

Fagocytoza granulocytów obojętnochłonnych – fakty znane i nieznanne

PAULINA NIEDŹWIEDZKA, WIESŁAW DEPTUŁA

Katedra Mikrobiologii i Immunologii Wydziału Nauk Przyrodniczych USz,
ul. Felczaka 3a, 71-412 Szczecin

Niedźwiedzka P., Deptuła W.

Phagocytosis of polymorphonuclear cells – known and unknown facts

Summary

The paper concerns a very important element of innate immunity, i.e. the polymorphonuclear cell, which by the process of phagocytosis participates in defending the macroorganism against pathogens. New facts about phagocytosis have been described – metalloproteases and galectins regulating migration, selectins enhancing adherence, opsonins taking part in absorbance and oxygen dependent and independent systems as mechanisms of intracellular digestion and killing. Moreover, fate of the phagocytosed polymorphonuclear cell has been shown, including apoptosis.

Keywords: polymorphonuclear cell, phagocytosis

Niezwykle istotną komórką układu odpornościowego (UO) ssaków jest granulocyt obojętnochłonny (neutrofil – mikrofag – komórka polimorfonuklearna – PMN), który dzięki swoim zdolnościom do procesu fagocytozy stanowi pierwszą linię obrony i bardzo ważny element odporności naturalnej (1, 10). Ten bardzo aktywny proces, jakim jest fagocytoza, składa się z czterech podstawowych etapów, to jest: migracji i chemotaksji, przylegania (adherencji), pochłaniania i wewnątrzkomórkowego trawienia i zabijania, w wyniku którego dochodzi do niszczenia substancji „obcych”, ale także aktywacji innych elementów układu odpornościowego (UO) (1, 10). Warto dodać, że fagocytoza łączy się z pinocytozą, endocytozą, egzocytozą (3), jak też opisaną ostatnio „zewnętrzną fagocytozą” (3, 14).

Pinocytozą określa się pobieranie substancji obcych w stanie płynnym do wnętrza komórek. W tym procesie błona ulega wpukleniu do środka, tworząc pęcherzyk zawierający pobraną substancję, która wewnątrz cytoplazmy jest degradowana enzymami ziarnistości. Endocytoza to trawienie cząstek wewnątrz komórki przez lizosomy^{*)}, czyli obłonione struktury komórkowe, zawierające enzymy hydrolityczne wspomagające wewnątrzkomórkowe trawienie i zabijanie. Obok typowej, klasycznej endocytozy wykazano inny mechanizm wnikania do komórek (szczególnie wirusów) i jest to endocytoza kierowana receptorami z udziałem dołków opłaszczonych klatryną, endocytoza niezależna od klatryny i warunkowana przez kaweole oraz endocyto-

za z udziałem tratw lipidowych (4). Natomiast egzocytoza to wydalanie ziarnistości do przestrzeni pozakomórkowej i niszczenie obcych substancji. Opisano także pewną formę egzocytozy określaną jako „zewnętrzną fagocytozę”, działającą poprzez wytworzenie tzw. sieci NET (neutrophil extracellular trap) (3, 11, 14). Wykazano, że w momencie aktywacji neutrofilii, np. przez bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne, wyrzucane są z nich chromatyna oraz granule wszystkich rzędów, np. elastaza, katepsyna G, MPO, laktoferyna i żelatynaza, co doprowadza do formowania się „sieci” zewnątrzkomórkowej NET, w której bakterie zostają uwięzione, a następnie inaktywowane (3). Trzeba także dodać, że wykrycie w NET zawartości DNA świadczy o tym, że struktura ta nie jest pasywną formą obrony komórek PMN, lecz aktywną formą, reagującą na sygnały z zewnątrz (11). Tę formę fagocytozy, oprócz neutrofilii, stwierdzono także w komórkach dendrytycznych, makrofagach i limfocytach (11). Przyjmuje się, że zewnątrzkomórkowa sieć, głównie neutrofilii, wraz z procesem fagocytozy i jej odmianami, stanowi ważny element odpowiedzi naturalnej, dzięki której zarazki są nie tylko szybko likwidowane, nawet w sposób fizyczny – w przypadku sieci NET, która uniemożliwia ich rozprzestrzenianie, ale także, jak wspomniano wcześniej, dochodzi do aktywacji innych elementów układu odpornościowego (3, 14). Omawiając te zjawiska, wspomnieć należy także o autofagii – to jest konserwatywnym mechanizmie, który utrzymuje homeostazę komórkową, np. w gruczole piersiowym u człowieka czy mlekowym u zwierząt (15). W procesie tym bardzo

^{*)} Organelle te są przez niektórych utożsamiane z ziarnistościami pierwszorzędowymi (19).

istotną rolę odgrywa podwójna błona, która w warunkach krytycznych dla komórki, opłaszcza wybrany, przeznaczony do usunięcia obszar cytozolu (8). Powstały autofagosom rozpoczyna działanie trawienne po przyłączeniu się do niego lizosomu i w ten sposób składniki „oczyszczonej” ze zniszczonych fragmentów cytoplazmy mogą ponownie funkcjonować (8). Ponadto autofagia to istotny element obrony organizmu, co wykazano np. w przypadku *Mycobacterium tuberculosis* (22). Bakterie te, poprzez zahamowanie dojrzewania typowych fagosomów, unikają degradacji w procesie fagocytozy, zaś autofagia indukuje fuzję fagosomów zawierających *M. tuberculosis* z ziarnistościami I-rzędowymi przy współdziałaniu IFN- γ , prowadząc do zabicia tych patogenów (22).

Proces fagocytozy przebiega stosunkowo szybko w przypadku komórek PMN, a wolniej w przypadku komórek MN (monocyty, makrofagi), gdyż te ostatnie komórki po przejściu do krwi są mniej dojrzałe (1). Nadto, ze względu na receptory FcIg i dopełniacza Vincente-Manzanares i wsp. (25) wyróżniają dwa modele procesu fagocytozy: typ I zależny od receptorów immunoglobulinowych (FcIg) i typ II zależny od receptorów dopełniacza. Wskazuje się także, że ważnym elementem w przebiegu procesu fagocytozy jest retikulum endoplazmatyczne (ER) komórki i fagocytozę taką określa się jako mediowaną ER (9). Proces ten polega na tym, że kiedy fagocytoza ma się rozpocząć, ER przesuwają się w kierunku błony cytoplazmatycznej i łączy się z nią, co wzmaga proces formowania się fagosomu – struktury spełniającej w komórce liczne funkcje, w tym zabijanie wchłoniętych patogenów, co jest możliwe dopiero po osiągnięciu przez niego dojrzałości (22). Fagosom osiąga dojrzałość po serii podziałów i fuzji z ziarnistościami I-rzędowymi i endosomami – strukturami odpowiedzialnymi za sortowanie materiału pobranego w drodze endocytozy. To prowadzi do powstania fagolizosomu – struktury wysoce hydrolitycznej i niszczącej patogeny, tym bardziej, że w jego wnętrzu gromadzi się oksydaza NADPH, która poprzez regulację pH zapewnia optymalne środowisko proteazie, która w sposób bezpośredni zabija zarazki (22).

Migracja (ruch spontaniczny) czy chemotaksja (ukierunkowana migracja) komórek PMN, jest uwarunkowana występowaniem na ich powierzchni wielu receptorów, w tym dla czynników chemotaktycznych i dla cząstek adhezyjnych (7). Obecnie dowiedziono, że chemotaksja wspomagana jest przez uwolnienie metalloproteinaz (MMP), które są zdolne do degradowania strukturalnych komponentów matrix komórek PMN, takich jak: kolagen, fibronektyna i laminina, które stanowią SAM – czyli cząsteczki substancji międzykomórkowej (20). Dotychczas zidentyfikowano w neutrofilach trzy rodzaje metalloproteinaz: kolagenazę MMP-8 występującą w obrębie ziarnistości II-rzędowych, żelatynazę MMP-9 w obrębie ziarnistości III-rzędu oraz leukolizynę MMP-25, która znajduje się w ziarnistościach II, III- i IV-rzędowych, jak też w błonie ko-

mórkowej neutrofilii dojrzewających (10). Wszystkie metalloproteinazy są syntetyzowane jako nieaktywne proformy (10), a ich aktywacja zachodzi w przestrzeni zewnątrzkomórkowej za pomocą proteaz serynowych lub innej MMP (23). Metalloproteinazy mają swoje specyficzne inhibitory tkankowe – TIMP1-4 (tissue inhibitors of metalloproteinases), które działają antagonistycznie do proteaz kolagenazowych i żelatynazowych (10). Wśród funkcji TIMP wymienia się: spowalnianie proliferacji komórek poprzez TIMP-2, powodowanie apoptozy w komórkach raka jelita grubego poprzez TIMP-3, hamowanie angiogenezy w wyniku oddziaływania TIMP-3 oraz spowalnianie wzrostu nowotworu i powstawania przerzutów poprzez TIMP-1 i TIMP2 (23). Uważa się (10), że zachowanie równowagi pomiędzy MMP i TIMP jest istotnym czynnikiem podczas procesów obronnych m.in. w chorobach płuc, astmie czy syndromie AIDS (10, 23). Wykazano także (17), że na proces migracji komórek PMN mają wpływ białka określane jako galektyny, których do tej pory opisano 10 (galektyna 1-4, 7-10, 12, 13), a których rolę wiąże się z udziałem w adhezji i proliferacji komórek, w tym PMN oraz transformacji nowotworowej. Obecnie dowiedziono (17), że galektyna-8 w znacznie większym stopniu niż galektyna-1 i 3 moduluje chemotaktyczne właściwości neutrofilii, a także wpływa na czwarty etap procesu fagocytozy, jakim jest wewnątrzkomórkowe zabijanie zarazków przez komórki PMN. Również efekt chemotaktyczny neutrofilii warunkują IL-8 i leukotrien – LTB₄, jako że substancje te regulują szybkie i odpowiednie reagowanie neutrofilii na sygnał z zewnątrz, gdyż wzmagają one adhezję leukocytów do komórek śródbłonna oraz działają silnie chemotaktycznie na neutrofile (13). Podczas ukierunkowanego ruchu (chemotaksji) komórki PMN, z ich ziarnistości I- i II-rzędowych wydzielane są głównie przy pomocy węzłów sekrecyjnych (secretory vesicles) – na drodze egzocytozy, takie enzymy, jak kolagenazy i proteazy serynowe, które dodatkowo aktywują ruch i ułatwiają przemieszczanie się komórek PMN (10).

Przyleganie (adherencja) to drugi etap procesu fagocytozy komórek PMN warunkowany jest w pierwszej kolejności selektynami, jako że one współtworzą początkowy stan przylegania stabilizowany integrzynami, takimi jak CD11b i MAC-1 (24). Wykazano również (10), że na prawidłowe działanie komórek PMN, szczególnie w sprawnym przebiegu adherencji, mają wpływ również węzły sekrecyjne, które rozpadają się np. w wyniku stymulacji komórek PMN takimi substancjami, jak fMLP (formylmethionyl-leucyl-phenylalanine) czy PMA (phorbol myristate acetate) (10). Dowiedziono również (26), iż na przebieg przylegania ma wpływ stopień polimeryzacji aktyny w cytoszkieletach tych komórek, dzięki któremu formuje się struktura fagosomu. Struktura aktyny odpowiedzialna jest również za translokację i fuzję lizosomów, które przyczyniają się do eliminacji niepotrzebnych struktur poprzez ich trawienie (w procesie autofagii) (26). Ponadto stwier-

dzono, że cytoskielet komórek PMN wpływa także na reorganizację ich błony, zmianę lokalizacji receptorów na nich, a także prowadzi do lepszego wykorzystywania sygnałów docierających do granulocytów obojętnochłonnych, jak też wpływa na odpowiedni przebieg procesu różnicowania się neutrofilii (25, 26). Struktura odpowiednio ułożonych mikro- i makrofilamentów cytoskieletu komórek PMN jest zatem ważna w prawidłowym przebiegu adherencji komórek PMN (26). Ogromny wpływ na prawidłową strukturę cytoskieletu komórek PMN mają także selektyny L, E i P (1, 10, 26), które współdziałają z węzłami sekrecyjnymi (secretory vesicles) komórek PMN, to jest rezerwuarem receptorów błonowych, niezbędnych w najwcześniejszych fazach zapalenia i odporności przeciw zarazkom (26). Węzły sekrecyjne bogate są m.in. w β_2 -integrynę CD11b/CD18, receptor dopełniacza 1 (CR1), receptory fMLP, receptory CD14 i CD16 oraz SCAMP i VAMP-2 (10). Ten ostatni czynnik (VAMP-2) należy do rodziny białek R-SNARE (soluble-N-ethylmaleimide-sensitive-factor accessory-protein receptor), których istotnym elementem jest zawarty w cząsteczce „motywu argininowy”, określane jako R (21). Czynnik R we współdziałaniu z czynnikiem STX4, należącym do rodziny Q-SNARE, których cechą charakterystyczną jest posiadanie glutaminy w cząsteczce, pozwala na uczynienie ziarnistości z granul II- i III-rzędowych komórek PMN (21). Sygnałem do działania węzłów sekrecyjnych jest wyrzut L-selektyn z powierzchni komórek PMN, co zapewnia neutrofilom m.in. bliższy kontakt ze śródbłonkiem naczyń, ułatwiając proces przylegania (10). Węzły sekrecyjne biorą także udział w integracji leukocytów do śródbłonka naczyń, choć czynność ta w głównej mierze warunkowana jest selektynami L, E i P, które wiążąc się z różnymi ligandami, warunkują ekspresję komórek UO we krwi (26). I tak ekspresja neutrofilii głównie ma miejsce dzięki L-selektynie, choć także P-selektynie, w wyniku wykorzystania obecności PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand 1) na ich powierzchni, co powoduje zbliżanie się ich do miejsc infekcji i ognisk zapalenia (10).

Pochłanianie komórek PMN to trzeci etap w procesie fagocytozy i wiąże się on z dostaniem się zarazków do wnętrza komórki, w wyniku czego tworzy się wakuola trawienna – fagosom (1). Ten etap procesu fagocytozy jest ściśle związany z opsonizacją, czyli opłaszczaniem komórki pochłanianej m.in. przeciwciałami (Ig) czy dopełniaczem (C) (1, 7). Dowiedziono, że im intensywniejsza opsonizacja, tym efektywniejsze i szybsze pochłanianie (1, 7). Za pośrednictwem m.in. receptorów dla Ig i C komórka pochłaniająca rozpoznaje czynniki opsonizujące, takie jak wspomniane przeciwciała i dopełniacz, a także inne substancje, jak białko wiążące mannozę (MBL), białko surfaktantu kolektyny A i D (1). Przyjmuje się, że najefektywniejsze wiązanie między komórką pochłaniającą a zarazkiem w procesie pochłaniania ma miejsce w przypadku, gdy mikroorganizmy są opsonizowane przez przeciwciała

i dopełniacz jednocześnie (1). Wykazano, że MBL, należąca do lektyn typu C, wzmacnia proces pochłaniania, aktywując dopełniacz drogą lektynową, co wybitnie ułatwia proces pochłaniania, a nadto stymuluje komórki PMN do zabicia patogenów (22). Badania wykazały, że MBL posiada struktury, dzięki którym jest w stanie rozpoznać wiele czynników infekcyjnych, takich jak: bakterie, drożdże, pasożyty, jak również glikoproteiny pewnych wirusów oraz komórki apoptyczne, co poszerza panel działania komórek PMN (22). Rozpoznawanie drobnoustrojów przez MBL odbywa się szybko i niezależnie od antygenów zgodności tkankowej oraz bez udziału przeciwciał (22). Ważną wśród opsonin jest trombospondyna, która łączy np. zarażone malarią erythrocyty czy komórki apoptyczne i inne ligandy do receptorów CD36, CD47 oraz do integryn $\alpha\beta_3$ (CD51/CD61) występujących na komórkach UO, co prowadzi m.in. do aktywacji takich czynników, jak TGF β (22). Podobne funkcje przypisano innej rodzinie opsonin – białkom surfaktantu płucnego, tzw. kolektynom A i D, które wiążą się albo poprzez ich kuliste „głowy” z cząsteczkami SIRP α zawierającymi ITIM, co prowadzi do obniżenia odpowiedzi immunologicznej, albo przez kolagenowe „ogony”, aktywując dzięki kompleksowi CD91-kalretikulina komórki PMN (22). Wykazano, że receptory opsoninowe mogą nie tylko ułatwiać pochłanianie patogenu, ale również wpływać na odpowiedź „po fagocytozie” (22). Właściwy proces pochłonięcia do wnętrza komórki PMN odbywa się na zasadzie tzw. mechanizmu zamka błyskawicznego (zipper mechanism) (7, 12). Zarazek przywiera do błony komórki PMN, która otacza patogen ze wszystkich stron, na skutek czego mikroorganizm znajduje się w kieszeni cytoplazmatycznej neutrofila wysłanej od wewnątrz błoną komórkową (7, 12). Następnie na skutek aktywacji białek kurczliwych cytoplazmy, powierzchnia fagocytu otacza stopniowo cząsteczkę i w ten sposób cząsteczka pochłaniana – fagocytowana – zostaje zamknięta wewnątrz cytoplazmy w fagosomie (12). Degranulacja ziarnistości komórek PMN, z których wydostają się substancje bójcze, nie tylko powoduje powstanie fagolizosomu, ale indukowana może być poprzez receptor fMPL (formyl-methionyl-leucyl phenylalanine) i PMA (phorbol myristate acetate) oraz L-selektyny i CD11b/CD18 (10). W ten sposób rozpoczyna się mechanizm niszczącego działania komórek pochłaniających poprzez bezpośrednie działanie substancji zawartych w ich ziarnistościach na materiał pochłonięty (10). Warto dodać, że mechanizm degranulacji ziarnistości komórek PMN ściśle łączy się z siłą bójczą komórek pochłaniających (7, 10). Wykazano, że bez względu na rodzaj ziarnistości, istotną rolę w procesie degranulacji spełniają dodatkowo aneksyny (takie jak: aneksyna I, XI i lipokortyna III), które, wiążąc się z fosfolipidami komórkowymi w towarzystwie wysokich koncentracji jonów wapnia, aktywują agregację i fuzję produktów degranulacji (10). Również same jony wapnia wraz z receptorami białek SNAP – SNARE (synaptosome-associ-

ted protein receptors) mogą także dodatkowo zapoczątkowywać proces degranulacji. Na mechanizm degranulacyjny komórek PMN wpływają także VAMP-2 (vesicle-associated membrane protein-2) i SCAMP (secretory carrier membrane protein), które są w węzłach sekrecyjnych i ziarnistościach perosydzajo-ujemnych oraz syntaksyna 4 i 6, które znajdują się w błonie komórkowej komórek PMN (10).

Wewnątrzkomórkowe trawienie i zabijanie to czwarty etap procesu fagocytozy, który następuje po pochłonięciu przez neutrofile zarazków. Destrukcja i niszczenie drobnoustrojów może zachodzić w wyniku dwóch systemów – zależnego i niezależnego od tlenu. System zależny od tlenu powstaje podczas wybuchu oddechowego reaktywnych pochodnych tlenu, halogenków i tlenku azotu, zaś system niezależny od tlenu związany jest z uwalnianiem z ziarnistości, w tym z pęcherzyków wydzielniczych, różnych substancji zarazkobójczych, m.in. enzymów hydrolitycznych, LZM, Lf (2, 7).

Komórki PMN po „przeprowadzeniu” procesu fagocytozy „rozpadają” się, jednakże bywa i tak, że w czasie trwającej infekcji makroorganizmu neutrofile podlegają procesowi apoptozy, na drodze zależnej od kaspaz i najczęściej obserwuje się to w przypadku infekcji wirusowych, jako że to właśnie wirusy z wielu rodzin zdolne są włączać lub też wyłączać ścieżkę apoptotyczną (18). Opisano (18), iż na ludzkich komórkach PMN zachodzi ekspresja tak pro-, jak i antyapoptycznych czynników, które należą do rodziny białek Bcl-2. Wykazano także (18), że w procesie apoptozy uczestniczą wspomniane proteazy z rodzin kaspaz, które w formie nieaktywnych zymogenów przechodzą proteolityczne przetwarzanie na trzy sposoby, to jest: autoaktywacji, transaktywacji przez inne kaspazy i aktywacji przez proteazy nie będące kaspazami. Podano, że wśród 7 kaspaz, których ekspresja ma miejsce na komórkach PMN u ssaków (1, 3, 4, 7-10), kaspaza-3 i -8 pełnią główną rolę w apoptozie komórek PMN, w tym wywołanej poprzez promieniowanie UV, czynniki Fas czy TNF- α (18). Proces ten dotyczy także zużytych lub uszkodzonych komórek własnego organizmu, które uległy procesowi apoptozy (22). Rozpoznanie wyczerpanych (apoptycznych) komórek następuje poprzez różnorodne receptory, w tym opsoniny, które, mimo że głównie służą do rozpoznawania determinantów zarazków, również biorą udział w pochłanianiu komórek apoptycznych, przechodzących bardzo unikatowy proces w czasie apoptozy (22). W przeciwieństwie do patogenów, komórki apoptyczne są czynnikami przeciwzapalnymi, ograniczającymi produkcję przez komórki PMN oraz MN i komórki dendrytyczne prozapalnych cytokin aktywnie mobilizujących komórki organizmu, w tym komórki UO do aktywacji i regeneracji (22). Mechanizmy, dzięki którym apoptyczne komórki modulują i wpływają na komórki PMN i makrofagi, nie są całkowicie poznane, ale uważa się, że ma to związek i łączy się z reakcjami, które pośredniczą w wiązaniu i pochłanianiu apoptycznych komórek (22).

Reasumując trzeba stwierdzić, że komórki PMN to niezwykle istotne składniki UO, element, od których często zależy sposób dalszej reakcji immunologicznej i które wielokrotnie decydują o losach makroorganizmu w stanie infekcji, tak bakteryjnych (1, 3, 11, 16), jak i wirusowych (5, 6). Dzięki poznawaniu nowych szczegółów z zakresu procesu fagocytozy można będzie w przyszłości wykorzystywać różne rozwiązania w terapii i zapobieganiu różnorodnym schorzeniom u ludzi i zwierząt, jako że granulocyty obojętnochłonne to jeden z fundamentalnych elementów odporności, w tym odporności naturalnej.

Piśmiennictwo

1. Aderem A.: Phagocytosis and the inflammatory response. *J. Infect. Dis.* 2003, 187, 340-345.
2. Borregaard N., Sorensen O. E., Theilgaard-Mönch K.: Neutrophil granules: a library of innate immunity proteins. *Trends Immunol.* 2007, 28, 340-345.
3. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D. S., Weinrauch Y., Zychlinsky A.: Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004, 303, 1532-1535.
4. Cichoń D., Michalik M.: Wnikanie wirusów do komórek na drodze endocytozy – mechanizmy i wybrane aspekty kliniczne. *Mikrob. Med.* 2004, 41, 16-26.
5. Deptuła W.: Mechanizmy odporności przeciwwzakaźnej – wybrane zagadnienia. *Mat. Konf. Wakcynologia weterynaryjna – nowe wyzwania XXI wieku.* Szwe-da W., Siwicki A. K. (red.). Wyd. Edycja Olsztyn 2005, s. 25-30.
6. Deptuła W., Buczek J.: Odporność w chorobach wirusowych zwierząt. *Medycyna Wet.* 1994, 50, 357-360.
7. Deptuła W., Stosik M., Tokarz-Deptuła B.: *Immunologia dla biologów – wydanie nowe.* Wyd. US Szczecin 2006.
8. Deretic V.: Autophagy in innate and adaptive immunity. *Trends Immunol.* 2005, 26, 523-528.
9. Desjardins M.: ER-mediated phagocytosis: a new membrane for new functions. *Nat. Rev. Immunol.* 2003, 3, 280-291.
10. Faurischou M., Borregaard N.: Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. *Microbes Inf.* 2003, 5, 1317-1327.
11. Ishikawa F., Miyazaki S.: New biodefense strategies by neutrophils. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2005, 53, 226-233.
12. Kwiatkowska K., Sobota A.: Przekazywanie sygnału fagocytarnego od agregacji receptorów do przebudowy cytoszkieletu. *Post. Biol. Kom.* 1999, 26, 59-81.
13. Lin F., Nguyen C. M.-C., Wang S.-J., Saadi W., Gross S. P., Jeon N. L.: Neutrophil migration in opposing chemoattractant gradient using microfluidic chemotaxis devices. *Ann. Biomed. Engineer.* 2005, 33, 475-482.
14. Lippolis J. D., Reinhardt T. A., Goff J. P., Horst R. L.: Neutrophil extracellular trap formation by bovine neutrophils is not inhibited by milk. *Vet. Immunol. Immunopath.* 2006, 113, 248-255.
15. Motyl T., Zarzyńska J., Gajewska M., Gajkowska B.: Regulacja programowanej śmierci komórki w przebudowie gruczołu mlekowego u bydła. *Folia Univ. Agric. Stetin* 2006, 250, 57-66.
16. Nathan C.: Neutrophils and immunity: challengers and opportunities. *Nat. Rev. Immunol.* 2006, 6, 173-182.
17. Nishi N., Shoji H., Seki M., Itoh A., Miyataka H., Yuube K., Hirashima M., Nakamura T.: Galectin-8 modulates neutrophil function via interaction with integrin α M. *Glycobiology* 2003, 13, 755-763.
18. O'Brien V.: Viruses and apoptosis. *J. Gen. Virol.* 1998, 79, 1833-1845.
19. Ostrowski K.: *Histologia.* Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 1995.
20. Paape M. J., Bannermann D. B., Zhao X., Lee J. W.: The bovine neutrophil: structure and function in blood and milk. *Vet. Res.* 2003, 34, 597-627.
21. Stow J. L., Manderson A. P., Murray R. Z.: SNAREing immunity: the role of SNAREs in the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2006, 6, 919-929.
22. Stuart L. M., Ezekowitz R. A. B.: Phagocytosis: Elegant Complexity. *Immunity* 2005, 22, 539-550.
23. Trębacz E.: Rola metalloproteinaz (MMPS) i ich tkankowych inhibitorów (TIMPS) w rozwoju czerniaka złośliwego u człowieka. *Wszechświat* 2006, 107, 106-109.
24. van Eeden S. F., Klut M. E., Walker B. A. M., Hogg J. C.: The use of flow cytometry to measure neutrophil function. *J. Immunol. Meth.* 1999, 232, 23-43.
25. Vicente-Manzanares M., Sanchez-Madrid F.: Role of the cytoskeleton during leukocyte responses. *Nature (Lond.)* 2004, 4, 110-120.
26. Vicente-Manzanares M., Sancho D., Yanez-Mo M., Sanchez-Madrid F.: The leukocyte cytoskeleton in cell migration and immune interactions. *Int. Rev. Cytol.* 2003, 216, 233-289.

Adres autora: prof. dr hab. Wiesław Deptuła, ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin; e-mail: kurp13@univ.szczecin.pl