

A Polymorfonukleáris-leukociták (PMNL) és a Monocita-Makrofág rendszer szerepe a szöveti sérülésekben

Fűrész J., orvos-alezredes
Schwetter K.,
Pállinger É., orvos-őrnagy
Lakatos Zs.,
Hldeg J. orvos-vezérőrnagy

Közlésre érkezett: 1993. 04. 10.

Kulcsszavak: monocita-makrofág rendszer, PMNL, szöveti károsodás, adhéziós molekulák, szabadgyök release

Napjainkban az alapkutatások eredményei egyre gyorsabban kerülnek át a gyakorlati alkalmazás területére. Az ischiémás reperfüziót követő szöveti sérülések alakulását és regenerálódását az érfal (endotél sejtek) és keringés sejtjes, ill. szolubilis elemeinek kölcsönhatása, egyensúlyi eltolódása határozza meg. Közülük a monocita-makrofág és a PMN-granulociták adhézió tulajdonságait, szabadgyök germináló képességét és az immunrendszer granulociták általi aspecifikus aktiválásának folyamatát tekintettük át az utóbbi idők irodalmának tükrében, rámutatva az elméleti és az alkalmazás összefüggéseire.

Rövidítések:

- AA — arachidonsav
- DAG — diacilglicerol
- EGF — epiteliális növekedési faktor
- FGF — fibroblaszt növekedési faktor
- ICAM — intercelluláris adhéziós molekula
- IPS — inozitoltrifoszfát
- MAC — monocita (makrofág) adhéziós molekula
- PAF — trombocita aktiváló faktor
- PDGF — trombocita eredetű növekedési faktor
- PKC — proteinkináz
- TGF — transforming growth factor

A szöveti károsodást követő gyulladós folyamat a szervezet legkiterjedtebb adaptációs reakciója. Biológiai célszerűsége a károsodást kiváltó tényezők hatástalanítása, ill. az egyensúlyi állapot visszaállítása. A sérülést létrehozó tényezők eliminálása közben fiziológiás körülmények között is keletkeznek szövetkárosító anyagok, azonban ezek közömbösítése megoldott. A károsító és regeneráló tényezők egyensúlya meghatározó a folyamat kimenetele szempontjából. A homeosztázis megbomlása többek között a károsodás irányába történő eltolódást, azaz jelentős szöveti sérülést eredményezhet. Ebben jelentős szerepet

játszanak a nem-specifikus védekezés alapköveinek tartott monociták és granulociták.

Jelen munkában az alternatív, vaszkuláris és proliferatív szakaszok közül a vaszkuláris fázis sejt, ill. molekuláris mechanizmusát foglaljuk össze.

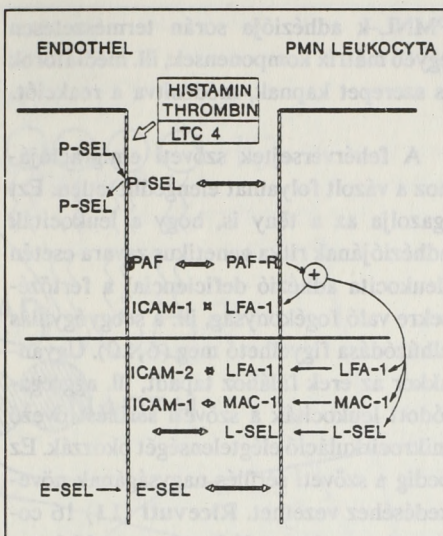
A szöveti károsodás kialakulása

Az endotél sejtek és a keringés sejtjei közötti kölcsönhatás megváltoztatása meghatározó a mikrokapilláris szöveti károsodás kialakulásában, hiszen a károsító és regenerációs tényezők egyensúlya eltolódik.

A leukociták aktiválódásakor fokozódik az adhéziós és aggregációs készségük, szabadgyökök és proteolitikus enzim kibocsátásuk, továbbá megváltoztatják az endotél sejtek funkcionális állapotát, valamint a trombociták aggregabilitását. A PMNL-k relatíve nagy, ragadós sejtek, melyek könnyen aggregálódnak és/vagy az érfalhoz tapadhatnak.

A kapillárisok lumenét elzárva súlyosbítják a mikrocirkuláció zavarát (1. ábra).

A folyamat megindításában a jól ismert gyulladáshoz vezető mediátorok u.m.: hisztamin, leukotrién-C₄ és a trombin játszik a kulcsszerepet. Hatásukra az endotél sejt felszínére kerül az — addig a sejtmembrán alatti granulárisokban található — platelet-szelektin, és keletkezik a trombocita aktiváló faktor (PAF). Ez utóbbi érdekessége, hogy szemben az egyéb sejtekből származó PAF-fal az endotél membránjához kötötten marad, majd ehhez kapcsol-



1. ábra

Polimorfonukleáris leukociták endotél sejtéhez történő adhéziójának folyamata. (A vízszintes vonal feletti lépések percek, míg az alatti részek órák alatt) mennek végbe.

lódnak a PMNL-k a felszínükön található PAF-receptorokon keresztül. Ez az elsődleges kapcsolódás iniciálja az intercelluláris kommunikáció folyamatát biztosító integrinek családjába tartozó adhéziós molekulák aktiválódását (leukocita funkcionális antigén: LFA-1), ill. expresszióját (LFA-1, monocita/makrofág adhéziós molekula: MAC-1). Az aktiválódott LFA-1 és MAC-1 endotél felszínén található, az immunglobulin szupercsaládba tartozó intercelluláris adhéziós molekulákhoz (ICAM-1, ICAM-2) képesek kötődni. További kötődés jön létre a leukociták (L-szelektin), ill. az endotél sejtek felszínén található (E-szelektin) szelektinek között. Ez utóbbi kölcsönhatás biztosítja, hogy a PMNL a véráramlás sodró hatása ellenére is képes az endotél felszínéhez kapcsolódni (13, 16). A

PMNL-k adhézioja során természetesen egyéb mátrix komponensek, ill. mediátorok is szerepet kapnak, módosítva a reakciót.

A fehérvérsejtek szöveti emigrációjához a vázolt folyamat elengedhetetlen. Ezt igazolja az a tény is, hogy a leukociták adhéziojának ritka genetikus zavara esetén (leukocita adhézio deficiencia) a fertőzésekre való fogékonyság, ill. a sebgyógyulás elhúzódása figyelhető meg (6,10). Ugyanakkor az erek falához tapadt, ill. aggregálódott leukociták a szöveti sérülést övező mikrocirkuláció elégtelenségét okozzák. Ez pedig a szöveti sérülés nagyságának növekedéséhez vezethet. Ricevuti (11) 16 coronaria megbetegedésben szenvedő beteg esetén igazolta, hogy a sinus coronarius vérből izolált PMNL-k aktivitása szignifikánsan magasabb (pl. aggregációs és aktív oxigén gyök termelő készség) az egészséges kontrollokénál. Ismertek olyan adatok is, miszerint az adhézio gátlásával jelentős mértékben lehet a szöveti sérülés nagyságát csökkenteni (5,14). Az utóbbi években számos adat jelent meg arról, hogy a mikrocirkuláció javítása céljából alkalmazott pentoxifyllin, a vörösvérsejtek flexibilitásának javításán túl csökkenteni a leukociták adhézio molekulinak expresszióját és aktív oxigén gyök produkcióját.

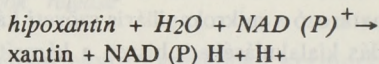
Ezen hatásaival együttesen javítja a mikrocirkulációt, ill. csökkenti a szöveti sérülés nagyságát (12,15).

A leukocitákból felszabaduló aktív oxigén gyökök jelentős szerepet játszanak a kórokozók eliminálásában, ugyanakkor súlyosbíthatják is a szöveti sérülést. Nagyszámú kísérleti adat szól amellett, hogy a reaktív oxigén származékoknak (O_2^- , H_2O_2 , $\cdot OH$) jelentős szerepe van mind a mikrovaszkulá-

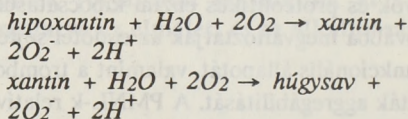
ris, mind a kötőszöveti sejtek sérülésében, az ischaemia és gyulladásos szöveti károsodás kialakulásában.

A keringésben aktív oxigén metabolitok, vagy a kapilláris endotél sejtek xantinoxidáz, vagy a neutrofil granulociták NADPH-oxidáz enzimeinek működése során képződhetnek.

Fiziológiásan a hipoxantin-xantin átalakulást a xantin-dehidrogenáz (XDH-áz) katalizálja az alábbiak szerint:

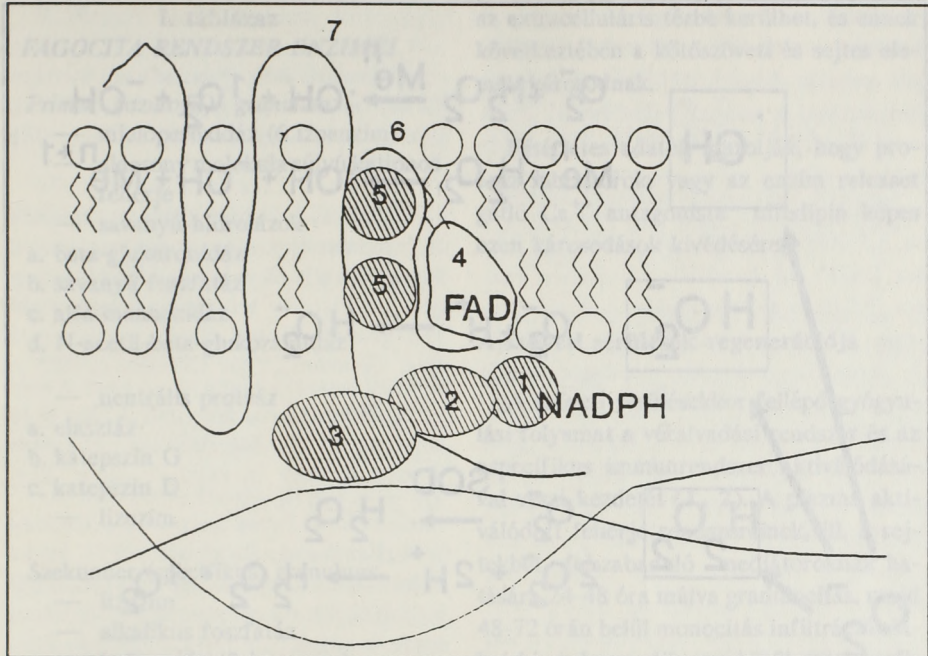


NAD(P)H hiányában a xantindehidrogenáz xantin-oxidázzá alakul (XOD), elektron akceptorként molekuláris oxigént használva.



A reakció mindkét lépésben szuperoxid anion (O_2^-) képződik, amely további, szövetkárosító aktív oxigén metabolitok forrásul szolgál. A másik nagy szabadgyök forrást a granulocita-makrofág rendszer képezi. A PMNL-k plazmamembránjában, ill. lizoszóma membránjában található egy, több alapegységből álló transzmembrán enzim, amely a citoplazmatikus NAD(P)H felhasználásával az oldott oxigén molekula egy elektronos redukcióját katalizálja (2. ábra)

Az ily módon keletkezett szuperoxid anion, rövid életidejű, igen reaktív szabadgyök, amely spontán, vagy a szuperoxid dizmutáz



2. ábra

A NADPH oxidase feltételezett szerkezete

Cytosol komponensek:

1. p32^{phox} 2. p47^{phox} 3. p67^{phox}

A cytosol komponensekhez tartozik még az ábrán külön nem jelölt Krey-1 (rap 1), amely a regulációban fontos szerepet játszik.

Funkcióját tekintve G protein.

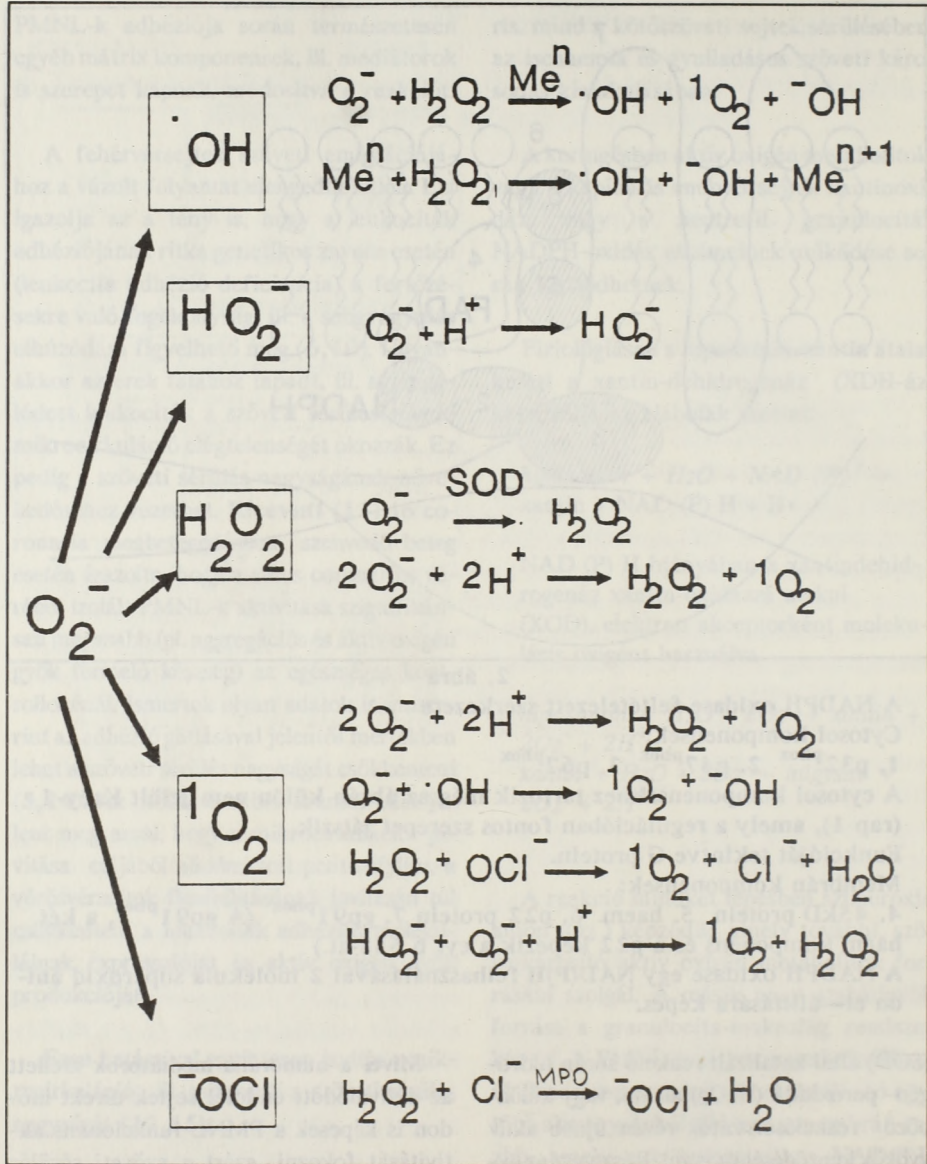
Membrán komponensek:

4. 45kD protein 5. haem 6. p22 protein 7. gp91^{phox} (A gp91^{phox}, a két haem komponens és a p22 képezik a cyt b 558-at.)

A NADPH oxidase egy NAD(P)H felhasználásával 2 molekula superoxid anion elállítására képes.

(SOD) által katalizált reakció során hidrogén-peroxid (H₂O₂) alakul, vagy különböző reakciósorozatok révén újabb aktív gyökök képződéséhez vezet. Résztvesz az aktív hidroxil-gyök (OH[•]) a perhidroxil-gyök (HO₂[•]), a szinglet oxigén (¹O₂) kialakulásában, halogén ionok jelenlétében pedig a sejtekből kiszabaduló mieloperoxidáz hatására a halid savak (HO-halid) képzésében (3. ábra).

Mivel a humorális mediátorok mellett az aktiválódott endotél sejtek direkt módon is képesek a PMNL funkcionális aktivitását fokozni, ezért a szöveti sérülés nagyságát jelentősen csökkenthetjük, ha a termelődött aktív oxigén származékokat gyökfogó molekulákkal, ill. enzimekkel elimináljuk.



3. ábra

A superoxid anionból in vivo képződő aktív oxigén származékok és a keletkezésük menete

A monocita-makrofág rendszer sejtjeiben és a PMNL-ban jelentős mennyiségben találhatóak enzimek, amelyek gyakorlatilag a szervezetbe került mikroorganiz-

musok minden komponensét képesek lebontani. A PMNL-k lizoszomális enzimkészletét az 1. táblázatban foglaltuk össze.

I. táblázat

A FAGOCITA RENDSZER ENZIMEI

Primer (azurofil) granulum:

- mieloperoxidáz (6 izoenzim)
- alacsony molekula súlyú kationos fehérje
- savanyú hidrolázok
- a. beta-glukuronidáz
- b. savanyú foszfatáz
- c. alfa-mannozidáz
- d. N-acetil-beta-glukozamidáz

— neutrális proteáz

- a. elasztáz
- b. katepszin G
- c. katepszin D
- lizozim

Szekunder (specifikus) granulum:

- lizozim
- alkalikus foszfatáz
- kollagenáz (3 izoenzim)
- B12 vitamin kötő fehérje
- laktoferrin

Tercier granulum:

- zselatináz
- adhezív molekulák

Fiziológiás körülmények között a lizoszómák az intracellularizálódott fagoszóma zárt üregébe ürítik tartalmukat. A nyugalomban lévő sejtek alig, míg a gyulladásos szövetből izoláltak jelentős mértékben ürítenek neutrális proteázokat az extracelluláris térbe. A fagocitózis folyamatában az intracelluláris jelátvivő mechanizmus (inozitol-trifoszfát: IP₃, diacil-glicerol: DAG, Ca⁺⁺, proteinkináz-C: PKC, arahidonsav: AA) mellett az aktin filamentumok koordinált működése szükséges.

Az intracelluláris fagocitózis zavara (regurgitáció, frusztrált fagocitózis), ill. a sejt pusztulása esetén a lizoszómák tartalma

az extracelluláris térbe kerülhet, és ennek következtében a kötőszöveti és sejtes elemek károsodnak.

Kísérletes adatok igazolják, hogy proteáz inhibitorok, vagy az enzim release gátló Ca⁺⁺ antagonistá nifedipin képes ezen károsodások kivédésére.

A szöveti sérülések regenerációja

A szöveti sérülésekkor fellépő gyógyulási folyamat a vérárvadási rendszer és az aspecifikus immunrendszer aktiválódásával veszi kezdetét (1, 2). A plazma aktiválódott fehérje rendszereinek, ill. a sejtekből felszabaduló mediátoroknak hatására 24-48 óra múlva granulociták, majd 48-72 órán belül monociták infiltráció alakul ki. A harmadik nap körül már megfigyelhető a kollagén szintézis fokozódása érújraképződése. Ennek szabályozásában kulcsszerepet játszanak azok a hírvívő molekulák, amelyek a sérült, vagy az odavándorló sejtekből keletkeznek, mint pl. a „transforming growth factor” (TGF), a trombocita eredetű növekedési faktor (PDGF), a PAF, a leukotrién B₄ (LTB₄), a trombomodulin, a fibrinogén, stb.. Ezen anyagok a fibroblasztok és a PMNL-monocita rendszer sejtjeinek direkt aktiválása révén hatnak a szöveti gyógyulásra.

A granulociták a korábbi vélemények szerint elsősorban a szöveti törmelék eltávolításában, ill. az infekciós megelőzésben játszanak szerepet. Ma már tudjuk, hogy aktiválódásuk során a sejtműködést szabályozó lipidmediátorok, ill. citokinek egész sorát termelik, ezért nem lehet őket egyszerű effektor sejteknek tekinteni (7).

A monocita-makrofág rendszer, ill. az általuk termelt mediátorok jelentőségét mutatja, hogy szelektív makrofág eliminációval a sebgyógyulás zavart szenved, ill az ily módon károsított regenerálódás néhány citokin segítségével normalizálható. Ezideig a TGF-alfa, ill. -beta, a PDGF, a fibroblaszt növekedési faktor (FGF), az epiteliális növekedési faktor (EGF) és az interleukin-2 (IL-2) szerepe látszik bizonyítottnak (3,7,8,9). A monocita-makrofág rendszer sejtes elemeinek a reguláción túlmutató jelentőségét az a megfigyelés is jelzi, hogy a makrofágok megfelelő környezetben önmaguk is átalakulhatnak kollagén rostokat termelő fibroblasztokká (4).

Köszönetnyilvánítás:

Ezúton mondanak köszönetet a szerzők *Dr. Fent Jánosnak*, e cikk formába öntéséhez nyújtott segítségéért.

1. Asslan, R.K., Komoriya, A., Myes C. A.: Transforming growth factor beta in human platelets. *J. Biol. Chem.*, 258: 7155-7160 (1983)

2. Baird, A., Mormende, P., Bohlen, P.: Immunoreactive fibroblast growth factor in cells of peritoneal exudate suggest its identity with macrophage derived growth factor *Biochem Biophys. Res. Commun.*, 126: 359-364 (1985)

3. Barbul, A., Hansen, J. K. Waserkrug, H. L.: Interleukin 2 enhances wound healing in rats. *J. Surg. Res.*, 40: 315-319 (1986)

4. Bertrand, S., at all.: Transdifferentiation of macrophages into fibroblasts as a result of Schistosoma mansoni infection. *Int. J. Dev. Biol.* 36: 179-184 (1992)

5. Carden, D. L., Smith, J. K., Kort-huis, R. J.: Oxidant mediated, CD18 dependent microvascular dysfunction induced by complement activated granulocytes. *Am. J. Physiol.* 260: H1144-H1152 (1991)

6. Gresham, H. D., at all.: Leukocyte adhesion-deficient neutrophils Fail to amplify Phagocytic function in response to stimulation. *J. C, Lin. Invest.*, 88: 588-597 (1991)

7. Leibovich, S. J., Ross, R.: The role of the macrophage in wound repair. *Am. J. Pathol.*, 78: 71-100 (1975)

8. Mustoe, T. A., Pierce, G. F., Thomason, A.: Accelerated healing of incisional wounds in rats induced by transforming growth factor. *Science*, 237: 1333-1336 (1987)

9. Pierce, G. F., Mustoe, T. A., Lingelbach, J.: Platelet-derived growth factor and transforming growth factor beta enhance tissue repair by unique mechanisms. *J. Cell. Biol.*, 109: 429-440 (1989)

10. Prieto, J., at all.: Molecules mediating adhesion of T and B cells, monocytes and granulocytes to vascular endothelial cells. *Immunology*, 63: 631-637 (1988)

11. Recevuti, G., at all.: New trends in coronary disease: the role of granulocyte activation. *Atherosclerosis*, 78: 261-265 (1989)

12. Sullivan, G. W., at all.: Lack of correlation between TNF-inhibition of PMN migration and enhanced PMN exudative activity and adherence: Implications for mechanisms of pentoxifylline action in Pentoxifylliu & Analogues: Effect a Leukocyte Function pp 1-8 Ed. J. Hakim et. al. (KARGER) 1990.

13. Tonnensen, M. G., at all.: Adherence of neutrophils to cultured human microvascular endothelial cells. *J.Clin.Invest.*, 83: 637-646 (1989)

14. Trezzini, C., at all.: Evidence that exposure to fibrinogen or to anti bodies directed against MAC-1 modulates human monocyte effector functions *British J. Haematol.*, 77: 16-24 (1991)

15. Yonemaru, M., at all.: Pentoxifyllin does not attenuate acute lung injury in the absence of granulocytes. *J. Appl. Physiol.*, 71: 342-351 (1991)

16. Zimmerman, G.A., Prescott, S.M., McIntyre, T.M.: Endothelial cell interactions with granulocytes: tethering and signalling molecules. *Immunology Today*, 13: 93-100 (1992)

Lt. Col. József Fűrész
Katalin Schweitzer Ph. D.,
Maj. Éva Pállinger M. D.,
Zsuzsa Lakatos Ph. D.,
Maj. Gen. János Hideg M. D. M. C.

Role of Polymorphonuclear leucocytes (PMNL) and monocyte-macrophage system in tissue damage

In our days transfer into practice of results obtained in basic research is highly accelerated. Degree and regeneration of tissue of tissue damage due to ischemic reperfusion depend on interactions between the vessel wall (endothelial cells) and the cellular and soluble elements of the circulating blood. Based on the literature, the authors review adhesive properties, free radical generating capacity of monocyte-macrophage and PMN granulocytes and the process of aspecific activation of immune system by granulocytes emphasizing relation between theory and use in practice.

Dr. Fűrész József
MH Katonaorvostani Kutató Központ
Kóréletani Kutató Osztálya
Budapest, Pf.: 50., 1387