodzenia bakteryjnego (fMLP), czy produkowane przez organizm gospodarza składniki dopełniacza (C3a, C5a), leukotrien LTB₄, a także chemokiny (zwłaszcza IL-8) wiążąc się z odpowiednimi receptorami na granulocytach obojętnochłonnych pobudzają je do adhezji, migracji, degranulacji, jak również mogą stymulować wybuch tlenowy.

Jak neutrofile zabijają patogeny?

Po dotarciu do ogniska zapalenia neutrofile rozpoczynają walkę z znajdującymi się tam drobnoustrojami chorobotwórczymi. PMN wykorzystują różne mechanizmy, które ogólnie można podzielić na tlenowe oraz beztlenowe. Podstawowym sposobem zwalczania patogenów przez granulocyty obojętnochłonne jest fagocytoza. Proces ten rozpoczyna się od związania obcych antygenów (cząsteczek występujących na powierzchni patogenów) z receptorami powierzchniowymi neutrofilu. Po rozpoznaniu danego drobnoustroju jako obcego zostaje on otoczony przez wypustki cytoplazmatyczne neutrofila, czyli pseudopodia, a następnie zamknięty w tzw. fagosomie. W dalszym etapie dochodzi do połączenia się fagosomu z wewnątrzkomórkowymi ziarnistościami – lizosomami – zawierającymi enzymy lityczne. Dochodzi do fuzji błon i przekształcenia fagosomu w fagolizosom. Ten etap fagocytozy, w którym dochodzi do dwustopniowej zmiany pH w obrębie fagosomu, najpierw do 7,8, a następnie do 6–6,5 jest określany jako dojrzewanie fagosomu. W fagolizosomie drobnoustroje są unieszkodliwiane w sposób zależny od tlenu, czyli na drodze wybuchu tlenowego, jak również mogą być eliminowane w sposób niezależny od tlenu, a więc z wykorzystaniem enzymów i białek o aktywności przeciwbakteryjnej, przeciwwirusowej i przeciwwgrzybiczej.

Podczas wybuchu tlenowego dochodzi do redukcji tlenu cząsteczkowego, co wiąże się z generowaniem niestabilnych, bardzo aktywnych biochemicznie i toksycznych dla patogenów tzw. reaktywnych form tlenu (ang. *reactive oxygen species*, ROS). Należą do nich: anion ponadtlenkowy (O₂⁻), rodnik hydroksylowy (OH[•]), nadutlenek wodoru (H₂O₂), tlen singletowy (¹O₂), a także chloraminy.

W powstawaniu tych związków szczególną rolę odgrywa oksydaza NADPH, czyli wieloskładnikowy kompleks enzymatyczny zlokalizowany w błonie fagosomu. Pod wpływem stymulacji neutrofili dochodzi do zmian w obrębie oksydazy NADPH, które sprawiają, iż enzym ten może przyjąć elektrony z NADPH po stronie cytoplazmatycznej oraz dostarczyć je cząsteczkom tlenu po drugiej stronie błony fagosomu. W ten sposób dochodzi do redukcji tlenu molekularnego oraz wytwarzania anionu ponadtlenkowego, który przy udziale enzymu dysmutazy ponadtlenkowej jest zamieniany na nadtlenek wodoru. H_2O_2 z kolei ulega dalszym przemianom, m.in. jest substratem w reakcji katalizowanej przez, uwalnianą z ziarnistości azurofilnych, mieloperoksydazę. W reakcji tej powstaje przede wszystkim kwas podchlorawy (HOCl), ale produktami mogą także być inne kwasy halogenowe (np. HOSCN). Powstałe kwasy halogenowe mogą ulegać dalszym reakcjom, w wyniku których powstają aktywne biologicznie związki różniące się między sobą okresem półtrwania, zdolnością dyfuzji poza fagosom oraz reaktywnością z ciałami obcymi. Takimi związkami są np. chloraminy, czyli czynniki o skutecznym działaniu przeciwbakteryjnym, które powstają w reakcji kwasu podchlorawego z aminami.

O roli jaką ROS ogrywają w walce z patogenami świadczą chociażby konsekwencje związane z zaburzeniami ich produkcji przez neutrofile, czego przykładem są pacjenci cierpiący na przewlekłą chorobę ziarniakową (ang. *chronic granulomatous disease*, CGD). Schorzenie to jest skutkiem nieprawidłowości w budowie oksydazy NADPH, które uniemożliwiają redukcję tlenu molekularnego, a co za tym idzie wytwarzanie ROS. W efekcie u osób cierpiących na CGD dochodzi do ciągłych, zagrażających życiu nawrotów zakażeń bakteryjnych oraz grzybiczych.

Z kolei beztlenowe mechanizmy zwalczania patogenów związane są z produkcją przez neutrofile bakteriobójczych enzymów oraz kationowych peptydów i białek o działaniu przeciwbakteryjnym. W spoczynkowych neutrofilach wspomniane białka znajdują się w ziarnistościach, ale pod wpływem stymulacji, na skutek fuzji ziarnistości z nowo powstałym fagosomem dochodzi do uwolnienia zawartości ziarnistości do wnętrza fagosomu, dzięki czemu znajdujący się tam patogen zostaje narażony na wysokie stężenie toksycznych dla niego czynników.

Występujące w dużych ilościach w ziarnistościach PMN białka przeciwbakteryjne, takie jak defensyny, czynnik bakteriobójczy zwiększający przepuszczalność (ang. *bactericidal permeability increasing factor*, BPI) oraz lizozym działają przede wszystkim poprzez uszkodzenie anionowej powierzchni komórek

bakteryjnych, dzięki czemu ściana komórkowa bakterii staje się bardziej przepuszczalna. W ziarnistościach granulocytów obojętnochłonnych znajdują się także proteazy, takie jak elastaza neutrofilowa (ang. *neutrophil elastase*, NE), czy kathepsyna G (ang. *cathepsin G*, CG), które niszczą białka komórek bakteryjnych, w tym także czynniki wirulencji. Opisane wyżej białkowe składniki ziarnistości PMN mogą działać zarówno w przedziałach wewnątrzkomórkowych (fagolisosom), jak również mogą być uwalniane na zewnątrz granulocytów obojętnochłonnych, co określamy mianem degranulacji. W tym przypadku wydzielone enzymy i białka oddziałują na patogeny znajdujące się w płynach ustrojowych oraz tkankach.

Wydzielane przez neutrofile proteazy nie tylko negatywnie oddziałują na mikroorganizmy chorobotwórcze, ale także powodują rozkład tkanek w miejscu objętym reakcją zapalną. Mogłoby się wydawać, iż jest to negatywny efekt działania granulocytów obojętnochłonnych towarzyszący zapaleniu, jednak lokalne uszkodzenie tkanek powodujące ich upływnienie i tym samym tworzenie ropy, ma bardzo często kluczowe znaczenie dla przeżycia organizmu. Zniszczenie tkanek ułatwia bowiem kontakt neutrofili z patogenami, a przerwanie ciągłości kapilar i naczyń limfatycznych odcina drogi ucieczki drobnoustrojów z ogniska zapalenia.

Ponadto neutrofile mogą unieszkodliwiać patogeny poprzez ograniczenie dostępu bakterii do pewnych czynników, które są im niezbędne do życia, takich jak jony żelaza i cynku. We wnętrzu ziarnistości specyficznych zgromadzona jest m.in. laktoferyna, która ma zdolność do wiązania żelaza. Białko to jest uwalniane do fagosomu oraz przestrzeni zewnątrzkomórkowej, gdzie konkuruje z czynnikami bakteryjnymi wiążącymi żelazo, tzw. sideroforami. Neutrofile uwalniają również lipokalinę-2, czyli białko, które otacza siderofory uniemożliwiając im dostarczenie żelaza do komórki bakteryjnej. Co więcej cytoplazma PMN zawiera kompleksy białkowe S100, takie jak kalprotektyna. Białka te są transportowane i wydzielane na zewnątrz komórki, po czym docierają do miejsc objętych reakcją zapalną, gdzie wiążą jony cynku, które dzięki temu stają się niedostępne dla bakterii.

Nieprawidłowości w przebiegu zabijania niezależnego od tlenu występują między innymi w syndromie Chediak-Higashi, czy niedoborze ziarnistości specyficznych. W obu schorzeniach charakterystyczne objawy to nawracające zakażenia oraz skrócona średnia długość życia pacjentów. W przypadku syndromu

Chediak-Higashi neutrofile zawierają olbrzymie ziarnistości, które są wynikiem połączenia ziarnistości azurofilnych i specyficznych. Takie granulocyty obojętnochłonne mają ograniczoną zdolność do degranulacji. Z kolei w przypadku niedoboru ziarnistości specyficznych mamy do czynienia z brakiem wspomnianych ziarnistości, co z kolei prowadzi m.in. do niedoboru defensyn.

Jak neutrofile tworzą sieci?

Kolejnym, odkrytym w 2004 roku przez zespół Arturo Zychlinsky'ego mechanizmem wykorzystywanym przez neutrofile do zwalczania patogenów są tzw. zewnątrzkomórkowe sieci neutrofilowe (ang. *neutrophil extracellular traps*, NET). NET mają postać sieci uwalnianych przez neutrofile do przestrzeni zewnątrzkomórkowej. Sieci te utworzone są z włókien DNA i białek histonowych połączonych ze składnikami białkowymi występującymi w ziarnistościach neutrofilii, takimi jak elastaza neutrofilowa, mieloperoksydaza, katepsyna G, laktoferyna, BPI, czy żelatynaza B. Ponadto składnikami NET są także białka cytoplazmatyczne, takie jak białko wiążące wapń oraz elementy cytoszkieletu (np. aktyna, miozyna, plastyna). Źródłem DNA, stanowiącego szkielet NET jest nie tylko jądro komórkowe, ale jak się ostatnio okazało, również mitochondria.

Wytwarzanie zewnątrzkomórkowych sieci (ang. *extracellular traps*, ET) zaobserwowano także w przypadku eozynofili oraz mastocytów, a więc komórek, które podobnie jak PMN posiadają w swojej cytoplazmie ziarnistości. Okazuje się, iż szkielet struktur ET, produkowanych przez eozynofile, stanowi wyłącznie DNA mitochondrialny. Ponadto w przypadku sieci ET eozynofile najpierw wydzielają DNA, a dopiero potem przyłączają się odpowiednie białka, co odróżnia te struktury od NET, które powstają w obrębie granulocytów obojętnochłonnych i gotowe są wydzielane na zewnątrz komórek. Wytwarzane sieci (zarówno NET jak i ET) pełnią funkcję pułapek dla patogenów, które po unieruchomieniu w sieci poddawane są działaniu licznych białek powodujących ich śmierć. Dodatkowo w obrębie NET stwierdzono występowanie cząsteczek PRM (ang. *pattern recognition molecules*), które w swoim działaniu przypominają przeciwciała. Przeciwciała to elementy układu odpornościowego, które mają zdolność do swoistego rozpoznawania antygenów i wiązania się z nimi, wyznaczając tym samym cel dla układu odpornościowego. W podobny sposób cząsteczki PRM wiążą się z konserwatywnymi strukturami, czy też białkami obecnymi na powierzchni mikroorganizmów,

co prowadzi do aktywacji dopełniacza (układ ok. 40 białek stanowiących element odporności wrodzonej), zwiększenia intensywności fagocytozy, jak również odgrywa rolę w regulacji reakcji zapalnej.

Wytwarzanie NET rozpoczyna się od zmian w obrębie jądra komórkowego. Najpierw dochodzi do zaniku wyraźnej granicy pomiędzy euchromatyną i heterochromatyną, po czym jądro neutrofilii traci charakterystyczną segmentację oraz przyjmuje kulisty kształt. W kolejnym etapie dochodzi do rozpadu otoczki jądrowej oraz błon ziarnistości neutrofilii, co umożliwia połączenie materiału jądrowego ze składnikami ziarnistości. W rezultacie dochodzi do powstania NET, które są uwalniane po rozpadzie fragmentu błony komórkowej neutrofilii, przy czym sieci pozostają związane z komórką, nie odłączają się całkowicie od niej. Opisane zmiany zachodzące na skutek kontaktu PMN z patogenami prowadzą do stosunkowo wolnego wytwarzania sieci, gdyż proces ten trwa 2–3 godziny. O wiele szybsze tworzenie NET następuje przy udziale płytek krwi. Związanie obecnego na powierzchni bakterii lipopolisacharydu z odpowiednim receptorem płytkowym powoduje aktywację płytek krwi, które bardzo szybko przylgają się do neutrofilii, prowadząc do wytworzenia i wyrzucenia na zewnątrz sieci. W tym przypadku cały proces trwa ok. 10 minut.

Mimo wszystko pewne patogeny są w stanie uniknąć śmierci, gdyż wykształciły mechanizmy, które zabezpieczają je przed działaniem NET. Do takich mechanizmów należy zdolność niektórych szczepów bakterii do syntezy enzymów z rodziny DNaz, rozkładających szkielet NET, jakim są nici DNA. Ponadto istnieją drobnoustroje, które są w stanie zmieniać ładunek elektryczny na swojej powierzchni, dzięki czemu są one „odpychane” przez NET. Patogeny mogą także zmniejszać powinowactwo swojej powierzchni do zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych, przez wytwarzanie polisacharydowych kapsuł. Wreszcie niektóre patogeny zaburzają sam proces tworzenia NET, gdyż syntetyzują enzym katalazę, który umożliwia rozkład H_2O_2 , dzięki czemu nie dochodzi do produkcji ROS, niezbędnych do wytwarzania sieci.

Zarówno wytwarzanie jak i usuwanie NET musi być ściśle kontrolowane, gdyż w przeciwnym razie nieprawidłowości w przebiegu tych procesów mogą prowadzić do poważnych chorób, takich jak zaburzenia czynności płuc, uszkodzenia wątroby, a także mogą być przyczyną uszkodzeń śródbłonna naczyniowego i chorób autoimmunizacyjnych. Występowanie zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych stwierdzono też u pacjentów chorych na mukowiscydozę.

Leczenie z zastosowaniem DNAs redukuje u nich objawy choroby oraz poprawia funkcjonowanie płuc.

Śmierć patogenów i co dalej?

W tej chwili już dość dużo wiemy na temat prozapalnej roli neutrofilii. Okazuje się jednak, że komórki te biorą również aktywny udział w wyciszeniu zapalenia, co jest związane z ich zdolnością do produkcji specjalnych mediatorów lipidowych, takich jak lipoksyny, resolwiny oraz protaktyny. Mediatorzy te m.in. hamują napływ kolejnych PMN do ogniska zapalenia, a także przyczyniają się do zwiększonej ekspresji receptorów wabików (ang. *decoy receptors*) przez neutrofile, co odgrywa rolę w blokowaniu, a tym samym hamowaniu aktywności różnych chemokin i cytokin. W ten sposób neutrofile kończą swój udział w zapaleniu i giną śmiercią apoptotyczną, która poprzedza usunięcie tych komórek z tkanek przez makrofagi. Apoptoza neutrofilii jest bardzo ważnym etapem procesu zapalnego, który prowadzi do jego wyciszenia, a także zabezpiecza zdrowe tkanki przed uszkodzeniem. Apoptotyczne neutrofile poprzez podwyższenie ekspresji cząsteczek sygnałowych

„eat-me” (zjedz mnie), takich jak np. fosfatydyloseryna, ułatwiają ich pochłanianie przez makrofagi. Pozbycie się apoptotycznych PMN na drodze fagocytozy jest kluczowe dla rozpoczęcia procesu naprawy uszkodzonych tkanek (gojenia się ran).

Podsumowanie

Neutrofile, czyli pierwsze leukocyty docierające do ogniska zapalenia odgrywają kluczową rolę w eliminacji patogenów podczas odczynu zapalnego. W tym celu fagocytują patogeny, a następnie zabijają je na drodze tlenowej i/lub beztlenowej. Komórki te są również zdolne do „wyłapywania” drobnoustrojów z wykorzystaniem tzw. neutrofilowych sieci zewnątrzkomórkowych. Jednakże rola neutrofilii nie jest, jak wcześniej sądzono wyłącznie prozapalna. Komórki te biorą również udział w prawidłowym wygaszeniu zapalenia. Ogromne znaczenie neutrofilii dla rozwoju reakcji odpornościowej potwierdzają obserwacje pacjentów z defektami w funkcjonowaniu tych komórek, np. osób z przewlekłą chorobą ziarniakową, czy syndromem Chediak-Higashi.

Mgr Łukasz Pijanowski jest doktorantem w Zakładzie Immunologii Ewolucyjnej Instytutu Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. E-mail: lukasz.pijanowski@uj.edu.pl

Dr hab. Magdalena Chadzińska jest kierownikiem Zakładu Immunologii Ewolucyjnej Instytutu Zoologii UJ. E-mail: magdalena.chadzińska@uj.edu.pl

POWRÓT MARIHUANY DO FARMAKOPEI?

Jerzy Vetulani (Kraków)

Wiadomość o tym, że preparat z konopi indyjskiej, nabiximols, znany pod handlową nazwą Sativex[®], ma zostać dopuszczony jako lek w Polsce obudził nadzieje około 40,000 chorych cierpiących w naszym kraju na stwardnienie rozsiane oraz obawy pewnych środowisk, zwłaszcza medialnych, że doprowadzi to do katastrofalnych skutków społecznych. Chociaż fachowcom wydaje się oczywistym, że obawy te są całkowicie nieuzasadnione, ich istnienie jest jednak realnym faktem i należy uczynić wszystko, aby obawy te rozproszyć. Nie jest to rzeczą niemożliwą – wiele fobii społecznych powoli, ale skutecznie udało się wyeliminować całkowicie. Nikt nie myśli w Polsce obecnie o karze śmierci, ani o jakiegokolwiek karze za czarowanie i rzucanie uroków (karę śmierci za czary, usankcjonowaną bullą *Summis desiderantes* Innocentego VIII w 1484 r., zniósł w Polsce Sejm w roku 1776), ale ilość ofiar maleficofobii szła co najmniej w tysiące. Zresztą ostatnie wyroki za czary

w Europie zapadły w Wielkiej Brytanii w 1949 r. – Helen Duncan została skazana na 9 miesięcy więzienia, a 72 letnia Jane Rebecce Yorke – na 5 funtów grzywny. O ile w Wielkiej Brytanii rzucanie czarów przestało być przestępstwem w roku 1951, w USA nie jest tak dobrze, a ostatnia znana mi sprawa to natychmiastowe zawieszenie Brandi Blackbear, 15-letniej uczennicy 9 klasy publicznej szkoły średniej w Tulsa, w Oklahomie, w prawach uczennicy, za rzucenie czaru na nauczycielkę, w wyniku czego ta ostatnia dostała ostrego ataku wyrostka robaczkowego. Rodzice Brandi pozwali szkołę do sądu. Ale czarownice w USA mają się nieźle, w porównaniu z tym, co może je spotkać w krajach islamu. W roku 2010 oskarżony o czary 48-letni prezenter libańskiej telewizji Ali Husajn Sibat został w Arabii Saudyjskiej skazany na śmierć.

Lęk przed czarownicami, maleficofobia, to nie jedyna fobia społeczna skutkująca prześladowaniami