

A kemotaxis biológiai és klinikai jelentősége

- Válogatott fejezetek -

A kemotaxis biológiai és klinikai jelentősége

- Válogatott fejezetek -

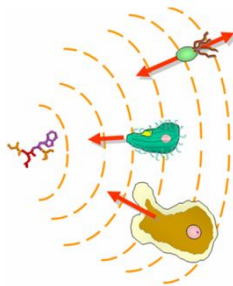
Írta:

Kőhidai László

Szakmailag ellenőrizte:

Csaba György

Láng Orsolya



Semmelweis Egyetem • Budapest, 2012

© Kőhidai László, 2012

Kézirat lezárva: 2012. május 15.

ISBN 978-963-9129-84-9

SEMMELWEIS EGYETEM

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszachenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



MAGYARORSZÁG MEGÚJUL



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

A kiadásért felel a: Semmelweis Egyetem

Felelős szerkesztő: Kőhidai László

Műszaki szerkesztő: Kőhidai László

Terjedelem: 217 oldal

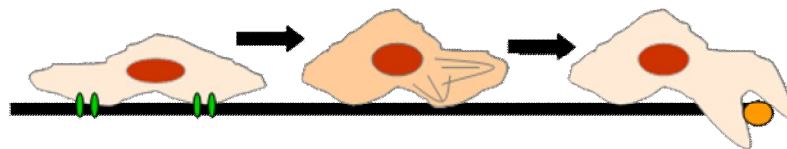
Tartalom

1. Bevezetés.....	5
2. A kemotaxis biológiai jelentősége	6
2.1 Szignál molekulák szelekciója	6
2.2 Megtermékenyítés – Szöveti átalakulási folyamatok.....	8
2.3 Kóros folyamatok.....	8
3. Alapfogalmak.....	10
3.1 Kémiai stimulusok által kiváltott, illetve befolyásolt mozgásformák	12
3.1.1 Migráció.....	12
3.1.2 Kemokinezis	12
3.1.3 Ortokinezis	12
3.1.4 Klinokinezis	12
3.1.5 Kemotaxis.....	13
3.1.6 Haptotaxis	13
3.1.7 Nekrotaxis	14
3.1.8 Kollektív sejtmigráció	15
3.1.9 Reverz migráció.....	17
3.2 A migrációt kiváltó anyagok csoportosítása.....	18
3.2.1 Sejtmotilitást befolyásoló anyagok hatása.....	18
3.2.2 Kémiai jelleg.....	18
3.2.3 Keletkezési hely.....	19
3.3 A sejtmozgást kivitelező apparátus	20
3.3.1 Mikrofilamentáris rendszer	22
3.3.2 Mikrotubulusok	23
3.3.3 Intermedier fehérjék	24
3.3.4 A sejtváz egyéb fehérjéi.....	27
3.3.4.1 Aktin–kötő fehérjék	27
3.3.4.2 Motorfehérjék	29
3.3.4.2.1 Aktin motorfehérjék	31
3.3.4.2.2 Mikrotubulus motorfehérjék.....	32
3.3.5 Sejtváz fehérjék filogenezie.....	33
3.3.6 A sejtmembrán és a vázrendszer kapcsolata.....	34

3.3.7 Extracelluláris matrix ECM).....	39
3.4 A sejtmozgás alapjelenségei.....	40
3.4.1 Ciklózis.....	40
3.4.2 Amőboid mozgás.....	41
3.4.3 Csillós – Ostoros mozgás.....	45
3.5 Kemotaxis – A sejtmozgás modern elméleteinek tükrében.....	51
3.6 Receptorok és szignalizációs rendszereik.....	53
3.6.1 Receptorok.....	55
3.6.2 Másodlagos hírvivők.....	56
3.6.3 A szignalizáció evolúciós háttere.....	59
4. Bakteriális kemotaxis.....	67
4.1 A baktériumok mozgása.....	69
4.2 Szignáltranszdukció.....	75
4.2.1 Metiláció.....	77
4.2.2 Adaptáció.....	79
4.2.3 Metilálható kemotaxis fehérjék (MCP).....	79
4.3 Intracelluláris szignáltovábbító lánc.....	80
4.4 A kemotaxis proteinek részletes jellemzése.....	83
4.5 A bakteriális kemotaxis receptorok komplex rendszere.....	85
4.6 A modellek egyező és eltérő tulajdonságai.....	88
4.7 Az intracelluláris ionok hatása.....	89
5. A gyulladás, mint a kemotaxis kórélettani modellje.....	92
5.1 Kemotaktikus hatású molekulák.....	94
5.1.1 Bakteriális peptidek.....	94
5.1.2 Komplement rendszer.....	97
5.1.3 Arachidonsav metabolitok.....	100
5.2 A gyulladás sejtes elemeinek termékei.....	102
5.2.1 Citokinek.....	102
5.2.2 Egyéb attraktánsok.....	104
5.2.3 Monocitákra ható kemotaktikus proteinek.....	105
5.2.4 Makrofágok által termelt anyagok.....	107
5.3 Fagocitózis és "killing".....	107
6. A kemokinek.....	112

6.1 A kemokinek szerkezete és csoportosításuk	112
6.2 Kemokin–genetika	119
6.3 Termelődés.....	122
6.4 Célsejtek.....	128
6.5 Kemokin receptorok – Szignáltranszdukció.....	133
6.6 A kemokinek fő funkciói	139
6.6.1 Lokális leukocita–szaporulat.....	140
6.6.2 Leukocita aktiválás.....	142
6.6.3 Angiogenezis	143
6.6.4 Biológiaiilag aktív anyagok felszabadulása.....	144
6.6.5 Egyéb kórélettani folyamatok.....	144
6.6.6 Kemokin–mimikri	145
6.7 Klinikum.....	147
6.7.1 Patogén kórokozók elleni akut védekezés.....	148
6.7.2 Krónikus gyulladásos betegségek	151
6.7.3 Egyéb betegségek.....	152
6.7.4 Kemokin–célpontú terápia	153
7. Kórképek.....	158
7.1 A fizioológias kemotaxis megváltozásával járó betegségek.....	161
7.2 Fertőzések	162
7.3 Primer gyulladások	164
7.3.1 Fokozott kemotaxissal járó kórképek.....	164
7.3.2 Változatos migrációs képet mutató betegségek.....	165
7.4 Újszülöttkori kemotaxis defektusa	165
7.5 A keringési szervrendszer megbetegedései	166
7.5.1 Szív koszorúerei.....	166
7.5.2 Perifériás erek	167
7.6 Tumorok.....	168
7.6.1 Növekedési fázis.....	169
7.6.2 Az angiogenezis és áttétképzés szakaszai.....	170
7.6.3 Enzimek és a tumorsejtek migrációja.....	171
7.6.4 Sejtes kölcsönhatások – Tumorsejtek inváziója.....	172
7.6.5 Sejtadhézió és migráció viszonya tumorokban.....	174
7.6.6 Tumorok migrációs formái.....	174

7.6.7 ECM remodelling.....	176
7.6.8 Hízósejtek és tumorok.....	177
7.7 Az áttétképzés célszervi-meghatározottsága.....	177
7.8 Toxikus ártalmak	180
8. Létezik-e élet kemotaxis nélkül?.....	186
8.1 Feromonok.....	186
8.2 Petesejt-hímivarsejt egymásra találása.....	189
8.2.1 A spermium mozgására ható anyagok.....	191
8.2.2 Spermiumok száma.....	205
8.2.3 Spermium mozgására ható endogén tényezők.....	206
8.2.4 Megtermékenyítés.....	208
8.2.4.1 A spermium útja a női ivarszervben.....	208
8.2.4.2 Spermium-petesejt interakciója.....	211
8.2.5 A megtermékenyítés és a nem tervezhetősége	213
8.3 Kemotaxistól a viselkedésig	214
8.3.1 Feromonok hatásai emlős állat-modelleken	214
8.3.2 Emberi viselkedés és a feromonok	215
Zárszó.....	221
Táblázatok jegyzéke.....	222
Ábrák jegyzéke	223



1. Bevezetés

A biológia és orvostudomány régen ismert és sajnos hosszú időre el is feledett kérdéskörét, a kemotaxis kutatás főbb fejezeteit tárgyalja, azok rövid összefoglalását nyújtva e kötet. A téma kutatása éppen napjainkban éli reneszánszát, s mind a klinikum, mind az alapkutatások terén szinte havonta gazdagodik jelentős, új ismeretekkel.

Éppen e tény felismerése teszi lehetővé, hogy immár 15 éve a Semmelweis Egyetem Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézetében meghirdetésre kerül a fenti problémakört tárgyaló, "A kemotaxis biológiai és klinikai jelentősége" című tantárgy, melynek célja, hogy átfogó képet adjon a kérdés sejtbiológiai, mikrobiológiai vonzatairól éppúgy, mint annak kórtani – klinikai eredményeiről, megfigyeléseiről.

A címben jelzett téma hatalmas, így a jelen kötet is csupán egy válogatás, mely igyekszik megfelelő keresztmetszetet adni a jelzett témakör egyes területeinek legfontosabb kérdéseiről. Célja – a „A kemotaxis mérése egysejtűekben és magasabb rendű szervezetekben” c. most megjelenő módszertani útmutatóval egyetemben – hogy segítse a téma iránt érdeklődő egyetemi hallgatókat, a posztgraduális képzésben részt vevőket éppúgy, mint az ezidáig e témában hiányzó, magyar nyelvű összefoglaló irodalmat kereső más szakembereket munkájukban, tanulmányaikban.

A szerző itt szeretne köszönetet mondani kollégáinak, a Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet Kemotaxis Munkacsoport tagjainak sokéves együttműködésükért, mellyel lehetővé tették a kötet anyagának fokozatos szelekcióját, csiszolódását, valamint családja tagjainak azért a támaszáért, melyet a kötet írása alatt nyújtottak.

Külön köszönetet mondok Dr. Dérfalvi Beáta egyetemi docensnek a kemotaxis klinikai jelentőségéről szóló anyag gazdagításáért, valamint Dr. Csaba György egyetemi tanárnak és Dr. Láng Orsolya egyetemi adjunktusnak lelkiismeretes lektori munkájukért.

A szerző

2. A kemotaxis biológiai jelentősége

Napjaink biológiája, s annak alkalmazott ágai, mint az orvosbiológia számtalan területe a kemotaxist még ma is, mint az egyik kórélettani alapfolyamat igen látványos, sejtszintű megnyilvánulását tárgyalják, s kétségtelen, hogy tudománytörténetileg ez a terület volt az első, amelyen a sejtek migrációs képességének – a későbbi fejezetekben még részletezendő – meghatározó szerepét elemezték.

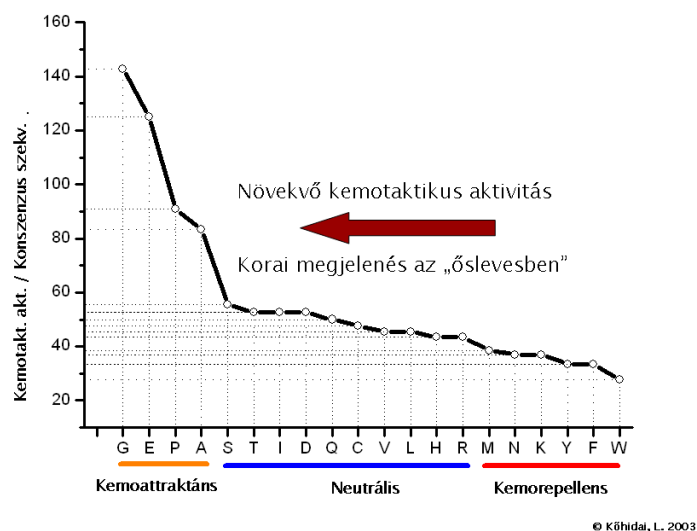
A folyamat alaposabb vizsgálata azonban egy olyan sokkal szélesebb, általános biológiai és klinikai fontosságú folyamatot tár elénk, mely az evolúció korai szakaszától a magasan szervezett szöveti rendszerekig konzerváltan, s mindig újabb elemekkel bővülve megtalálható.

2.1 Szignál molekulák szelekciója

Az evolúció korai szakaszában, az egysejtű élőlények fennmaradásának alapvető feltétele volt a környezet jeleinek felismerése, s ezen a szignálfelismerő képességen belül is a táplálék molekulák specifikus felismerése és szelektálása. A folyamat fontosságát emeli ki ***Lenhoff elmélete***, melyben a szignálmolekulák és az azok kötésére képes receptorok kialakulását a táplálék molekulák közötti kezdetleges ***szelekciós képesség*** fejlődéseként fogja fel. E szelekció eredményének tekintti az evolúció során kialakuló, jelmolekula-családok megjelenését, melyek biológiai hatásaik szempontjából már többek voltak mint egyszerű táplálék molekulák, s a sejtek más sejtfiziológiai válaszokkal (pl. osztódás, fagocitózis, mozgásjelenségek stb.) reagáltak az e molekulákkal történő találkozások esetében. Természetesen e molekuláris szintű szelekció feltételezi nem csupán a jelmolekulák kiválogatódását, de az azok kötésére képes specifikus receptorok, illetve receptor családok megjelenését is.

A fenti folyamat során a szabadon mozgó sejtek kemotaxisa, mely lehetővé tette a táplálék molekulák szelektív felismerését és a sejt megfelelő

koncentrációjú térben való elhelyezkedését meghatározó fiziológiai paraméterek lehettek. Erre utalnak az eukarióta csillós egysejtű modellen (*Tetrahymena pyriformis* GL) végzett kísérletek azon eredményei is, melyek a fehérjeépítő, standard L-aminosavak kemotaktikus hatását vizsgálva jó összefüggést találtak az aminosavak kemotaktikus aktivitása és ugyanezen anyagok különböző, ún. konszenzus szekvenciák alapján feltételezhető földi megjelenése között (2.1 ábra). Ezek az eredmények annak lehetőségét támasztják alá, hogy a molekuláris evolúció e viszonylag korán megjelenő molekulái közül az először megjelenő aminosavak (G, E, P, A) kemoattraktáns hatásúak lehettek. E korai molekulák kemoattraktáns jellege azt támasztja alá, hogy *a kemotaxis az evolúciót meghatározó, alapvető sejtélettani reakció* lehetett.



2.1 ábra Aminosavak kemotaktikus aktivitása és földi megjelenésük közti összefüggés (*Tetrahymena pyriformis* GL)

A táplálék molekulák megközelítése és az azok közötti szelekció csupán a kezdetet jelenthette, hiszen a biológiailag ártalmas, riasztó anyagok felismerése is már az egysejtűek szintjén is életfontos képessége a sejtnak, s az itt megtalálható alapmechanizmusokra épülnek a magasabb rendűek későbbiekben ismertetésre kerülő, hasonló reakciói.

2.2 Megtermékenyítés – Szöveti átalakulási folyamatok

A biológia másik alapvető mechanizmusa az ivaros szaporodás, s annak esszenciális része a megtermékenyítés. E – minden egyes lépésében még ma sem ismert – folyamat számos szakasza nem értelmezhető az ivarsejtek mozgásának kemotaktikus irányítottsága nélkül, s a legújabb kutatási eredmények több olyan molekula (pl. endotelin-1) hatásait is jelzik, melyek megdöbbenő bizonyítékát szolgáltatják az élővilág evolúciós egységének.

A megtermékenyítést követően nem sokkal ismét szerep jut a kemotaxisnak. A szöveti átalakulás számos lépése jár a **sejtek, sejt-csoportok vándorlásával**, mely vándorlást egyes szövetekre/sejtekre jellemző ú.n. növekedési faktorok jelenléte befolyásol, irányít. Ilyen folyamat a központi idegrendszer sejtjeinek vándorlása a gerincagy területén, vagy az újonnan kialakuló szövetek angiogenezise, mely több szöveti elem összehangolt jelenlétét feltételezi.

2.3 Kóros folyamatok

A fiziológiás működések mellett már e bevezetőben is szólnunk kell a kóros folyamatokról. A soksejtű szervezetek immunreakcióinak jelentős része feltételezi a reaktív sejtek irányított migrációját. A későbbiekben még részletesen tárgyalt **gyulladásos** szöveti reakció során is kemotaktikus faktorok és reaktív sejtek egymásra hatásának eredményeként jelennek meg a migrációs képességük révén különös válaszadási formára képes sejtek. Ezen belül külön problémakört fog át a **bakteriális kemotaxis** speciális volta, s egyes fertőző mikroorganizmusok kemotaktikus faktort termelő képessége, illetve saját migrációs aktivitásuk modulálható volta.

A **tumoros szövetek** növekedésekor, különösen a közeli áttétképzésben szintén fontos szerep jut a sejtek kemotaktikus reakciókészségének.

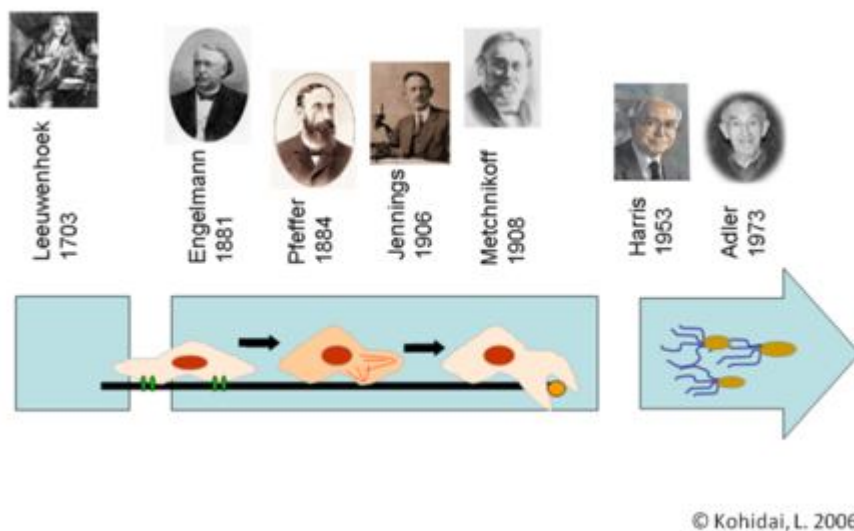
A kemotaxis és a hozzá kapcsolódó folyamatok fentiekben áttekintett csoportja csak keresztmetszetét kívánta adni azoknak a funkciónak, amelyek mindegyikében kulcsfontosságú szerep jut a sejtek specifikus külső jelre bekövetkező helyváltoztató képességgel egybekötött válaszreakcióinak. Az

alábbiakban részletesen foglalkozunk a kemotaxis e folyamatokban betöltött szerepével, illetve avval a ma már molekuláris szinten is jól leírható kapcsolatrendszerrel, amely alapját képezi egy-egy ilyen válasz kialakulásának. Mindezekhez azonban először át kell, hogy tekintsük azt a fogalomtárat, melyet a kérdés tárgyalása során lépten-nyomon használunk, s mely fogalmak közötti sokszor halványnak tűnő különbség az alapmechanizmusok jelentősen eltérő voltában gyökerezik.

3. Alapfogalmak

Ahhoz, hogy az egysejtű szervezetek, illetve szöveti kötelékbe tartozó sejtek migrációjának, s e jelenség szignálmolekuláktól meghatározott voltának tárgyalását megkezdhessük, szükséges a folyamat kulcsfontosságú alapjelenségeinek és alapfogalmainak definíciószerű áttekintése. Ez annak ismeretében különösen fontosnak tűnik, mivel a szakirodalomban a témát tárgyaló cikkek sokasága jelenik meg évről évre, s még e publikációk között sem ritka a téves besorolás és fogalom használat.

Elsőként a mozgások különböző formáit, s ezek leírásának tudománytörténeti hátterét tekintjük át (3.1 ábra és 3.1 táblázat).



3.1 A sejtmigráció kutatásának meghatározó alakjai

Magát a sejtek migrációjának első leírását a fénymikroszkóp feltalálója a németalföldi **Anton Leeuwenhoek** nevéhez köthetjük, aki az általa készített lapmikroszkóp segítségével vízmintákban élő „ázalékállatok”, mai néven

protozoonok mozgását írta le 1703-ban.

Az ezt követő mintegy kétszáz év során sejtek mozgásának számos fizikai, kémiai vagy még összetettebb esetben biológiai jellemzőjét írták le a kutatók. Maga a mozgás mechanizmusa mellett gyakran került a vizsgálatok középpontjába a mozgást kiváltó hatás, s e tényezőre rendszerint a mozgásforma elnevezésében is utalnak. Ennek alapján csupán az élőlények helyváltoztató mozgásai (taxisok) között is számos formát ír le a tudomány, köztük a leggyakrabban megfigyeltek az alábbiak:

3.1 táblázat Sejtek főbb mozgásformái és az azokat kiváltó hatások

Mozgásforma	Kiváltó tényező
Aerotaxis	oxigén
Gravi/Geotaxis	a Föld gravitációs tere
Fototaxis	fény
Galvano/Elektrotaxis	elektromos áram
Kemotaxis	vegyi anyagok
Magnetotaxis	mágneses terek
Rheotaxis	áramlás
Tigmotaxis	érintés
Termotaxis	hő

A jelen kötet címében is vállalt célja, hogy a fenti mozgásformák közül az alap kutatás és a klinikum szempontjából is leggyakrabban vizsgált formákat, a kemotaxist és az ahhoz hasonló kémiai tényezők által kiváltott formákat tárgyalja. Ugyanakkor már itt fel szeretnénk hívni az Olvasó figyelmét arra, hogy a szakirodalom mind gyakrabban ír le olyan összetett sejtmozgásokat is, melyek már nem tekinthetők tisztán egyetlen külső hatás következményének, s ezért a jövőben várható új, a fenti komplexitást visszatükröző, új fogalmak megjelenése a szakirodalomban.

3.1 Kémiai stimulusok által kiváltott, illetve befolyásolt mozgásformák

3.1.1 Migráció

E téren a legáltalánosabban használt fogalom. Jelentése nem több, mint a specifikus szignál érzékelésére képes sejt elmozdulása. Arról azonban nem tájékoztat, hogy e sejtmozgás mennyiben függ a kiváltó molekula koncentrációjától, s arra sem utal, hogy a mozgásra jellemző minőségi, illetve mennyiségi jegyek (amplitudó, sebesség stb.) változott-e, s ha igen hogyan.

3.1.2 Kemokinezis

Az önálló mozgásra képes sejtek a környezetükben oldott kémiai anyagok hatására **random, nem irányított** (vektoriális) módon változtatják mozgási jellemzőiket, változhat a sejtek mozgási sebessége, periodikus mozgásjelenség esetén annak frekvenciája, illetve amplitúdója.

3.1.3 Ortokinezis

A mozgást végző sejt mozgásállapotának változása, melyet döntően a mozgás **sebességének** megváltozása (gyorsuló vagy lassuló mozgás) jellemez. A mozgásállapot e változása a mozgást kiváltó hatás intenzitásának növekedésével, illetve csökkenésével mutat összefüggést, azonban nem jár a sejt mozgásirányának jellemző megváltozásával.

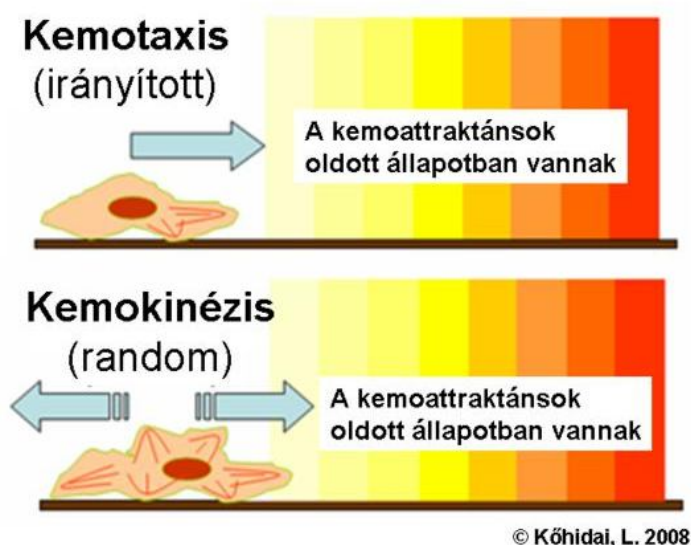
3.1.4 Klinokinezis

Baktériumok (pl. *E.coli*) mozgásának jellemzésére használt fogalom, bár eredetileg a fogalmat **Ullyott, P.** használta *Dendrocoelum lacteum* laposféreg mozgásának leírására (1936). Jelenleg a baktériumok mozgásállapotára jellemző "bukdácsoló" haladási forma változásait, annak gyorsulását vagy éppen leállítását, illetve **amplitúdóbeli** változásainak leírására alkalmazzák, mozgásukat ezért „adaptív klinokinezisnek” is felfoghatjuk. Ebben az esetben sem változik szükségszerűen a mozgás iránya.

3.1.5 Kemotaxis

Maga a fogalom a tudományban először a baktériumok mozgásának jellemzéseként jelent meg az 1880-as években **Engelmann, T.W.** (1881) és **Pfeffer, W.F.** (1884) munkáiban. Mintegy negyed század elmúltával, 1906-ban alkalmazta először **Jennings, H.S** csillósok mozgásának jellemzésére.

Az önálló mozgásra képes sejt mozgásának megváltozását itt is a környezetben oldott molekulák váltják ki, azonban itt a mozgás minőségi és mennyiségi paramétereinek alakulását a kiváltó **anyag koncentrációjának változása (gradiens)** befolyásolja. Ennek megfelelően beszélünk pozitív kemotaxisról, mely rendszerint növekvő gradiens irányú mozgás, míg ennek negatív formája a koncentráció gradiens csökkenése irányába történő elmozdulást jelent. Az elmozdulás koncentráció-függő voltát tükrözi annak vektoriális jellege is (3.2 ábra). (A fenti rövid definícióhoz kapcsolódó részletesebb jellemzőket ld. a kötet későbbi fejezeteiben)



3.2 ábra A fluid fázisú gradiens által irányított, illetve nem befolyásolt két fő migráció típus – a kemotaxis és kemokinezis összehasonlítása

3.1.6 Haptotaxis

Az 1906-ban a fagocitózis leírásáért Nobel díjat kapó **Mecsnyikov, I.**-t ugyan

nem a kemotaxis kutatójaként tisztelik, de kutatásai egyértelműen hozzájárultak a sejtek célzott – ld. fagocitózis –, mozgásának mind szisztematikusabb kutatásához. Ezek a kutatások vezettek el **Carter, S.B.** 1967-ben közölt elméletéhez is, melyet azóta számos kísérleti adat igazolt. A haptotaxis a szöveti térben mozgó sejtek jellegzetes mozgásformája, mely ellentétben a fluid térben elmozduló sejtekre érvényes kemotaxissal, a csak jól meghatározott, kémiai és biológiai szempontból egyaránt megfelelő felszíneken történik, iránya attól függ, hogy a **felszínhez kötődő** (sejtfelszínen expresszálandó) molekulák gradiense merre mutat. A legújabb vizsgálatok adatai szerint e vektoriális elmozdulást végző sejtek aránya a gerincesek szöveteiben meghaladja a klasszikus kemotaxissal mozgó sejtekét (3.3 ábra).

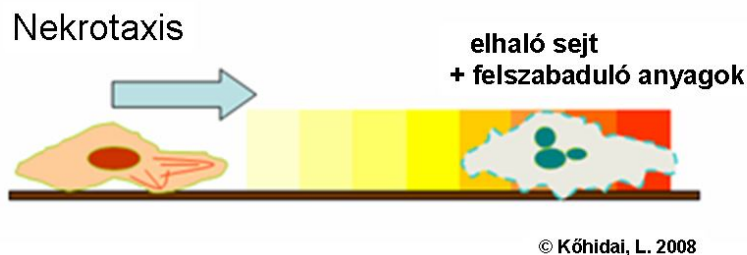


© Köhida, L. 2008

3.3 ábra Kötött fázisú gradiens irányába történő elmozdulás – haptotaxis

3.1.7 Nekrotaxis

A kemotaxis speciális, **elhalt sejtek** környezetében megfigyelhető formája, melyet elsőként **Glücksmann, A.** írt le 1930-ban azonban mintegy 30 évnek kellett eltelnie ahhoz, hogy 1964-ben **Bessis, M. és Burte, B.** elegáns kísérletével kísérletes bizonyítást is nyerjen. E kísérletben az infravörös sugárzással károsított vörösvértestekből felszabaduló anyagok a fehérvérsejtekre vonzó, kemotaktikus hatását bizonyították. Ezt követően számos sejten sikerült igazolni, hogy a jelenség mind fiziológias, mind kóros állapotban (ld. nekrotizáló tumorszövet) bekövetkezik (3.4 ábra).



3.4 ábra Elhalt sejtől felszabaduló anyagok pozitív nekrotikus hatása a környező sejtekre

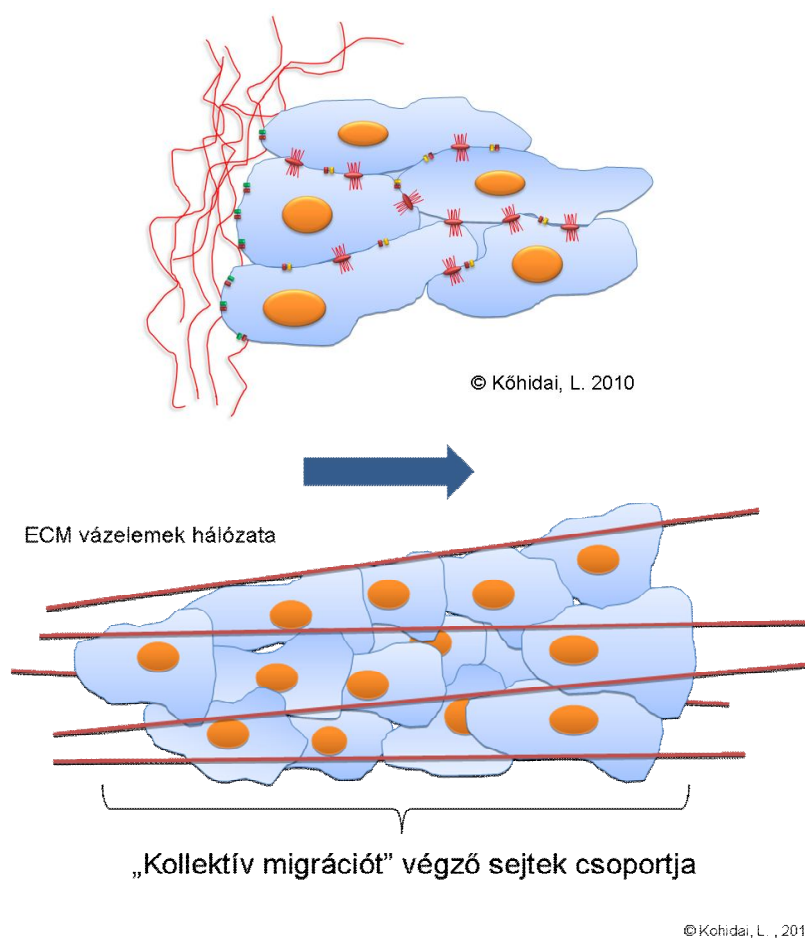
3.1.8 Kollektív sejtmigráció

A sejtek egy-egy kisebb, vagy nagyobb csoportjának helyváltoztató mozgását már az 1960-as években megfigyelték, azonban maga a címben jelzett fogalom csak 2003-ban **Friedl, P.** egyik, a tumoros sejtek migrációját tanulmányozó cikkében jelent meg. A jelenség szöveti differenciálódási alapját képezi az epithelio-mesenchimális differenciálódás hiánya – azok a sejtek, amelyek e differenciálódási lépésen túljutnak, jellemzően egyedi mozgási képességgel bírnak.

A jelen szakirodalmának tanulmányozása arra utal, hogy e sejtmigrációs forma több, már korábban leírt sejtmozgáshoz kapcsolódó jelenséghez köthető. Ezért napjainkban a kollektív sejtmozgás több altípusát különböztetjük meg. Így (i) ide sorolják ma már az évtizedek óta jól ismert, hámsejtekre jellemző „sejtlemez” migrációt; (ii) a főleg az angiogenezis során az erek kialakulásakor megfigyelhető sejtelágazódásokat, melyek mozgását a VEGF és más szöveti faktorok indukálják; (iii) a sejtekből álló, hálózatos kapcsolatokat, melyek pl. az embrió mezodermális oldallemezében dinamikusán váltakozó sejt-sejt kapcsolatok révén szabályozzák a sejtek mozgását és osztódását is; (iv) a meztelencsigára emlékeztető alakú, s többszáz sejtet magába foglaló mozgásforma, mely pl. idegek mentén alakulhat ki az azokból felszabaduló anyag (SDF-1) hatására, mely a csúcsi sejtek megfelelő receptorait (CXCR4) indukálja. Ebben az utóbbi esetben fontos tudnunk, hogy a sejtcsoport hossz tengely mentén történő összetartása is kémiaiilag szabályozott, FGF és Wnt ligandumok tartják

egyensúlyban a mozgó sejtcsoportot.

A kollektív migráció előfeltétele az **együtt mozgó sejtek közötti adhézíós kapcsolatokért felelős struktúrák** fennmaradása és mechanika szempontból megfelelő volta. Ebben az integrinek, kadherinek és a CAM-ok családjába tartozó molekulák (ALCAM, NCAM) játszanak döntő szerepet, bár e molekulák egyes alcsoportjai az együtt mozgó sejt-cohort más-más pólusán dominál (ld. a polarizált kapcsolatok kialakításában a béta-1 és béta-3 integrinek vesznek részt). A migráló sejtcsoport álló fázison történő elmozdulását az ECM-et bontó extracelluláris térbe juttatott enzimek (pl. MMP-k) teszik lehetővé (3.5 ábra).



3.5 ábra Kollektív migráció – (i) a sejtek összekapcsolásában részt vevő adhézíós molekulák és junkcionális kapcsolatok szerepe; (ii) az együtt mozgó sejtek migrációját „sínező” ECM vázelemek jelentősége

A mozgásformák e tudománytörténeti áttekintése végén, a teljesség kedvéért, még két kutató nevét kell megemlítenünk, az ő munkásságukhoz nem egy-egy új migrációs forma leírása, hanem ennél általánosabb érvényű

eredmények köthetők. Az angol **Harris, H.** az 1950-es és 1960-as években számos a kemotaxis leíró modern szemléletet bevezető alapcikkével és több új, objektív mérési módszer leírásával járult hozzá a sejt migráció kutatása fejlődéséhez. A bakteriális kemotaxis tárgyalásakor még említésre kerülő **Adler, J.** egyedülálló hozzájárulása a prokarióta-kemotaxis kutatásához, e viszonylag egyszerű sejtek kemotaxisához kötött intracelluláris szignalizációs láncának 1970-es években történt feltérképezése volt, mellyel évtizedekre meghatározta tudományterülete fejlődésének irányait.

3.1.9 Reverz migráció

A legutóbbi években leírt számos migrációs forma között különös elméleti jelentőséggel bírnak azok a sejtmozgások, melyekben egyes anyagok, illetve a környezeti feltételek megváltozásának hatására a sejtek a megszokott migrációs válasszal ellentétesen mozognak. Azt, hogy a sejtek viszonylag gyorsan képesek úgymond „hátramenetbe” kapcsolni már korábban, csillósok kemotaxisának vizsgálata során bizonyították (A jelenséget először **Jennings H.S.** írta le 1899-ben). Ezeknél a sejteknél az ú.n. **ciliary reversal** tehát a csilló-csapás irányának átmeneti megváltozása okozza az úszás irányának átmeneti, néhány percig tartó változását. Kiváltói között először különböző alkáli fémek oldatait írták le, végül bizonyítást nyert, hogy a fő kiváltó ok a sejt intracelluláris Ca^{2+} szintjének emelkedése, melyet kelátorokkal és a környezet különböző fizikai behatásaival (alacsony hőmérséklet, fény) lehet indukálni. A legutóbbi években a jelenség új, csillósoktól független értelmezést kapott, eszerint a kemotaktikus válaszban részt vevő sejtek elmozdulása ugyanazon ligandum hatására a sejt intracelluláris szignalizációs mechanizmusainak eltérő egyensúlya miatt is ellentétes irányú mozgást eredményezhet (ld. erek falán át történő **extravazáció és intravazáció** jelenségét).

3.2 A migrációt kiváltó anyagok csoportosítása

A migrációt kiváltó anyagokat kémiai karakterük, keletkezési helyük, illetve hatásuk révén is csoportosíthatjuk.

3.2.1 Sejtmotilitást befolyásoló anyagok hatása

A sejtek mozgását befolyásoló anyagokat hatásaik alapján két nagy csoportba sorolhatjuk: **attraktánsoknak** nevezzük azokat a molekulákat, amelyek "vonzó" hatásuk révén a sejtek közeledését váltják ki. Az ezzel ellentétes, taszító hatású anyagok a **repellensek**, melyek élettani és kórtani folyamatokban betöltött szerepét gyakran kevésbé értékelik ugyan, azonban e negatív hatást kifejtő molekulák képesek számos, a későbbiekben tárgyalt folyamat összehangolására, komplex befolyásolására is (ld. megtermékenyítés, tumorsejtek áttétképzése).

3.2.2 Kémiai jelleg

A sejtmozgás befolyásolására, mint ahogyan azt a szakirodalmi adatok jelzik is, úgyszólván minden anyag képes, csupán a megfelelő célsejt, illetve koncentráció megválasztása jelenthet kihívást a kutató számára. Ennél természetesen sokkal kevesebb azoknak az anyagoknak a száma, amelyek hatása biológiai vagy klinikai szempontból is értelmezhető. Ezek két nagy csoportba sorolhatók: (i) **professzionális** kemoattraktánsok/kemorepellensek – a kemotaxis befolyásolása elsődleges hatásuknak bizonyul (pl. fMLF, IL-8); (ii) **kemotaktikus hatással is bíró anyagok** – ezek az anyagok (néha a biológia vagy klinikum más területén dolgozók számára is meglepetést okozva) jelentős hatást is képesek a sejtek mozgására kifejteni, de mindezek ellenére nem tekinthetjük migrációt befolyásoló képességüket elsődlegesnek (pl. inzulin).

Fentiek figyelembe vételével a sejtek mozgását, kemotaxisát kiváltó anyagok közül már prokarióták esetében is számos ligand és ennek megfelelő receptor került leírásra, melyek közül az aminosavak (Ser, Asp), dipeptidek,

egyszerű cukrok (maltóz, ribóz), valamint egyes gázok tekinthetők a legfontosabbnak.

Eukarióta rendszerekben a legjelentősebbnek az aminosav, illetve peptid, oligopeptid és polipeptid természetű ligandok bizonyulnak. Ezek mellett hatásosak még egyes egyszerű cukrok (pl. pentózok, hexózok és származékaik) és lipidek (pl. szteroidok, illó olajok) is, bár az ezekről szóló szakirodalmi adatok száma messze elmarad a peptidek sokszínű csoportja mögött. Természetesen nem feltétele a kemotaktikus aktivitásnak az, hogy a ligandum szerves molekula legyen. Számos szervetlen só (pl. NaCl, KCl és CaCl₂) ionjairól bizonyították be, hogy képesek kemotaxis befolyásolására, gyakran a sejtmembrán depolarizálása útján a kemotaxist gátló, kemorepellens hatást váltva ki.

A molekuláris és sejtbiológia által a receptor–ligandum kölcsönhatásokra leírt jellemzők (ld. kémiai és fizikokémiai paraméterek meghatározó volta) a kemotaxist kiváltó ligandumok esetében is lényegesnek bizonyult. A főleg peptidek esetében vizsgált paraméterek közül a leglényegesebbnek a kemotaktikus ligandumok *mérete, hidro-, illetve lipofilitása*, valamint a molekula receptorral kapcsolódni képes részét jellemző ún. *solvent exposed area (SEA)* tekinthető, bár egyes molekulák esetében egyéb jellemzők pl. pKa, molekulatömeg is fontosnak bizonyultak. A fent jelzett értékek felhasználásával olyan a kemotaxis kiváltására képes molekulát jellemző indexek is kialakíthatók voltak, melyek ismeretében jól prognosztizálhatóvá vált a ligandum kemotaktikus karaktere. Ezen indexek közül saját munkáink alapján, a *molekulatömeg/SEA* hányados bizonyult igen érzékenynek, s számos molekulacsoport esetében (pl. SXWS, WSXWS peptidkönyvtárak, formilált oligopeptidek) a számított érték alacsony volta kemoattraktáns hatást prognosztizált.

3.2.3 Keletkezési hely

A sejtmozgást befolyásoló anyagok keletkezési helye igen változó, rendszerint ugyanazon sejt több kemotaxist befolyásolni képes anyag

szintézisére és kibocsátására is képes, azonban ennek molekulaszpecifitása és intenzitása erősen függ az adott sejt/szövet élettani vagy kórtani állapotától, illetve attól, hogy a szabályozó mechanizmusok hálózatának milyen moduláló jelei érik az adott sejteket. Általánosságban elmondható, hogy humán viszonyok között, kemoattraktáns/kemorepellens anyagok szintézise és szekréciója szempontjából kiemelt fontossággal bírnak a hám és a kötőszöveti sejtek. Szervi lokalizáció szerint (i) az érpálya endothélje; (ii) a vér; (iii) a bőr egyes rétegei; (iv) kötőszövetek (jelentős eltérések egyes szervi lokalizációk esetében) tekinthetők a legjelentősebb kemotaktikus ligandum kibocsátónak. Meg kell azonban jegyeznünk, hogy az emberi szervezet szinte minden szerve, sejtje esetében leírtak már kemotaktikus hatással bíró anyagokat, jó példák erre a csont és porcszövet sejtjei, valamint a központi idegrendszer sejtjeinek migrációját kiváltó anyagok in situ szintézise.

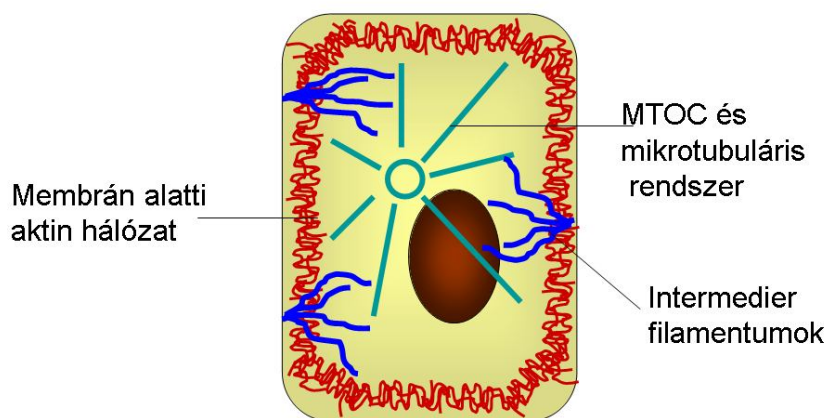
3.3 A sejtmozgást kivitelező apparátus

A sejtmozgás különböző formáinak kialakulása három egymással szoros kapcsolatban álló rendszer, a **sejtváz (citoszkeleton)**, az ehhez kapcsolódó receptor mechanizmusok, valamint az intracelluláris jelátviteli és szabályozó biokémiai rendszerek összehangolt működését feltételezi.

A citoszkeleton jellemzője az azt felépítő globuláris és fibrilláris fehérjék hálózatának dinamikus állandósága, melyet a fő szerkezeti elemek, a sejt pillanatnyi igényének megfelelő, folyamatos felépítő és lebontó folyamatai és azok egyensúlya biztosít.

A három fő felépítő szerkezeti elem: (i) a mikrofilamentumok (aktin); (ii) mikrotubulosok (tubulin) és (iii) az intermedier filamentumok (3.6 ábra), melyek mellett számos egyéb szabályozó és mechanikai kapcsolatot létesítő fehérje is megtalálható. Ez utóbbiak közül talán legnagyobb funkcionális jelentőségük az ún. motor-fehérjéknek van, mivel képesek a fő szerkezeti

elemek (mikrofilamentum vagy mikrotubulus) mentén történő molekuláris szintű elmozdulások kivitelezésére, melynek eredménye a sejten belüli transzport, a sejtvázszerkezetének átalakulása mely révén a szöveti vagy szerv szinten is regisztrálható erők generálása történik.

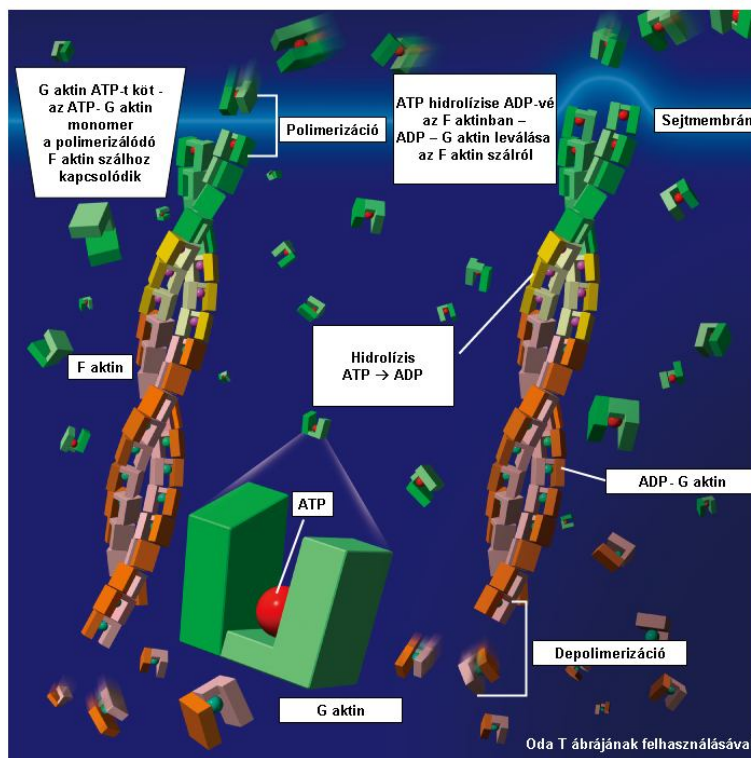


3.6 ábra A sejtvázs három fő komponensének jellegzetes elhelyezkedése az eukarióta sejtben

Az említett változékonyság alapját a felépítő elemek folyamatos **polimerizációra, illetve depolimerizációra** kész állapota biztosítja, melyet a citoplazmában szabad állapotban lévő felépítő monomer egységek (G-aktin vagy alfa, béta és gamma tubulinok) koncentrációja szab meg. A szerkezet dinamikus jellegéből adódóan az egyes fehérje-szálak a növekvő (+) és lebomló (-) végekből adódóan állandóan polarizált struktúrát mutatnak – bár kétségtelen, hogy ez a polarizáltság a két vég állapota közötti relatív viszonyt érzékelteti csak és a folyamatok egyensúlyának eltolódásával igen gyors változások történhetnek (ld. dinamikus instabilitás elmélete). Mivel számos szabályozó elem (ld. nukleációs faktorok, stabilizáló és destabilizáló fehérjék) hatása eredőjeként tekinthetünk a sejtvázs polimerizálódó elemeinek hosszára, az jó indikátora a sejt élettani állapotának és egyes sejt típusokban is eltérő dinamizmusok lesznek megfigyelhetők. Jó példa e fázisfüggésre a mikrotubulusok féléletideje, mely a sejtciklus interfázisában 5–10 perc, míg osztódó sejtben 30 mp körül van.

3.3.1 Mikrofilamentáris rendszer

Mikrofilamentumok esetében a fenti polimerizációs folyamat döntően a globuláris *G aktin* fibrilláris *F aktinná* alakulását jelenti. Ez ATP igényes folyamat, s a stabilizált fibrilláris forma kialakulását követően az ATP – ADP-vé alakulása jellemzi. A G aktint polimerizációra alkalmassá teszi a felszínén található két kötőhely, melyek további G aktinokkal való kapcsolódást teszik lehetővé, valamint egy ATP és egy kétértékű kation kötőhely. Ezek mellett egy további kötőhely is kialakul, ez már a kialakult polimerhez (F aktin) való kapcsolódás révén a kettős alfa–helikális struktúra kialakulását teszi lehetővé. A fent jelzett ATP–ADP csere viszonylag lassú. A folyamat mindkét irányban befolyásolható exogén anyagok hozzáadásával: az *Amanita phalloides* nevű gombából kivont falloidin a kialakult aktin polimerhez kapcsolódva stabilizálja a kialakult szerkezetet így gátolva meg a depolimerizációt, míg a szintén gombából kivont citochalazin az (+) véghez kapcsolódva gátolja a polimerizáció további menetét. A folyamat egyensúlyának ADP – ATP irányú eltolódása eredményezi az aktin szál felbomlását, depolimerizációját. (3.7 – ábra)

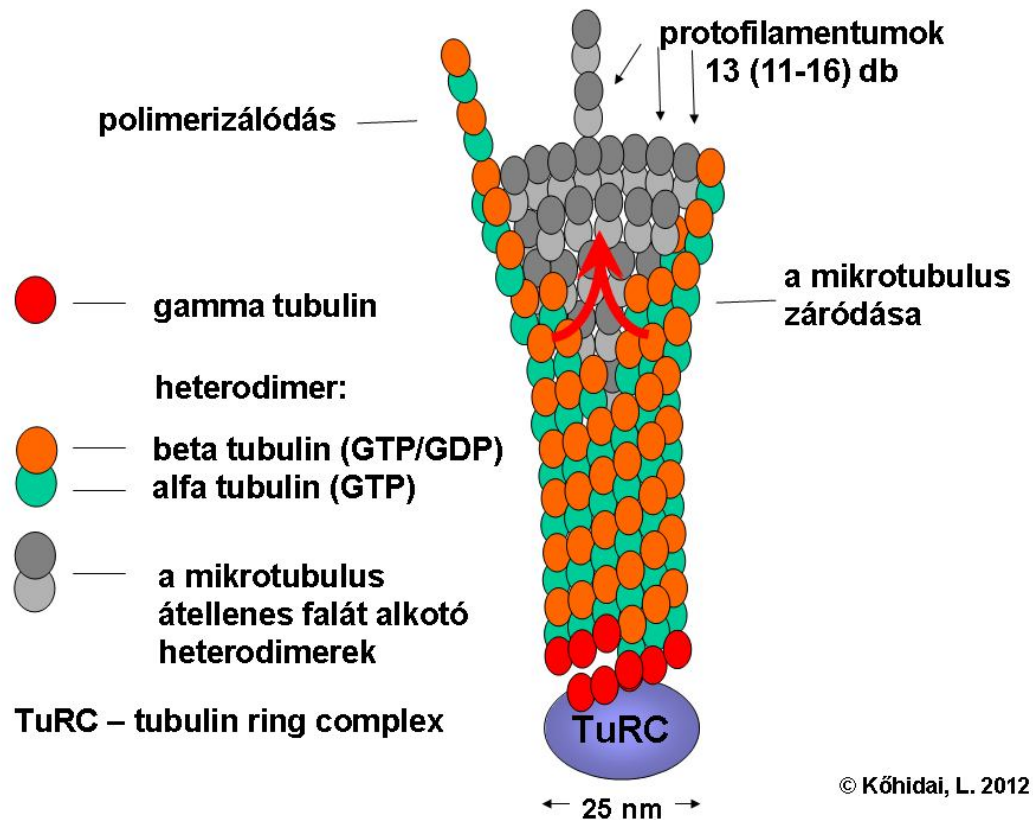


3.7 ábra A mikrofilamentáris rendszert alkotó aktin polimerizációjának és depolimerizációjának folyamata

3.3.2 Mikrotubulusok

A mikrotubulusok fő felépítői az *alfa- és béta-tubulinból* összeépülő tubulin dimerek. Bár számos sejtben más-más altípusát írták le e két globuláris monomer fehérjének, fő jellemzőjük a polimerizálódási képesség, mely egy harmadik, ú.n. gamma tubulin jelenlétében, mintegy annak kezdőmolekulájáról indul. E gamma tubulinok a sejt mikrotubuláris hálózatának központját alkotó MTOC központi részét képező, 9x3 mikrotubulusból felépülő centriolumok környezetében, valamint a mikrotubulusok egyéb nukleációs helyein lineáris vagy gyűrű alakban helyezkednek el. Maga a tubulin polimerizáció GTP igényes folyamat, melynek sebessége az ATP-t igénylő, fentiekben említett aktin polimerizációnál lényegesen gyorsabb. A mikrotubulusok növekedő (+) végére jellemző e GTP-ben gazdag terület, melyet G-sapkának is neveznek, melyben az alfa- és béta-tubulin heterodimer minikét tagja GTP-t kötő állapotban van. A polimerizáció újabb és újabb heterodimerek kötődnek a növekvő véghez, mely az ú.n. protofilamentum kialakulását eredményezi. Ennek belsejében a szerkezetet alkotó heterodimerek béta tubulinjain a GTP hidrolízise megy végbe, ezért tehát az „öregedő” protofilamentum GTP-t kötő alfa- és GDP-t kötő béta-tubulin alegységekből épül fel. A heterodimer átalakulása összetételének megváltozása a protofilamentum szerkezetére is hatással van, annak görbült alakját eredményezi. E szerkezeti változás segíti az egymás melletti protofilamentum láncokból felépülő tubulin-lemezeket abban, hogy két oldalról egymáshoz kapcsolódva – a mindennapi életből vett zippzár felhúzásával analóg módon – a pozitív vég felé folyamatosan záródó csővé alakítsák a mikrotubulust (3.8 ábra piros nyíl). A növekvő vég molekuláris összetételének vizsgálata intenzív kutatás tárgya napjainkban. A számos ide kapcsolódó peptidet +TIP (+end tip interacting protein) összefoglaló néven említik, melyek közül talán a CLIP170 (Cytoplasmic linker protein=restin) és az EB1 (End binding 1) a legfontosabbak, ezek a polimerizáció csővé záródás elősegítői. A fentiekkel ellentétes folyamatok

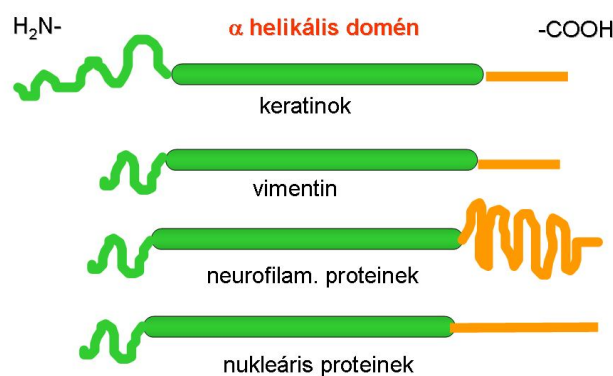
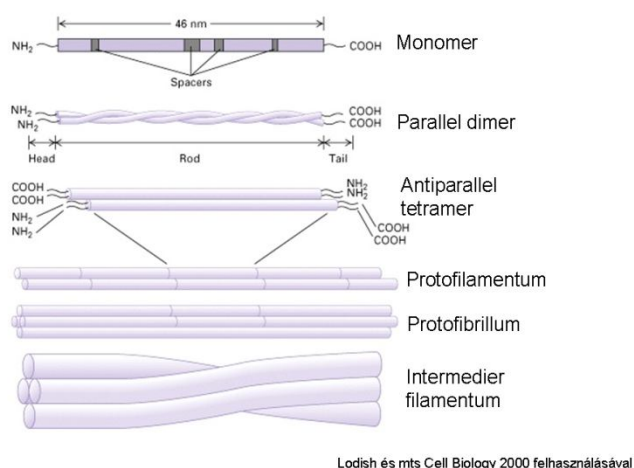
hatására a mikrotubulus lebomló végén az alfa alegység GTP-áz aktiváló protein (GAP) tulajdonsága révén is segíti a béta alegység átalakulását és a depolimerizációt, melynek sebessége a polimerizáció sebességének kb. 100-szorosa is lehet.



3.8 ábra Mikrotubulus kialakulása alegységeiből

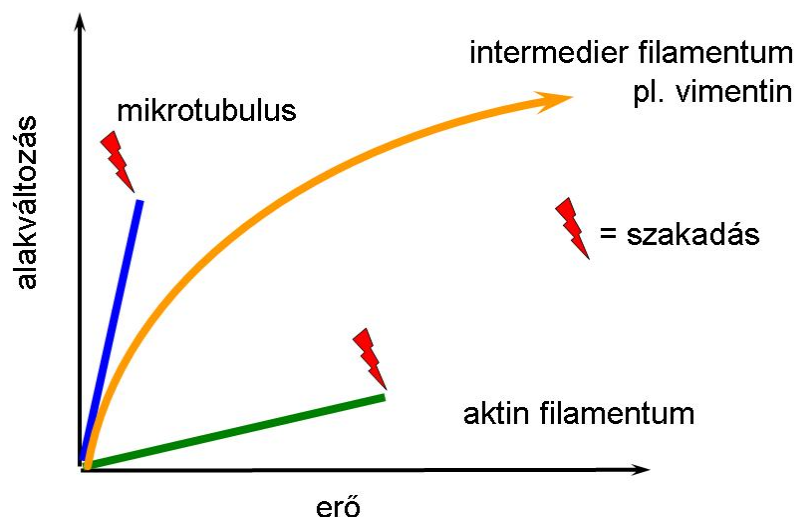
3.3.3 Intermedier fehérjék

Az intermedier filamentumok szerkezete igen bonyolult. Jellemző építő elemei a konzervatív, alfa-helikális középső rész és a változó összetételű N- és C terminális szakaszok. Ezek dimereket alkotnak, illetve a dimerek tetramerekké állnak össze s így egymás után kapcsolódva alkotják a protofilamentumot. Nyolc protofilamentumból álló köteg a tulajdonképpeni intermedier filamentum (3.9 ábra).



3.9 ábra Az intermedier filamentumok felépülése (A) és szerkezeti variánsaik

A nevüket a mikrotubulusok és az mikrofilamentumok közti mérettartományba eső, intermedier jellegű elemekről kapták és a kutatások számára számos fontos adatot szolgáltatottak. A sejtek húzó- és szakító-szilárdsága és a sejtvezet elemek közötti összefüggéseket vizsgálva kiderült, hogy az aktin és a mikrotubulusok ellentétes mechanikai terhelést képesek elviselni, az aktin az erőbehatásokra, míg a mikrotubulusok az alakváltoztatást igénylő behatásokra ellenállóbbak, míg az ellenkező jellegű behatások már viszonylag kis mértékben is a szerkezeti elem szakadását eredményezik. Az intermedier filamentumok e két határérték között teremtenek átmenetet, s „pufferelő” hatásukkal kiegyenlítik a citoplazma azon hiányosságát, melyet az aktin és mikrotubulusok fent leírt sajátosságai eredményeznek (3.10 ábra).



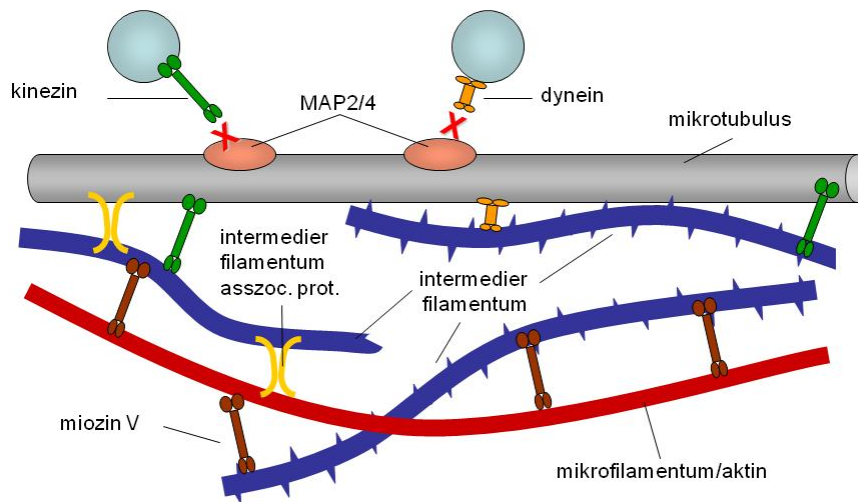
3.10 ábra A sejt váz fő elemeinek mechanikai tulajdonságai – Az intermedier filamentumok pufferelő hatása

Felosztásuk szövetspecifitásuk alapján történik (3.2 táblázat).

3.2 táblázat Intermedier filamentumok és jellemző szöveti fellelési helyeik

Szövet	IF fehérje
hám	citokeratin
kötőszövet	vimentin
izomszövet	dezmin
idegszövet	neurofilamentum
általánosan előforduló	lamin –A, –B, –C

Fontos megjegyeznünk, hogy az eddig három különálló rendszernek tekintett sejt vázelemről a legújabb kutatások bebizonyították, hogy a sejt egyes pontjain kapcsolódnak egymáshoz, kialakítva ezzel aktin–intermedier filamentum és mikrotubulus– intermedier filamentum, kapcsolódásokat is. A kapcsolatok létrejöttében a klasszikus motorfehérjék (kinezin, dinein, miozin) mellett az intermedier filamentumokra specifikus kapcsoló fehérjék is részt vesznek. Az így keletkező szisztéma molekuláris szinten történő szabályozott voltát mutatja, hogy pl. a mikrotubulusok esetében egyes mikrotubulus asszociált fehérjék (pl. MAP2/4) a motorfehérjék kötődését gátolni is képesek (3.11 ábra).



Forrás: Chang, L, Goldman, RD. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. (2004)

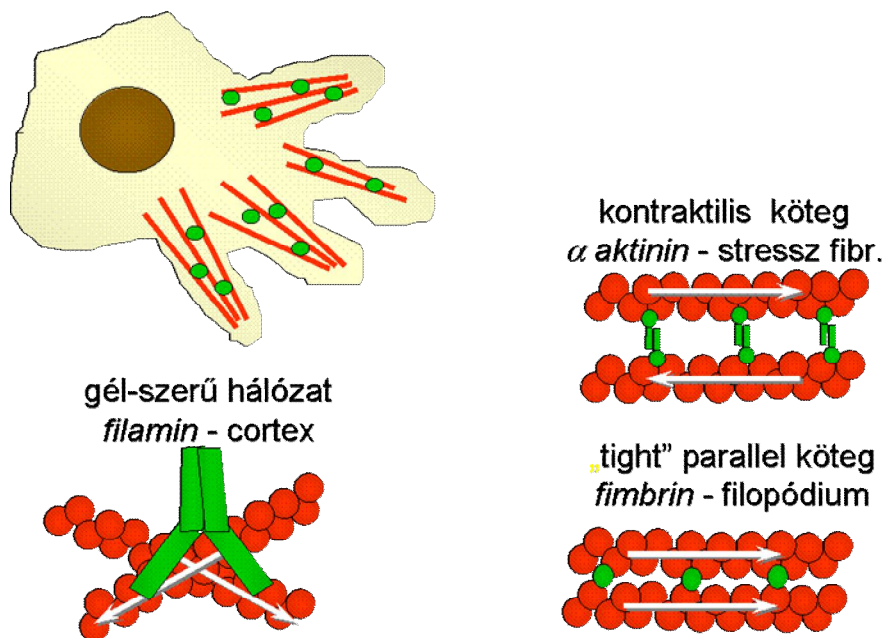
3.11 ábra A sejtíváz alkotó elemeinek motorproteinek által mediált kölcsönhatásai

3.3.4 A sejtíváz egyéb fehérjéi

A citoszkeletont alkotó, eddig ismertetett három fő fehérje-féleségen kívül, számos egyéb fehérje kapcsolódása teszi teljessé azt a rendszert, amely a sejtmozgás mellett a sejt-alak meghatározásában és a sejten belüli anyagtranszportban is alapvető fontosságú. E fehérjék közé tartoznak többek között az (i) aktin-kötő/kötegelő fehérjék, (ii) az egyes motorfehérjék, (iii) mikrotubulus asszociált egyéb proteinek, (iv) a sejtmembrán vázrendszere.

3.3.4.1 Aktin-kötő fehérjék

Az aktin-kötő fehérjék szerkezete és szerepe is igen sokféle (3.12 ábra).



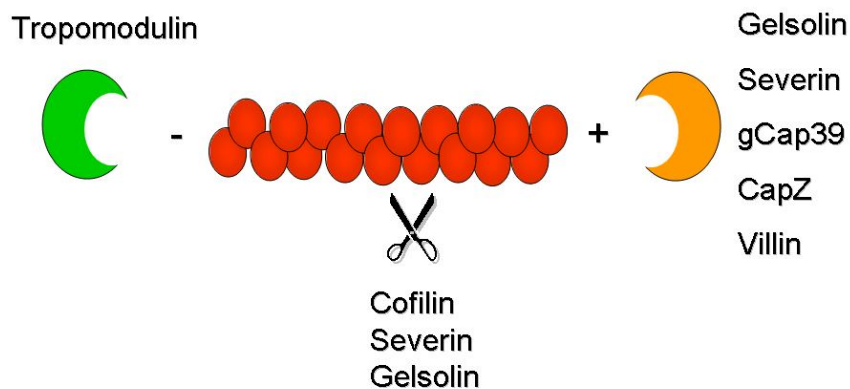
3.12 ábra Aktinkötő fehérjék fő típusai

Egyik csoportjuk a kialakult F aktin filamentumok közötti kapcsolatok teremtésével alakít ki vaskos aktin kötegeket. Az e csoportba tartozó **fimbrin**, monomerjei segítségével szoros kötegekbe rendezi az azonos polaritású aktin filamentumokat. Hasonó szerepet tölt be a **villin** is, de míg előbbi az amőboid mozgás filopódiumaiban található meg, utóbbi a mikrobolyhok szerkezeti eleme. Lazább kötegeket – pl. kontraktilis köteg– képeznek az **alfa-aktinin** dimerek, melyek a dimer ellentétes polaritásából adódóan a kötegben is váltakozó polaritással kötik az aktin filamentumokat. Ezek a sejtek ún. stressz fibrillumaiban találhatók.

Az aktin kötő fehérjék másik csoportja nem párhuzamos kötegek, hanem hálózatok alkotására képes. Ilyen például a **filamin** dimer is, mely egymást keresztező aktin filamentumok csomópontjaiban stabilizálja a kapcsolatot, gélyszerű rugalmas hálózatokat hozva létre a sejtek felszíni membrán alatti, ún. kortikális aktin hálózatát alakítva ki. Az aktin filamentumok stabilizálásában számos más fehérje is részt vesz még, így **tropomiozin**, mely a harántcsíkolt izomnak is fontos szerkezeti eleme, továbbá a **vinkulin**, mely az aktin sejtorganellumokhoz való kapcsolódását teszi lehetővé.

Fenti fehérjéktől funkcióikban alapvetően eltérő azoknak a fehérjéknek a szerepe, amelyek az állandó átalakulásban lévő aktin-hálózat lebontását,

illetve feléptését teszik lehetővé azáltal, hogy szabályozzák az egyes aktin láncok hosszát (3.13 ábra).



3.13 ábra Aktin hosszát szabályozó fehérjék

A **cofilin**, **gelsolin** és **severin** a polimerizálódó aktin lánc kettévágására képesek, azonban a gelsolin és severin több más fehérjéhez hasonlóan a polimerizálódó pólust "sapkázni" is képesek, mely megakadályozza az polimerizációt, illetve annak újbóli megindulását. A **Cap 32/34** szintén sapkát képez, de az általa kötött aktin képes a további polimerizációra. A depolimerizálódó véggel teremt kapcsolatot a tropomodulin, az aktin filamentumok rövidülését okozva ezzel.

A G aktint kötő molekula a profilin, mely jelentős szerepet tölt be a sejten belüli G aktin/F aktin arány beállításában, s ezzel befolyásolja az aktin polimerizációs–depolimerizációs egyensúlyának pillanatnyi állapotát. Ezen túl a sejt felszíni membrán intracelluláris oldalán nukleációs helyet is létrehoz az aktin számára azáltal, hogy a G aktin monomeren keresztül a membránhoz kapcsolja a polimerizálódó F aktin szálat azokon a kitüntetett helyeken ahol egy PIP₂-hoz kapcsolódó prolinban gazdag fehérje (palladin) ezt lehetővé teszi. A folyamat szabályozásában a G aktint kötő **timozin béta-4** is szerepet kap azáltal, hogy csak a timozin gátlás alól felszabadult G aktinok tudnak kapcsolódni a profilinhez.

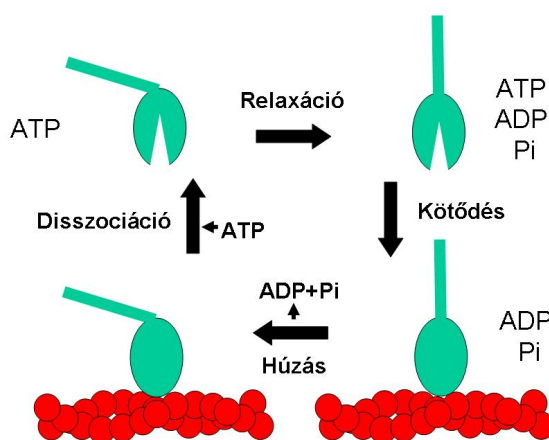
3.3.4.2 Motorfehérjék

A motorfehérjék fő jellemzője – mint azt nevük is elárulja – az a képesség,

hogy a sejtváz elemek mentén elmozdulni képesek, ezáltal, valamint a folyamat során generált erő révén nagyban hozzájárulnak a sejten belüli plaszticitás és dinamikus változékonyság kialakításához. Szerkezetükre jellemző, hogy a molekulák N terminális részén helyezkedik el maga a **motor domén**, mely meghatározza a partner citoszkeletális elem specifitást, valamint a folyamat energiaigényét fedező ATP bontása is ehhez a globuláris doménhez köthető. A molekula „nyél” része, illetve C terminális szakasza révén szabályozott a motorproteinek sejten belüli, funkcióhoz köthető eloszlása, illetve asszociációjuk (ld. bipoláris asszociációk, illetve a motor komponensek térbeli elrendeződése).

Működésük alapja egy olyan ciklikus folyamatsor, mely során az alábbi fázisok követik egymást (3.14 ábra):

- kikötődés sejtváz elemhez
- húzás (powerstroke)
- disszociáció
- relaxáció

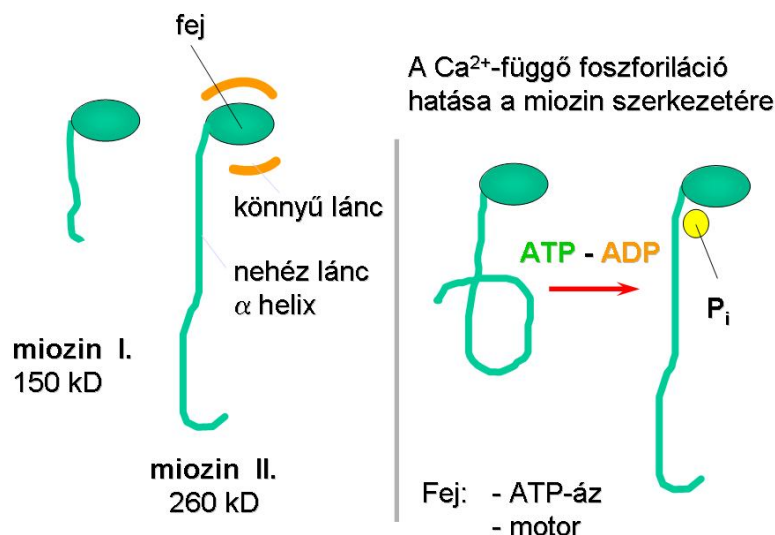


3.14 ábra Motorproteinek működési ciklusa és annak ATP igénye

Két nagy csoportjuk is az elmozduláshoz felszint biztosító partnermolekula alapján történik. Ezen az alapon (i) aktin–motor és (ii) mikrotubulus motor fehérjéket különböztetünk meg.

3.3.4.2.1 Aktin motorfehérjék

A *miozin* alacsonyabb- és magasabb rendűekben egyaránt megtalálható eleme a citoszkeletonnak. Jelenleg I–XVIII miozin osztályt, s az osztályoknak összesen mintegy 37 tagját különböztetjük meg. A sejtváz és sejtmozgás szempontjából a legfontosabbnak mégis a miozin I. és II. tekinthető, ezért a jelen áttekintésben csak ezekre szorítkozhatunk (3.15 ábra).



3.15 ábra Miozin II. szerkezetének átalakulása, melyet a könnyű láncok foszforilációja idéz elő

Általános jellemzője a fibrilláris, alfa-helikális szerkezetű nehéz lánc, melynek végén a helyzetváltoztatásra képes, ATP-áz aktivitással is rendelkező fej található. A nehéz lánc hossza változó, növényekben és alacsonyabb rendűekben a rövidebb miozin I. (minimiozin) míg, a magasabb rendűekben – így a harántcsíkolt izomban is – a miozin II. található. Miozin II. esetében a fejhez két könnyű miozin lánc is kapcsolódik, melyeknek a harántcsíkolt izom összehúzódás szabályozásában van szerepük. Ezek a mintegy 13 altípusba sorolt fehérjék csak nevükben viselik a „miozin” megkülönböztető jelzést, szerkezetükben nem motorfehérjék, hanem a miozin fej enzimatis aktivitását segítik elő. A miozin molekulák kapcsolatba lépése a sejt egyéb molekuláival (pl.aktin) csak a miozin foszforilált állapotában lehetséges, mely foszforiláció calcium és ATP igényes folyamat. A miozin foszforilációját követően megváltozik a nehéz

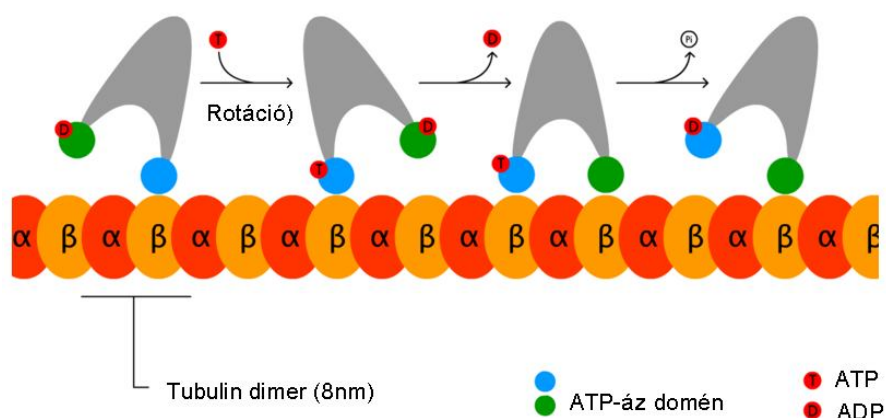
lánc konformációja s a feltekeredett "nyugvó" formából elongáltba megy át.

3.3.4.2.2 Mikrotubulus motorfehérjék

A mikrotubulusokhoz asszociált fehérjék (MAP-ok) szerepe is sokrétű. Egyik csoportjuk a mikrotubulusok kötegekbe rendezését teszi lehetővé. Ilyenek a GTP kötőhellyel rendelkező **dinaminok**, melyek 6 mikrotubulusból álló kötegeket alkotnak, de lehetővé teszik az összefogott mikrotubulusok kötegen belüli elmozdulását is.

Egy másik csoport tagjai a setjorganellumok és a mikrotubulusok között alakítanak ki kapcsolatot, s ezzel az organellumok pl. vezikulumok, mitochondriumok stb.) sejten belüli mozgását segítik elő. A fenti funkcióik miatt motoros proteineknek nevezett fehérjék abban is különböznek, hogy az általuk elősegített mozgás a mikrotubulus plusz, avagy mínusz vége felé történik. A mínusz vég felé mozgó motoros protein a **dinein**, mely a 9–12 polipeptid alegységből – nehéz és könnyű láncokból álló –, ATP-áz aktivitással rendelkező, összetett-protein. A plusz végtől a mínusz vég felé, retrográd irányba továbbítja a hozzá kötődő vezikulumokat vagy a csilló részeként egy másik mikrotubulust. A dineinnel ellentétes irányú, anterográd mozgást (mínusztól plusz vég irányába) segítenek elő a **kinezinok**, melyek 4 alegységből épülnek fel, s szintén ATP-áz aktivitású fehérjék. Ez a kinezinok 14 családjának 38 tagjára azonban csak általánosságban igaz, mivel néhány formájuk (pl. *Drosophila* NCD, élesztő KAR) ellentétes irányba, tehát a negatív vég felé mozog.

Mindkét motoros protein működésére jellemző, hogy a mikrotubulusról karokként lelógó képleteket alkotnak s ezek a karok a mikrotubulus hossz tengelyére merőleges síktól két irányba elhajolva ún. "aktív" és "pihenő" konformációt vehetnek fel. Az "aktív" konformáció az ATP-t kötő formára jellemző, míg az ATP hidrolízisét követően a "pihenő" forma kialakulása a kar elmozdulásával jár s így a hozzá kötődő részecskék elmozdulását okozza. A mozgás/mozgató folyamatosságát a karok páros elhelyezkedése és váltakozó állapotváltozásai magyarázzák (3.16 ábra).



wikipedia

3.16 ábra Kinezin „lépegetése” a mikrotubulus protofilamentum tubulin heterodimerjei mentén.

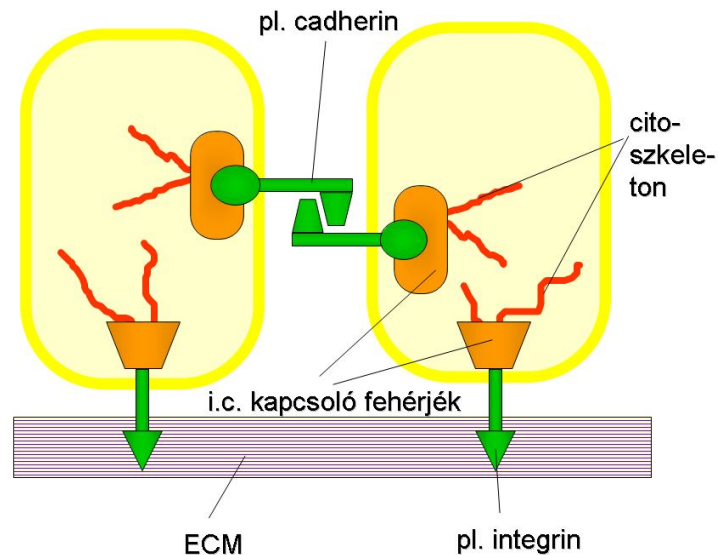
3.3.5 Sejtváz fehérjék filogenezise

A sejtváz alkotó fehérjék rövid áttekintése után jogosan vetődik fel a kérdés: e szerkezet, illetve az alkotó elemek csupán az eukarióta sejtek „újításai”-nak tekinthetők, vagy már a prokarióták esetében is fellelhetők ezek az elemek?

Bár a molekuláris motorokról már viszonylag régen bebizonyosodott, hogy prokariótákban éppúgy fellelhetők, mint eukariótákban (ld. ATP szintáz, baktérium F₀ flagelláris motor), viszonylag hosszú ideig a sejtváz alkotóit (aktin, tubulin) kifejezetten eukarióta jellegként ismerte a sejtbiológia. Az 1990-es évek azonban áttörést hoztak ezen a téren. Először az *E. coli* osztódásakor már korábban megfigyelt gyűrűképződésnél sikerült kimutatni az ***FtsZ molekulát***, mely mind 7 aminosavas motívuma, mind GTP-áz jellege révén a prokarióta tubulin előfutárának volt elfogadható. Ezt követően már szinte várható volt az a 2001-es bejelentés, melyben az *E. coli*ból izolált ***MreB molekula*** szerkezeti elemzése mutatta ki, hogy ez a molekula aminosav sorrendje és térbeli struktúrája szempontjából is homológja az eukarióta G aktinnak, s polimerizálódása során is az F aktinhoz nagyon hasonló szimmetriájú molekulát hoz létre.

3.3.6 A sejtmembrán és a vázrendszer kapcsolata

A sejtmozgások szempontjából igen fontos a sejtmembrán kapcsolódása a citoszkeletonhoz, illetve a szöveti tér egyes elemei között kialakuló sejt–sejt és sejt–matrix kapcsolatok, melyek két fő típusát a 3.17 ábra szemlélteti.



3.17 ábra Sejt–sejt és sejt–ECM kapcsolatok általános szerkezeti alapjai

E váz kialakításában fontos szerep jut azoknak a fehérjéknek, amelyek a membrán alatti váz kihorgonyzásában vesznek részt, s melyek sejttípusonként változóak.

Jellegzetes ilyen receptor és sejtadhéziós protein funkciókat egyaránt ellátó membránproteinek az **integrinek**, melyek alfa és béta alegységekből állnak. Az alegységek szerkezeti eltérései (emlősejtekben 18 alfa és 8 béta) a molekula 25-nél is több variánsát eredményezik. Az alfa alegység extracelluláris térbe nyúló részének kalcium, illetve magnézium kötőhelyei az integrin és extracelluláris ligandjai közötti kölcsönhatás kialakítását befolyásolják. Számos integrin a kemotaxisban is fontos proteinként számoltartott molekula, melyet jól szemléltetnek a 3.3 táblázat sejt és ligandspecifitási adatai is.

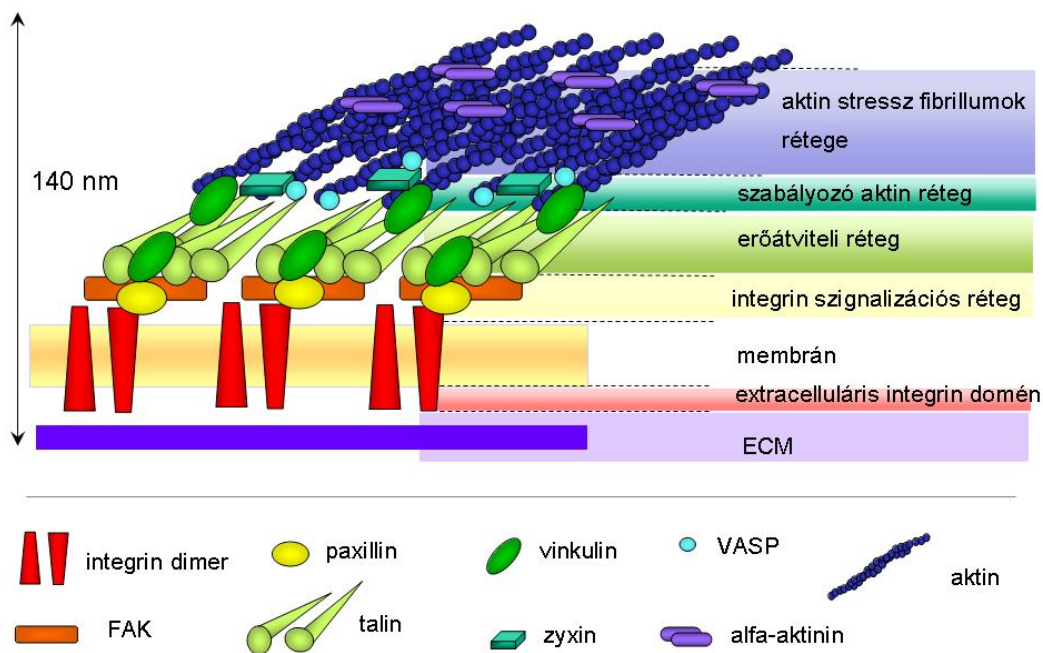
3.3 táblázat Integrinek és ECM partner molekuláik

Integrin	Egyéb megnevezés	Szövet/Sejtspecifitás	Ligandum
$\alpha 1 \beta 1$		nincs	kollagén, laminin
$\alpha 2 \beta 1$		nincs	kollagén, laminin
$\alpha 4 \beta 1$	VLA-4	hematopoietikus sejtek	fibronectin, VCAM-1
$\alpha 5 \beta 1$	fibronectin-receptor	nincs	fibronectin, proteinázok
$\alpha 6 \beta 1$	laminin receptor	nincs	ECM makromolekulái, lamininok
$\alpha L \beta 2$	LFA-1	T-limfociták	ICAM-1, ICAM-2
$\alpha M \beta 2$	Mac-1, CR3	neutrofilek, monociták	szérum-proteinek, ICAM-1
$\alpha IIb \beta 3$	vibronectin	trombocita	vitronectin-receptor, fibrinogén, fibronectin
$\alpha V \beta 3$		aktivált endotél, melanoma, glioblasztóma	vitronectin, fibronectin, fibrinogén, oszteopontin, Cyr61
$\alpha V \beta 5$		fibroblaszt, epitel sejtek	vitronectin, adenovírus
$\alpha V \beta 6$		osztódó epitel, (különösen tüdő- és májszövetben)	fibronectin; TGF β 1+3
$\alpha 6 \beta 4$		epitel	laminin
Forrás: http://en.wikipedia.org/wiki/Integrin			

Mint látható számos integrin ligandumai lehetnek a sejt extracelluláris felszínével kapcsolatba kerülő fibronectinek, laminin vagy kollagén. Ezek kötődését teszik lehetővé az integrinek, mely kapcsolatok kialakításában a

ligandumokban fellelhető ún. *RDG* vagy *RGDS* *szevenciák* (*Arg-Gly-Asp*, *Arg-Gly-Asp-Ser*) lényegesek. A szöveti térben történő migráció szempontjából lényeges partner molekuláik még a fentiekén kívül a C3bi, ICAM1, ICAM2, VCAM1 és az LPS is.

Az intracelluláris térben az integrinek a membrán alatt elhelyezkedő molekuláris komplex segítségével kötődnek a membrán alatti aktin hálózathoz. Ez a **fokális adhéziós komplex** szerkezeti és egyben funkcionális szempontból is 6, a sejtfelszíni membrán síkjával párhuzamos rétegre bontható (3.18 ábra): (i) integrinek extracelluláris doménjei; (ii) membrán; (iii) integrin szignalizációs rétege (sejtmembrán alatt); (iv) erőátviteli réteg; (v) szabályozó aktin réteg és (vi) aktin stressz fibrillumok rétege.



Forrás: Waterman, CM Nature 468, 580-584 2010

3.18 ábra A fokális kontaktust alkotó molekuláris rétegek összetétele

A fenti felsorolásból is látható, hogy igen összetett és funkcionálisan is jól szervezett molekuláris struktúra alakul ki ezekben a mozgó sejtet a felszínhez kitapasztó szerkezetekben. (i) Magát a kikötődést a korábban már leírt molekuláris kölcsönhatások alapján az integrinek extracelluláris doménjei biztosítják, ezek révén kapcsolódik a sejt az ECM elemeihez. A

kötődés szignalizációs folyamataiban egy több molekulából álló csoport vesz részt, melynek fő komponensei a centrális szerepet betöltő **fokális adhéziós kináz (FAK)**, valamint a **paxillin**, **talin** és a sejt foszfolipid szignalizációs rendszerének tagjai (pl. PI3K). Az eddig ismertett két membránközeli rétegtől proximálisan helyezkednek el az erőátviteli réteg molekulái. Ezek teremtik meg a kapcsolatot a szignalizációs rendszerek és az aktin kötegek mechanikai, kivitelező apparátusa között. Ebben a talin-aktin kapcsolatok jelentősek, míg az erőátviteli réteg másik fontos tagja a **vinkulin** az integrin-talin-aktin kapcsolat további erősítésében játszik szerepet. A fokális kontaktus aktin kötegekhez kapcsolásának szabályozó rétegében a **zyxin** és a **VASP** (vasodilator-stimulated phosphoprotein) elemek komplexe szabályozza az aktin polimerizációt. A legbelső rétegben a stressz fibrillumok aktin filamentumai közti keresztkötéseket kialakító alfa-aktininek mechanikai szervező szerepét emelhetjük ki.

Fenti alapváz felépítésében a felsoroltakon túl számos más molekula is részt vesz. Ezek közül feltétlenül említést érdemelnek még az extracelluláris tér felől az aktin hálózat felé haladva a következők: **syndecan-4**, **LCA** (leukocyte common antigen), **ponsin**, **vinexin**, **palladin**, **caveolin**, **tensin**, **fimbrin** és a **nexilin**.

A sejtek közötti kapcsolatok kialakításában fontos szerep jut a **kadherine**k széles szövetspecifitást mutató családjának (E kadherin – epiteliális, N kadherin – idegrendszeri, P kadherin – placentális, uromorulin – vese). Ezek egymással kapcsolódva alkotják a sejt-sejtközötti dezmoszómális kapcsolatokat, míg intracellulárisan egy membrán alatti lemez (dezmozglobin, dezmozoplakin) közbeiktatásával ezek is az aktin hálózathoz vagy intermedier filamentumokhoz kapcsolódnak. További kihorgonyozási pontként szolgálhatnak a **szelektine**k, melyek – mint arra nevük „lektin” tagja is utal – az extracellulárisan elhelyezkedő szénhidrátláncok specifikus felismerésére és kötésére képesek. Három fő típusának, – E– epitheliális, L– limfoid és P– placenta – mindegyike meghatározó szerepet játszik kemotaktikus

folyamatokban. Az L-szelektinek a kemotaxis bevezető szakaszának tekinthető adhézió kezdeti szakaszában jelentősek. Egy másik típusuk az NB-1 antigénként ismert glikoprotein, melynek jelenléte szintén jellemzője egyes sejtekben a pozitív kemotaktikus válaszkészségnek.

A sejtmembrán kapcsoló struktúráiként tartják számon az ún. *immunoglobulin szupercsalád* egyes tagjait is, melyek a „cell adhesion molecule” = CAM csoport tagjait alkotva fontos szerepet játszanak a monociták és neutrofil granulociták érfalakon keresztül történő kemotaxisában. E molekulák jelentős hányada az extracelluláris térbe nyúló, 5 egymás alatt elhelyezkedő, 90–100 aminosav hosszúságú doménből áll, melyek szerkezete az immunoglobulinokban is megtalálható „zseb”-ekre emlékeztet. Jellemzőjük a szövetspecifitás (N – neuron, L – máj) és az, hogy egyes alcsoportjaik a fejlődés más-más szakaszában expresszálódnak. E család tagjai vesznek részt az MHC (major histocompatibility complex) I. és II; a 2-mikroglobulin, CD4, CD8 és egyes citokin receptorok felépítésében is. Klinikai szempontból jelentős megfigyelés, hogy a CAM-1 molekula melanóma sejtek felszínén mérhető expresszálódásának foka és e sejtek áttétképző képessége között szoros összefüggést találtak, mely jelzi a molekula migrációban, illetve újbóli kitapadásban betöltött fontos szerepét. Fentiekben csupán a leggyakrabban előforduló kapcsoló molekulára utaltunk, számos egyéb integráns membránfehérje található (pl. ion transzlokátorok), mely kihorgonyzási pontként szolgál a membrán citoszkeleton számára.

A membrán alatti hálózat csomópontjaiban, mint az már a fentiekből is kitűnt, aktin filamentumok hálózata található. Ezek nem csak a fokális kontaktusok felépítésében szerepelnek, de a membrán síkjával párhuzamosan kialakuló rétegben, mintegy a membránt erősítő hálózat alkotóiként is fontosak. E szerkezetben a dimer spektrin vagy fodrin molekulák két oldalról kapcsolódnak az ankirinhez, mely egy a membránban elhelyezkedő és sejtípusonként változó kihorgonyzó fehérjéhez (pl. glycophorin) kötődik. Az aktin szálakat szintén sejtípustól függően más-más fehérjék integrálják a fent leírt membrán alatti hálózatba, hámsejtekben

ezrin, izomsejtben dystrophin, míg thrombocytában filamin tölti be ezt a szerepet.

3.3.7 Extracelluláris matrix ECM)

A sejtmembrán extracelluláris felszínén elhelyezkedő molekulák ún. extracelluláris matrix (ECM) partner molekulái közül sokat említettünk már. A dimer glikoprotein fibronectinek mellett, fontos szerep jut az olyan **glükózaminoglikánoknak (GAG)** mint pl. heparán szulfát, keratin szulfát, chondroitin szulfát, vagy egyes "core proteinek", mint az aggrecan vagy a decorin. E molekulák sok esetben a sejt szignalizációs rendszerének részét képezik, mivel ko-receptorokként is működhetnek. Ezen túl, különösen a sejtek auto- és parakrin szabályozási folyamatai során képesek a szecernált szignálmolekulák aktivitásának módosítására, e molekulák immobilizálására. Fenti módon jelentős szerep jut e molekuláknak a sejtmozgásban is.

A szöveti szerveződés extracelluláris terének fontos eleme a **bazális membrán**, mely kitapadási felszínt biztosít a sejteknek, de ugyanakkor a migráló sejtek egyes csoportjai számára kóros esetekben, az összetevőkből felszabaduló peptidek révén a kemotaxis célpontjává is válhat. E lemez felépítésében 4 fő molekula vesz részt: (i) **kollagének** – ezeknek több mint 15 típusát ismerjük, s egyes csoportjaik más-más szerepet töltenek be, így egyes kollagének maguknak a kollagén fibrillumoknak a felépítésében szerepelnek (I., II., III., V., XI.), mások a fibrillumok asszociációját segítik elő (IX., XII.), végül egyesek a kollagén molekulákból kialakuló rendezett hálózat kialakításában vesznek részt (IV., VII.). E viszonylag rendezett kollagénekből felépülő alapvázhoz kapcsolódik a további három, kisebb komponens, a (ii) **laminin**, (iii) **perlecan** és az (iv) **entactin**, melyek egymással és a kollagénnel kapcsolódva alkotják a bazális membránt. Utóbbi komponensek közül a laminin tekinthető a legösszetettebbnek, melyet három fehérje lánc alfa-helikális lineáris doménjeinek egymásra tekeredése, valamint a globuláris domének elágazó karjai jellemeznek. A további két komponens szintén a bazális membrán vázát alkotó fehérjék összekapcsolása valamint egyéb

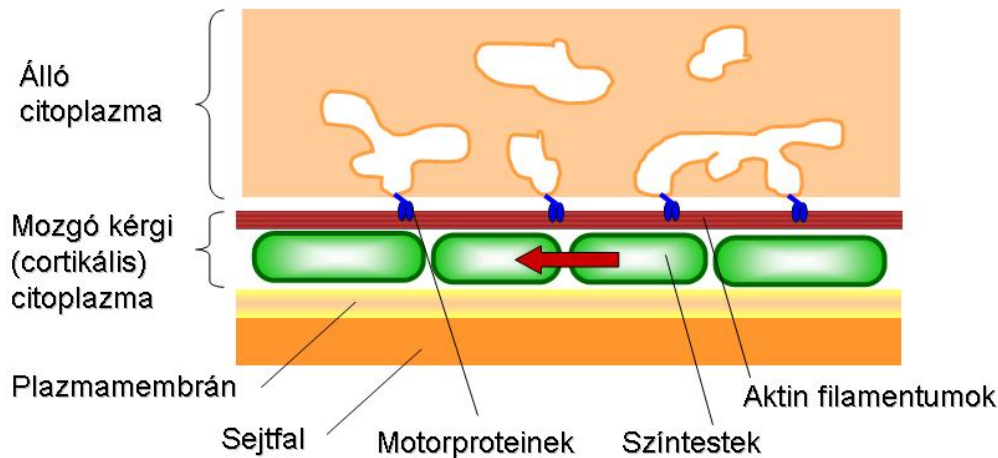
fehérjéknek e vázhoz kötése révén segítik elő a membrán-szerű szerkezet kiépülését, illetve annak kapcsolódását a partner molekulákhoz az egyes felszíneken.

3.4 A sejtmozgás alapjelenségei

3.4.1 Ciklózis

Az eddig áttekintett szerkezeti elemek és azok funkcionális egysége sejt, illetve szövettípusonként más-más sejtmozgás formákat tesz lehetővé. Sokféleségük ellenére, a molekuláris jelenségek szintjén e mozgásokban több közös vonás is megfigyelhető. Ilyen, a sejtmozgásra jellemző és az egysejtűektől az emberig minden szinten megfigyelhető alapjelenség a „*sliding*” azaz elcsúszás mechanizmusa is, mely globuláris (pl. aktin) és fibrilláris (pl. miozin) jellegű molekulák egymáson való elmozdulását jelenti. A folyamat ATP igényes volta, valamint az, hogy kalcium ionok nagy koncentrációban való jelenléte is fontos előfeltétele a molekulák egymáson történő elmozdulásának, szintén általános jellemzője ennek a molekuláris szintű folyamatnak. Már a legegyszerűbb mozgásformák egyikében a **ciklózisban** is leírták a fenti folyamatot. Itt – a sejt térben történő elmozdulásának előfutáraként – még csupán a citoplazma felszíni membrán alatti körkörös mozgása figyelhető meg, melyet az egyes organellek, pl. színtestek mozgása jól szemléltet (3.19 ábra). A jelenség alapját a citoplazma kérgi, aktinhálózata és a belső, membránnal burkolt kompartmentek (pl. dER) felszínén kitapadó motorproteinek (pl. miozin XI.) közti kapcsolódás jelenti. Ennek a sliding-gal homológ folyamatnak az eredménye a citoplazma áramlása, mely attól függően, hogy a kérgi vagy a belső komponens elmozdítása könnyebb, fog a citoplazma külső (ld. színtestek) vagy belső része a centrumban elhelyezkedő sejtmag körül forgás szerű mozgást végezni. A ciklózis sebessége sejtípus függő, az irodalmi adatok szerint rátája 0,6–7,5 $\mu\text{m}/\text{mp}$ közötti. E mozgás feltételezett sejtleletani funkciója a tápanyagok sejten belüli továbbítása. Növényi gyökérszőr sejtekben a folyamat hormonális befolyásolhatóságát is

megfigyelték, alacsony ($<10^{-7}$ M) koncentrációjú auxin gyorsította, míg ennél nagyobb koncentrációjú gátolta a citoplazma áramlását. A folyamat a környezet fizikai és kémiai behatásaira igen érzékeny, így a hőmérséklet, pH és Ca^{2+} koncentráció változásai befolyásolják aktivitását (ld. motorproteinek működése).



Forrás: Lodish, H. et al. Mol. Cell Biol. 2000

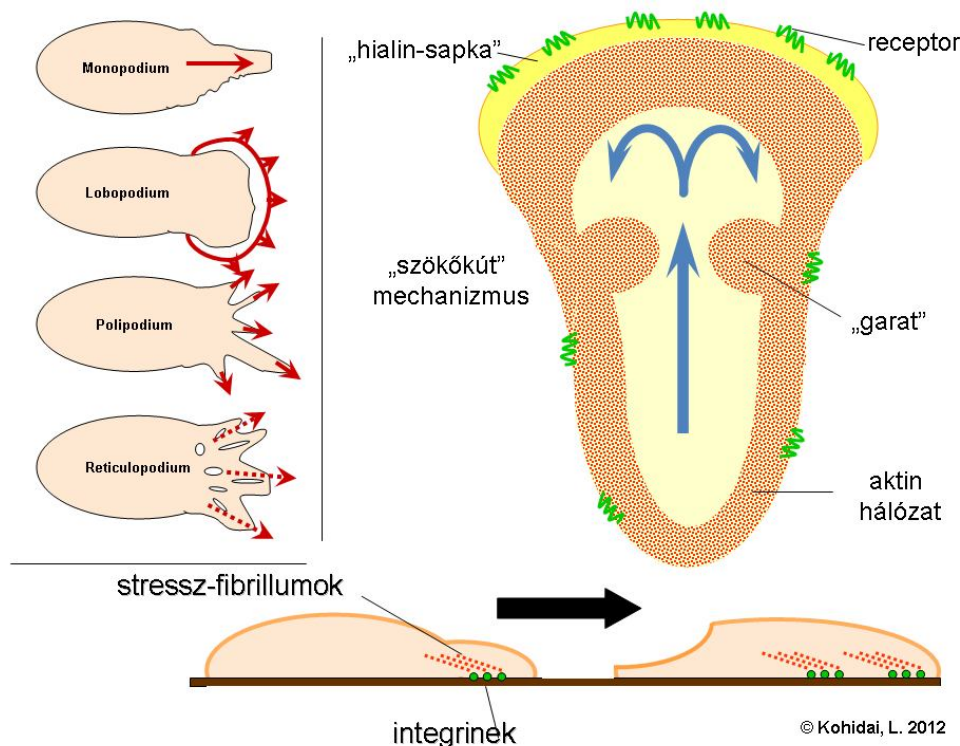
3.19 ábra Ciklózis molekuláris háttere növényi sejtben.

Az alábbiakban két, az eukarióta sejtekre általánosan jellemző sejtmozgási mechanizmus az amőboid és a csillós-ostoros mozgás mechanizmusát tekintjük át.

3.4.2 Amőboid mozgás

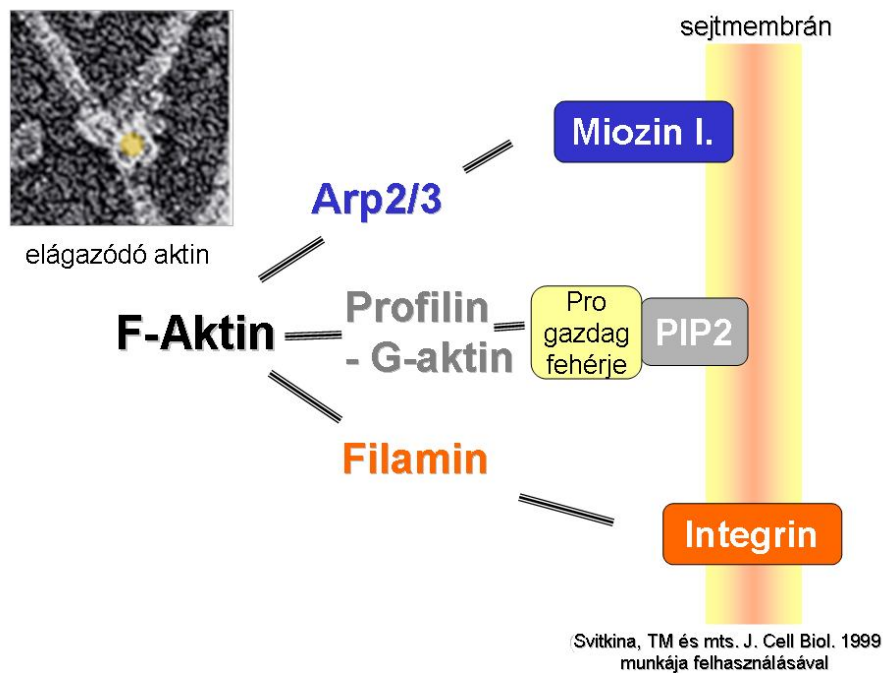
Az **amőboid mozgás** a mozgásforma nevét adó protozoonoktól kezdve a törzsfejlődés minden szintjén megjelenik. Az egyes élőlények egyedfejlődése során ugyan változó az ezt mutató sejtek aránya, de még kifejlett állapotban is szinte minden szövetben találunk amőboid mozgást mutató sejteket. Az emberi szervezet esetében is igen széles azoknak a sejttypusoknak a száma melyekre ez a mozgásforma a legjellemzőbb, így a neutrofil granulocyta, monocyta/makrofág, fibroblaszt, hámsejtek is így változtatják helyüket a szövetekben és a szövetközi térben is.

Az amőboid mozgás esetében észlelhetők azok az alapjelenségek, amelyeket a legegyszerűbb, már a növényi sejtekben is megfigyelt sejtmozgás, a citoplazma áramlás esetében leírtak. Az amőboid mozgással mozgó sejtek citoplazmájára is jellemző annak rétegezettsége, kialakul egy külső ún. ektoplazma, melyben aktin molekulák hálózata található, ez alatt az endoplazma külső, határoló felületén fibrilláris molekulák jelennek meg. A sejtekben a megfelelő stimulus hatására citoplazma polarizált szerkezete alakul ki, s álláb (pszeudopódium) képzésével migrációjuk megindul. Az amőboid mozgás egyik alapfeltétele a szilárd, vagy legalább szilárd összetevőket jelentős arányban tartalmazó felszín, melyen az elmozduló sejt rögzül. E kitapadás a fentiekben már leírt fokális kontaktusok/adhéziós plakkok segítségével történik, melyekben az integrin molekulák és az azokhoz kapcsolódó intracelluláris stressz filamentumok játszik a döntő szerepet (3.18 ábra). A kialakuló állábak száma szerint mono-, illetve polipodiális mozgásról, a kialakuló álláb alakja szerint pedig lobo-, filo-, retikulopodiális mozgásokról beszélünk. Az álláb kialakulását követően az aktin hálózatban gazdag és ezért rigidebb ektoplazmán belül lévő, annál folyékonyabb endoplazma döntő hányada egy ún. **"szökőkút mechanizmussal"** a kialakult álláb felé áramlik (3.20 ábra). Ez a haladási irányba történő citoplazma fecskendezés az ektoplazma garat-szerűen beszűkült képletén keresztül történik. Az állábak képződésénél az azokban található aktin kötegek polarizált elhelyezkedésűek, polimerizálódó pozitív végük közvetlenül a membrán alatt található, egyes megfigyelések szerint sapkázó proteinekkel fedett. A miozin eltérő formái közül az állábok képződésében a rövid miozin I.-nek van közvetlen szerepe, ez mutatható ki nagy koncentrációban a sejtek frontális oldalán, míg a miozin II. a sejtek ellentétes, hátsó részén helyezkedik el.



3.20 ábra Az amőboid mozgás mechanizmusa és az állábképzés különböző formái

Az **álláb kialakulása** a sejt frontális membránjának deformálódásának következménye, mely a membrán citoplazma felőli oldalára ható és molekuláris szinten is értelmezhető erők generálásának a következménye. A folyamat kezdő lépését általában a migrációt indukáló, receptor–lignadum kölcsönhatás jelenti, melynek eredményeként a WASP (Wiskott–Aldrich syndrome family protein) protein egyik doménje aktin monomert köt, míg másik doménjével az **Arp2/3**-hez (Arp=actin related protein) kötődik. Az így kialakult komplex az aktin polimerizáció kezdőpontjául szolgál. A polimerizálódó aktin szálak a periféria felé, tehát a sejtmembrán belső felszíne felé növelik hosszukat, azonban egyes pontokon Y-szerű elágazódások is kialakulnak, mely egy membrán alatti aktin hálózat létrejöttét segíti elő. Ez a számos, villa-szerűen növekedő aktin hálózat éri el a membránt, s erőkifejtése révén a membrán előboltosulását okozza. Az aktin–membrán kapcsolat kialakításában a leggyakoribb molekuláris összekötő mechanizmusokat a 3.21 ábra szemlélteti.



3.21 ábra Mechanikai hatást kifejteni képes F-aktin-membrán kapcsolatok.

Az így kialakuló aktin hálózat azonban csak rövid ideig áll fenn. Öregedése a lánc pozitív végét sapkázó fehérjék kapcsolódásával kezdődik, majd a cofilin aktin láncot daraboló hatásával teljesedik ki és végül a széteső F-aktinokból felszabaduló ATP-kötött G-aktinok jelennek meg. Ezek egy körfolyamat végét jelzik s egyben készen állnak a korábbiakban már leírtak alapján a folyamat ismételt indukciójakor egy újabb F-aktin hálózat kialakítására.

A mozgásra jellemző a sejt frontális, állábképző részén megfigyelhető aktív, új sejtmembránt építő folyamat, valamint az elmaradó részek fokozott exocitotikus aktivitása. Az így mozgó sejt orientációjában jelentős szerep jut a frontális felszínen kialakuló ún. hyalin sapkának, illetve az azt fedő membrán összetételének. Maga a *hyalin sapka* (hyaline cap) a képződő álláb legdisztálisabb részét jelenti, mely nevét onnan kapta, hogy üvegesen áttetsző, sejtalkotókban szegény sávja a felszíni membrán alatti citoplazmának. Az ezt borító membrán különös jelentőséggel bír a mozgás mindenkori irányának megválasztásában, illetve abban, hogy a sejt a kezdeti irányba folytatja-e a már megkezdett mozgást. Ezt a membránban elhelyezkedő receptorok viszonylag nagy változatossága teszi lehetővé, mely

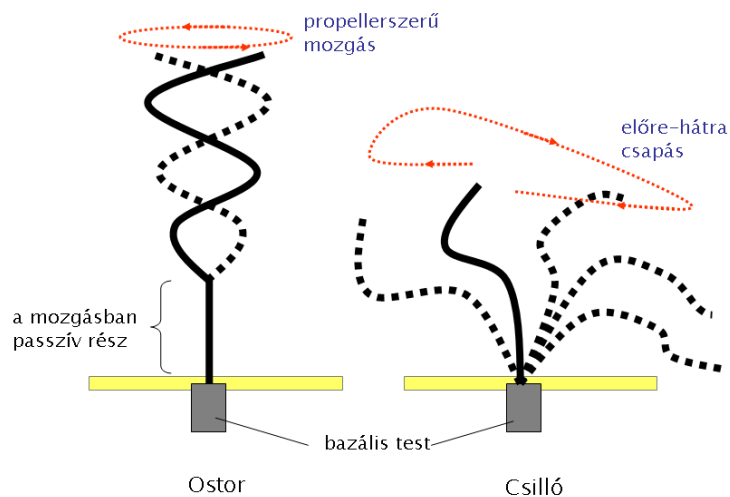
segítségével a migráló sejt mind a számára kedvező, mind a kedvezőtlen környezeti jelek érzékelésére képes és migrációját a megkezdett irányban folytatja tovább, vagy módosít a mozgás irányán. Mivel a membrán receptorai folyamatos mozgásban vannak, denzitásukat a sejt a mozgás irányultságának megfelelően szabályozni tudja. Ebben a receptorok membrán síkjában történő mozgatása és internalizációjukat követő ismételt felszínre juttatásuk egyaránt szabályozó tényezőként szerepelnek. Általános megfigyelés azonban, hogy a sejt elmaradó, hátsó részének membránja lényegesen kevesebb kemotaxis receptort tartalmaz.

3.4.3 Csillós – Ostoros mozgás

A csillók, illetve ostorok mind a prokarióta, mind az eukarióta sejtek helyváltoztatást elősegítő függelékeiként megtalálhatók. Szerkezetük és működésük azonban alapvető különbségeket mutat az evolúció e két fejlettségi fokán. Jelen fejezetben az eukarióta formák ismertetésére szorítkozunk, a prokarióta ostor leírására a következő fejezetben kerül sor.

Morfológiai szempontból a két sejtfüggelék – **csilló és ostor** –, közötti szemmel látható különbség, hogy míg a csillók viszonylag rövid citoplazma nyúlványok és sűrűn borítják a sejteket (pl. egy *Tetrahymena* testét kb. 600 csilló fedi), addig az ostorok hosszabb képletek, ám számuk jelentősen kevesebb. Mozgási módjuk is eltérő, a haránt és hosszanti sorokba rendezett csillók a tér egy síkjában előre–hátra irányuló, periodikus csapási hullámokkal mozognak. Mozgásuk összerendezettségét mutatja, hogy a hosszanti sorokban az azonos helyeken elhelyezkedő csillók a csapási hullám azonos fázisában vannak. Ezt az összerendezettséget a csillókat összekötő membrán alatti citoskeletális szerkezet biztosítja, mely intracelluláris "ingerületi továbbító" rendszerként működik. Ostorok esetében a mozgás típusa eltérő, propellerszerű, körkörös mozgást figyelhetünk meg. Fenti eltérések ellenére a két sejtfüggelék belső szerkezete nagymérvű hasonlóságot mutat, egyes kutatók szerint csupán a hosszbeli eltérésben – ld. az ostor membrán közeli passzív része –, keresendő a

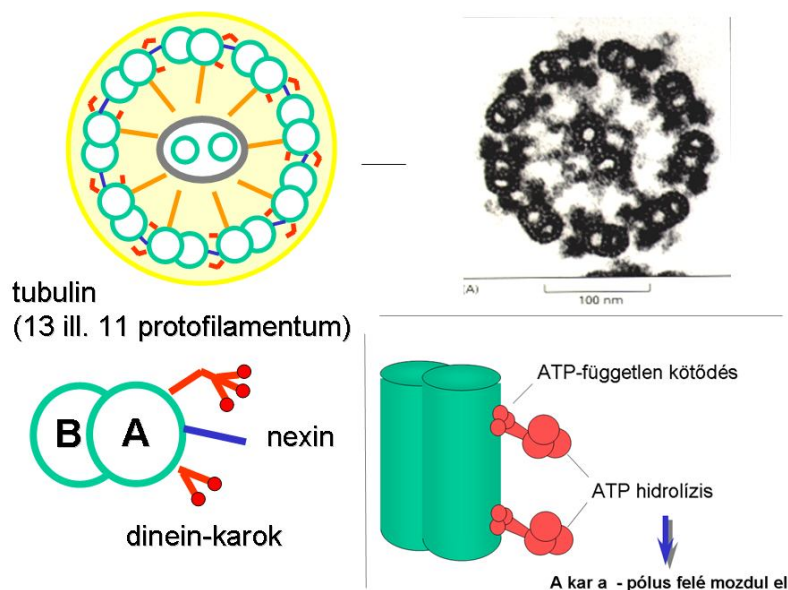
csapási mód eltérése (3.22 ábra).



© Köhida, L. 2008

3.22 ábra Ostor- és csilló-csapás összehasonlítása

Mint a 3.23 ábra jelzi – mind a csilló, mind az ostor esetében – a felszíni membrán alatt körben 9x2 mikrotubulus helyezkedik el, míg középen, egy hengerded képlettel körülvetten 2 külön álló mikrotubulus-párt találunk.

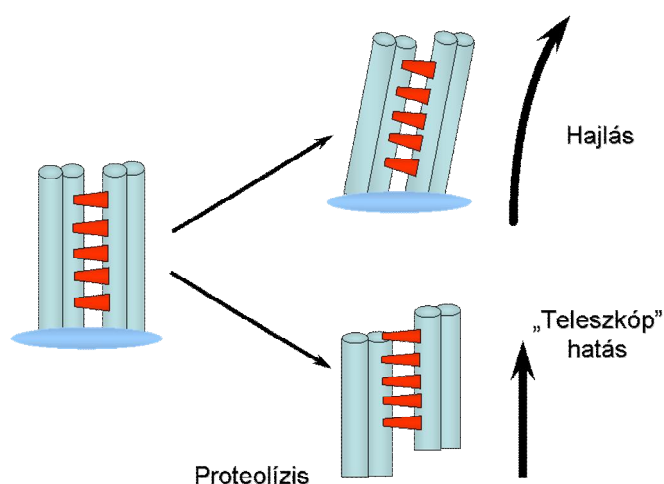


3.23 ábra Csilló/ostor felépítésében részt vevő főbb fehérjék és azok elhelyezkedése; dinein-karok térbeli helyzete (jobb oldali panel)

A mikrotubulusok felépítésében a már említett **tubulin** molekulák alkotta protofilamentumok vesznek részt s ezek száma eltérő a mikrotubulus párosok (A-13 db; B-11 db) esetében. A mikrotubulusokhoz a motor

proteinek, egy méretben nagyobb, három motor doménnel rendelkező külső és egy klasszikus két doménű kisebb **dinein** kar formájában kapcsolódnak. Ezek a párosan elhelyezkedő karok külső darabjai közelében helyezkednek el a szintén mikrotubulusok közötti kapcsolatot kialakító **nexin** molekulák, melyek kötődése révén folyamatos gyűrűvé alakul a leírt szerkezetet. A csilló/ostor szerkezetét stabilizáló, további szerkezeti elemek az A tubulusokról centrális irányba mutató, **küllő-szerű képletek**, valamint egy spirál alakú fehérje lánc, amely hengerpalást mentén a középső 2 mikrotubulust veszi körül. A fent leírt szerkezet működéséhez a szükséges ingerület e képletek alapja felől érkezik. Itt helyezkedik el a sejtközpont centriolum testecskéivel azonos szerkezetű, ú.n. **bazális test vagy kinetoszóma**, mely 9x3 mikrotubulusból áll, s egy, az elektronmikroszkópos képeken elektrondenznek tűnő zárólemez határolja el a csilló/ostor többi részétől. E sejtmembrán alatti elhelyezkedésű kinetoszómák között található a csillós egysejtűek esetében mikroszkóposan is jól vizsgálható hálózat (ld. protargol impregnáció), melynek mozgást koordináló szerepét a fentiekben már jeleztük. A kinetoszóma ingerületét a csilló/ostor testébe a középső két mikrotubulus vezeti, s az idejutott ingerület hatására átmenetileg megemelkedik a belső tér kalcium koncentrációja. A dinein-karok nehéz láncainak ATP-áza révén beindul az ATP molekulák hidrolízise. Mindezek eredményeként a motorproteineknél vázolt módon a dinein-karok pozíciója megváltozik, s ezáltal a szomszédos mikrotubulus párok egymáson elmozdulnak. A dinein-karok és a szomszédos mikrotubulus közötti kapcsolat kialakításában a karok disztális ATP-áz aktivitású doménjei mellett szerepet kapnak a kar ilyen enzimatiszus aktivitást nem mutató, de a kötődést elősegítő részei is (ld. 3.20 ábra jobb oldali panel). E folyamat csilló esetében annak meghajlásához – csapásához – vezet, majd a folyamat lezajása után a szerkezet visszatér alapállapotába. Ezt a folyamatot, illetve a dinein molekulák csilló csapásban betöltött kulcsszerepét igazoló kísérletet ábrázolja vázlatosan a 3.24 ábra. E kísérlet kezdetén szomszédos mikrotubulus párokat az ezeket összetartó fehérjelemezzel együtt izoláltak.

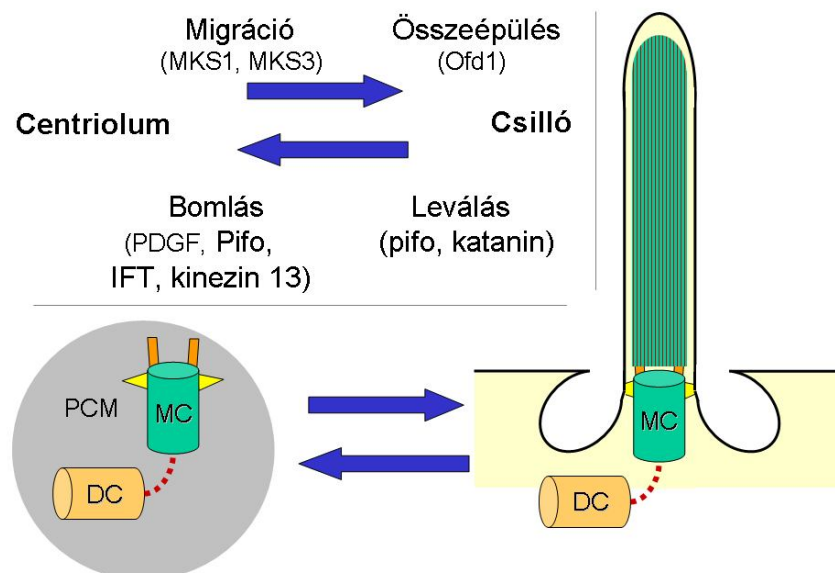
Az így elkészített preparátumban, melyben a két mikrotubulus-párt összekötő dinein-karok is jelen voltak Ca^{2+} -ok és ATP adására a csilló csapásához hasonló elhajlást tapasztaltak. Ha azonban a kísérletet az összetartó fehérjelemez proteolízise (eltávolítása) előzi meg az elhajlás már nem következik be, hanem a szomszédos mikrotubulus párok egyike, ú.n. **teleszkópos mozgást** végzett, s ezáltal az eddig azonos magasságban lévő mikrotubulusok között szintbeli eltérés alakult ki. A kísérlet egyértelműen bizonyította a dinein-karok, mint motor proteinek kulcsszerepét a csilló/ostor csapás kialakulásában, s egyben megmagyarázta azokat a kísérleti tapasztalatokat is, melyek az elhajlott csillók csúcsi részéből készült keresztmetszetekben csupán az elhajlás egyik oldalán tudtak mikrotubulus átmetszeteket kimutatni.



3.24 ábra Csillók működése – A dinein motorproteinek szerepét tisztázó kísérlet fő lépései

A mechanizmus egy érdekes variánsára ad magyarázatot az a 2010-ben Mitchison és mts. által publikált elmélet, mely a spermiumok ostoros mozgásának hullámzó mintázatát elemzi. Elméletük szerint mindig csupán az ostor kisebb görbületi sugara mentén található dineinek aktívak, ezek kapcsolódnak a szomszédos mikrotubulusokhoz. A két oldalon elhelyezkedő dineinek alternálónan tudnak így erőt kifejteni, s maga az ostor egy rugóhoz hasonlóan végez hullámzó mozgást.

A csilló bazális teste és a centriolum közötti nagy szerkezeti hasonlóság egy közvetett magyarázatát kapjuk a motilitást nem mutató ún. **primer csillók** esetében, melyekből egyetlen darab nagyon sok sejtünkben található, de egyes érzékszerveink receptor sejtjeinek (pl. fotoreceptor, szaglóreceptor) elengedhetetlen komponense. Ezek bazális teste a sejt centriolumával nem csupán szerkezeti rokonságot mutatnak, de azok anya-centriolum tagjából alakulnak is ki. Ez a folyamat komplexen szervezett, s mind a centriolum migrációja és asszociációja a csilló bazális részével, mind az evvel ellentétes disszociációs és lebontó folyamatokat számos szabályozó mechanizmus modulálja, a csillók funkcionális állapota feletti ellenőrző funkciót látva így el (3.25 ábra).



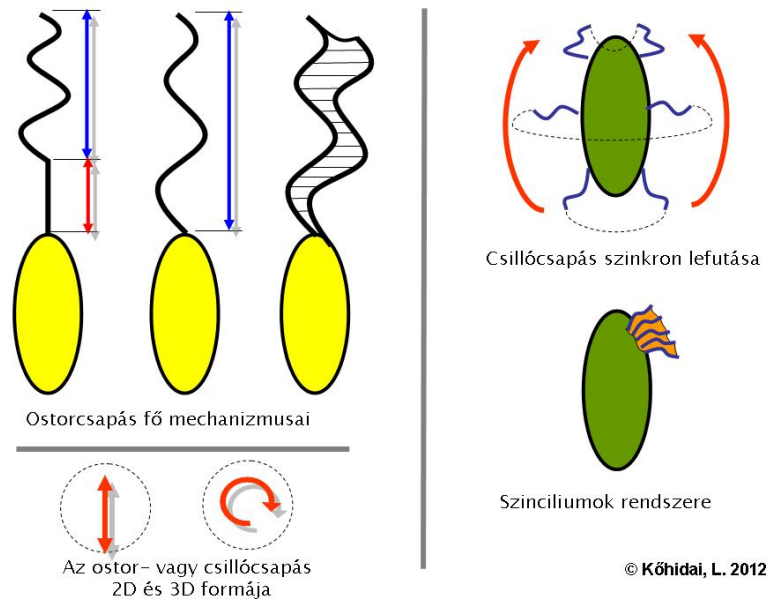
Forrás: Kobayashi, T Dynlacht, BD J Cell Biol (2011)

3.25 ábra Centriolum – csilló bazális test közötti kapcsolat primer csilló esetében.

(MC – anya-centriolum, DC – leány-centriolum, PCM – pericentrioláris mátrix)

A fentiekben felsorolt néhány fehérje csupán a csilló/ostor szerkezetének, illetve működésének legfontosabb elemeit képviseli. Az elmúlt évek molekuláris biológiai vizsgálatai a fehérjecsaládok több mint 600 tagját azonosították. Ezek kb. 70%-a tubulin típusú fehérje, azonban a külső dinein-karokban is 9, a radier állású küllőkben pedig több mint 18 polipeptid található.

Az ostoros és csillós mozgás jelen fejezetben ismertetett tulajdonságai a szakirodalom által leírt, legáltalánosabban megfigyelhető jellegzetességek. Ezeken kívül azonban a törzsfa különböző szintjein számos variánssal találkozhatunk, ezek közül is talán a leggazdagabb a protozoonok világának fajokban igen gazdag tárháza. Az általánostól eltérő, főbb tulajdonságok összefoglalását mutatja a 3.26 ábra, a teljesség igénye nélkül.



3.26 ábra Az ostor-, illetve csillócsapás főbb változatai.

Mint azt a fenti ábra is mutatja az általánosan elfogadott ostorcsapási mechanizmus mellett – melyben az ostor sejttesthez közeli része passzívan vesz csak részt a mozgásban (ld. piros nyíllal jelölt szakasz) –, vannak olyan esetek, melyekben az ostor egész teste elősegíti a sejttestet előre felé toló erő generálását. Egyes esetekben ezeknél az egyedi ostoroknál is összetettebb képletek alakulnak ki, melyekben az ostorokat összefogó membrán által képzett képlet segítségével a sejt mintegy evezőt használja az ostor-komplexet. Csillók esetében egysejtűekben, vagy viszonylag nagy csillóval fedett egyéb felszíneken a csillócsapás összerendezettsége figyelhető meg. Ez megnyilvánul az azonos vonalban lévő csillók azonos csapási fázisában és az egymás előtt/mögött lévő csillócsapásainak időbeli szinkronizáltságában is. Itt is találunk példát egymással membránnal

összefogott, ún. **szinciliumok** képzésére. Ezekben 50, sőt még ennél is több – esetleg több sorban is elrendezett –, csilló együttes mozgása következtében sokkal hatásosabb csillócsapásokat tud a sejt generálni, mint az egyedi csillókkal.

Az említett mozgástípusok mellett, alapvető, az ostorokra és csillókra egyaránt jellemző, hogy bizonyos fajtaik síkban (2D). míg mások térben (3D) valósítják meg a csillócsapást, ezáltal is egyedi jelleget adva a sejtmozgás adott formájának (ld. sebesség, amplitudó stb.).

3.5 Kemotaxis – A sejtmozgás modern elméleteinek tükrében

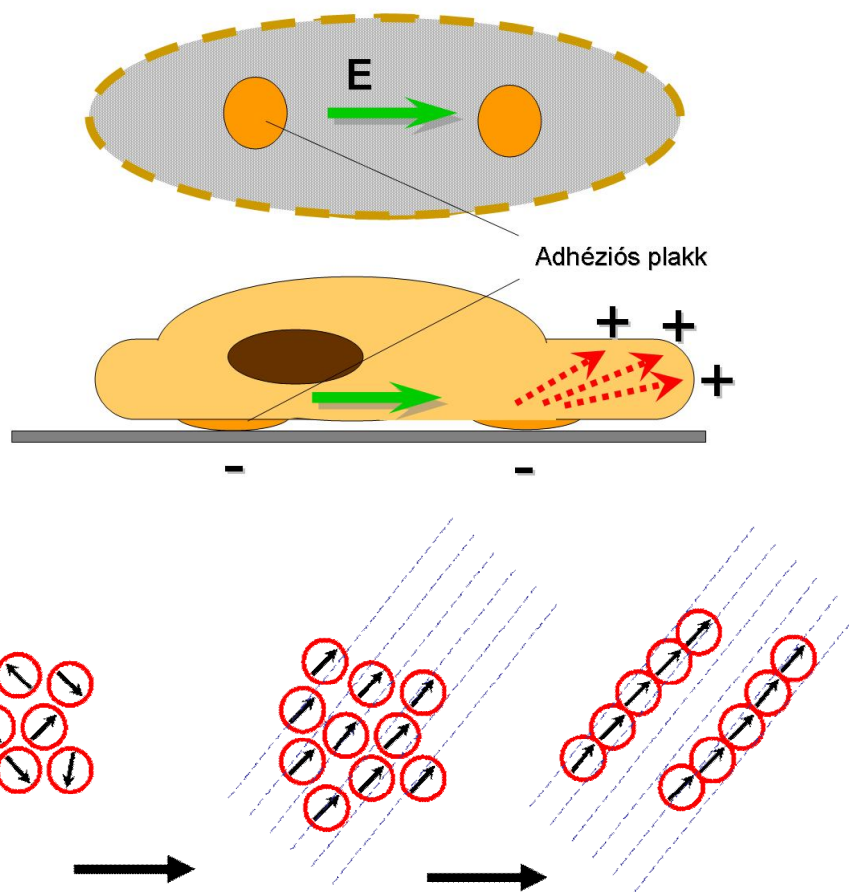
Az eddig vázolt fő mozgásformák, hosszú évtizedekig kielégítő magyarázatot szolgáltatottak a kemotaxis effektor mechanizmusával kapcsolatban, hiszen a kérdéses jelenséget döntően különálló sejtek (fehérvérsejtek, egysejtűek) esetében elemezték, viszonylag kevés adat állt rendelkezésre a szöveti térben történő sejtelmozdulás mechanizmusáról. Az egyre érzékenyebb vizsgálóeljárások azonban lehetővé tették, hogy a folyamatot több szempontból is vizsgálják.

Egyrészt lehetővé vált egyre több olyan szöveti és sejtes felszín molekuláris szintű vizsgálata (ld. nagyfelbontású TEM, immun-elektronmikroszkópia, SPR) melyek mentén sejtek migrációja képzelhető el. E munkák bizonyították be, hogy számos sejtes és ECM felszín esetében koncentráció gradiensek alakulnak ki, melyek felszínt biztosítanak a migráló sejtek **haptotaktikus** vándorlásához. E kutatások mellett olyan technikák kifejlesztésére is sor került, melyekkel nem csupán jól kontrollálhatóvá vált a ligandumok egyes felszínekhez való kötése, de kísérleti célból gradiensek kialakítására is mód nyílt, modellezve ezzel az élő szövetekben észlelteket. Fenti eredmények vezettek oda, hogy a klasszikusnak mondható szemlélet, mely szerint a gerincesek és így az ember szervezetében is kemotaxis a mozgó sejtek fő migrációs formája, már nem volt tartható, s napjainkra bebizonyosodott,

hogy nem csupán a mozgásra képes sejtek igen sokfélék, de elmozdulásuk típusa is gyakrabban tekinthető haptotaxisnak, mint kemotaxisnak.

A felszíhez kötött mozgás vizsgálatának tudományos elfogadottsága eredményezhette egy új fogalom a „*micro-motion*” bevezetését is. Már korábbi, in vivo fénymikroszkópos vizsgálatok is jelezték, hogy nem csupán a nagy távolságok megtétele tekinthető aktív mozgásnak, hanem a „helyben topogó” sejt is mutathat eltérő aktivitást attól függően, milyen hatások érik. E korai megfigyelések kifinomultabb regisztrálását tette lehetővé az impedimetria *Ivar Giaver* általi bevezetése sejtes minták jellemzésére (electric cell-substrate impedance sensing – ECIS). E rendszerek az élő sejt szigetelő voltát kihasználva képesek a sejt-elektrod között mérhető fizikai paraméterek (Z, R, C) mérése révén jellemezni a sejtek kitapadásának mértékét, illetve a kitapadó és migráló sejtek számát is. A fent említett „micro-motion” a sejtek legkisebb mozgásait, rotációs aktivitását is képes követni melyhez fokozottan nagy érzékenységű detektálást igényel.

Az elmúlt évtized során egy másik, eddig nem vizsgált oldalról, a sejten belüli elektromos erőkterek hatásainak szemszögéből is elemezték a migráló sejteket. A vizsgálatok adatai arra mutatnak, hogy nagy érzékenységű műszerekkel vizsgálva a sejtet, a kemotaktikus ingerre bekövetkező amőboid mozgás során – a kialakuló adhézíós plakkok között –, a haladási irány felé mutató polaritású elektromos erőter mérhető. Az elektromos erőter szabályozó volta több vonatkozásban is kimutatható volt. Egyrészt hat a letapadási pontok kialakulására, meghatározva azok egymás közötti távolságát, másrészt a sejtmozgásban kulcsfontosságú molekulák kialakulását is szabályozó tényezőnek tűnik, befolyásolva mind az aktin, mind a tubulin polimerizációját és a polimerizálódó fibrillumok irányultságát is 3.27 ábra. A mért kis erősségű erőkterek biológiai szempontból hatásos volta jelzi, hogy számos még ma is ismeretlen tényező szerepel a kemotaxis szabályozó tényezői között.



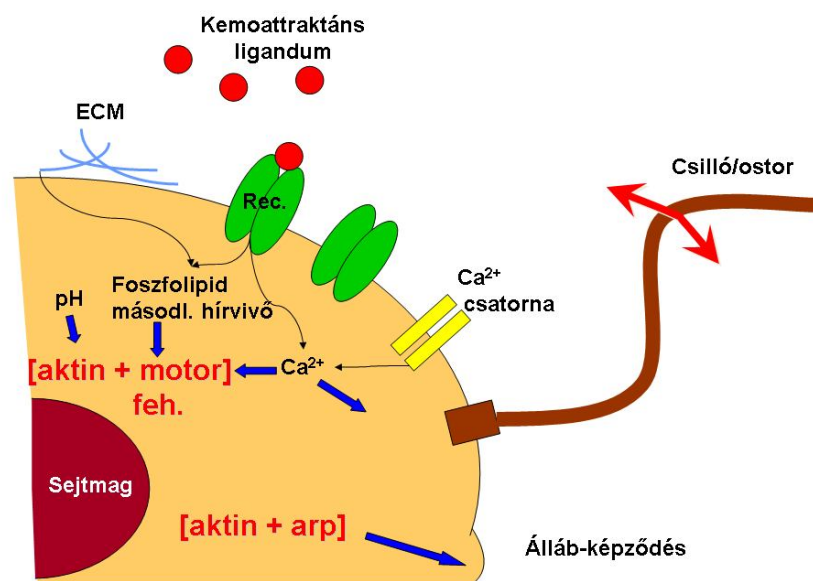
3.27 ábra Elektomos erőtér hatása aktin polimerizációjára és polaritására

3.6 Receptorok és szignalizációs rendszerek

Fontos látnunk, hogy a fentiekben áttekintett mechanizmusok működése a sejtben mindig egy szignalizációs folyamat aktiválódása következményének tekinthető, mely folyamat specifitását alapvetően meghatározzák az azt kiváltó anyagok – kemotaktikus ligandumok – és receptoraik kölcsönhatása. Már a bevezető fejezetben jeleztük, hogy a sejtek migrációjának kiváltására, modulálására képes anyagok száma szinte végtelen, s bár megkülönböztethetünk „professzionális” kemoattraktáns/ kemorepellens hatású anyagokat, ezeknél lényegesen több képes a sejt mozgását befolyásolni. A szűken vett kémiai jelek csoportját jóval meghaladó egyéb, e tekintetben hatásos szignálok természetesen még tovább árnyalják a képet, sok esetben szignalizációs mechanizmusaik kutatása még csak kezdeti

lépéseknél tart. A fentiek is jelzik, hogy a kemotaktikus jelek receptorai és szignalizációs láncuk a biológiában eddig megismert, szinte az összes szignalizációs mechanizmust igénybe veszik, átfogó, részletes leírásuk a kemotaxis esetében a receptor és szignál molekulák összes rendszeréről szóló összefoglalóval lenne egyenértékű, mely a jelen munka keretein túlmutat.

Az alábbi fejezet célja a kemotaxis és annak biológiai és klinikai hatásai szempontjából legfontosabb receptorok/receptor-családok bemutatása, intracelluláris szignalizációs mechanizmusaik fő típusainak áttekintése, valamint az e receptorokon ható ligandumok fő csoportjainak bemutatása és jellemzése lesz. A folyamat általános áttekintéseként már bevezetőben is elmondható, hogy mint azt a 3.28 ábra is mutatja, ugyanazon receptor indukciója a kemotaxis szempontjából több lényeges mechanizmus indukciójára is képes. Így a receptor–ligandum kapcsolódást követően az intracelluláris szignalizációs folyamatok beindulásával a sejt váz egyes elemeinek összekapcsolódása (ld. aktin–motor proteinek vagy Arp–k) és az ezt támogató kofaktorok megjelenése (ld. Ca^{2+} , pH) éppúgy megfigyelhető, mint maga a makroszkópos kivitelező mechanizmusok (álláb-képződés, csillók csapása) következményes bekapcsolása, mely a tényleges elmozdulást eredményezi.



3.28 ábra A sejtek migrációját kiváltó, receptor–mediált folyamatok főbb intracelluláris effektor mechanizmusai.

3.6.1 Receptorok

A sejtek közötti és a sejten belüli információ-átadás specifitásának egyik fő biztosítékát a sejt membránban, illetve az intracelluláris kompartmentekhez kötötten található receptorok biztosítják. E képletek specifikus modulálásának alapfeltétele a komplementaritás, tehát az adott receptor és a hozzá kapcsolódni képes ligand (pl. hormon, lektin, gyógyszer) térszerkezetben is meghatározott, egymást kiegészítő–befogadó jelleg, mely egyes esetekben csak a két partner egymásra hatásakor indukálódik, ám szerkezetileg homológ molekulákkal részben, vagy teljes egészben helyettesíthető is. A sejtek felszínén elhelyezkedő receptorok abszolút száma mellett azok specifitása befolyásolja a sejtek indukálhatóságát. A receptor–ligand kölcsönhatásnak így a klasszikusnak mondható farmakológiai paraméterek: *specifitás, affinitás, reverzibilitás és telíthetőség* tekinthetők fő ismérveinek. Mindezek azonban csak akkor tekinthetők egyértelműen egy receptor sajátosságának, ha a megfelelő ligandummal való kapcsolódást követően a sejt válaszreakciója is kialakul, tágran értelmezett kemotaxis válasz esetében ez már a sejt adhéziójának az indukcióját is jelentheti (ld. amőboid mozgás), bár számos esetben csupán a sejt migrációs válaszában nyilvánul meg.

Membránreceptorok esetében a receptor szerkezete igen sokféle lehet, *egyszerű transzmembrán proteintól* (pl. EGF receptor), a membrán különböző szintjeinben elhelyezkedő, több alegységből felépülő komplexeken át (pl. inzulin receptor) a membránt többszörösen átfűző ún. *multipath receptorokig* (interleukin–8 receptor). A receptort alkotó fehérjék indukálásának több módja ismert: vannak *ion-csatornaként* működő receptorok (pl. a neurotranszmittereket "érzékelő" Na^+ és Cl^- csatornák) vagy az *enzimatis aktivitású fehérjékből* állók (pl. a kemotaktikus hatású növekedési faktorok, PGDF, FGF, NGF, MCS–F vagy az inzulin receptora). E komponensek számos foszforilációs helyet tartalmazhatnak, melyeket más–

más intracelluláris reguláló protein foszforilál. Az egyszerű foszforiláción túl a több tirozin kinázt tartalmazó receptorok dimerképzéssel keresztfoszforilációra képesek, mely a katalitikus domén foszforilálódását követően további intracelluláris proteinek – láncreakció-szerű – aktiválódásához vezet.

A tárgyalt receptoroknál a ligandum–receptor interakció eltérő utakon modulálhatja az adott sejtet. A kemotaxis szempontjából is fontos, főbb mechanizmusok (i) sejt membránpotenciáljának megváltoztatása; (ii) másodlagos hírvivő molekulák keletkezésén keresztül kifejtett hatás; (iii) receptor–ligand internalizációja útján kialakuló sejtválasz.

Az első forma az idegrendszerhez tartozó sejtek esetében jellemző. Ekkor döntően ion-csatorna típusú receptorok működése révén változik meg a sejtek intracelluláris ionkoncentrációja, s ezáltal a sejtek metabolikus aktivitása is. E mechanizmus kemotaxisra kifejtett hatására szép példa az egysejtű csillós Tetrahymenán tett megfigyelés. E szerint az N-metil-D-aszparaginsav (NMDA) által az NMDA ion-csatorna receptoron keresztül kifejtett kemotaktikus hatás, a sejtbe áramló Ca^{2+} révén képes a sejtmozgás aktivitását befolyásolni. E receptorok részletesebb tárgyalásától azonban itt el kell, hogy tekintsünk annak specifikus volta miatt.

3.6.2 Másodlagos hírvivők

A kemotaxis tárgyalása szempontjából talán a leggyakrabban leírt mechanizmus a másodlagos hírvivőkön keresztül valósul meg. Ekkor a membránban elhelyezkedő, illetve annak intracelluláris felszínéhez közeli transzducer rendszerek aktiválódása követi a receptor–ligand kötődést, melyek a másodlagos hírvivő molekulák szintézisét indukálják, majd e molekulák a sejt különböző enzim-rendszereit modulálják a jel fokozatos amplifikációjával. E folyamat központi tagjai a ***G proteinhez*** kötött kemotaxis receptorok. A G protein három alegysége kezdetben komplexet képez, s erről válik le az alfa alegység, mely GTP-t kötve képes a

szignáltranszdukciós lánc következő elemét az adenilciklázt aktiválni, melynek terméke az ATP-ből kialakuló másodlagos hírvívő, a **cAMP**. (Hasonló módon alakul ki guanil cikláz segítségével a cGMP, s a megfelelő cikláz enzim segítségével, az ezeknél ritkábban említett ciklikus nukleotidfoszfátok a cTMP és cCMP is). Az aktiválást követően a GTP – GDP-re hidrolizál s ezáltal az alfa alegység ismét kötődni képes a komplexhez. A kialakult másodlagos hírvívők intracelluláris hatásának egyik fő támadáspontját különböző **protein kinázok** (pl. protein kináz A = PKA; protein kináz C = PKC) jelentik, melyek aktiválódásuk után további enzimeket– enzim-rendszereket indukálnak. A PKA esetében ez a cAMP molekulák kötését jelenti, majd e regulációs alegység disszociációját követően a katalitikus alegység a **foszforiláz kináz–foszforiláz rendszert** aktiválja. PKC esetében más foszforilációs mechanizmusok aktiválódnak. A másodlagos hírvívők lebontását a foszfodiestراز (PDE) enzim végzi. A G protein aktivációja egyéb mechanizmusok aktiválását is okozhatja, például a **foszfolipáz C** aktiválása útján hatással van a membránhoz kötött lipidek leszakadására és átalakulására, mely során másodlagos hírvívőként ható **inozitol foszfolipidek** (PIP, PIP₂, IP₃), valamint **diacil– glicerín** keletkezik. E szignalizációs mechanizmus két úton is kapcsolatba kerül az intracelluláris enzim-rendszerekkel. Egyrészt az IP₃ hatására felszabadul a citoplazma egyes képleteiben (sER, mitochondrium) raktározott ionos kalcium, mely magában is, valamint a kalciumot kötni képes calmodulin aktiválása révén újabb enzimeket (pl. kinázok) kapcsolnak a folyamatba. Másrészt a diacil–glicerín (DAG) révén, mely a kalcium ion–függő PKC–t aktiválja, s ezzel seregnyi fehérje foszforilációját idézi elő. A folyamat terminális lépése a DAG molekulák hidrolízise, melynek terméke a prosztaglandin szintézis egyik előanyaga az **arachidonsav**. Ismét új utat jelent a karboxi–terminális ciszteint tartalmazó peptidek (CaaX motívum) **prenilációja**, melyet farnezil– vagy geraniltranszferázok végeznek. Hatásukra a preniláción átesett fehérjék egymás közötti kapcsolódása és a sejtmembránhoz kötődésük affinitása is növekszik, mely biológiai

funkcióikat is befolyásolja (ld. prenilált Ras fehérjék kiemelt szerepe a tumorképződésben).

A 3.1.9 fejezetben már említést tettünk a „*reverz migráció*” jelenségéről, jelezve, hogy magasabb rendű sejtekben e viszonylag még kevésbé jellemzett folyamat hátterében is a másodlagos hírvivő molekulák sajátos gradienseinek hatását feltételezik. A folyamat egy szép példája az amőboid mozgással migráló sejtekben általánosan kialakuló PIP3 gradiens, mely kemoattraktáns eseében a receptor-indukcióban részt vevő, frontális pólustól az elmaradó, farki pólus felé folyamatos csökkenést mutat. A kemoattraktáns cAMP és ennek kemorepellens derivátuma (8-para-chlorphenylthio)-cAMP (8CPT-cAMP) hatására a PIP3 gradiensek ellentétes polaritása figyelhető meg: a cAMP-receptor komplex esetében a PIP3 gradiens a receptortól csökkenő (ld. fenti alapsémát), míg a 8CPT-cAMP-receptor komplex esetében a receptortól távolodva növekvő PIP3 gradiens mérhető.

Emberi neutrofil granulociták IL-8 kiváltotta mozgásai a molekuláris szintű „döntéshozatal” összetett rendszerére adnak példát, melyet az alábbi 3.4 táblázat foglal össze:

3.4 táblázat Neutrofil granulociták IL-8 indukciója (reverz mechanizmusok – szürke kiemelés)

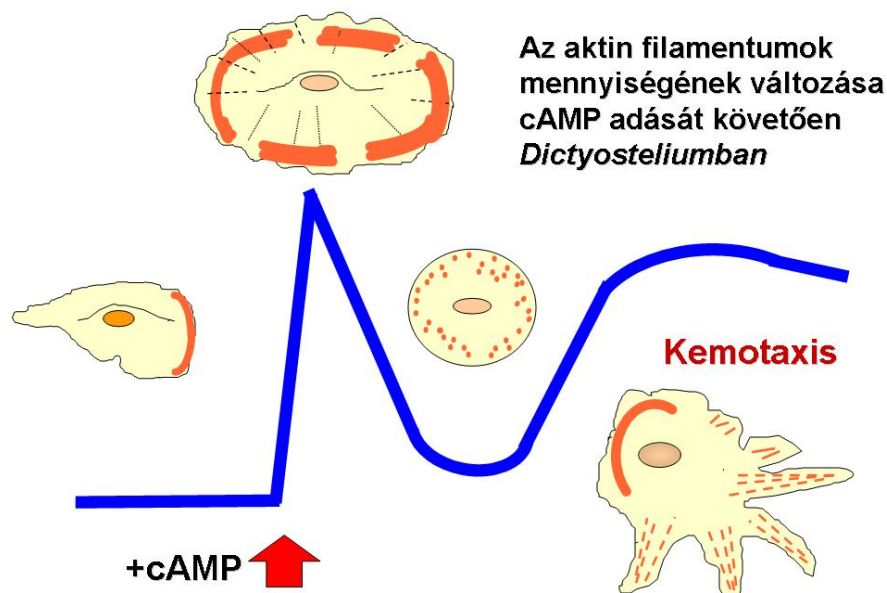
	Kemoattraktáns hatás	Kemorepellens hatás
Receptor (CXCR2)–szaturáció	alacsony	magas
Kalcium fluxus	alacsony	magas
PTX érzékenység	érzékeny	érzékeny
Másodlagos hírvivő	cAMP/PKA	Ca ²⁺ /PKC
Akt polarizációja	frontális pólus	frontális pólus
RhoA/p160ROCK	elmaradó pólus	elmaradó pólus
Forrás: Huttenlocher, A., Poznansky, M.C. Trends in Cell Biol. 18, 298-306 (2008).		

A jelzett eltéréseknek szerepet tulajdonítanak egyes immun jelenségek

hangolásában (ld. extralimfoid kemoattraktánsok és intralimfoid kemorepellensek hatásai), valamint klinikai szempontból lényeges folyamatok, pl. tumorok áttétképzése vagy vírussal fertőzött sejtek migrációja esetében

3.6.3 A szignalizáció evolúciós háttere

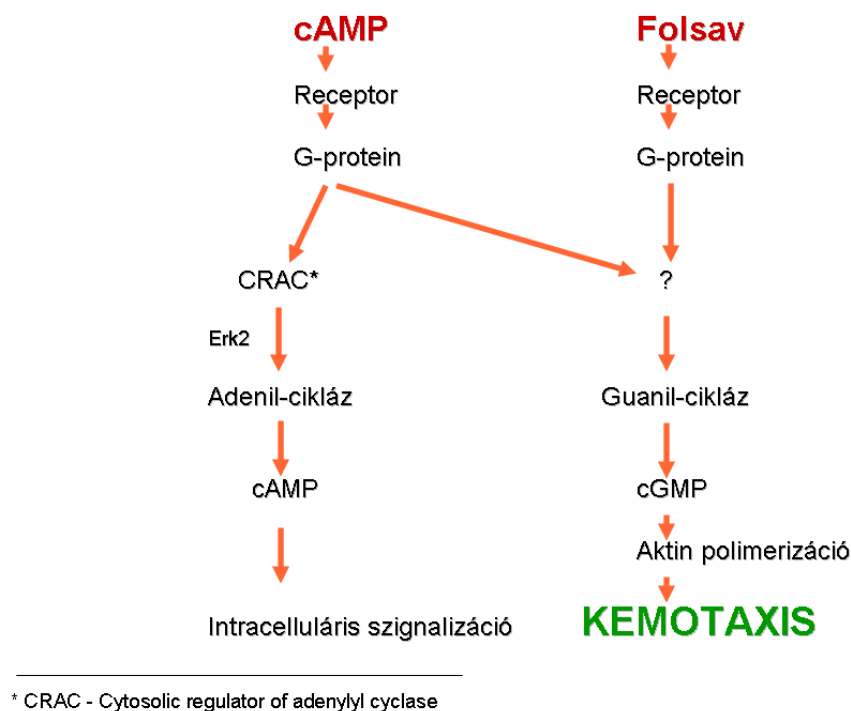
A fent részletezett szignalizációs mechanizmus alapelemei már a filogenezis viszonylag korai, egysejtű szintjén is megjelennek, mint a kemotaxis receptorok intracelluláris jeltovábbító mechanizmusa. Jó példa rá a *Dictyostelium discoideum* (magyar nevén sejtes nyálkapenész) amőba szignalizációs rendszere, mely már abból a szempontból is érdekes, hogy esetében az eddig intracelluláris másodlagos hírvivőként megismert cAMP, mint a sejtmembrán receptorait az extracelluláris térből indukáló ligandum képes indukálni. A más sejtek által a környező térbe kibocsátott cAMP hullámokban éri el az amőbát és hatására már a sejt morfológiájában is jól leírható változások mennek végbe, melyek hátterében a sejt aktin hálózatának szervezettségbeli átalakulása, illetve átrendeződése áll, 3.23 ábra.



3.29 ábra *Dictyostelium discoideum* morfológiájának és intracelluláris aktin elrendeződésének változásai cAMP hatására. Fázisok: (i) nyugvó állapot; (ii)

körkörös kitapadás – erős, átmeneti aktin polimerizáltsági fok; (iii) lekerekedés és intracelluláris aktin reorganizáció; (iv) álláb képződés – erős, elhúzódó aktin polimerizáltsági fok

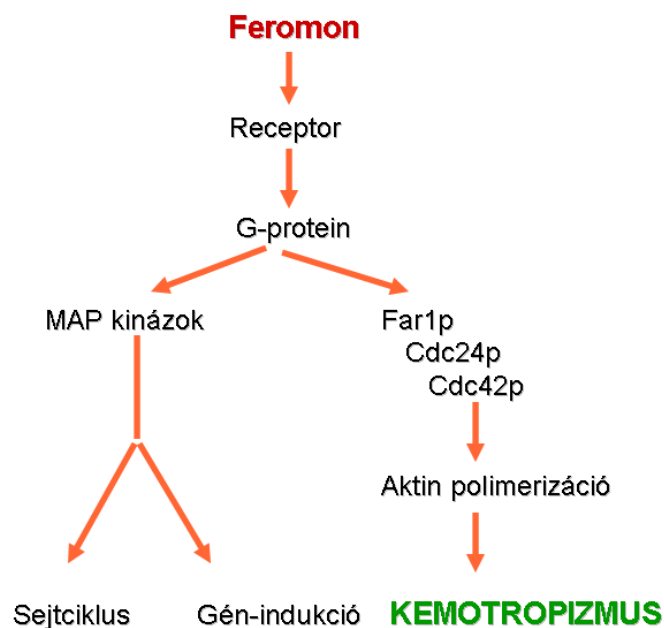
Az ábrán is jól látható, hogy a sejt a cAMP ingerre **két fázisú aktin polimerizációval** válaszol, melynek háttérében az intracelluláris szignalizációs lépéssor G-protein által mediált cAMP és cGMP képződését is generáló mechanizmusa áll (ld 3.30 ábra). Magát az aktin polimerizációját a cGMP út szabályozza, míg a cAMP számos egyéb intracelluláris szignalizációs mechanizmust indít be, melyek egyik következménye maga a kétfázisú válasz kialakulása is. Az alábbi ábrán azt is megfigyelhetjük, hogy az egyes kemotaktikus ligandumok (pl. cAMP és folsav) már ezen a viszonylag egyszerű szervezettségi fokon is egymással keresztreakcióba lépő mechanizmus révén alakítják ki hatásaikat, mely további lehetőséget ad a molekuláris szintű szabályozás árnyaltabb fokozataira.



3.30 ábra A Dictyostelium discoideum kemotaxist eredményező intracelluláris szignalizációs mechanizmusai

A fentiekben jelzett összetett szignalizációs hatás szép példáját látjuk a *Saccharomices cerevisiae* élesztőgomba sejtjeiben is, melyek szaporodása

szempontjából elengedhetetlen a migráció indukciója is. Ennek az összetett folyamatnak a kiváltó molekulái közé tartoznak a **feromonok**, melyek a sejtmembránban elhelyezkedő 7TM receptorok és G-proteinek közvetítésével a 3.31 ábrán vázolt módon, három fő mechanizmust is aktivál: (i) a G-protein–Far1p–Cdc24p komplex aktiválódása a Cdc42p révén a sejtvez polarizálódását eredményezi, mely a sejtek orientálódását elősegítő kemotropimust indukál; a MAP kinázok segítségével pedig (ii) a sejtciklust szabályozza és (iii) az osztódáshoz szükséges egyes gének aktiválását éri el.



3.31 ábra *Saccharomyces cerevisiae* szex-feromon által indukált helyzetváltoztatását kiváltó intracelluláris folyamatsor

A **receptor–ligandum komplex internalizációja** jelenti a következő lehetséges szignalizációs mechanizmust, mellyel a sejtek specifikus indukciója végbemehet. Gyakori bevezető szakasza a membránban elhelyezkedő receptorok ligand kiváltotta tömörülése, melynek eredménye az ú.n. **burkos gödrök és burkos vezikulumok** kialakulása. E képletek intracelluláris felszínén erős elektrondenzitást mutató réteg található, melyben számos fehérje mellett a két meghatározó elem klatrin és az adaptin. A **klartin**, melyet 3 nehéz és 3 könnyű láncból felépülő összetett fehérje a triszkelion alkot, önmagában is képes elemeiből rács-szerű

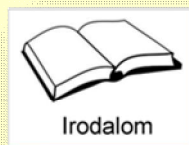
hálózatot képezni. E klatrin réteg és a sejtmembrán között helyezkednek el az adaptin molekulák melyek mindegyike 2 kis és 2 nagyobb alegységből épül fel. Az *adaptin* molekulák a receptorok intracelluláris alegységeit megkötve csoportokba fogják össze azokat, illetve szelektálni képesek a receptorok között, kiválasztva az azonos ligandspecifitásúakat. E kapcsolatok kialakulása után a klatrin réteg indukáló hatására megindul az internalizáció következő lépése, a burkos gödör burkos vezikulummá alakul és lefűződik a citoplazmába. Az így kialakult vezikulumok (endoszómák) membránjában található receptor–ligandum komplexek a késői endoszóma állapotig maradnak összekapcsolt állapotban, ezt követően disszociációjuk révén a receptorok felszíni membránba való reciklizációja válik lehetővé. Az internalizálódott ligandumok a sejt egyéb kompartmentjeibe jutnak, ahol hatásukat kifejthetik, többek között a citoszkeletonra kifejtett hatásuk révén a sejt migrációs aktivitását is befolyásolni képesek.

Az *intracelluláris receptorok* az előzőekben tárgyalt receptoroktól alapvető sajátágaikban különböznek. Maga az intracelluláris elhelyezkedés bizonyos fókig korlátozó a ligandumok szemszögéből. Az e receptorokon ható molekulák (pl. szteroidok) jellegzetessége, hogy a membránon jól penetráló, jellegzetesen lipofil molekulák (pl. szteroidok), vagy egyéb olyan anyagok, melyekre a membrán permeabilitása egyéb okból lényegesen nagyobb, mint a membrán receptorokon ható ligandumokra (pl. aminosavak, peptidek, fehérjék). A sejtmembránon történt átjutást követően a ligandumok intracelluláris kötődése általában kétlépcsős folyamat, melynek első lépése a citoplazmában történik, itt a receptor foszforilálódik és egyes alegységei leválnak, ezt követően a második lépésben a kialakult receptor–ligandum komplex bejut a sejtmagba, s ott a DNS ú.n. akceptor helyeihez kötődik. A receptor jellegzetes háromdimenziós szerkezete négy jól elkülöníthető doménből áll (i) szabályozó; (ii) Zn–ujjak (2 db); (iii) összekötő rész és (iv) szteroid kötő domén. A szteroid molekula bekötődése után a receptor konformációja megváltozik. A gátolt állapotú receptorban a gátló molekula

kapcsolatot alkot a Zn-ujjas domén és a szteroid-kötő domén között, mintegy visszahajlítva utóbbit az összekötő rész, mint csuklópánt körül. E kapcsolat szűnik meg a szteroid molekula bekapcsolódásával, melynek eredményeként a receptor ismét "kinyújtott" állapotba jut, mely funkcióképes állapotba hozza a két Zn-ujjat. Ezek egyike a DNS akceptor helyéhez való kötődést segíti elő, míg a másik a receptor esetleges dimerizációs folyamataiban játszik szerepet.



<http://www.dnatube.com/video/1446/Actin-Polymerization>
<http://www.faculty.biol.vt.edu/kuhn/research.html>
<http://cmgm.stanford.edu/theriot/movies.htm>
<http://www.youtube.com/watch?v=YAv4g3Pk6k>
http://www.mpasmb-hamburg.mpg.de/ktdock/kinwalk_ribbon.html
<http://en.wikipedia.org/wiki/Integrin>
http://www.youtube.com/watch?v=PfTzs_cUddI
http://www.youtube.com/watch?v=7pR7TNzJ_pA
<http://www.youtube.com/watch?v=QGAm6hMysTA>
<http://www.youtube.com/watch?v=vQ3CdSiVzUk>
<http://www.youtube.com/watch?v=jl0TzaWUQWk>
http://www.youtube.com/watch?v=u2oN_0HDnhk&feature=endscreen&NR=1
<http://jeb.biologists.org/content/206/7/1163/suppl/DC1>



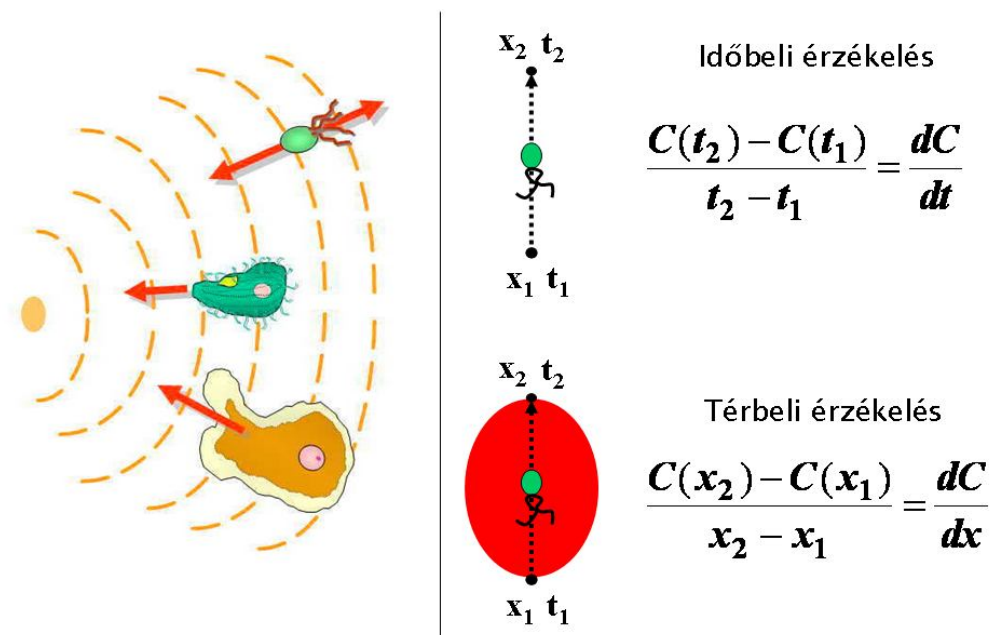
1. Adler, J. Chemotaxis in bacteria. Annu. Rev. Biochem. 44, 341–56 (1975).
2. Adler, J. My life with nature. Annu. Rev. Biochem. 80, 42–70 (2011).
3. Adler, J., Tso, W.W. Decision-making in bacteria: Chemotactic response of Escherichia Coli to conflicting stimuli. Science 184, 1292–1294 (1974).
4. Ayling, S.M., Butler, R.C. Time-series analysis of measurements on living cells illustrated by analysis of particle movement in the cytoplasm of tomato root hairs. Protoplasma, 172, 124–131 (1993).
5. Bermudes, D., Hinkle, G., Margulis, L. Do prokaryotes contain microtubules? Microbiol. Rev. 58, 387–400 (1994).
6. Bessis, M., Burte, B. Chimiotactisme apre`s destruction d'une cellule par microfaisceaux. CR Soc. Biol. 158, 1995–1997 (1964).

7. Carter, S.B. Haptotaxis and the mechanism of cell motility. *Nature* 213, 256 – 260 (1967).
8. Chang, L., Goldman, R.D. Intermediate filaments mediate cytoskeletal crosstalk. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 5, 601–613 (2004).
9. Desai, A., Mitchison, T.J. Microtubule polymerization dynamics. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13, 83–117 (1997).
10. Emons, A.M. The cytoskeleton and secretory vesicles in root hairs of *Equisetum* and *Limnobia* and cytoplasmic streaming in root hairs of *Equisetum*. *Annals Bot.* 60, 625–632 (1987).
11. Engelmann, T.W. Neue Methode zur Untersuchung der Sauerstoffausscheidung pflanzlicher und tierischer organismen. *Pflugers Arch. Ges. Physiol. Menschen Tiere*, 25, 285–292 (1881).
12. Friedl, P., Hegerfeldt, Y., Tusch, M. Collective cell migration in morphogenesis and cancer. *Int. J. Dev. Biol.* 48, 441–449 (2004).
13. Galjart, N. CLIPs and CLASPs and cellular dynamics *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 6, 487–498 (2005).
14. Glücksmann, A. Über die Bedeutung von Zelvgängen für die Formbildung epithelialer Organe. (Linse, Augenblase, Neuralrohr usw.) *Zeit. ges. Anat.* 93, 35–92 (1930).
15. Harris, H. Chemotaxis of monocytes. *Br. J. Exp. Pathol.* 34, 276–279 (1953).
16. Harris, H. Chemotaxis. *Exp. Cell. Res. Suppl.* 8, 199–208 (1961).
17. Huttenlocher, A., Poznansky, M.C. Reverse leukocyte migration can be attractive or repulsive. *Trends in Cell Biol.* 18, 298–306 (2008).
18. Jennings, S. Behaviour of the lower organisms. New York: Colombia University Press. (1906).
19. Kobayashi, T., Dynlacht, B.D. Regulating the transition from centriole to basal body. *J. Cell Biol.* 193, 435–444 (2011).
20. Kőhidai, L., Láng, O., Csaba, G. Chemotactic-range-fitting of amino acids and its correlations to physicochemical parameters in *Tetrahymena pyriformis*–evolutionary consequences. *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*. 49, Online Pub:OL487–495 (2003).
21. Mitchison, T.J., Mitchison, H.M. Cell biology: How cilia beat. *Nature* 463, 308–309 (2010).
22. Nam, S.W., Kim, S.T., Lee, K.M., Kim, S.H., Kou, S., Lim, J., Hwang, H., Joo, M.K., Jeong, B., Yoo, S.H., Park, S. N-Methyl-D-aspartate receptor-mediated chemotaxis and Ca²⁺ signaling in *Tetrahymena pyriformis*. *Protist.* 160, 331–342 (2009).
23. Oliphant, J.F. Reversal of ciliary action in *Paramecium* induced by chemicals. *Physiol. Zool.* 15, 443–452 (1942).
24. Ostrowski, L.E., Blackburn, K., Radde, K.M., Moyer, M.B., Schlatzer, D.M., Moseley, A., Boucher, R.C. A proteomic analysis of human cilia: identification of novel components. *Mol. Cell Proteomics.* 1, 451–465 (2002).

25. Pfeffer, W. Locomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 1, 524–533 (1884).
26. Tanabe, H., Kurihara, K., Kobatake, Y. Changes in membrane potential and membrane fluidity in *Tetrahymena pyriformis* in association with chemoreception of hydrophobic stimuli: fluorescence studies. Biochemistry. 19, 5339–5344 (1980).
27. Török, J. Bevezetés a protisztológiába. E-könyv (2012)
28. Ulflyott, P. The behaviour of *Dendrocoelum lacteum*. II. Responses in non-directional gradients. J. Exp. Biol. 13, 265–278 (1936).
29. van den Ent, F., Amos, L.A., Löwe, J. Prokaryotic origin of the actin cytoskeleton. Nature 413, 39–44 (2001).

4. Bakteriális kemotaxis

A kemotaxis részletes tárgyalását a bakteriális kemotaxis áttekintésével kezdjük, s ezt nem csupán az evolúciós sorrendiség betartása indokolja. Mint látni fogjuk a sejtmozgás egy igen különös formájáról van szó, melyben nem kizárólag az objektum mozgást elősegítő apparátusa különbözik jelentős mértékben az eukarióta sejtek előzőekben már ismertetett mechanizmusaitól, de az ennek háttérében álló szignalizációs rendszer is alapvető eltéréseket mutat. Az egyedi jelleg ellenére a bakteriális kemotaxis jelentősége elméleti és gyakorlati szempontból egyaránt nagy. A kemotaxist és e sejtek mozgását elemezve alapvető eltérés mutatkozik a náluk sok esetben százszor nagyobb sejtekhez viszonyítva, nem is beszélve a több sejtől felépülő szervezetek kemotaxisáról. Az eukarióta sejtek döntő hányada esetében, a méretből adódóan, már a sejt két ellentétes oldala között is kialakulhat a környező tér egyes molekuláinak koncentrációjára nézve a kemotaxist megindító és azt fenntartó koncentráció gradiens. Baktériumok vizsgálatakor feltűnő állandó mozgásuk, melynek egyes fázisai csupán a mozgás mintázatában különböznek. Ennek a folyamatos mozgásnak az oka a sejtek viszonylag kicsiny méretéből adódik, a mozgás ebben az esetben mintegy a sejt méretének funkcionális megnövelésével jár, melynek alapja egy molekuláris szintű memória megléte. Ennek a segítségével tudja a baktérium a letapogatott környezetben a koncentráció viszonyait felmérni és döntést hozni arról, hogy kedvező irányban mozog-e (4.1 ábra).



4.1 ábra Baktériumok és eukarióta sejtek eltérő mozgás-mintázatának sejt méret-függése (bal oldali panel); baktériumok kemotaxisát leíró matematikai modellek értelmezése (jobb oldali modell).

A fenti ábra jobb oldali panelje a kérdés matematikai megközelítésű megoldására is példát szolgáltat. E szerint a baktériumok alap kemotaktikus mozgástevékenységét a környezet kémiai összetételének érzékeléséből adódó két folyamat eredményeként foghatjuk fel: az egyik az **időbeli érzékelés**, mely a pillanatról-pillanatra értékeli a sejt állapotát a környezet koncentrációjához viszonyítva, a másik a **térbeli érzékelés**, mely leírásában a megtett utak által lefedett térrész és annak koncentráció viszonyai állnak.

A baktériumok kemotaxisának tárgyalását számos egyéb ok is indokolja. Egyedinek tekinthető mind a mai napig abban a tekintetben, hogy egy olyan kemotaxis forma, melynek hátterét biztosító szignáltranszdukciós lánc teljes egészében a receptortól az effektorig leírt, regulációs rendszere jól ismert. Klinikai szempontból is fontos a téma ismerete, hiszen a patogén mikrobák kemotaxisa biztosítja a szöveti invazivitásukat, mellyel sok esetben még ma sem tudják kellő gyorsasággal felvenni a versenyt a gyógyszeres kezelések, s ezért sokszor roncsoló, maradandó szövetkárosodást is okoznak e gyorsan migráló baktériumok. E mikrobák genetikai és immunológiai variabilitásán

alapuló, s napjaink új antibiotikumainak bevezetése mellett is megfigyelhető rezisztencia jelensége különös aktualitást ad a kérdés vizsgálatának.

Mint a következőkből látni fogjuk a bakteriális kemotaxis vizsgálatainak esetében is vannak előszeretettel alkalmazott modell-sejtek. Ezek közül a két leggyakrabban vizsgált modell enterális baktérium, az *Escherichia coli* (továbbiakban E. coli) és a *Bacillus subtilis* (továbbiakban B. subtilis), bár egyéb, kórokozó baktériumok, mint pl. a *Salmonella typhii* esetében is vannak adataink, az alábbiakban tárgyaltak döntő hányada a két gyakori modell vizsgálatainak során nyert adatokon alapul.

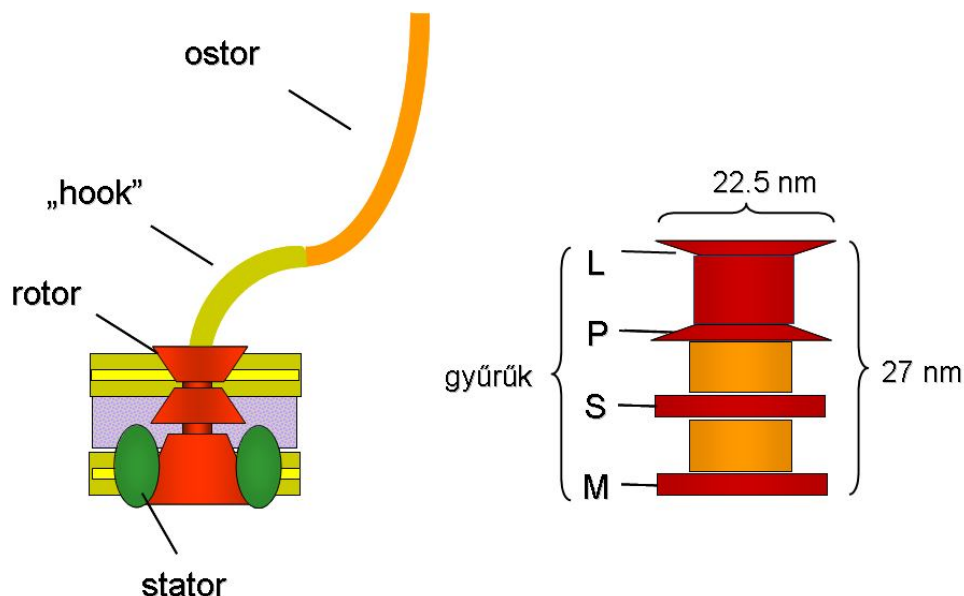
4.1 A baktériumok mozgása

A bakteriális mozgás több módozata közül különös figyelmet az igen általános ostoros mozgási forma érdemel, egyrészt mivel eltérő szerkezete ellenére hasonló működésével az evolúció sejt szintű bizonyítékainak egyike, másrészt mivel a kemotaxissal foglalkozó szakirodalom is e baktériumok mozgását tanulmányozza szinte kizárólag. Bár a csillós – ostoros mozgást már az előző fejezet általános áttekintő részében tárgyaltuk a baktériumok esete (ostor felépítése, mozgásformák) külön áttekintést igényel. Baktériumoknál az ostorok testfelületi elhelyezkedése szerint megkülönböztetünk, – hasonlóan az eukarióta egysejtűekhez – ***monotrich*, *lopotrich* és *peritrich*** elrendeződést. Monotrich ostor esetében egyetlen ostor szolgál mozgásszervül; lopotrichnél több ostor helyezkedik el a sejt egyik részén polarizáltan, míg a peritrich megjelölés testszerte elszórtan helyezkedő ostorokra utal.

A baktérium ostorok felépítésében nem találjuk meg azt a rendezett belső szerkezetet, melyet az eukarióta ostor fő komponense a tubulin és a hozzá kapcsolódó fehérjék együtt alkotnak. A szerkezet egyszerűbb, az ostor testet borító feszíni membránt egy másik globuláris protein, a ***flagellin*** alkotja, melynek 5 egymással párhuzamosan futó lánc alkot egységet. Ezek a pentahelikálisan feltekeredő sávok képezik az ostor cső alakú felszíni

membránját. E membrán állandó átépülésben van, melyet a flagellin molekulák folyamatos beépülése tesz lehetővé. Ennek a folyamatnak egyik érdekessége, hogy az újonnan beépülő flagellinek az ostor csúcsi részén lépnek az ostor belső üregébe, majd az ostor belső térben lejutnak annak gyöki részéhez s itt lépnek be annak membránjába, mintegy alulról építve/pótolva annak elemeit. Ez a folyamat része a baktérium ostorra jellemző igen gyors regenerálódó képességnek is, az ostorát veszített sejt kb. 3–6 perc alatt ismét mozgásra képes ostort növesztetni az elvesztett helyén. Ez a képesség is jelzi mennyire esszenciális eleme e sejttypusnak a mozgás, az arra való képesség visszanyerése, illetve folyamatos karbantartása.

Az ostor másik lényeges szerkezeti eltérése annak alapjánál, s a baktérium kettős membránt átérő "bazális testében" rejlik, mely szintén sokban különbözik a hasonló néven nevezett eukarióta sejtalkotótól (4.2 ábra).



4.2 ábra Baktérium ostor "bazális test"-ének felépítése

Ez a sejtmembrán és a sejtfa közötti teret átérő, leginkább egy dinamóra emlékeztető képlet, mely két részből áll: tengelyében az ún. **rotor**, azaz forgó rész található, melyet két gyűrű-páros az S–M és az L–P rögzít a belső, illetve a külső membrán síkjában. A rotor körül, a belső membránba

ágyazottan találhatók az ú.n. **stator** komponensei. Ez utóbbi a nevéből is kiolvashatóan a bazális test álló része, melyet a sejtmembrán és az azt fedő peptidoglikán rétegbe ágyazottan, globuláris fehérjék csoportosulásai alkotnak. A rotor sejtfalon túli, az extracelluláris térbe nyúló részéhez kapcsolódik az ostor speciális kapcsoló szegmentuma, mely a rotor forgó mozgását közvetíti az ostor testéhez. A „hook” azaz kampó névre hallgató elem nevét sajátos görbült formájáról kapta, összetételében a 263 aminosavból felépülő FlgE31 nevű fehérje vesz részt. E fehérje 11 molekulája gyűrűket alkot, melyek egymás fölött 11 sorban helyezkednek el, s így a hook 121 FlgE31 molekula rendezett egységének tekinthető. E szerkezet bazális testtől távoleső végéhez kapcsolódnak az ú.n. hook-associated proteinek, vagy HAP-ok (pl. FlaV, FlaU, FlaW), melyek a flagellinből történő ostor képződését szabályozzák.

A flagellin mellett – mint már a fenti HAP-ok is utaltak erre – több más flagelláris protein is részt vesz az ostor és a bazális struktúra felépítésében. Ezek szintézisét 30-nál több gén határozza meg, s több operon szabályozza szintézisüket, illetve expressziójukat. Ilyen az enterális baktériumok nagy részénél a Sigma D faktor, melynek 26 kb operonja a következő fejezetben részletezett, s a kemotaxisban részt vevő intracelluláris hírvivő molekulák (CheW, CheY, CheB) szintézisét irányító gének szomszédságában található. Maga a Sigma D faktor befolyásolja mind a flagellinek, mind a HAP és további motor proteinek szintézisét is. Hiánya az ostor paralizáltságát vonja maga után.

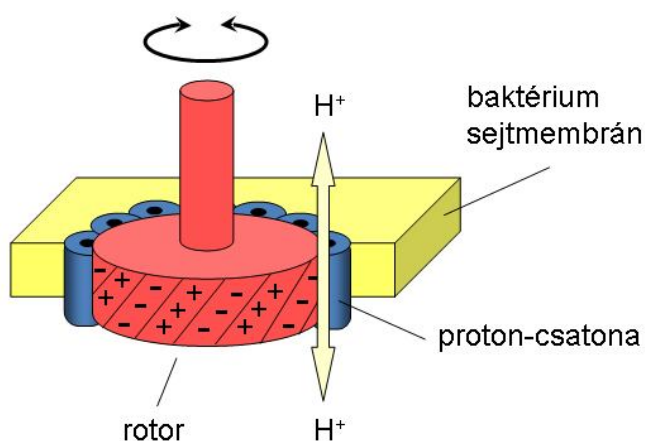
Az ebbe a csoportba tartozó fehérjék legfontosabbjait és funkcióikat a 4.1 táblázat foglalja össze.

4.1 táblázat Flagelláris proteinek főbb típusai, fellelési helyük, funkcióik és az ismert szerkezeti homológiák

Flagelláris protein	Funkció	Homológia
FlaA	– a bazális test M– gyűrűjének proteinje; – motor kapcsolatot teremt a bazális test disztális részével	– <i>Bacillus subtilis</i> – <i>Salmonella typhii</i>
FliE	– funkciója nem ismert	
FliF	– az M–gyűrűt kihorgonyzó protein	
FliL	– kis protein, melynek funkciója nem ismert; – hiánya nem érződik	
FliM	– flagelláris kapcsoló protein	– <i>Bacillus subtilis</i> – <i>E. coli</i> – <i>Salmonella typhii</i>
FliN	– flagelláris kapcsoló protein	
FliY	– flagelláris kapcsoló protein	– <i>E.coli</i> – <i>Salmonella typhii</i>
FlgB, FlgC, FlgG	– mindhárom a proximális és a disztális pálca proteinje	
FlhF	GTP–kötő fehérje, hiánya gátolja a kemotaxist	
HAP3	– az ostort és a bazális testet összekötő részhez kapcsolódik; – a flagellinek nukleációs helyét adja; – fokozza annak mechanikai ellenálló képességét	

Már a fent leírt szerkezet is jelzi, hogy a baktériumok ostorának mozgása eltér attól a propeller–szerű működéstől, amelyet az eukarióta sejtek esetében láthattuk. Itt a mozgás alapját a bazális struktúra rotorjának hook régió által közvetített forgó mozgása adja. A forgás a rotor és a stator közötti kölcsönhatás következtében alakul ki, melyet valójában protonok

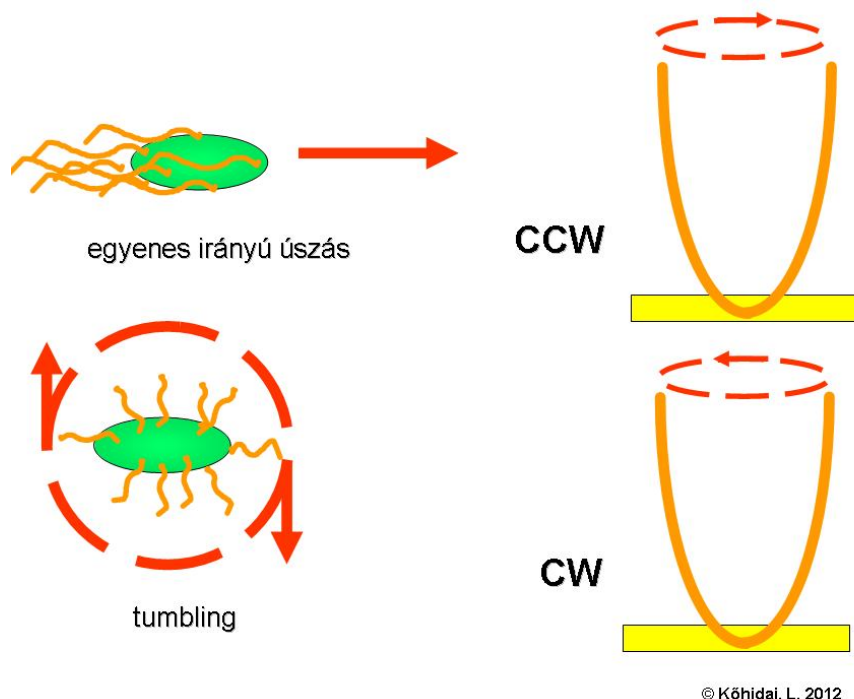
áramlása tart fenn, s attól függően, hogy azok a sejtől az extracelluláris tér felé vagy éppen fordítva a sejt belseje felé mozognak, ellentétes irányban fog forogni a rotor és ebből adódóan az ostor is (4.3 ábra). Maga a proton-gradiensén alapuló mechanizmus nagyon hasonló a szintén bakteriális eredetű, mitokondrium belső membránjában található ATP-szintáz működésére, mely szintén protonok által meghajtott molekuláris struktúra és reverzibilis működése alapvetően ellentétes előjelű biológiai folyamatot generál (ld. ATP szintézis, illetve ATP bontás).



Forrás: Berry, R M Biophys J. 1993

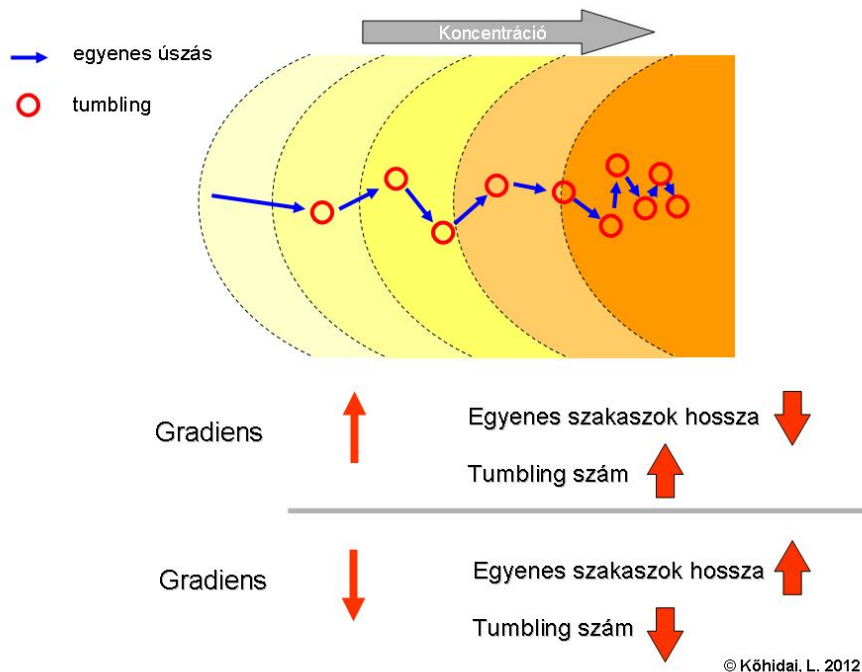
4.3 ábra Baktérium ostor forgása és a bazális test protoncsatornáinak működése között kapcsolat

A környezet attraktáns, illetve repellens anyagai az ostor forgásának eltérő irányát indukálják. Az attraktánsok a protonok sejtől történő kiáramlását idézik elő, mely az **óramutató járásával ellentétes** (counter clockwise = CCW) forgást indukálva a sejt egyenes vonalú pálya mentén történő elmozdulását (úszását) eredményezi. A repellens anyagok hatására a protonáramlás iránya megfordul, az ostor **óramutató járásával azonos** irányban (clockwise = CW) forog, mely az ostorok összerendezetlen mozgása révén a sejt mozgásformájának megváltozásához vezet, a sejt **bukdácslását (tumbling)** eredményezi (4.4 ábra).



4.4 ábra A baktérium ostorának forgásiránya és a sejt úszási mintázata közötti összefüggés.

A két mozgásforma felváltva jellemzi a baktérium folyamatos mozgását, azonban arányaikban eltérés figyelhető meg, amikor a sejtek egy számukra kedvező, kemoattraktáns inger felé közelednek, illetve kemorepellens szignált észelve attól távolodnak. A kemoattraktáns felé, növekvő gradiens mentén történő közeledésük során a baktériumok egyre kedvezőbb kémiai környezetbe kerülnek, mely növeli a sejteket mintegy „fékező”, tumbling-ok számát egészen addig, míg a számukra optimális közegbe nem érnek, ahol igen rövid szakaszokat úszva tapogatják le a környezet elemeit. Evvel a folyamattal ellentétben, az egyenes vonalú úszásokban egyre gazdagabb mozgást tapasztalhatunk abban az esetben, ha a baktérium távolodik (menekül) egy adott közegből (4.5 ábra).

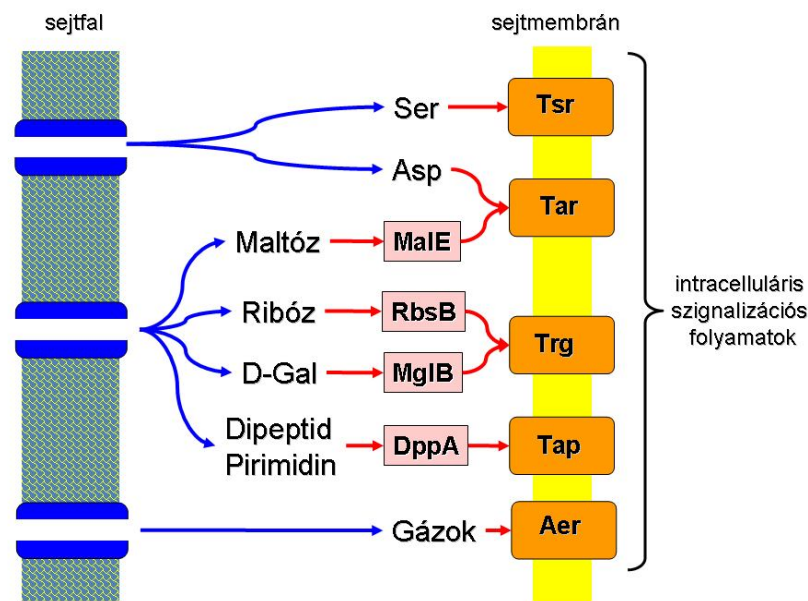


4.5 ábra A környezet oldott anyagai koncentrációjának hatása a baktérium mozgáselemeinek arányára

4.2 Szignáltranszdukció

A sejtfallal rendelkező baktériumok esetében a környező tér jelmolekuláinak érintkezése a receptoraikkal kétfázisú folyamat. Első lépésben a jelmolekula a sejtfalban található carrier-mechanizmusok (pl. csatornák) segítségével bejut a sejtfal és a sejtmembrán közötti periplazmatikus térbe. Ide a sejtmembrán külső felszínét borító proteoglikán réteg molekulái nyúlnak, s ezek mellett a sejt által termelt, s e térbe juttatott számos peptid is megtalálható. E peptidek között egyesek ún. **szubsztátkötő fehérjék**. Ezek képesek az adott jelmolekula (szubsztrát) megkötésére és a kialakult komplex speciális konformációja révén a sejtmembránban elhelyezkedő, a ligandumnak megfelelő receptorhoz történő kapcsolódásra egyaránt. E rendszerről eddig a szakirodalom legtöbb adata E. coli sejteken végzett vizsgálatokból származik. Mint a 4.6 ábrán látható, nem minden kemotaxis indukáló ligandum periplazmatikus térben történő szállítása igényel külön szubsztátkötő molekulát, az aminosavak (pl. Ser, Asp), illetve egyes gázok (ld.

oxigén kiváltotta aerotaxis) közvetlenül képesek T_{sr} , T_{ar} és A_{er} jelzésű receptoraikkal kapcsolódni és a baktérium kemotaxisát kiváltani.

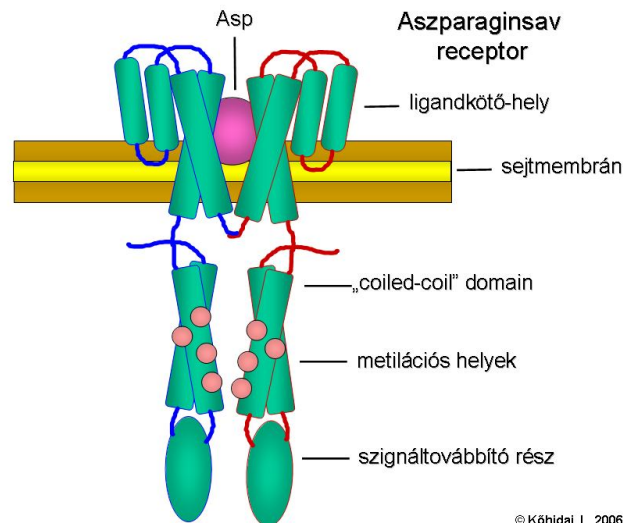


4.6 ábra Baktérium periplazmatikus terének szubsztrátkötő fehérjéi, illetve azok kapcsolódása a megfelelő receptorokhoz.

Egyes mono- vagy diszacharidok (ribóz, D-galaktóz, maltóz), valamint dipeptidek és pirimidinek esetében azonban a fent jelzett szállítómolekulákkal kapcsolódnak először a ligandumok, majd e komplexek stimulálják a receptorokat. E receptor-ligandum specifitásnak azonban érdekes átfedő vonásait írta le a szakirodalom, így a T_{ar} receptor nem csupán a szállító molekula nélkül ható Asp-t, de a maltóz-MalE komplexet is köti, míg a T_{rg} receptoron a ribóz-RbsB és a D-galaktóz-MglB is képesek hatni.

A fenti ligandok receptorai közül legjobban az **aszparaginsav receptora** jellemzett, felépítésével más bakteriális kemotaxis receptorok is sok hasonlóságot mutatnak. A receptor homodimer szerkezetű, két antiparallel, transzmembrán alegységből épül fel (4.7 ábra). (Más receptorok pl. *E. coli* T_{rg} receptora esetében egy dimer helyett kettő található). A receptor membránból a periplazmatikus térbe lógó részei szolgálnak a ligand megkötésére. Ez alatt, a citoplazmába nyúló rész, egymást átfedő két eleme a helikális szerkezetet mutató ún. „coiled coil” domének találhatók. A

proximálisabban elhelyezkedő domén a szignalizációban kulcsfontosságú 4 metilációs helyet tartalmaz. A két molekula-szakasz átfedő jellege a disztális helikális domén visszahajlásával alakul ki, úgy, hogy a két „coiled-coil” domén között, a receptor legmélyebben a citoplazmába nyúló részeként, a szignáltovábbító rész helyezkedik el.



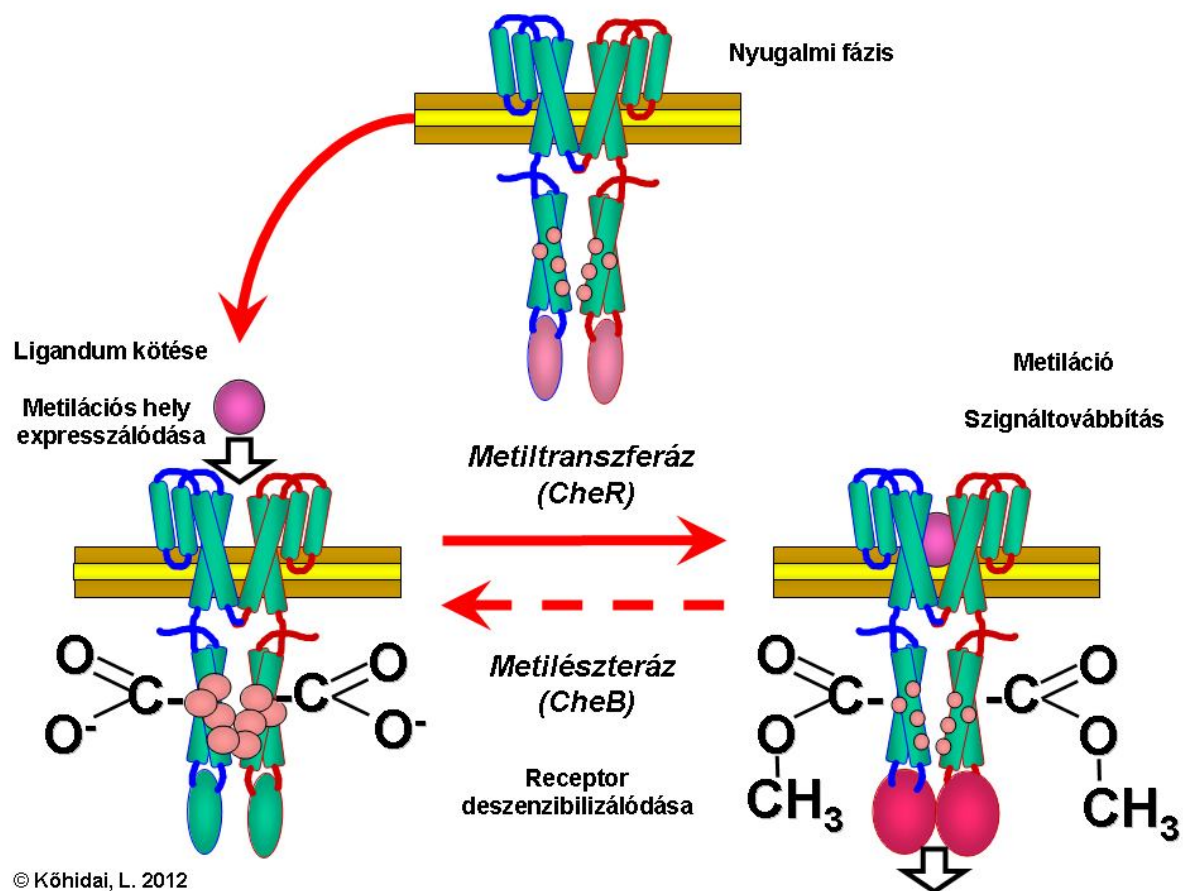
© Köhidal, L. 2006

4.7 ábra Baktérium aszparaginsav kemotaxis receptorának homodimer formája

4.2.1 Metiláció

Mint a receptor felépítéséből is láthattuk, az abban elhelyezkedő, vagy ahhoz kapcsolódó egyes fehérjék (methyl accepting chemotaxis protein – MCP) metilációra, illetve demetilálódásra képesek, s ezáltal a receptor intracelluláris szerkezete és szignáltovábbító aktivitása is változik. Abban az esetben, ha a receptor ligandkötő helye üres, a metilációra alkalmas helyek is szabadok (COO^- csoportok található ott), bár nem teljes mértékben expresszálódnak a receptor felszínén. E fázisban a receptor szignáltovábbító része mutat némi alapaktivitást, de az ostor CCW irányban mozog, tehát a sejtek mozgásában az egyenes vonalú úszás lesz domináló. A **repellens molekula bekötődése** a metilációs helyek expresszálódását indukálja. Ekkor már képes a **metil-transzferáz enzim (CheR)** az S-adenozil-metionin (SAM) – homocisztein átalakulásból származó metil csoportok receptorhoz való kötése révén a szignáltovábbító részt fokozott aktivitású állapotba hozni,

mely a későbbiekben részletezett, intracelluláris szignáltovábbító kaszkád beindításáért – aktivitásának fokozásáért – felelős. Ez az ostor forgásirányának CW-re váltását okozza, mely a tumbling-ok dominálását eredményezi 4.8 ábra. A receptor metilációja átmeneti állapot. Bizonyos idő elteltével, vagy *attraktáns molekulák bekötődésével* egy másik enzim, a *metilészteráz (CheB)* egy ellentétes előjelű folyamat eredményeként felszabadítja a metil csoportokat, egyben megszüntetve ezzel a receptor "hiper-aktív" állapotát és az ostor CCW forgását kapcsolva be ismét.



4.8 ábra Baktérium kemotaxis receptor (Asp) metilációjának folyamata.

E metilációnak szerepe van a sejt számára esszenciális táplálék molekulák érzékelésében, illetve az ezek irányába történő elmozdulásban. E. coliban már éheztes hatására is megindul bizonyos membrán asszociált proteinek metilációja, mely folyamat csak az attraktánsként ható táplálék sejt számára optimális koncentrációjának jelenlétében áll le, biztosítva ezzel a sejteknek a

magas táplálék molekula koncentrációjú térben való tartózkodást.

4.2.2 Adaptáció

Itt kell szólnunk a bakteriális kemotaxis szempontjából lényeges fogalom, az **adaptáció** kérdéséről is. A fent leírt, attraktáns receptorhoz történt kötődése által kiváltott változás (CCW rotáció – egyenes irányú mozgás) csak átmeneti. Aszparaginsavval (1 mM) indukált *E. coli* sejtekben kb. 6–7 percig mutatható csak ki az attraktáns hatására bekövetkezett tumbling-szám szignifikáns csökkenése (0,025 tumbling/mp). Az ezt követő 6–7 perc során már az idővel arányosan emelkedik a tumbling-ok száma, s az attraktáns sejtekhez történt adását követő 14. percben már a kontroll csoportéval azonos szintet mutat (0,4–0,45 tumbling/mp), ami a sejtek kemoattraktáns ligandumhoz történő hozzászokását, adaptálódását mutatja. A fent leírt jelenség általánosan megfigyelhető a baktériumok kemotaxisában, egyúttal az egyes ligandumok között tapasztalt eltérések figyelembe vételével igen jól alkalmazható a sejtek receptorhoz kötött szignalizációs- és effektor-rendszereinek jellemzésére és a sejtek funkcionális állapot leírására egyaránt.

4.2.3 Metilálható kemotaxis fehérjék (MCP)

Mint láthattuk a **metilálható kemotaxis fehérjék** a bakteriális kemotaxis receptorok aktivitását befolyásoló, kulcsfontosságú doménjei/komponensei. A szakirodalom gyakran az MCP-t, mint a bakteriális kemotaxis receptorral szinoním fogalmat használja (tehát a fentiekben felsorolt T_{sr} T_{ar} T_{rg} stb. is MCP-ként szerepel egyes cikkekben). Az aszparaginsav homodimer receptor esetében 8 metilációs helyük révén a fokozatokban megnyilvánuló szabályozás lehetőségét biztosítják. Az MCP-k fő tagjai a **H1, H2 és H3** fehérjék, melyek 70–100 kD nagyságúak s izoelektromos pontjuk pI 5.1–5.3 között van (közülük a H2 található meg a már említett aszparaginsav receptorában). Hasonló tulajdonságú a *Desulfovibrio vulgaris* 668 aminosav hosszúságú **DcrA** fehérjéje, mely hem tartalmú fehérjeként egyúttal, mint oxigén szenzor is működik, s így a receptor közeli redox potenciál

változásaira reagál. A *B. subtilis*-ben megtalálható 573 aminosavból álló *tlpC* fehérje 30% homológiát mutat az *E. coli*-ból izolált MCP-vel, azonban az összetételében mutatkozó eltérések (ld. aminosavak és cukor komponensek) miatt nem képes a patológiás kemotaxis kiváltására. A bakteriális genomban megtalálható MCP-gének expresszáldásához szükséges a ***Sigma D faktor*** jelenléte, ennek hiánya az MCP-k expresszáldásának elmaradásával jár, gátolva ezzel a kemotaxis szignalizációs folyamatát.

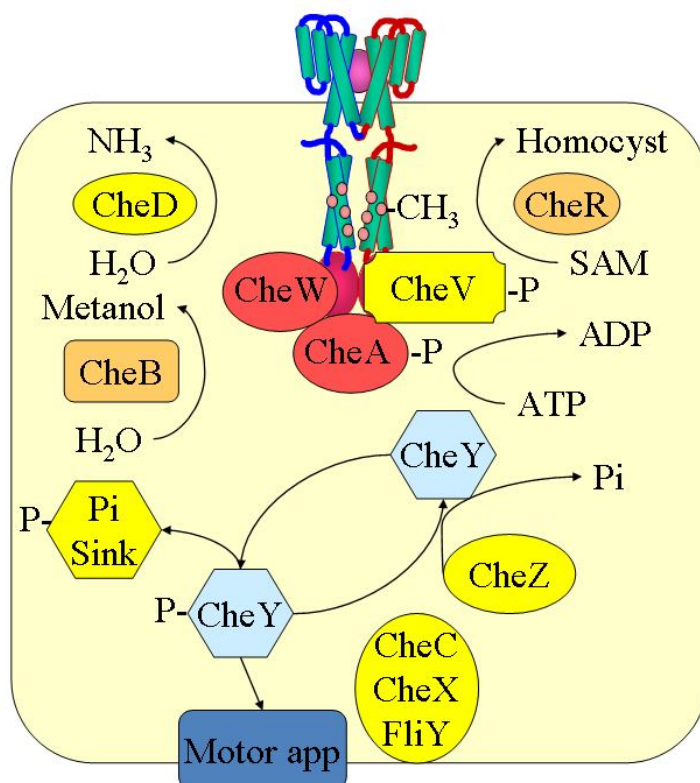
A fentiekben vázolt folyamatsor kémiai szempontból is legjellemzőbb lépése maga a metiláció–demetiláció folyamata, mely jól mérhető is a demetilációt követően felszabaduló metil csoportokból kialakuló metanol mennyiségével. Ez az átalakulás egy két lépésből álló folyamat, melynek első, gyors lépésében egy metil-karrier veszi át a metil csoportot. A második, lassúbb lépésben történik a metil csoportok karrierről való lehasítása, majd a metanol képződése. Utóbbi intracelluláris koncentrációja jól mérhető és a receptor demetiláció fokának – így az adaptáció sebességének is – jól és viszonylag egyszerűen mérhető indexe.

4.3 Intracelluláris szignáltovábbító lánc

Mint az előző fejezetben látható volt, a receptort alkotó peptidek metilációs fokában beálló változások közvetlenül nincsenek hatással a baktérium sejt ostorának mozgására, hanem egy intracelluláris szignalizációs lánc közvetíti a receptor változó aktivitásának jeleit. E láncreakció felismerése és részletes leírása köthető ***Julius Adler*** nevéhez. Az ő munkásságának köszönhető a bakteriális kemotaxis szignalizációs útja molekuláris szintű kutatásának nem csupán megindítása, de annak az alábbiakban ismertetésre kerülő modellnek az összeállítása is, melynek köszönhetően mind a mai napig ez a receptortól az effektorig nyúló szignalizációs folyamat tekinthető a részleteiben is legjobban leírtnak. Az alábbiakban ennek fő jellemzőinek ismertetésére kerül sor, ugyanakkor a szerző felhívja az olvasó figyelmét a téma szokatlanul

szerteágazó voltára (ld. fajspecifikus kemotaktikus peptidek), s e részletkérdésekben – a rendelkezésre álló szűkös terjedelem miatt – az egyes prokariótákat leíró szakirodalmi hivatkozásokra utal.

E számos peptidből felépülő szignalizációs lánc tagjai egy foszforilációs–defoszforilációs láncreakció keretében teremtik meg a kapcsolatot a receptor és az ostor bazális teste között. E szabályozás eredménye az ostor rotációs CCW–CW állapotai közötti váltásokban realizálódik (4.9 ábra).



4.9 ábra A bakteriális kemotaxis intracelluláris szignalizációs lánc.

Alapállapotban – tehát a receptor ligandum nélküli állapotában –, illetve **repellens ligandum** bekötődésekor is, ez azt jelenti, hogy a receptor szignáltovábbító részével két fehérje, a **CheA és CheW** lép kapcsolatba. A tulajdonképpeni intracelluláris szignál a CheA molekula foszforilált formája a CheA-P, mely CheW jelenlétében a CheA autofoszforilációs lépésében képződik. A következő lépésben a CheA-P és a kaszkád következő fehérjéje a **CheY** kerül kapcsolatba, s eredményeként, Mg^{2+} ionok jelenlétében, a foszfát csoport e fehérjére kerül át, kialakítva a CheY-P-t. Utóbbi foszforilált forma képes az ostor bazális testéhez közeli komponensekkel (FliG, FliM,

FliN) kapcsolatba lépni. Ezek a MotA és MotB peptidekre hatva képesek a proton-csatornákon keresztül folyó H⁺ ionok áramlási irányát megváltoztatva, átkapcsolni az ostor eddigi CCW mozgását ellentétes, CW fázisba, mely a sejtek bukácsoló, tumbling-jét idézi elő. Fenti szignalizációs lépéssor repellens ligandum bekötődése esetén viszonylag gyorsan, kb 200 msec alatt lezajlik, mely jelzi, hogy e sejtek a külvilág jeleit igen gyorsan képesek a mozgásjelenségekben is megnyilvánuló válaszreakciók szintjén is tükrözni, mely alapja fennmaradásuknak. A folyamat terminalizációját a **CheZ** fehérje bazális testtel kialakított kapcsolata jelenti. Ez a fehérje – szintén Mg²⁺ ionok jelenlétében – a CheY-P molekulák defoszforilációját katalizálja, mely folyamat közben maga alakul át CheZ-P-vé. A CheZ-vel szinergista módon hat a fent említett három flagelláris peptid FliG, FliM, FliN, ezekről szintén kimutatták, hogy a CheY-P defoszforilálói lehetnek.

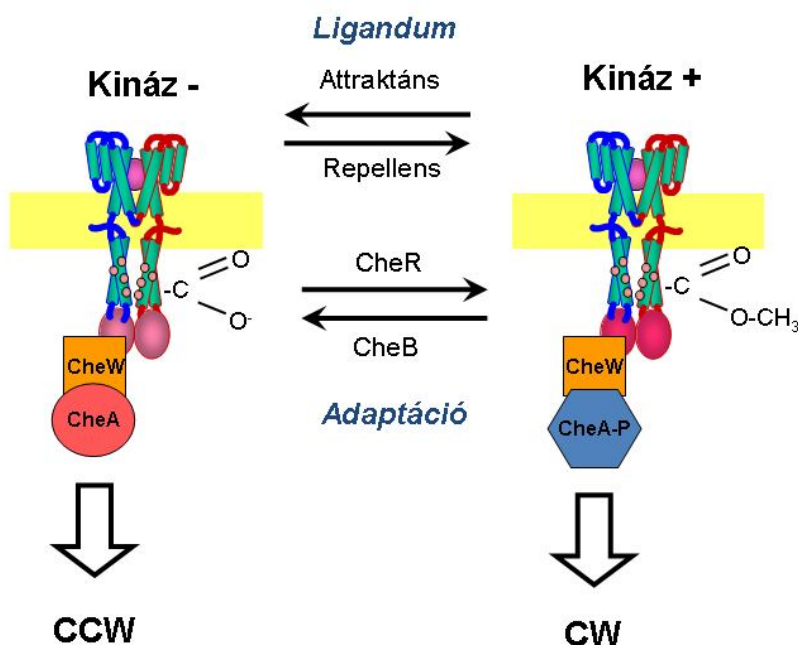
Attraktáns molekulák receptorhoz történő kötődését követően a receptor szignáلتovábbító része elveszíti aktivitását, s így az intracelluláris szignalizációban részt vevő fehérjék kezdő CheA tagjának aktivitása is minimális. Ebből adódóan, az autofoszforiláció elmaradása miatt, a CheA-P szint, illetve következményeként a CheY-P szint is jelentősen csökken, melynek végeredménye az ostor forgási irányának CCW állapotba történő visszaállása, mely a sejt egyenesvonalú úszását eredményezi.

A fenti folyamat molekuláris szintű szabályozása és a korábban tárgyalt receptor metiláció–demetiláció és annak kivitelező enzimek is szoros kapcsolatban állnak. Az e folyamatért felelős két enzim (**metiltranszferáz – CheR és metilészteráz – CheB**) a receptor metilációját és demetilációját alapállapotban is elvégzi. A két molekula aktivitása ebben az esetben is a foszforiláltságuk fokával szabályozott, míg a CheR foszforilálatlan formában képes működni, a CheB foszforilált formája az, amely a receptor demetilációját hatásosan végzi. Ligandum bekötődése nélkül a CheR hatására a receptor magas fokon metilált állapotba kerül, mely hozzájárul a CheA

autofoszforilációjának beindulásához és ezen keresztül a CheY-P kiváltotta CW forgásirány indukciójához is. A CheA-P molekulák azonban a CheB foszforilációját is előidézik, mely a receptor demetilációja révén egy önszabályozó folyamatnak tekinthető, mivel eredményeként CheA-P keletkezésének gátlását idézi elő.

Attraktáns ligandum receptorhoz történő kötődése a CheR-rel való kapcsolódást segíti elő, míg a CheB-P ebben az állapotban nem tud kapcsolódni a receptorhoz, tehát a receptor alapszintű metilációja lesz jellemző, melyet a citoplazmatikus CheB-P és CheY-P szintek csökkenése kísér.

A fejezet összefoglalásaként a 4.10 ábrán az eddig tárgyalt szignalizációs folyamatokat áttekintve, a ligandum karaktere, a kiváltott metilációs és kináz-válasz, illetve annak adaptációs értelmezése, valamint a sejt mozgására kifejtett hatások közötti összefüggések vázlata látható.



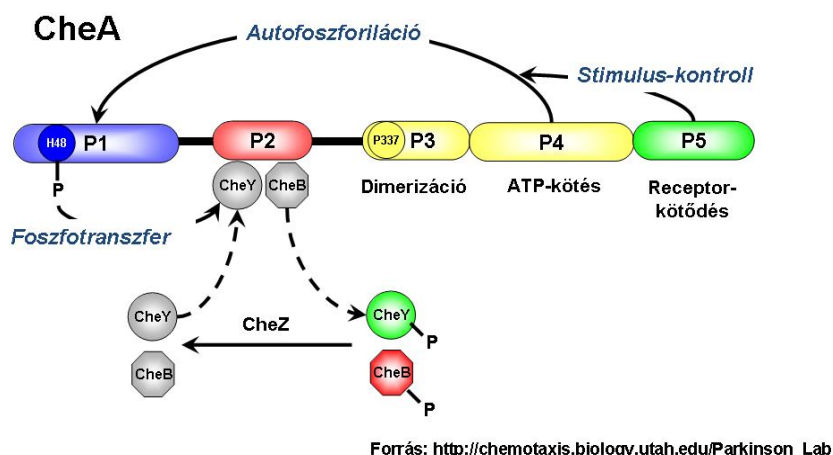
4.10 ábra Bakteriális kemotaxis szignalizációs folyamatainak összefoglalója

4.4 A kemotaxis proteinek részletes jellemzése

Mint ahogyan az a 4.9 ábrán is látható volt, az eddig említett néhány főbb

fehérje mellett még számos egyéb fehérjének és peptidnek jut szerep a baktériumok kemotaktikus válaszána kialakulása során.

A fent vázolt folyamatban szereplő fehérjék részletes jellemzését kezdjük a CheA-val, mely *E. coli* esetében a szignáltranszdukciós lánc kezdő eleme (*B. subtilis*-ben ennek homológja CheN), s mely nem más, mint egy hisztidin autokináz. Az enzim **CheAL** és **CheAS** láncai eltérő hosszúságúak és funkciójukban is különböznek. Az L azaz hosszú lánc 48-as pozíciójú hisztidinje autofoszforilálódik, s ez a lánc vesz részt a CheY, a CheB és CheV molekulák foszforilációjában. CheY esetében e foszforiláció pH-függő (pH 8.1–8.3) folyamat, a pH 7.3–7.6 sávba történő eltolódása T_{ar} és T_{rg} receptorok esetében részlegesen működő, szignált nem továbbító rendszert eredményez. Az L-lánc 337-es prolinja a funkció szempontjából meghatározó jelentőségű, ennek mutációja vélhetően az enzim konformáció változása révén ún. hiperkinázzá alakítja a CheA-t, mely igen gyors foszforilációt eredményez (4.11 ábra). Az S lánc aminoterminális szakasza 97 aminosavval rövidebb az L láncnál. Így ugyan kináz doménnel szintén rendelkezik, de nincs autofoszforilációs képessége. A más baktériumokból izolált CheA-t P1 és P2 régiókra osztják, melyek közül a P1 az előzőekben említett S láncnak megfelelő, 22 aminosav hosszúságú komponens, s a CheY-nal interakcióba nem lépő szakasz, míg a három aminosavval hosszabb P2 régió, mely az L láncnak felel meg, vesz részt a CheY-nal való reakcióban, annak foszforilálásában.



4.11 ábra A CheA kemotaxis protein domén szerkezete és azok szerepe a kemotaxis szabályozásában

A 128 aminosavból álló CheY esetében, mint láthattuk, szintén a foszforiláció az, amely az inaktív molekulát aktív formává változtatja. A folyamat alapfeltétele, hogy Mg^{2+} ionok jelenlétében a 109 Lys és az 57 Asp közötti sókötés felszakadjon, lehetővé téve a CheY foszforilációját. Ebben az esetben is a fehérje konformáció változása tűnik meghatározó jelentőségűnek, mivel az aktiválódás szerkezeti jeleként eddig már 22 aminosav pozíciójának megváltozását írták le.

A 4.9 összefoglaló ábrán több más fehérje is szerepel, melyek rövid jellemzését is e fejezet keretében adjuk meg:

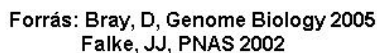
CheV – a CheA által foszforilált peptid, melynek CheV-P formája – mintegy negatív regulátor, gátló hatást fejt ki a receptor aktivációját követő CheA aktivációra.

CheD – a bakteriális kemotaxis receptor deaminálásában részt vevő peptid

CheC – a CheZ-től eltérő, legalább három különböző típusú foszfatázt felölelő peptid-csoport, melybe a CheC, FliY és CheX-et is sorolják. Maga a CheC a fentebb említett CheD szabályozója, míg a FliY B. subtilis fő foszfatázának tekinthető. A CheX a CheY-P defoszforiláló mechanizmusában a CheZ mellett részt vevő peptid.

4.5 A bakteriális kemotaxis receptorok komplex rendszere

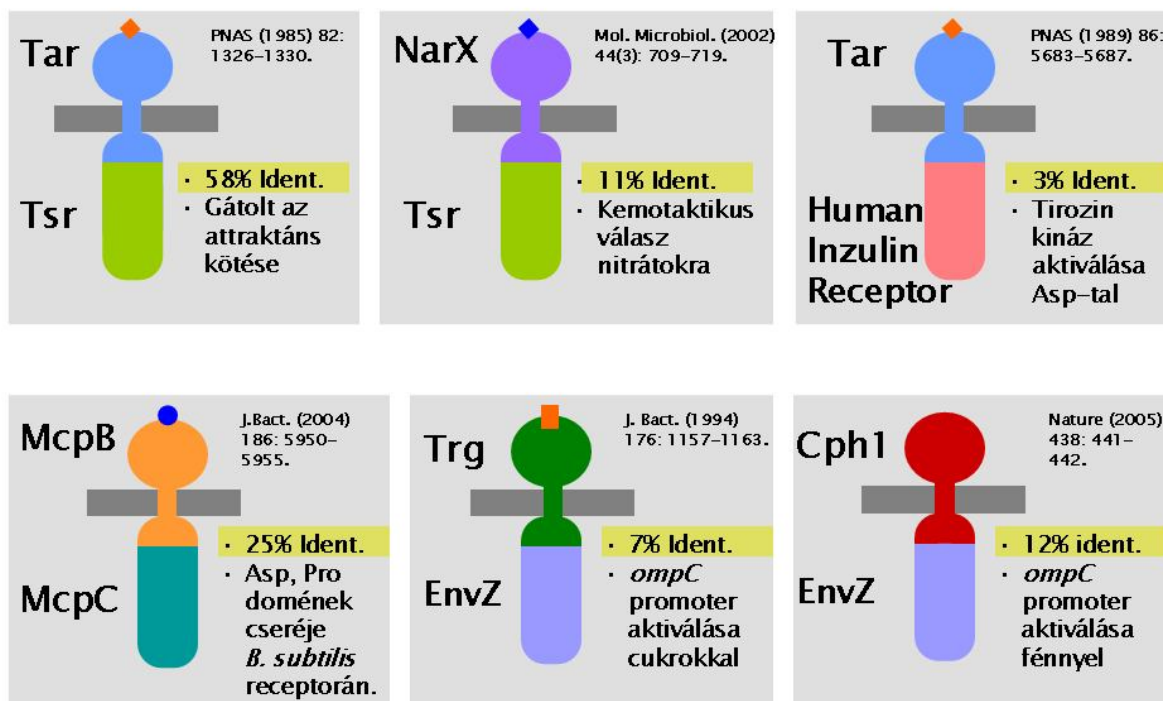
Az előző fejezetekben bemutatott bakteriális kemotaxis receptor, illetve annak működési modellje az elmúlt évtized során főleg a David Bray és munkacsoportja által végzett – sok tekintetben in silico – kutatás eredményeként jelentősen megváltozott. A kialakult új receptor kép azt mutatja, hogy a baktérium membránban nem elkülönült egységekként helyezkednek el a kemotaxis receptorok, illetve az ezekhez kapcsolódó membrán alatti, primer jelátviteli elemek, hanem a már ismert ***homodimer szerkezetek hármas csoportokba rendeződnek*** (4.12 ábra).



A baktériumok mozgása, pontosabban a helyes mozgásirány megválasztás és a hatásos kivitelezés – ld. ostorok működése – szempontjából is fontosnak

tűnik a receptorok leírt csoportos szerveződése, illetve a receptor–mezők fluoreszcens mikroszkópos technikákkal történt kimutatása. Ezek az eredmények egyértelműen arra engednek következtetni, hogy a baktériumok jelentős részében (peritrich ostorok kivételével) a sejt kifejezetten polarizált, míg egyik végén a receptorokból álló mező érzékeli a környezet kémiai jeleit és generálja a citoplazma szignalizációs molekuláit, addig a sejt másik pólusán az ostor(ok) helyezkednek el, s rakétahajtóműként „tolják” előre a sejtet (4.12 ábra).

A bakteriális kemotaxis receptorok jellemzésének egy a fentiektől eltérő szintén sok új információval szolgáló útja volt az elmúlt két évtized során a hibrid receptork létrehozása. Mint azt a 4.13 ábra is mutatja az eltérő eredetű ligandkötő és szignalizációs domének jelentős mértékben módosíthatják a receptorok működési paramétereit.



4.13 Baktérium kemotaxis receptor hibridek és azok fő jellemzői. A hibrideket eltérő eredetű ligandkötő és szignalizáló domének összeépítésével hozták létre.

Ugyanakkor e kísérletek azt is bizonyították, hogy a receptorok egyes komponensei részben ki- vagy felcserélhetők, mely által az adott sejtek

természetben nem előforduló formái hozhatók létre. A vizsgálatok a receptorok szerkezeti kutatása mellett egyes biotechnológiai felhasználás lehetőségét is felvetik.

4.6 A modellek egyező és eltérő tulajdonságai

Mint azt a 4.1 táblázatból is láthattuk számos struktúrális protein (pl. FlaA, FliM, FliY) esetében található homológia egyes baktériumokban. A metilációs lépés fontos enzimei közül a metitranszferázok esetében szintén homológiát írtak le *E. coli* és *B. subtilis* metilációs rendszere között. Az *E. coli*-ból kivont metitranszferáz képes a *B. subtilis* MCP-it metilálni. Mindezek ellenére a két mikroorganizmus saját metilációs rendszerét tekintve ellentétesen viselkedik, míg *B. subtilis*-ben a CheRB a repellensekhez való adaptálódás kulcsenzime, addig *E. coli*-ban a CheRE az attraktánsokhoz való adaptációt segíti elő.

A metileszterázok vizsgálata is homológiára utal. *E. coli* és *B. subtilis* ezen enzimeit vizsgálva azt tapasztalták, hogy mindkettő képes a másik mikroorganizmus MCP-inek demetilációját katalizálni. A demetiláció fokát maguk a demetilálandó fehérjék (MCP-k) szabják meg, *B. subtilis* MCP-it nagyobb fokban demetilálja az *E. coli* metileszteráza, mint fordítva.

Az intracelluláris jeltovábbító proteinek esetében is több protein szerkezetében mutatkozik viszonylag **nagymértékű homológia**. Így a *B. subtilis* és *E. coli* CheW-je 28%-os egyezést mutat. Egyes modellekben eltérő funkciót betöltő proteinek között is nagyfokú az egyezés, ez a *B. subtilis* CheB-je és az *E. coli* CheY proteinje között mintegy 36%-os.

Homológiák mutatkoznak a két, fentiek alapján közelinek tűnő mikroorganizmus kemotaxisának effektor mechanizmusaiban is. Erre utalnak azok a vizsgálatok melyekben egy-egy kemotaktikus proteint helyettesítettek a másik faj hasonló proteinjével. *B. subtilis* CheY-ja *E. coli*-ból származó

foszforilált CheA-val is reagál és kialakul a CheY aktív, foszforilált formája. E lépéssor terminációs lépésében is megfigyelhető volt az *E. coli* eredetű protein hatása, mivel a foszforilált, *B. subtilis* eredetű CheY-t az *E. coli* CheZ-je is képes inaktív, defoszforilált állapotba hozni.

A felsorolt homológiák ellenére a két modell kemotaktikus aktivitásában eltérések is mutatkoznak, mivel a CheY foszforilációja *B. subtilis* esetében erősebb induktora a kemotaxisnak, mint *E. coli*-ban.

4.7 Az intracelluláris ionok hatása

Az eukariótákhoz hasonlóan baktériumokban is meghatározónak bizonyult a kemotaktikus szignalizáció során az ionos kalcium jelenléte. Verapamil, LaCl_3 vagy omega-conotoxin gátolják a Ca^{2+} bejutását, s ennek zavara a kemotaxis gátlásában is megnyilvánul. Baktériumokban is kimutattak egy 38 kD molekulatömegű Ca^{2+} -kötő fehérjét, mely a hasonló eukarióta fehérjék – Id kalmodulin – előhírnökeként az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció egyik szabályozója.



<http://www.youtube.com/watch?v=h4lv7cBYVug&feature=related>

[http://www.genome.jp/kegg-](http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?org_name=map&mapno=02030&mapscale=1.0&show_description=show)

[bin/show_pathway?org_name=map&mapno=02030&mapscale=1.0&show_description=show](http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?org_name=map&mapno=02030&mapscale=1.0&show_description=show)

[http://highered.mcgraw-](http://highered.mcgraw-hill.com/olcweb/cgi/pluginpop.cgi?it=swf::500::500::/sites/dl/free/0073375225/594355/Chemotaxis.swf::Chemotaxis%20in%20E.%20Coli)

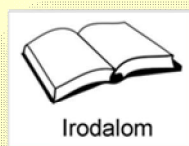
[hill.com/olcweb/cgi/pluginpop.cgi?it=swf::500::500::/sites/dl/free/0073375225/594355/Chemotaxis.swf::Chemotaxis%20in%20E.%20Coli](http://highered.mcgraw-hill.com/olcweb/cgi/pluginpop.cgi?it=swf::500::500::/sites/dl/free/0073375225/594355/Chemotaxis.swf::Chemotaxis%20in%20E.%20Coli)

<http://www.pdn.cam.ac.uk/groups/comp-cell/index.html>

<http://www.microbiologybytes.com/blog/tag/chemotaxis/>

<http://www.talkdesign.org/faqs/flagellum.html>

http://chemotaxis.biology.utah.edu/Parkinson_Lab/posters/chemotacticssignalingwithoutatarget/chemotacticssignaling.html



1. Alon, U., Surette, M.G., Barkai, N., Leibler, S. Robustness in bacterial chemotaxis. *Nature* 397, 168–171 (1999).
2. Baumgartner, J.W., Kim, C., Brissette, R.E., Inouye, M., Park, C., Hazelbauer, G.L. Transmembrane signalling by a hybrid protein: communication from the domain of chemoreceptor Trg that recognizes sugar-binding proteins to the kinase/phosphatase domain of osmosensor EnvZ. *J. Bacteriol.* 176, 1157–1163 (1994).
3. Berry, R.M. Torque and switching in the bacterial flagellar motor. An electrostatic model. *Biophys. J.* 64, 961–973 (1993).
4. Bray, D. Bacterial chemotaxis and the question of gain. *PNAS* 99, 7–9 (2002).
5. DeRosier, D. J. The turn of the screw: the bacterial flagellar motor. *Cell.* 93, 17–20

- (1998).
6. Falke, J.J. Cooperativity between bacterial chemotaxis receptors. *PNAS* 99, 6530–6532 (2002).
 7. Gestwicki, J.E., Lamanna, A.C., Harshey, R.M., McCarter, L.L., Kiessling, L.L., Adler, J. Evolutionary conservation of methyl-accepting chemotaxis protein location in Bacteria and Archaea. *J. Bacteriol.* 182, 6499–6502 (2000).
 8. Krikos A, Conley MP, Boyd A, Berg HC, Simon MI. Chimeric chemosensory transducers of *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, 1326–1330 (1985).
 9. Kristich, C.J., Ordal, G.W. Analysis of chimeric chemoreceptors in *Bacillus subtilis* reveals a role for CheD in the function of the McpC HAMP domain. *J. Bacteriol.* 186, 5950–5985 (2004).
 10. Levskaya, A., Chevalier, A.A., Tabor, J.J., Simpson, Z.B., Lavery, L.A., Levy, M., Davidson, E.A., Scouras, A., Ellington, A.D., Marcotte, E.M., Voigt, C.A. Synthetic biology: engineering *Escherichia coli* to see light. *Nature*. 438, 441–442 (2005).
 11. Mehan, R.S., White, N.C., Falke, J.J. Mapping out regions on the surface of the aspartate receptor that are essential for kinase activation. *Biochemistry* 42, 2952–2959 (2003).
 12. Moe, G.R., Bollag, G.E., Koshland, D.E.Jr. Transmembrane signaling by a chimera of the *Escherichia coli* aspartate receptor and the human insulin receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 5683–5687 (1989).
 13. Wadhams, G.H., Armitage, J.P. Making sense of it all: bacterial chemotaxis. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 5, 1024–1037 (2004).
 14. Ward, S.M., Delgado, A., Gunsalus, R.P., Manson, M.D. A NarX–Tar chimera mediates repellent chemotaxis to nitrate and nitrite. *Mol. Microbiol.* 44, 709–719 (2002).

5. A gyulladás, mint a kemotaxis kórélettani modellje

A magasabb rendű szervezetek vizsgálata során a kemotaxis klinikai szempontból leggyakoribb és élettani-kórélettani szempontból is legjelentősebb megjelenési formája a gyulladásos válaszreakció kialakulása. E több fázisú folyamat egyik központi tényezője, hogy az erek fala által két jól elhatárolt tér, az éren belüli, és az ér falán túli szöveti tér között a sejtek nem mozoghatnak szabadon. Bár az érfal nem tekinthető átjárhatatlan gátnak a sejtek számára, egészséges állapotban is folyamatosan lépnek azon át sejtek, a gyulladásos folyamat esetében egy lokális, s mind kvalitatív, mind kvantitatív jellemzőiben az egyensúlyi állapottól eltérő helyzet áll elő. Az érfal szerkezete biokémiai reakciók sorozatát követően válik alkalmassá arra, hogy a sejtvesztési receptorai által is alkalmassá váló sejt-csoportok átlépjenek rajta. Az alábbiakban először e folyamat fő lépéseit és az azt befolyásoló tényezők egymásrahatását tekintjük át, majd a szöveti térbe kijutott sejtek sorsát követjük nyomon.

A gyulladásos kórfolyamat kialakulásában más-más elemek vesznek részt az érpályán belül és a szöveti térben. A sejt-es elemek közül az érpályán belül mind a polimorfonukleáris (PMN) sejtek, mind a limfociták, monociták, eozinofil, illetve bazofil csoport sejtjei is aktív migráló sejtekként vehetnek részt a reakcióban. A szöveti tér sejtjei közül a hízósejtek, fibroblasztok és kötőszövetben járőröző makrofágok és dendritikus sejtek befolyásolják az érpálya sejtjeinek migrációját. E folyamatban egy harmadik komponens, a kötőszöveti matrix elemei is meghatározó jelentőségűek, különösen a sejtek adszorpcióhoz kötött haptotaxisa alkalmával fejtenek ki irányító szerepet. E molekulák közül a laminin, fibronectinek, elasztikus és kollagén rostok (különös tekintettel a kollagén IV-re) és a proteoglikánok említendők.

A folyamatban az erek kaliberének növekedése s a véráramlás ezt követő

lelassulása teszi lehetővé a migrációra képes sejtek érfalhoz tapadását (marginációját), majd kivándorlását (emigrációját) az érből. Fenti folyamatot az érfal állapotának átmeneti változása teszi lehetővé. Ez négy fő, az ér és a környező kötőszövet mikroszkópos szerkezetének átalakulását is kiváltó lépésre osztható:

(i) Az endotél kontrakciója. Az első kontrakciós lépést hisztamin, illetve bradikinin helyi felszabadulása váltja ki. A fenti anyagok hatására az endotél sejtváza is szerkezeti átalakuláson megy át, melyet a sejtek alakváltozása követ. Viszonylag rövid időn belül, kb 10–15 perc alatt az érintett kapillárisok falát képező, egyébként szorosan összefekvő endotél sejtjei között rések jelennek meg, s már maga ez lehetővé teszi a vér sejtközötti átlományának, illetve a kisebb sejtselemeknek az átjutását.

(ii) Az endotél sérülése. A második, előbbinél morfológiailag nagyobb kapilláris károsodással járó lépés, amikor egyes bakteriális toxinok hatására vagy égési sérüléseket követően az érfalat alkotó egyes sejtek is szétesnek. E folyamat már több időt vesz igénybe, s kb. 2–12 óra elteltével tapasztalhatók az érfalon e káros, roncsoló hatások.

(iii) Leukociták kicsapódása. Ezt követően érkezünk el a folyamat fő lépéséhez a leukociták marginalizációjához és migrációjukhoz. A folyamat igen összetett. A leukocita marginalizáció feltétele az e sejtek felszínén lévő homing receptorok és az endotél felszínén lévő ú.n. vaszkuláris addresszinek egymást felismerő kölcsönhatása, mely először a leukociták felszínhez való kicsapódását teszi lehetővé. Az endotél felszínén elhelyezkedő, sejtcsoport specifikus adhézións molekulák befolyásolják, hogy az érszakasz mely területén, mikor, mely sejtek tapadhatnak ki. Így a neutrofil granulocitákat például a Sialil Lewis X és az LFA-1 integrinek (ELAM-1; ICAM-1), a limfocitákat és monocitákat a Mac-1 (ICAM-1; VCAM-1) segítik a kitapadásban. Az endotél biológiailag aktív, kemoattraktáns molekulák termelésével is befolyásolja a sejtek migrációját. Citokinek és nitrogén oxid (NO) viszonylag rövid idő (percek) leforgása alatt aktiválják e sejteket, mely hatásra ezek kezdetben a sejtmembránban P-szelektint expresszálnak, majd platelet activating factor

(PAF) termelődése is megfigyelhető. Az aktiváció ezt követő lépése, amikor a sejtek felszínén új komponensként E-szelektinek jelennek meg, valamint a sejtek a kemoattraktáns citokin az IL-8 termelését is megkezdik. Az így kicsapódott és kemotaktikusan stimulált sejtek az érlumen felőli felszínén migrálnak mindaddig, amíg rá nem találják arra a pontra, ahol az endotélium történő átlépésüket elősegítő, speciális molekuláris szignálokra rá nem találják. Ebben az ún. emigrációs folyamatban a sejtek által termelt proteolitikus enzimek, valamint toxikus oxidációs termékek is segítik a sejteket.

(iv) Regeneráció. A sejtek átlépését követően, a gyulladás későbbi szakaszában az érfal sejtjeinek osztódása segíti a fal regenerációját.

5.1 Kemotaktikus hatású molekulák

Mint láthattuk a kemotaktikus molekulák már a leukocita emigráció korai fázisában termelődnek, befolyásolva ezzel a sejtek mozgását. A gyulladásban ható legfontosabb kemotaktikus molekulákat három nagy csoportba sorolhatjuk: (i) szolubilis bakteriális termékek; (ii) plazma-eredetű anyagok; (iii) az arachidonsav metabolizmus lipoxigenáz vonalának termékei.

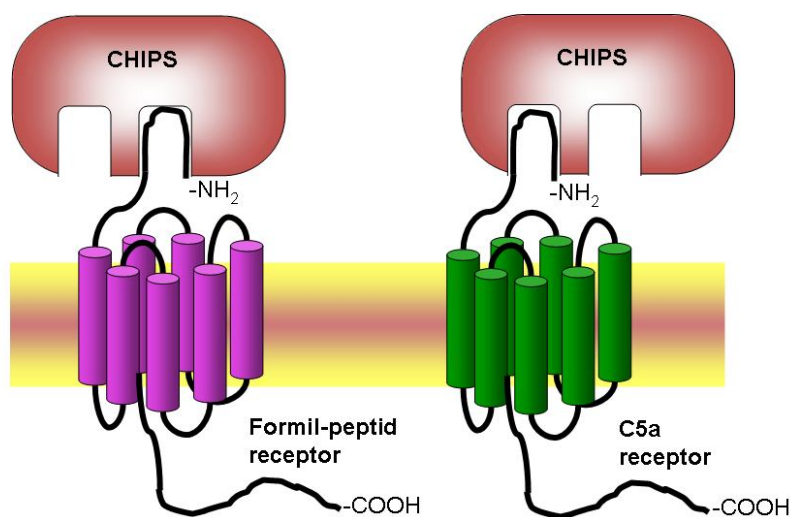
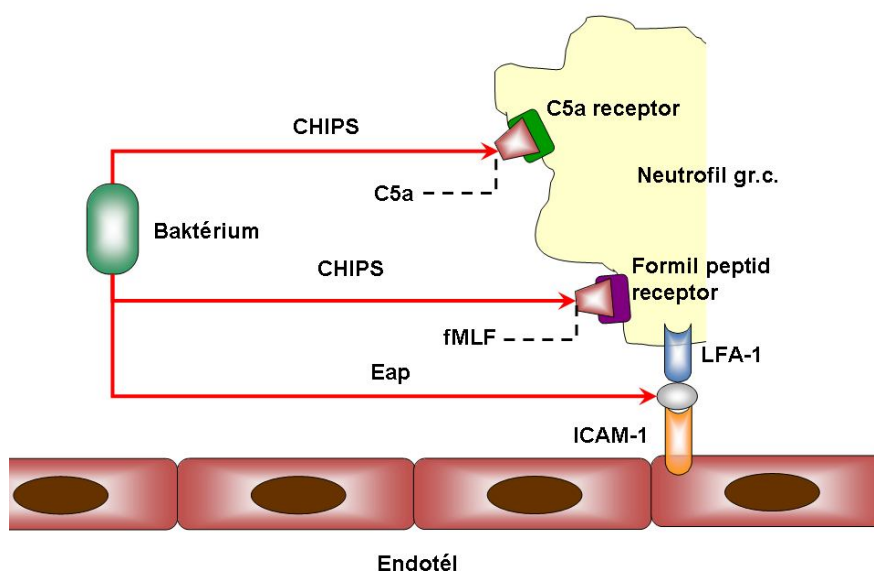
5.1.1 Bakteriális peptidek

A bakteriális eredetű anyagok igen változatos módokon befolyásolhatják a kemotaktikus válasz alakulását. Egyes baktériumok proteázai a komplement rendszerrel lépnek kapcsolatba és a kemotaxis szempontjából inaktív C5-nek aktív, kemotaxist kiváltani képes C5a-vá alakulását segítik elő. Mint az alábbiakban részletezni is fogjuk, a kórokozók más módon is aktiválni képesek a komplement rendszert, annak alternatív útvonalát indítva be. Jelentős attraktáns anyagok az egyes bakteriális di-, illetve tripeptidek is, mint pl. a formil Met-Leu-Phe vagy a formil-Nle-Leu-Phe. Ezek 10^{-8} M koncentráció alatt is hatásos induktorok. A baktériumok által termelt ciklikus nukleotidok szintén befolyásolják a sejtek mozgását, bár ebben jelentős

különbségek mutatkoznak az egyes ligandumok között. Míg cGMP a leukotrién vonal aktiválása révén kemotaxist fokozó hatású, a cAMP a prosztoglandin E₂-re hatva gátolja egyes sejtek kemotaxisát.

Fentiekén kívül a baktériumok által termelt seregyi toxin szintén hatással van a sejtek mozgására, például a *Clostridium perfringens* által termelt téta-toxin erős repellens hatása révén képes a kórokozók körül "védelmi gyűrűt" vonni, gyengítve ezzel az aktív immunválaszt.

Már az előző példa is mutatta, hogy a gyulladás kiváltásáért felelős patogén baktériumok egyáltalán nem tekinthetők a szervezet immunrendszere számára könnyen eliminálható képleteknek. Az általuk termelt toxinok viszonylag aspecifikus módon képesek a migráló sejtek széles skáláját távol tartani. Azonban ennél kifinomultabb, s kifejezetten a kemotaxisra specializált mechanizmusok is kialakultak, melyekre talán a legszebb példa a staphylococcusok által termelt *chemotaxis inhibitory protein of Staphylococci (CHIPS)* esete. E peptidek az emberi szervezet védekező rendszerében működő és a baktériumok eliminálásában fontos szerepet betöltő neutrofil granulociták C5a és formil peptid receptoraival képesek kapcsolódni. A bekötődésük eredményeként a receptorok inaktív állapotban maradnak, tehát a CHIPS csupán lefedi ezeket a kötőhelyeket, s egyben meggátolja a C5a és az fMLF kapcsolódását a receptorhoz. Mindezt a fehérjeszintézis szempontjából igen „gazdaságos” formában oldja meg a baktérium, ugyanis ugyanannak a CHIPS molekulának két eltérő doménje képes a két receptor extracellularis, N-terminális peptidláncához kapcsolódni, mely által meggátolja a természetes ligandum bekötődését (5.1 ábra).



Forrás: Foster T.J. Nature Reviews Microbiology 2005

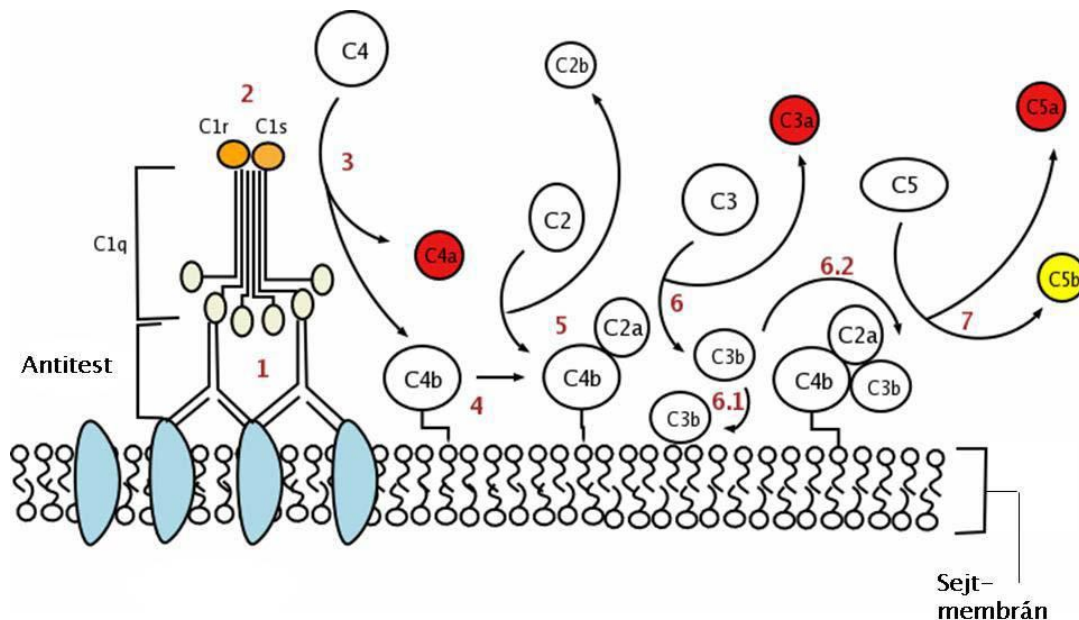
5.1 ábra *Staphylococcus* baktérium kemotaxisgátló, CHIPS és Eap peptidjeinek hatásmechanizmusa.

A baktériumok azonban a fent leírt, számukra védekező mechanizmusnak tekinthető lehetőségénél is többre képesek, az egész kemotaktikus választ átfogó, több ponton neutralizáló hatást képesek kifejtetni. Ezt mutatja, hogy a CHIPS mellett a gyulladásos reakció alapvető lépését, az érfalon történő átjutást is gátolni képesek egy másik peptid, az **extracellular adherence protein (Eap)** segítségével. E peptid hatásának célpontja az endotél sejtek felszínén található ICAM-1 adhéziós fehérje – ezzel teremt kapcsolatot, s egyúttal meggátolja az ICAM-1 és a neutrofil granulocita felszínén lévő

LFA-1 molekulák kötődését, mely a transzmigráció egyik lépésének az előfeltétele.

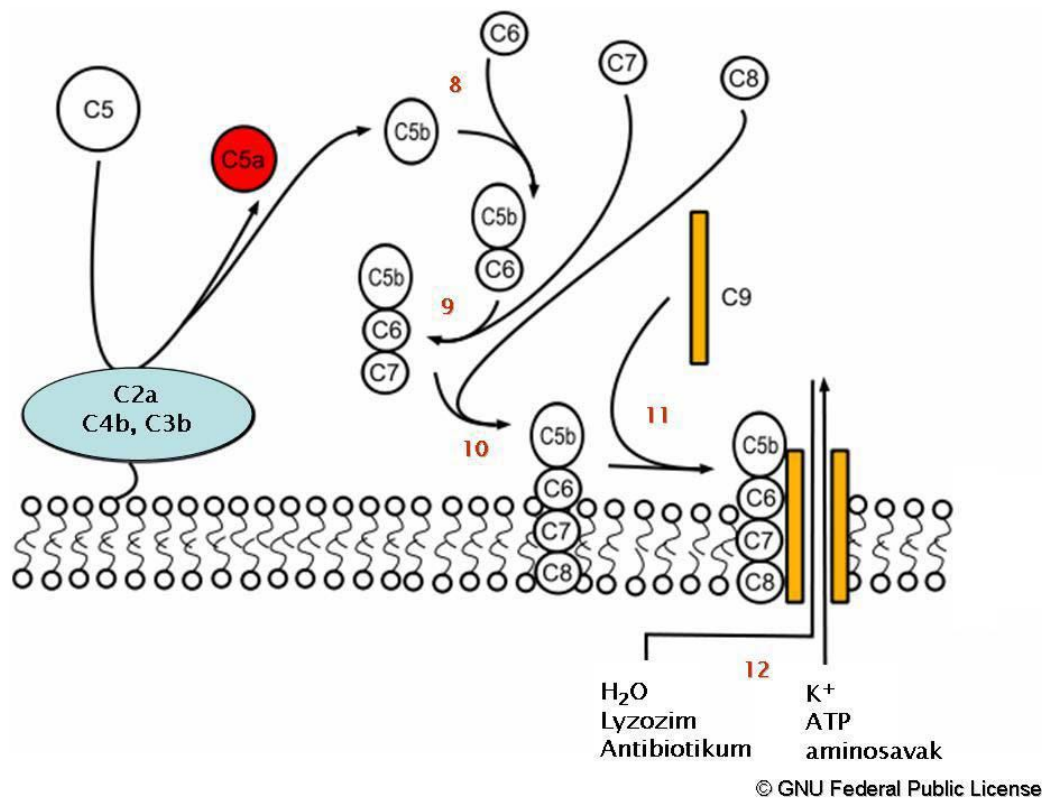
5.1.2 Komplement rendszer

A plazma eredetű kemotaxinok sorában fő helyen állnak a komplement rendszer egyes elemei, melyeknek kialakulását az 5.2–5.4 ábrák mutatják.

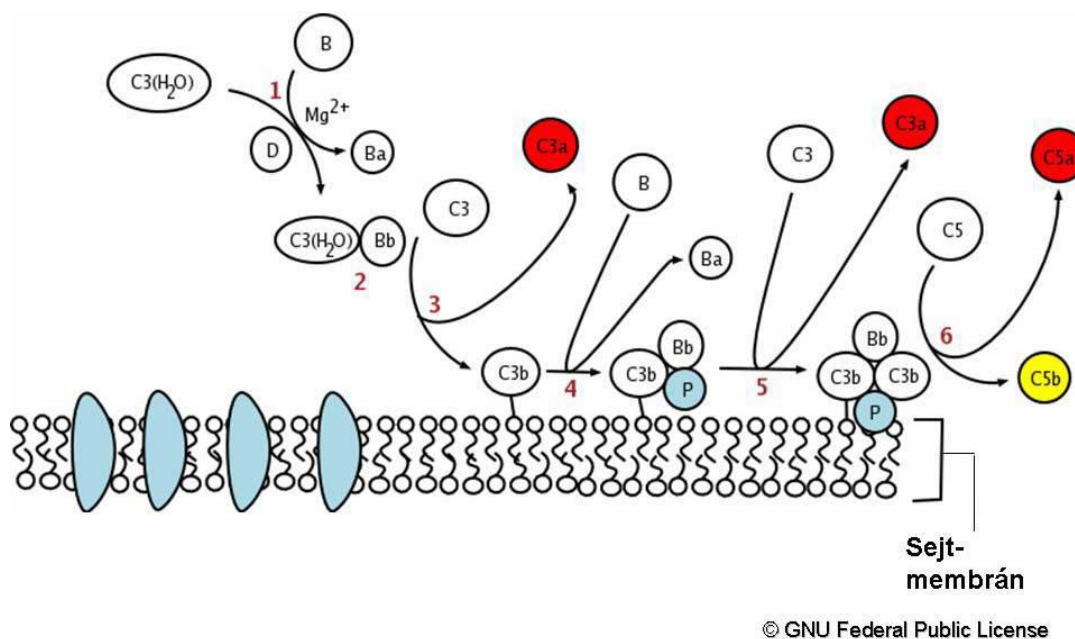


© GNU Federal Public License

5.2 ábra A komplement aktiváció folyamata – Klasszikus út – C1–C5 szakasz



5.3 ábra A komplement aktiváció folyamata - Klasszikus út - C5-C9 szakasz



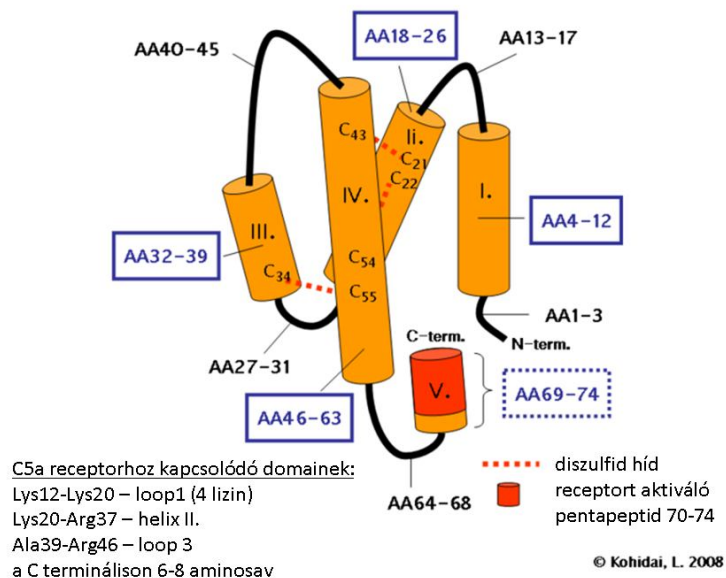
5.4 ábra A komplement aktiváció folyamata - Alternatív út

E plazma eredetű kemotaktikus anyagok három úton alakulhatnak ki. A **"klasszikus"-nak nevezett vonal** kezdő lépéséhez az antigén-antitest komplex jelenléte szükséges, s a kaszkád folyamán két igen jelentős kemotaktikus hatással bíró szubsztrát keletkezik a C3a és a C5a. A kórokozó felszínén található, polisaccharidok által indukált **"alternatív"**

vonat, szintén hatással van a fenti két komplement komponens előanyagának átalakulási folyamataira. A kemotaktikus hatások mellett a két útvonal találkozási pontjában keletkezik a komplement rendszer végterméke, a C5–9, az ún. membránkárosító komplex (membrane attack complex). Az említett két komplement forma mellett, még kemotaktikus hatása van a C4a-nak, valamint a des-Arg-C5a (arginint a molekula C terminális végén nem tartalmazó) formának is.

A fenti két útvonal mellett egy harmadik ún. **lektin mediálta** komplement aktivációs utat is ismerünk. Ebben az esetben mannóz kötő lektin (MBL) és ficolin lektin (három alegység típusból – ficolin = Fi(brin)+Col(lagen)+L(ect)in – felépülő, N-acetil-glukózamin specifikus oligomer lektin) a plazma két lektinkötő proteinjével (MASP1, MASP2; = mannóz asszociált szerin proteáz; ezek a klasszikus út C1r és C1s komponenseinek felelnek meg) alkot komplexet. Az így kialakult, szénhidrátkötő képességgel rendelkező komplexek képesek egyes bakteriális eredetű szénhidrátok felismerésére. A szénhidrátok kötése után a komplexek enzimatis aktivitása fokozódik (MASP2), mellyel a C2 és a C4 komplement komponensek aktivációja révén képesek a fent már leírt folyamat aktiválására.

Mint azt az 5.5 ábra is mutatja a kemotaktikus válaszok kiváltása szempontjából kulcsfontosságú C5a térszerkezetét négy intramolekuláris helikális szekvencia (I.–IV.) és az azok közt kialakuló három diszulfid híd stabilizálja. Magának a biológiai hatásnak a kiváltásáért azonban a C **terminálisan elhelyezkedő 6 aminosavból álló**, rövid helikális domén (V.) a felelős. Ennek kémiai módosulása – pl. des-Arg-C5a képződése – különböző szöveti terekben (ld. tüdő kapillárisok környezete vs. bőr alatti kötőszövet) és célsejtek (pl. neutrofil granulocita vs. monocita) esetében más-más eredménnyel jár. Egyes esetekben a potenciális célsejtekre a C5a-nál hatástalanabb (neutrofil granulocita), máskor azonos hatású (monocita) terméket eredményezve.



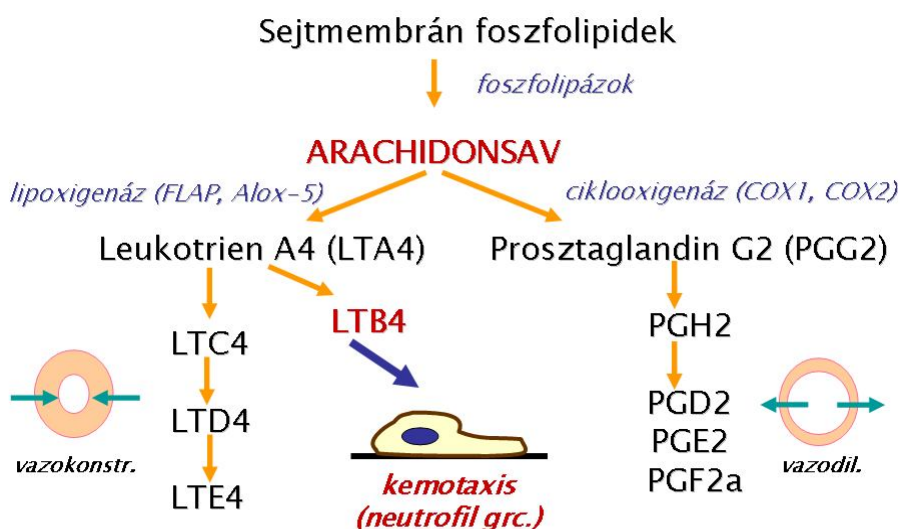
5.5 ábra A C5a térszerkezete és a receptorkötésben szerepet játszó domének

A komplement mellett a plazma más fehérjéi között is találunk kemotaktikus hatásúakat. Különösen fontos csoportot alkotnak a véralvadás során kialakuló vérrögéből felszabaduló, kemotaktikus hatású anyagok, melyek közül a legfontosabbak a korábban már említett C5 derivátumok, a PDGF, PF4 és maga a trombin is. Fentiek mellett jelentősek a fibrinogén egyes, enzimatis bontás (trombin, plazmin stb.) következtében kialakuló formái, különösen a *fibrinopeptid B*, valamint a *fibrinopeptid D és E*. A fibrinopeptid B célsejtjei igen sokfélék, közöttük legfontosabbak a neutrofil granulociták, az endotél és ér simaizom sejtjei. Fibrinopeptid D és E esetében monociták kemotaxisa volt kimutatható, azonban erre egyéb fibrinopeptid fragmentumok (X és Y) nem voltak képesek.

5.1.3 Arachidonsav metabolitok

E harmadik csoport anyagai hatásaikban egyesítik a gyulladás efferens vonalának vaszkuláris és kemotaktikus komponenseit. Kiindulási anyaga az arachidonsav, mely a sejtmembrán foszfolipidjeinek foszfolipázok általi degradációját követően keletkezik, s átalakulási termékei eltérő módon befolyásolják a lokális keringést. A ciklooxygenáz út az arachidonsavból a prosztaglandinok átalakulási termékeinek sorát állítja elő (PG2, PGH2, PGD2, GE2, PGF2), ezek jellemzően vazodilatátor hatással rendelkeznek. A

lipoxigenáz, illetve az 5-lipoxigenáz út ezzel ellentétben a leukotriének (leukotrién A₄) átalakulási termékeit eredményezi, melyek döntően vazokonstriktor jellegű anyagok (LTC₄, LTD₄, LTE₄). E csoport másik jelentős terméke a **leukotrién B₄ (LTB₄)**, melynek kemoattraktáns hatásai is fontosak. Ez utóbbi termék a kemotaxist direkt és indirekt módon is képes indukálni. Közvetlen hatásait a G protein-kötött, LTB₄ receptorral (BLT1) rendelkező mieloid sejteken (pl. neutrofil granulocita), CD4⁺ T limfocitákon és egyéb célsejteken fejt ki. Indirekt, ún. „**szignál-relé**” hatásait szintén neutrofilekben írták le, ebben az esetben azonban a primer kemoattraktáns fMLF által kiváltott kemotaxist felerősítő molekulaként hatnak, azáltal, hogy autokrin termelésük felerősíti az fMLF-re pozitív választ adó sejtek kemoattraktáns irányú polarizációját (ld. aktinváz), majd maga a kialakuló LTB₄ gradiens is a sejtek migrációját segíti elő.



© Köhida, L. 2012

5.6 ábra Az arachidonsav kaszkád átalakulási sora a kialakuló termékek kemotaxisra és érkaliberre kifejtett hatásaival.

A biológiai folyamatok jó összehangoltságára szintén példaként szerepelhet a leukotriének átalakulási sora és az egyes termékek élettani – sejtbiológiai hatásaiban fellelhető összhang. Mint azt már említettük, ebben az esetben nem csupán kemotaxist kiváltó hatással (LTB₄) számolhatunk, de a többi termék (LTC₄–D₄–E₄) érkalibert csökkentő, vazokonstriktív hatása is számottevő. Utóbbi hatás, a kiserek, kapillárisok szintjén a véráramlás sebességének csökkenését eredményezi, mely a migrációs válaszok

időtényezőjének elnyújtásával különösen kedvező lehet – így az LTB₄ célsejtekre kifejtett direkt és indirekt hatásai is jobban kialakulhatnak.

5.2 A gyulladás sejtes elemeinek termékei

A gyulladás és a hozzá kapcsolódó folyamatok egymásutánja az érintett számos sejttípus működésének, valamint e sejtek termékei által indukált változásoknak fogható fel. Az alábbi 5.1 táblázatban néhány központi fontosságú sejttípus jellemző kemotaxin termelését foglaljuk össze. (Egyben felhívjuk az olvasó figyelmét arra, hogy a közölt adatok egészséges emberi mintákra vonatkoznak, egyes kórformákban és egyedi jelleggel is jelentős eltérésekkel számolhatunk.)

5.1 táblázat Néhány, a gyulladás kialakulása szempontjából fontos sejttípus kemotaxin termelése

	TNF	MIF	SCF	IL-1	IL-2	IL-6	IL-8	G-SCF
Monocita	✓			✓		✓		
Makrofág	✓			✓		✓	✓	✓
T limfocita	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓
Hepatocita			✓					
Fibroblaszt						✓	✓	✓
Endotél				✓		✓	✓	
Epitél				✓			✓	
Trombocita							✓	
Csontvelő			✓					

5.2.1 Citokinek

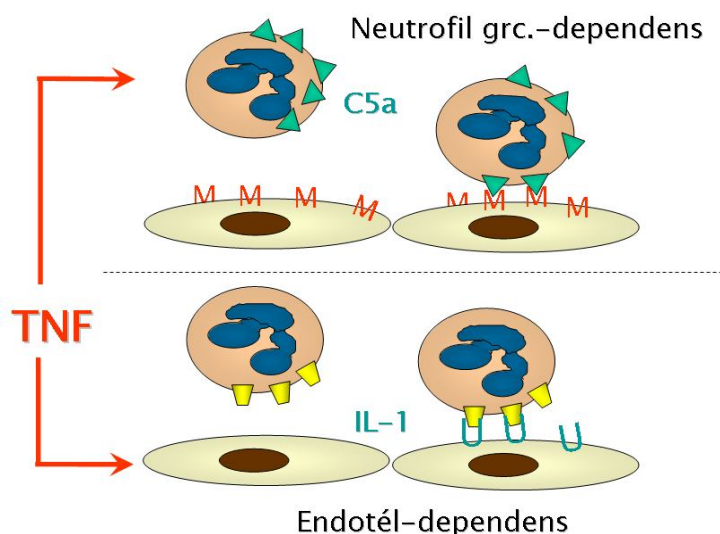
(egyes molekulák jellemzését bővebben a 6. fejezet tartalmazza)

A kemokinek – mint azt már az endotél sejtek migrációt befolyásoló hatásánál is láthattuk –, a gyulladás és a kapcsolódó immunfolyamatok során fontos szerep jut a különböző citokineknek. E **glikozilált, kis molekulású fehérjék** viszonylag rövid életidejűek, s auto-, vagy parakrin módon hatnak. Jellemzőjük a nagy effektivitás, melynek oka lehet, hogy rendszerint a célsejt **RNS, illetve fehérje szintézisét** indukálják. A ma már

több alcsoportba sorolt citokinek számos esetben képesek egymás hatásainak serkentésére, illetve gátlására, sok esetben a megfelelő citokin receptorának transzmodulálása által.

Több citokin esetében figyeltek meg kemotaxist fokozó hatást. Az interleukin-1 (IL-1), melyet többek között makrofágok, keratinociták, asztrociták, mezangiális sejtek termelnek és a tumor nekrosis faktor (TNF), mely a makrofágok mellett NK-sejtek és hízósejtek terméke hasonló célsejtekre hatva egyrészt közvetlenül indukálják a granulocita és limfocita migrációt, másrészt a monociták, makrofágok, fibroblasztok, endotél és epítél sejtek által termelt kemoattraktáns interleukin-8 (IL-8) szintézisét fokozzák és így is hatnak a kemotaxisra.

A neutrofilek endotél felszíneken való migrációjában a TNF indukáló szerepe eltérő mechanizmusokon keresztül valósul meg. Az ú.n. **neutrofil-dependens** forma esetében a TNF elősegíti az endotél sejtek felszínén bizonyos receptorok expresszióját. Ezekkel kapcsolódni azonban csupán azok a neutrofilek képesek, amelyek felszíni kötőhelyei a plazma C5a hatására alkalmassá válnak az endotéllel való kapcsolódásra. Az ú.n. **endotél-dependens** forma esetében szintén szükséges a TNF indukáló hatása, ám ekkor az a neutrofilek felszínén lévő kötőhelyek expresszióját váltja ki. E sejtek mindaddig képtelenek a migrációhoz szükséges szorosabb kontaktus kialakítására az endotéllel, amíg azon, az IL-1 hatására nem expresszálódnak a megfelelő kötőhelyek (5.7 ábra).



5.7 ábra TNF endotél- és neutrofil granulocita-függő hatásai a neutrofil grc.-endotél kapcsolat kialakulása során.

Az interleukinek között a legkifejezettebb kemotaktikus hatással az *IL-8* (egyéb nevei: neutrofil aktiváló peptid – NAP-1, granulocita kemotaktikus peptid – GCP-1) rendelkezik. E molekula homodimer formában szintetizálódik, kemotaxis kiváltó formája azonban a monomer forma. (A Leu25 metilezése blokkolja a monomer kemotaxisra kifejtett hatását). Döntően neutrofileken és limfocitákon hatásos, bár több más sejttípusban is (makrofág, hízósejt, keratinocita, endotél) jól jellemzett, az IL-8 7-hurkú transzmembrán doménnel rendelkező receptora, melynek szignál-transzdukciójában a trimer G protein vesz részt. E receptorok között is eltérést tapasztaltak, s a leírt R1 és R2 receptorok (CXCR1 és CXCR2) elkülönült működését figyelték meg, melyek közül az R1 dominál a kemotaktikus válasz kialakításában.

Az IL-8 által kiváltott hatások között nem a kemotaxis az egyedüli. Hatása van az intracelluláris kalcium ion koncentráció emelkedésére, az exocitotikus folyamatokra és a respiratory burst-re, valamint a sejtekből történő hisztamin felszabadulás révén hatást gyakorol a gyulladás vaszkuláris elemeire, s az erek permeabilitását közvetve fokozhatja.

Az IL-8 mellett más interleukinek is rendelkeznek kemotaktikus potenciállal. Ilyen az IL-2, melynek kemotaktikus potenciálja elmarad az IL-8 mögött, s az IL-8-al ellentétben a molekula béta-láncára is szükség van a migráció kiváltó hatás eléréséhez. A többi interleukin esetében a kemotaktikus aktivitás más-más sejtcsoportra korlátozódik. Így az IL-3 kb. azonos hatással bír az eozinofil és a neutrofil sejtekre; az IL-5 az eozinofilek kemotaxinja, míg az IL-6 az NK sejtek migrációjára hat.

5.2.2 Egyéb attraktánsok

Az interleukinek mellett számos más attraktáns molekula ismert, melyek némelyike hatásmódjában hasonlóságot mutat egyes interleukinekkel. Ilyen az IL-16 (limfocita kemoattraktáns faktor – LCF), amely sokban hasonlít az IL-2-re, itt is mindkét IL-16 monomerre szükség van a hatás kiváltásához, s bizonyítottan IL-2 receptorokon keresztül hat, bár más adatok szerint a

CD4 expressziója is szükséges a hatás kiválásához. Célsejtjei között a CD4+ T limfociták mellett, megtaláljuk az eozinofil grc., dendritikus sejteket és a monocita-makrofág rendszer tagjait.

Nagy csoportot képeznek a **kolónia stimuláló faktorok (CSF)**, melyek az indukált sejttípus szerint kapják nevüket (makrofág – M-CSF; granulocita – G-CSF). Ezek egységesen glikoprotein természetű, vízben jól oldódó anyagok, melyek autokirin, parakrin és endokrin úton is kifejtik hatásukat. Fő funkciójuk a haemopoetikus sejtek kitapadásának, proliferációjának és differenciálódásának az indukciója. A makrofág-CSF a gyulladásban és egyéb immunfolyamatokban kulcsfontosságú molekulák (IL-1, TNF, PGE2, gamma-interferon), képződését serkenti és hat a G-CSF képződésére is. A kemotaxist különböző szinteken hatásosan befolyásoló anyagok szintézisére kifejtett indukció, mint indirekt hatás mellett, az M-CSF direkt hatást is gyakorol a "killing" mechanizmusra. A granulocita-CSF a gyulladás első fázisaira (marginalizáció, adhézio), valamint a gyulladás késői effektor történéseire (fagocitózis, killing) indukáló hatással van, míg magát a neutrofilek migrációját gátolja.

A neutrofilek számos oligopeptidet (tri-, illetve tetrapeptidet) is termelnek, melyekkel auto- és parakrin módon hatnak a környezet sejtjeire. Ilyen az Arg-Gly-Asp, amely monociták kemotaxinja, illetve az Ala-Gly-Ser-Glu és a Val-Gly-Ser-Glu, melyek eozinofilek és neutrofilek kemotaxisát váltják ki.

5.2.3 Monocitákra ható kemotaktikus proteinek

Fenti kemotaxinok mellett külön molekula-családot alkotnak a monocita kemotaktikus proteinek (melyek nevének szakirodalomban használt rövidítése – **MCP**– sajnos megegyezik a bakteriális kemotaxis esetében már említett metil-csoport kötő protein rövidítésével); a makrofág gyulladásí proteinek (**MIP**), valamint a **RANTES** protein, mely név a "Regulated upon Activation Normal T cell Expressed and Secreted" jelzős szókapcsolat rövidítése. Együttes tárgyalásukat az indokolja, hogy számos esetben hatnak hasonló módon, illetve azonos receptorokon keresztül. Fontos azt is tudni róluk, hogy molekulaszervezeti felépítésükből adódóan – a fentiekben már említett IL-8-hoz hasonlóan – a következő fejezetben tárgyalandó

kemokinek csoportjába tartoznak, ezért egyes jellemzőiket abban a fejezetben fogjuk áttekinteni.

Az MCP-k vizsgálata eddig három altípus MCP1, MCP2, MCP3 létezését igazolta, melyek homológiája az N-terminális szakasz területén jelentős, az MCP1-re vonatkoztatva MCP2 62%, MCP3 71%. Mindhárom molekula kemoattraktáns jellegű, az MCP3 különösen a bazofil és eozinofil sejtekre fejt ki erős hatást. Emellett, – az MCP-k közül különösen az MCP1 és MCP3, – az intracelluláris kalcium felszabadulását is indukálják. Az MCP2 hatásmechanizmusának MCP1 és MCP3-tól való eltérő voltát jelzi, hogy míg a kolera toxin az MCP2 hatásait gátolja (ld. G protein alfa stimulátoros alegység tartós aktivitása – tartós adenil-cikláz működés – fokozott cAMP szint), addig pertusszisz toxinnal az MCP1 és MCP3 hatásai függeszthetők fel (ld. G protein alfa inhibitoros alegység ADP-ribozilációja – receptorral való interakció gátlása – intracelluláris szignalizáció receptortól független indukciója – fokozott cAMP szint). A receptorok vizsgálata jelzi, hogy bazofilek esetében MCP1 receptorok mindkét peptid (MCP1 és MCP3) hatásait mediálják. Más vizsgálatok eredményei a tirozin, szerin/treonin kinázok gátlását és annak kemotaxisra kifejtett hatását elemezve az MCP2 szignalizációs útját találták különösen érzékenynek. Ez is jelzi az MCP2 eltérő hatásmechanizmusát, s azt, hogy fenti kinázok a kemotaxisához szükséges szignáltranszdukciós út egy lépcsőjét képezik az MCP2 esetében. A MIP és RANTES kemotaxinok, hasonlóan az MCP-khez, az attraktáns hatás mellett emelik az intracelluláris kalcium koncentrációt, valamint a leukotrién C4 (LTC₄) felszabadulását is indukálják. Bazofilek és eozinofilek RANTES és MIP receptorai számos keresztreakciót mutatnak. A RANTES receptorok az MCP3 hatásait is közvetítik a sejtbe, míg a MIP receptorok a RANTES és kisebb fokban ugyan, de az MCP3 hatások közvetítésére is képesek.

A gyulladás folyamatát bármennyire is a kemotaxis modelljeként tekintjük, hasonlóan az egyéb fejezetekhez, nem szorítkozhatunk csupán magára a migrációra és annak kiváltására, szükséges annak legalább vázlatos áttekintése, mi is a célbaérés után a sejtek sorsa, képletesen szólva: mi

történik a feladott levéllel a címzetthez érkezést követően? A gyulladás effektor fázisának tekinthető a migráló sejtek biológiai-immunológiai potenciáljuktól függően más-más feladatköre. Ezen belül az egyik döntő a makrofágok általi fagocitózis és a killing folyamata.

5.2.4 Makrofágok által termelt anyagok

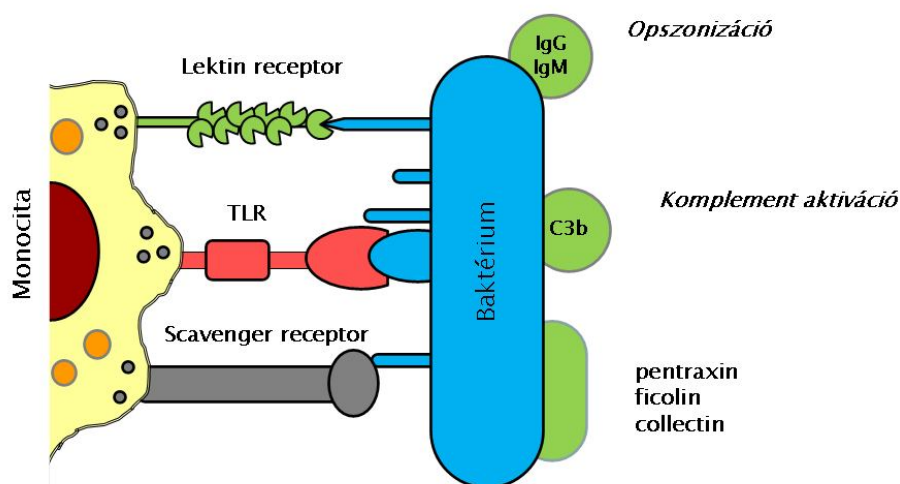
Ezen anyagok összefoglalás-szerű áttekintése azért tűnik fontosnak, mivel egy részük a kemotaxis attraktánsai közé tartozik, más anyagok a gyulladás másik fontos reakciójának – a kemotaxist követő egyik effektor elemnek – a fagocitózisnak, illetve a "killing"-nek regulálói. Az első csoportba tartoznak a már az előző részben említett MIP, az egyes citokinek (IL-1, IL-8, TNF), növekedési faktorok (PDGF, EGF, FGF), az arachidonsav és reaktív oxigén metabolitok, valamint a plazma proteinek közül a komplement átalakulási lánc több tagja (C1–C5).

A második csoportba a makrofág fagocita funkciójából adódóan számos enzim tartozik. Ilyenek a neutrális proteázok (elasztáz, kollagenáz, plazminogén aktivátor) és a savas hidrolázok, foszfatázok, lipázok.

5.3 Fagocitózis és "killing"

A szöveti térben mozgó sejtek egy csoportja részt vesz a gyulladás kiváltásáért felelős kórokozók eliminálásában. Ennek alapvető feltétele a kórokozó felszíni membránjának antitestekkel történő fedése, az **opszonizáció**, mely a sejttes elemeknek szignálul szolgál a továbbiakban. E folyamat során az antitestek a kórokozó membránját Fab terminális részükkel ismerik fel, s a molekuláris burok kiépülése után a környező sejtek számára szabad Fc terminálisú antitestekkel fedett részecskét kapunk. Az így előkészített, "megjelölt" partikulum kapcsolódik azután a makrofág felszínén található Fc-receptorokkal, mely kapcsolódás a részecske kezdeti, sejtmembránhoz való kötését is jelenti, s indukálja a következő fagocitotikus lépést, a fagocitotikus vakuólum képződését, majd lefűződését. E folyamat során a komplement-rendszer aktiválódása révén a C3b is kötődik a kórokozó membránjához, melyet az erre specifikus C3b-receptor köt, szorosabbá téve a makrofág membránja és a fagocitálandó

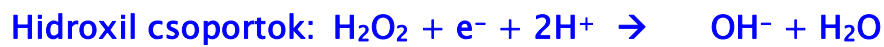
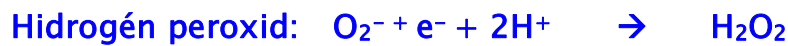
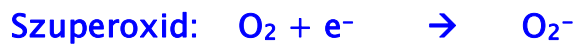
partikulum közötti kialakuló kapcsolatot.



5.8 ábra Baktérium fagocitózisának szolúbilis és receptoriális komponensei.

A fagocitózis a kemotaxis target reakciójaként is felfogható, sejtes elemei irányított migrációjukkal találhatnak rá a **szolúbilis komponensekkel** jelölt, illetve receptorok számára jól felismerhető fagocitálandó képletekre, pl. baktériumokra. E folyamat **receptorális** komponensei lehetnek (i) a baktérium felszínének szénhidrájait felismerő lektin receptorok, (ii) toll-like receptorok (TLR), melyek pl. LPS fedett baktériumok internalizációját mediálják, (iii) scavenger receptorok. Fenti, a fagocitózisban leginkább résztvevő receptorok mellett, még számos más forma is szerepel, így a mannóz receptorok, az N-formil metionil receptora, vagy a dectin-1, amely egy gomba eredetű béta-glukán és csak a CD45 / CD148 foszfatázok szabályozó hatása mellett képes a fagocitózis indukciójára.

A sejtes elemek fagocitózisának fontos befejező lépése a „killing”, tehát a sejtmembránnal burkolt képlet biológiai integritásának megszüntetése, majd annak internalizációja. Ennek során fontos lépés a kórokozó membránjának dezintegrálása. A lebontás helye a citoplazma **fagolizoszómális** kompartmentje. A folyamatban különböző toxikus oxigéntartalmú termék játszik szerepet, kialakulásukban az elektron donoroknak (pl. NADPH) nagy szerepük van. A folyamat három fő terméke:



A fentiek mellett a reaktív gyökök közül még a HOCl⁻ játszik szerepet, ennek keletkezése kétlépcsős folyamat. Az első lépésben a NADPH oxidációja révén keletkező átmeneti termék, a reaktív oxigén gyök és hidrogén egyesülése biológiai rendszerekben igen reaktív és toxikusan ható H₂O₂-t eredményez, majd ennek Cl⁻-dal történő reakciója során alakul ki a membránt még hatásosabban károsító HOCl⁻. Ezt követően a kialakuló ú.n. azurofil granulumban tovább folytatódik a bontás, melyben a leghatásosabb és legnagyobb mennyiségben ható enzimek a myeloperoxidáz, hidrolázok és a proteázok. Amennyiben minden komponens adott, egészséges körülmények között – pl. makrofágokban –, a vázolt folyamat néhány órát-maximum egy napot vesz igénybe.

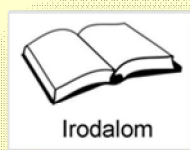
A fagocitózis folyamata, illetve annak elmaradása kórtani szempontból is fontos. Egyes a fertőző betegségek között jól ismert és népszerűt nagy százalékban fertőző, illetve járványokat okozó mikroorganizmusok megtelepedésének egyik feltétele is a fagocitózis és killing kivédésén alapul. A pestis kórokozója (*Yersinia pestis*) a gazdaszervezet makrofágjait támadja meg, citoplazmájukba egy szekréciós apparátus segítségével „Yop” fehérjéket juttat. E fehérjék (pl. YopE, YopT, YopH, YopJ) főleg a szignáltranszdukciós folyamatokat zavarják meg, a sejtek fagocitózisa és osztódása gátoltá válik, és előbb-utóbb elpusztulnak. Az immunsejtek tömeges pusztulása okozza a betegséget kísérő nyirokcsomó duzzanatot (ld. bubó pestis).

Egy másik jól ismert kórokozó, a *Mycobacterium tuberculosis* más taktikával él. Ezek a kórokozók a makrofágok által fagocitózásra kerülnek ugyan, de a citoplazmában membránnal körülvett állapotukban is képesek ú.n. virulencia proteineket (ERP, micobactin, foszfolipáz) termelni. Hatásukra a

Mycobacterium nem csupán túlél a makrofágban, de osztódik is. Bár az osztódás üteme nem gyors (klinikai tünetek csak hetekkel a fertőzést követően jelentkeznek a fertőzöttek 10%-ában).



http://www.bio.davidson.edu/misc/movies/Chemo_humanPMNs.mov
<http://www.youtube.com/watch?v=suCKm97yvyk>
http://student.ccbcmd.edu/~gkaiser/innate/diapedesis_early_fl.html
http://student.ccbcmd.edu/~gkaiser/innate/diapedesis_late_fl.html
<http://www.wwnorton.com/college/biology/mbio/animations/main.asp?chno=ch23a01>
http://bcs.whfreeman.com/lodish5e/content/cat_010/06010-01.htm?v=chapter&i=06010.01&s=06000&n=00010&o=
<http://www.youtube.com/watch?v=DMvixApKzKs>
http://highered.mcgraw-hill.com/olcweb/cgi/pluginpop.cgi?it=swf::540::590::/sites/dl/free/0073525618/819949/Complement_Activation.swf::Complement%20Activation
<http://www.profelis.org/amc/vorlesungen/immunologie/komplementsystem.html>
http://student.ccbcmd.edu/~gkaiser/innate/lectin_flash.html
<http://classes.midlandstech.edu/carterp/Courses/bio225/chap16/sld006.htm>
<http://cellular-immunity.blogspot.hu/2007/12/inflammatory-response.html>
<http://book.host.org/part%202.%20cardinal%20manifestations%20and%20presentation%20of%20diseases/chapter%2060.%20disorders%20of%20granulocytes%20and%20monocytes.htm>



1. Afonso, P.V., Janka-Junttila, M., Lee, Y.J., McCann, C.P., Oliver, C.M., Aamer, K.A., Losert, W., Cicerone, M.T., Parent, C.A. LTB4 is a signal-relay molecule during neutrophil chemotaxis. *Dev. Cell*, 22, 1079–1091 (2012)
2. Desjardins, M. ER-mediated phagocytosis: a new membrane for new functions. *Nature Rev. Immunol.* 3, 280–291 (2003).
3. Foster, T.J. Immune evasion by staphylococci. *Nature Rev. Microbiol.* 3, 948–958 (2005)

6. A kemokinek

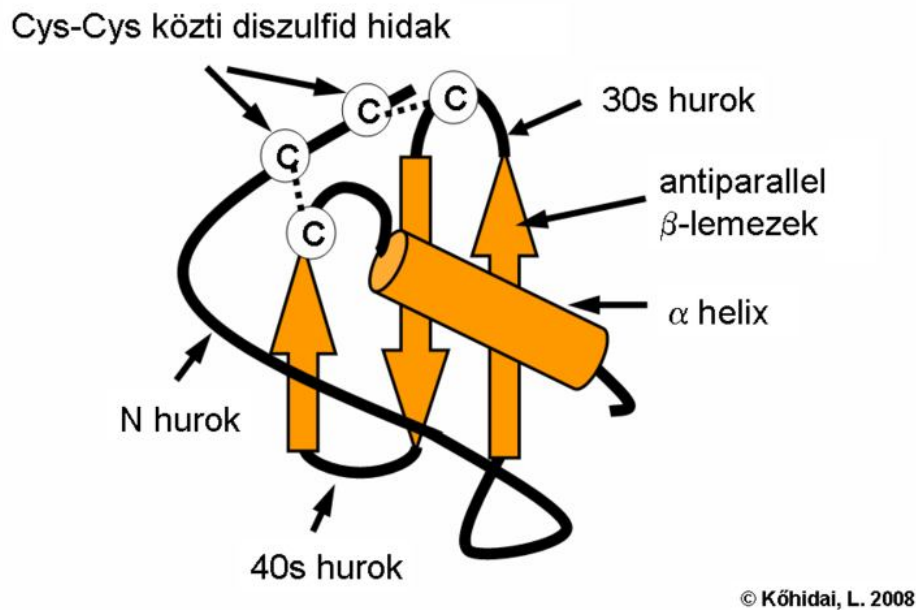
A kemotaxis-kutatás az elmúlt években reneszánszát éli, s e népszerűség egyik fő okát a citokinek egy új családjának a kemokinek (chemokin – *chemotaxis* indukálására képes *citokin*) leírásában kereshetjük. Egy olyan molekula család karakterizálása folyik napjaink egyre több laboratóriumában, melyek abban különböznek az eddig megismert, klasszikus kemotaktikus faktoroktól, mint pl. a C3a, C5a, vagy a bakteriális eredetű formil-Met-Leu-Phe tripeptid, hogy specifikusak, hatásukat parakrin módon egy-egy jól körülírt leukocita szubpopulációra fejtik ki. Közvetlen kemotaktikus hatásaik mellett autokrin és közvetett hatásaik révén számos eddig nem, vagy csak részben ismert szöveti folyamat jobb megismerésében segített már eddig is kutatásuk. (E vizsgálatok fontosságát szemlélteti, hogy 1995 óta több mint 65000 publikációban referáltak e viszonylag új kutatási terület eredményeiről.)

Jelen fejezet célja e klinikailag is igen fontos molekula-család alaposabb bemutatása, valamint kórtani szerepének rövid áttekintése.

6.1 A kemokinek szerkezete és csoportosításuk

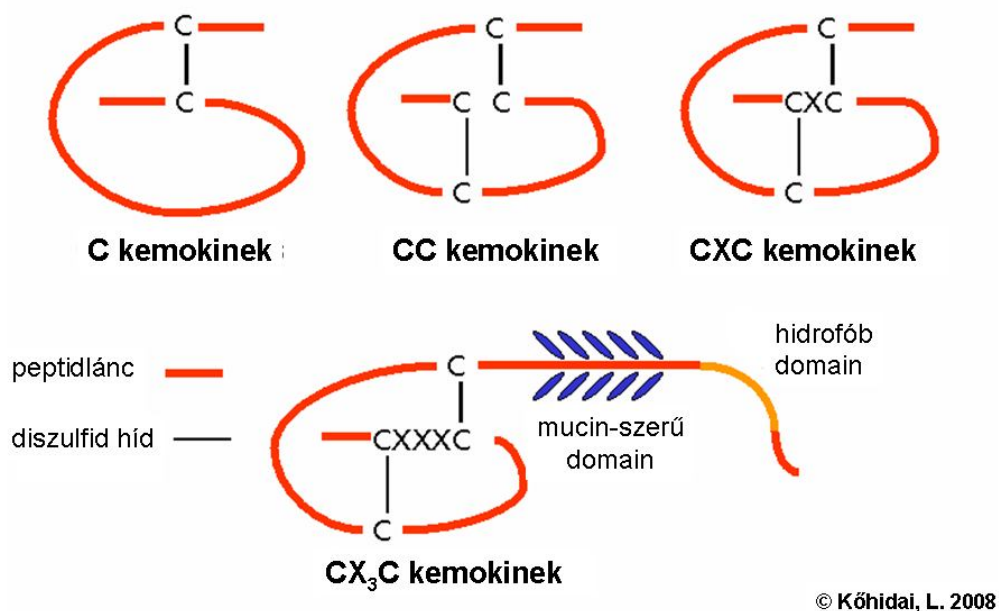
A napjainkig több mint 40 humán kemokinen elvégzett szerkezeti vizsgálat adatai arra utalnak, hogy a 8–10 kD-os, kb. 70–80 aminosavból álló és döntően heparin-kötő polipeptidek szerkezeti homológiáik alapján négy nagyobb csoportba sorolhatók.

A molekulák NMR és *krisztallográfiás vizsgálatainak* köszönhetően ismerjük a kemokinekre jellemző általános szerkezetet, ez egy aminosav-terminális hurok, melyet egy rövid helikális csavarulat után három, antiparallel béta-lemez követ, ezeket az ún. 30s és 40s hurkok kötik össze, s végül a molekula karboxi-terminális részét egy viszonylag rövid, négy csavarulatot tevő alfa-helix zárja (6.1 ábra).



6.1 ábra A kemokin molekula (IL-8) jellegzetes térszerkezete (Terjedelmi korlátok miatt itt nem térhetünk ki egy-egy kemokin-hatás molekulaszervezeti hátterének elemzésére.)

A molekulák nagy része jellemzően négy ciszteint tartalmaz, melyek *intramolekuláris diszulfid hidakat* alkotva stabilizálják a leírt szerkezetet, s jelenlétük szükséges a molekulára jellemző hatás kialakításáért (6.2 ábra).



6.2 ábra A kemokinek csoportosításának szerkezeti alapjai

A csoportosítás alapja is az amino-terminális végen található két cisztein,

melyek között a kemokinek egyik csoportjában egy beékelődő aminosav foglal helyet (CXC vagy alfa kemokinek), míg a másik nagy csoportban a ciszteinek közvetlenül egymás mellett helyezkednek el (CC vagy béta kemokinek).

Fentiek mellett két kisebb csoportot is megkülönböztetünk. Egyikük a nemrégien leírt ú.n. C (gamma) kemokin, mely esetében csupán egy aminoterminális cisztein található. A másik csoportba az ú.n. CX₃C (delta) kemokinek tartoznak, melyek több szempontból is eltérnek az eddig tárgyaltaktól. Az utóbbiakban egyrészt a két aminoterminális ciszteint elválasztó aminosavak száma nő háromra, de ennél is lényegesebb különbség, hogy a karboxiterminális vég 241 aminosav hosszúságú, mucin karakterű résszel hosszabbodik, valamint a karboxi-terminális véghez közel egy 18 aminosav hosszúságú, hidrofób szekvencia is található. Utóbbi, a kemokinek esetében egyedi, membránkihorgonyzó komponens felveti annak lehetőségét, hogy az e csoportba tartozó kemokinek nem csupán, – vagy talán jellemzően nem – szolúbilis formában fejtik ki hatásukat, hanem membránhoz kötötten. Hasonló szerkezeteket újabban néhány más kemokin esetében is felleltek, pl. a CXCL16 – SR-SOX szolúbilis és membránhoz kötött formában is fellelhető, hosszú, mucin-szerű citoplazmába nyúló nyelének tirozinjai potenciális foszforilációs helyként működhetnek.

A kemokinek szakirodalmi elnevezése eléggé változó, hiszen ugyanazon kemokin megjelölésére – mint számos más esetben a biológiában –, több, a kemokinek biológiai funkciójára vagy éppen termelődésére utaló, tradicionális név is rögzült. Ezen a nem mindig előnyös helyzeten kívánt javítani a **2000-ben bevezetésre került új nevezéktan**, mely a négy alosztályba sorolt kemokineket egységes számozással látta el. A 6.1 táblázat a kemokinek ezen új besorolás szerinti elnevezését, valamint a tradicionális angol neveket és azok rövidítéseit mutatja. Mivel az egyes számozás szerinti elnevezések még nem mentek át a gyakorlatba, a fejezet további részeiben a hagyományos nevek rövidítéseit alkalmazzuk.

6.1 táblázat Kemokin alosztályok hivatalos és hagyományos nevei emberben

Kemokin alosztály	Hivatalos név	Hagyományos név	Hagyományos rövid név
CXC	CXCL1	growth-related oncogene-1	GRO1
	CXCL2	growth-related oncogene-2	GRO2
	CXCL3	growth-related oncogene-3	GRO3
	CXCL4	platelet factor 4	PF-4
	CXCL5	epithelial neutrophil-activating protein 78	ENA-78
	CXCL6	granulocyte chemotactic protein 2	GCP-2
	CXCL7	neutrophil activating protein 2	NAP-2
	CXCL8	interleukin-8	IL-8
	CXCL9	monokine induced by γ -interferon	MIG
	CXCL10	γ -interferon-inducible protein	IP-10
	CXCL11	interferon-inducible T-cell chemoattractant	I-TAC
	CXCL12	stromal cell-derived factor	SDF-1
	CXCL13	B-cell activating chemokine	BCA-1
	CXCL14	breast and kidney expressed chemokine	BRAK
	CXCL15	lungkine	Lungkine
	CXCL16	scavenger receptor for phosphatidylserine and oxidized lipoprotein	SR-PSOX
	CXCL17	VEGF co regulated chemokine 1	VCC1
CC	CCL1		I-309
	CCL2	monocyte chemoattractant protein-1	MCP-1
	CCL3	macrophage inflammatory protein-1 alpha	MIP-1 alpha
	CCL4	macrophage inflammatory protein-1 beta	MIP-1 beta
	CCL5	regulated on activation normal T-cell expressed and secreted	RANTES
	CCL6	chemokine-10	C10
	CCL7	monocyte chemoattractant protein-3	MCP-3
	CCL8	monocyte chemoattractant protein-2	MCP-2
	CCL9	macrophage inflammatory protein-1 gamma	MIP-1 gamma
	CCL10	not in use, identical to CCL9	
	CCL11	eotaxin	Eotaxin
	CCL12	monocyte chemoattractant	MCP-5

		protein-5	
	CCL13	monocyte chemoattractant protein-4	MCP-4
	CCL14	hemofiltrate cc chemokine-1	HCC-1
	CCL15	macrophage inflammatory protein-5	MIP-5
	CCL16	liver-expressed chemokine	LEC
	CCL17	thymus and activation related chemokine	TARC
	CCL18	macrophage inflammatory protein-4	MIP-4
	CCL19	Epstein-Barr virus-induced receptor ligand chemokine	ELC
	CCL20	liver- and activation-induced chemokine	LARC
	CCL21	secondary lymphoid tissue chemokine	SLC
	CCL22	macrophage-derived chemokine	MDC
	CCL23	macrophage inflammatory protein-3	MIP-3
	CCL24	eotaxin-2	Eotaxin-2
	CCL25	thymus-expressed chemokine	TECK
	CCL26	eotaxin-3	Eotaxin-3
	CCL27	cutaneous T-cell attracting chemokine	CTACK
	CCL28	mucosa associated epithelial chemokine	MEC
C (vagy XC)	CL1	lymphotactin alpha	Lymphotactin alpha
	CL2	lymphotactin beta	Lymphotactin beta
CX₃C	CX ₃ CL	fractalkine	Fractalkine

A bevezetőben említett átlagos 70–80 aminosav hosszúságú kemokin molekulaméret az egyes kemokinek esetében a 6.2 táblázatban bemutatott méretek szerinti eloszlást mutatja.

6.2 táblázat Kemokin alosztályok és az azokhoz tartozó kemokinek mérete emberben

CXC kemokinek		AS	CC kemokinek		AS
CXCL1	GRO-1	73	CCL1	I-309	73
CXCL2	GRO-2	73	CCL2	MCP-1	76
CXCL3	GRO-3	73	CCL3	MIP-1a	66
CXCL4	PF4	70	CCL4	MIP-1b	69

CXCL5	ENA-78	78	CCL5	RANTES	68
CXCL6	GCP-2	75	CCL7	MCP-3	76
CXCL7	NAP-2	70	CCL8	MCP-2	76
CXCL8	IL-8	72, 77	CCL11	Eotaxin	74
CXCL9	MIG	103	CCL13	MCP-4	75
CXCL10	IP-10	78	CCL14	HCC-1	74
CXCL11	I-TAC	73	CCL15	MIP-5	92
CXCL12	SDF-1	68	CCL16	HCC-4	97
CXCL13	BCA-1	87	CCL17	TARC	71
CXCL14	BRAK	77	CCL18	MIP-4	69
CXCL16	SP-PSOX	90	CCL19	MIP-3b	77
C		AS	CCL20	MIP-3a	70
CL1	Limfotactin	114	CCL21	SLC	111
CL2	SCM-1b	114	CCL22	MDC	69
CX3C		AS	CCL23	MIP-3	99
CX ₃ CL1	Fraktalkin	373	CCL24	Eotaxin-2	93
			CCL25	TECK	127
			CCL26	Eotaxin-3	68, 71
			CCL27	CTACK	88
			CCL28	MEC	105

A kemokinek szerkezetének (pl. IL-8) kristályszerkezeti elemzése arra utalnak, hogy e molekulák bár *monomer* formában is hatásosak, de a molekulák első antiparallel futó béta-lemezei között kialakuló, döntően hidrofób egymáshatások révén *dimereket* képeznek, sőt egyes esetekben elektrosztatikus hatásokra nagyobb elemszámú ún. *oligo- vagy multimerek* képződése is megfigyelt (pl. MIP-1alfa). Ezek a szerkezetek a biológiai hatékonyság szempontjából is előnyösnek tűnnek, mivel az így kialakuló dimerekben a két karboxi-terminális alfa-helikális lánc a receptorokkal való ideális kapcsolódást teszi lehetővé. Az alfa-helikális láncok fontos szerepét támasztja alá az a megfigyelés is, melyben szintetikus, karboxi-terminális alfa-helix nélküli IL-8 (1-51) kötését vizsgálva annak 1/70 arányú (1.4%-ra) csökkenését tapasztalták. Utóbbi esetben természetesen felvetődik, hogy e molekula szakasz nem csupán a közvetlen receptorkötésben tölt be szerepet, de az egész molekula negyedleges szerkezetét befolyásoló hatása is lehetséges.

NMR és MS vizsgálatok eredményei bizonyítják, hogy egyes kemokinek esetében (CCL2, CCL5, CXCL8) a fent említett dimerképzés nem csak homodimerek, de heterodimerek formájában is megjelenik. Az így

kialakított komplexek a sejtfelületen található GAG-okhoz való kötődést segítik elő. A heterodimerek kialakítása az alapvető kemokin funkciók szabályozásának is része lehet, szinergista vagy antagonistá hatásokért lehet felelős.

Egyes CC kemokinekben (CCL1 – I309; CCL15 – HCC-2; CCL21 – SLC; CCL23 – MIP-3; CCL28 – MEC) a jellemző két diszulfid híd mellett, egy harmadik, terciert is leírnak. Ennek szerepét a C-terminális régió molekuláris centrumhoz történő rögzítésében látják, mivel hatására a molekulák e C-terminális részének motilitása jelentősen csökken.

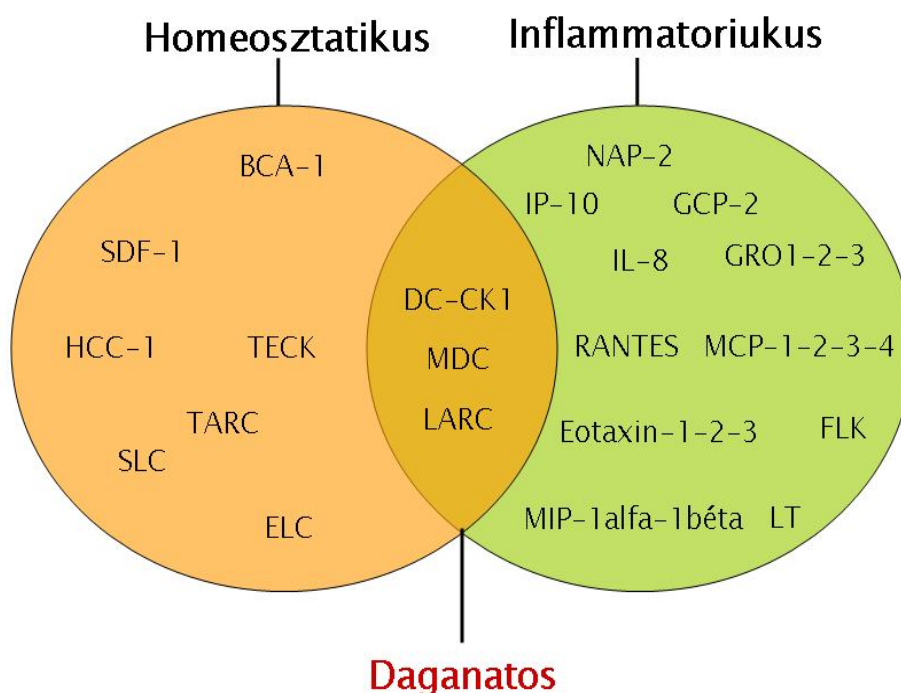
Az osztályozásnak a szerkezeti szempontok figyelembevétele mellett más szempontjai is lehetnek. Így a funkció és eredet alapján történő csoportosítás két további nagy csoportot, a homeosztatikus és az inflammatorikus kemokineket is megkülönbözteti (6.3 ábra).

A **homeosztatikus (konstitutív)** kemokinek (CXCL12, CXCL13 CCL12) meghatározó jelentőségűek az embriogenezis és az organogenezis szempontjából. Hatásaik szövet vagy sejtspecifikusak (CCL5 – tímusz), kis mennyiségben termeli őket a szervezet, de folyamatosan expresszált kemokinek. A felnőtt szervezet tumorok kialakulása elleni, az immunrendszer által megvalósított folyamatos kontrolljának (immune surveillance) is részét képezik.

Az **inflammatorikus (indukálható)** kemokinek (IL-8, IP-10, GRO-k, RANTES, MCP-k és MIP-ek) szintézisét proinflammatorikus citokinek váltják ki. A homeosztatikus csoporttal ellentétben termelődésük átmeneti, a nevükben is jelzett reakció, a gyulladás immunválaszának molekuláris szabályozói. Ennek megfelelően viszonylag nagy mennyiségben termelődnek. A klinikai diagnosztika által detektált, egyes **tumorok által termelt** kemokinek (e.g. DC-CK1, MDC, LARC) és más klinikai állapotokat jellemző kemokinek szintén ebbe a csoportba tartoznak.

Mint a 6.3 ábrán is látható a fenti két nagy csoport mellett, azok tagjainak felhasználásával egy további, harmadik csoport is képezhető. Ennek tagjaira a két csoport már felsorolt jellemzői – bizonyos fenntartásokkal –, egyaránt jellemzőek, s ami ennél orvosi szempontból még lényegesebb, ezek

daganatokra jellemzően előforduló kemokinek.



6.3 ábra Kemokinek funkció alapján történő osztályozása

6.2 Kemokin–genetika

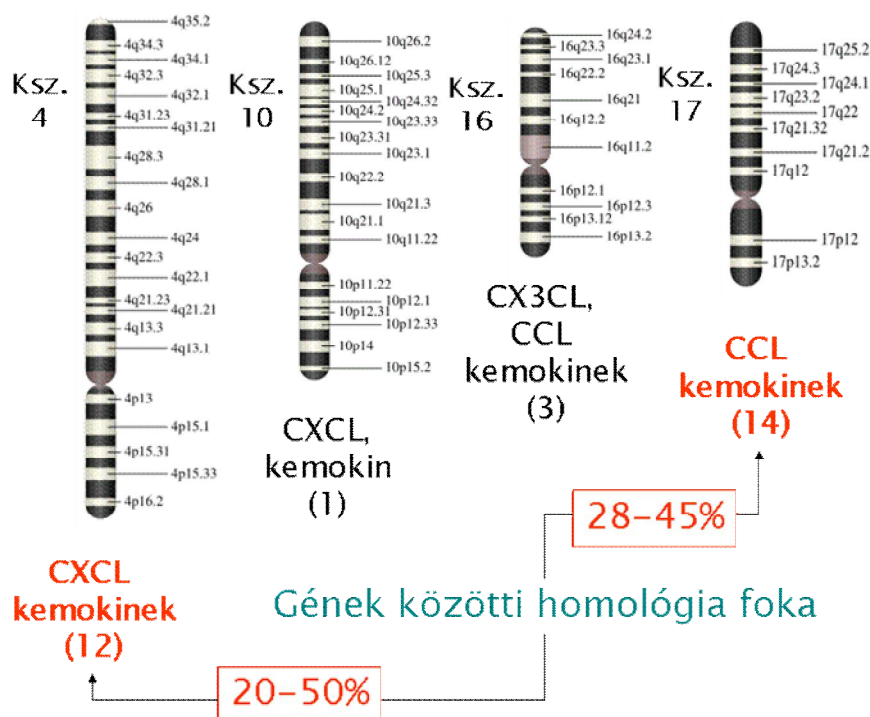
A fentiekben szerkezeti szempontból jellemzett molekula-csoportok homológiájára utal, hogy az emberi genomot vizsgálva a csoportok tagjai között mintegy 20–90%-os homológia fedezhető fel (6.3 táblázat).

6.3 táblázat CXC és CC kemokinekben leírt homológiák (h-h = humán–humán eredetű molekulákra számítva)

CXC kemokinek		Homológia h-h (%)
CXCL1 /CXCL5	GRO-1 /ENA-78	52
CXCL3 /CXCL2	GRO-3 /GRO-2	90
CXCL10/CXCL9	IP-10/MIG	36
CXCL11 /CXCL9	I-TAC/MIG	37
CXCL11 /CXCL10	I-TAC/IP-10	33
CXCL5 /CXCL7	ENA-78/NAP-2	53
CXCL5 /CXCL1	ENA-78/GRO-1	52
CXCL6 /CXCL5	GCP-2/ENA-78	79
Átlag: 54.00 ± SD 20.64		

CC kemokinek		Homológia h-h (%)
CCL2/CCL8	MCP-1/MCP-2	69
CCL2/CCL7	MCP-1/MCP3	74
CCL7/CCL8	MCP-3/MCP-2	58
CCL7/CCL11	MCP-3/Eotaxin	66
CCL11/CCL18	Eotaxin/MCP-4	75
CCL11/CCL7	Eotaxin/MCP-3	70
CCL13/CCL2	MCP-4/MCP-1	65
CCL14/CCL3	HCC-1/MIP-1a	47
CCL15/CCL23	MIP-5/MIP-3	73
CCL15/CCL6	MIP-5/C10	45
CCL15/CCL14	MIP-5/HCC-1	30
CCL17/CCL5	TARC/RANTES	31
CCL17/CCL3	TARC/MIP-1a	27
CCL17/CCL4	TARC/MIP-1b	26
CCL18/CCL3	MIP-4/MIP-1a	63
CCL23/CCL3	MIP-3/MIP-1a	51
CCL24/CCL7	Eotaxin2/MCP-3	40
CCL24/CCL11	Eotaxin2/Eotaxin	29
Átlag: 52.16 ± SD 18.08		

Ezt a szerkezeti rokonságot támasztják alá azok az adatok, melyek szerint az összes kemokin egy 3 exonból és 2 intronból álló alap gén-komplexből vezethető le, s a két nagyobb alcsoport (CXC és CC) kialakulásának hátterében egyszerű duplikációs mechanizmusok állhatnak. Emberben a kemokinek 65%-a **négy kromoszómán (4, 9, 16, 17)** elhelyezkedő clusterben kódolt, míg a többi eddig megismert kemokin gén egyéb kromoszómák (1, 2, 5, 7, 10) lókuszaiban helyezkedik el. Az egy-egy csoportba sorolt kemokinek génjei igen közel helyezkednek el, így a CXC csoport 4 exon-3 intronos szerkezetei mind a 4-es kromoszómán, a CC csoport 3 exon-2 intronos gén-komplexei mind a 17-es kromoszómán találhatóak, 20-50%, illetve 28-45%-os homológiát mutatva (6.4 ábra). (A C kemokin génje az emberi 1-es kromoszómán, a CX3C kemokineké a 16-os kromoszómán található).



6.4 ábra Kemokinek génjeinek kromoszómális elhelyezkedése és homológiájuk foka

A kemokin gének alaposabb vizsgálata mutatja, hogy azok ú.n. cluster-ekbe és mini-cluster-ekbe rendeződnek. A cluster-ek génduplikációk során kialakult géncsoportok, melyek hasonló funkciókat ellátó, inflammatorikus kemokinek kódolnak (pl. MCP-k és MIP-ek). Keresztreakcióik magas fokú, ám ez csak egyazon fajon belül érvényesül, fajok közötti homológ hatásaik már nem kifejezetten jellemzők. A mini-cluster-ekben kódolt kemokinek a homeostatikus típusú csoportba tartoznak és rendszerint ugyanazon a receptoron keresztül fejtik ki hatásaikat, döntően a szervezet fiziológiás válaszkészségének modulálását végző, filogenetikusan jól megőrzött szerkezetű kemokinek.

6.4 táblázat Kemokinek kódoló gének emberben

CXC kemokinek			CC kemokinek		
	Gén	Gén		Gén	Gén
CXCL1	GRO-1	4q21.1	CCL1	I-309	17q11.2
CXCL2	GRO-2	4q21.1	CCL2	MCP-1	17q11.2
CXCL3	GRO-3	4q21.1	CCL3	MIP-1a	17q12
CXCL4	PF4	4q21.1	CCL4	MIP-1b	17q12
CXCL5	ENA-78	4q21.1	CCL5	RANTES	17q12
CXCL6	GCP-2	4q21.1	CCL7	MCP-3	17q11.2
CXCL7	NAP-2	4q21.1	CCL8	MCP-2	17q11.2

CXCL8	IL-8	4q21.1	CCL11	Eotaxin	17q11.2
CXCL9	MIG	4q21.1	CCL13	MCP-4	17q11.2
CXCL10	IP-10	4q21.1	CCL14	HCC-1	17q12
CXCL11	I-TAC	4q21.1	CCL15	MIP-5	17q12
CXCL12	SDF-1	10q11.21	CCL16	HCC-4	17q12
CXCL13	BCA-1	4q21.1	CCL17	TARC	16q13
CXCL14	BRAK	5q31.1	CCL18	MIP-4	17q12
CXCL16	SP-PSOX	17p13	CCL19	MIP-3b	9p13.3
C kemokinek		Gén	CCL20	MIP-3a	2q36.3
CL1	Limfotaktin	1q24.2	CCL21	SLC	9p13.3
CL2	SCM-1b	1q24.2	CCL22	MDC	16q13
CX3C kemokin		Gén	CCL23	MIP-3	17q12
CX ₃ CL1	Fraktalkin	16q13	CCL24	Eotaxin-2	7q11.23
			CCL25	TECK	19p13.3
			CCL26	Eotaxin-3	7q11.23
			CCL27	CTACK	9p13.3
			CCL28	MEC	5p12

A két nagy kemokin-család szintézisének transzkripciós szintű szabályozásában is mutatkoznak némi eltérések. A CXC kemokinek fő képviselőjének tekinthető IL-8 esetében az NF-kappa B, NF-IL-6 és az AP-1 általános transzkripciós faktorokról sikerült eddig kimutatni, hogy e kemokin mRNS-ének transzkripcióját is szabályozzák. Hatásuk azonban gyakran függ a termelő sejt szöveti hovatartozásától és az indukáló ágenstől is, pl. vírus (RSV) indukálta IL-8 termelés esetén csupán az NF-kappa B hatása mérhető, ám az igen gyorsan kialakul és kb. 70 percig fennáll. Más vizsgálatok TNF-alfa, illetve IL-1 szerepét bizonyították GRO peptidek NF-kappa B-n keresztül megvalósuló transzkripciós szabályozásában. A CC kemokinek esetében hasonló szabályozók mellett AP-2-t is leírták (pl. MCP-1), bár a promoter kötőhelyeket még nem identifikálták mindegyik esetében.

6.3 Termelőzés

Kemokinek termelése a szervezet számos sejtjében folyik, egyesek közülük, mint pl. a makrofág-monocita vagy az endotél sejtek egyaránt képesek CXC és CC kemokinek szintézisére is. Az immunrendszerhez tartozó, szinte minden sejt képes valamely kemokin szintézisére, így monociták, alveoláris makrofágok, neutrofil és eozinofil granulociták, hízósejtek, trombociták, T

limfociták és az NK sejtek is a kemokinek viszonylag széles skáláját termelik. Keratinociták, mezangiális sejtek, endimális, endoteliális és mezoteliális sejtek, valamint májsejtek, fibroblasztok és simaizomsejtek esetében is leírták egyes kemokinek felszabadulását. A szintézis terén megmutatkozó magas fokú redundancia ellenére – pl. IL-8 termelésére a szervezet majdnem minden eddig vizsgált sejtje képesnek bizonyult –, az egyes alcsoportok jellemző termelő sejtjeit a 6.3 táblázat foglalja össze.

6.5 táblázat Az egyes kemokinek termelésében kiemelt jelentőséggel bíró szervek – szövetek, illetve sejtcsoporthoz

Kemokin alosztály	Hivatalos név	Hagyományos név	Termelő szerv/ szövet	Termelő sejt
CXC	CXCL1	GRO1	légzőszervek	makrofág, neutrofil grc., epitél, melanoma
	CXCL2	GRO2		monocita, makrofág
	CXCL3	GRO3		epitél
	CXCL4	PF-4		platelet
	CXCL5	ENA-78		eozinofil grc.
	CXCL6	GCP-2		fibroblaszt epitél
	CXCL7	NAP-2		platelet
	CXCL8	IL-8		makrofág, epitél, endotél
	CXCL9	MIG		T limfocita
	CXCL10	IP-10		monocita, endotél, fibroblaszt
	CXCL11	I-TAC	hasnyálmirigy, máj, tímusz, lép, tüdő	leukocita, asztrocita, keratinocita
	CXCL12	SDF-1	máj, hasnyálmirigy, lép, szív	csontvelői stroma sejtek
	CXCL13	BCA-1	máj, lép, nyirokcsomók, bél	T limfocita
	CXCL14	BRACK	számos szerv	fibroblaszt
	CXCL15	Tüdőkine	húgyivarszervek/ gyomor- bélrendszer, mellékvese	epitél
	CXCL16	SR-PSOX	nyirokszervek T- sejtes zónái lép vörös pulpája	dendritikus sejt
	CXCL17	VCC1	tüdő,	

vázizom mellékhere			
CC	CCL1	I-309	T limfocita
	CCL2	MCP-1	monocita, makrofág, dendritikus sejt, oszteoblaszt, oszteoklaszt, gliasejt
	CCL3	MIP-1 alfa	monocita, makrofág, dendritikus sejt, T és B limfocita
	CCL4	MIP-1 béta	monocita, makrofág, dendritikus sejt, T és B limfocita
	CCL5	RANTES	T limfocita
	CCL6	C10	neutrofil grc., makrofág
	CCL7	MCP-3	daganatok makrofág
	CCL8	MCP-2	B limfocita
	CCL9	MIP-1 alfa	Peyer plakkok
	CCL10	már nincs használatban	-
	CCL11	Eotaxin-1	monocita, makrofág, dendritikus sejt, T limfocita
	CCL12	MCP-5	nyirokcsomók tímusz
	CCL13	MCP-4	gyomor, vékonybél, vastagbél légcső, tüdő, tímusz, nyirokcsomók
	CCL14	HCC-1	lép, szív, csontvelő, máj, izom, bél
	CCL15	MIP-5	máj, vékonybél, vastagbél, tüdő
	CCL16	LEC	máj, tímusz, lép
	CCL17	TARC	tímusz, vér mononukleáris sejtjei
	CCL18	MIP-4	tüdő, nyirokcsomók, placenta,

			csontvelő	
	CCL19	ELC	tímusz, nyirokcsomó, légcső, vastagbél	
	CCL20	LARC	nyirokcsomó, máj, féregnyúlvány, embr. tüdő	keringő vér limfocita
	CCL21	SLC	nyirokcsomó, Peyer plakkok, lép	endotél, T limfocita
	CCL22	MDC	tüdő, lép	makrofág, dendritikus sejt
	CCL23	MIP-3	tüdő, máj, csontvelő, placenta	mieloid sejtek
	CCL24	Eotaxin-2		monocita, T limfocita
	CCL25	TECK	tímusz, vékonybél	tímusz eredetű dendritikus sejtek
	CCL26	Eotaxin-3	szív, tüdő, petefészek,	köldökvéna endotél
	CCL27	CTACK	gonádok, tímusz, placenta, bőr	granulocita dendritikus sejt
	CCL28	MEC	vastagbél, végbél, nyálmirigyek, emlőmirigyek, légcső, prosztata, lép, pajzsmirigy	epitél
C (vagy XC)	CL1	Limfotaktin alfa	lép, bél, tímusz, vér leukociták	CD8+ T limfocita
	CL2	Limfotaktin béta		T limfocita
CX ₃ C	CX ₃ CL	Fraktalkin	vékonybél, vastagbél, here, prosztata, szív, agy, tüdő, vázizom, vese, hasnyálmirigy	mikroglia neuron

A fenti táblázat a kemokineket termelő szervek és sejttípusok széles skáláját mutatja, jelezve ezzel, hogy a kemokinek alkotta hálózat az egész szervezet

működése szempontjából mennyire alapvető funkciók ellátását segíti elő. Azonban bármennyire is sok szerv és sejttípus szerepel mint a kemokinek forrása a szervezetben, a 6.4 táblázatban összefoglalt néhány sejt különösen fontosnak bizonyul a kemokinek termelése szempontjából. A táblázatot tanulmányozva jól látható, hogy egyes sejtek (endotél, monocita) több kemokin alosztály termelésére is képesek. Ugyanakkor az is szembetűnő, hogy a CXC és a CX3C kemokinek esetében viszonylag kevés olyan sejtet találunk, melyek a szervezet egésze szempontjából e kemokinek szintézisét végzik, szemben a CC kemokinek csoportjával, melyeket eltérő szöveti hovatartozású sejtek, gyakran tumorok (pl. melanómák) is kibocsátanak.

6.6 táblázat Egyes kemokin alosztályok termelésében kiemelt fontosságú sejtcsoportok az emberi szervezetben

CXC kemokinek	CC kemokinek	CX3C kemokinek
monocita	monocita	endotél
limfocita	fibroblaszt	microglia
endotél	epitél	
	endotél	
	símaizom	
	glioma	
	melanoma	

A sejt aktivációját követően a kemokinek mennyisége igen gyorsan növekszik. Ezt a kemokin–polipeptidek szintéziséért felelős mRNS–ek mennyiségének ugrásszerű emelkedése is jelzi, mely érték egyes esetekben a sejt teljes RNS mennyiségének 1%–át is elérheti. Ellentétben azonban sok extracellulárisan ható endokrin szignálmolekulával – az egy RANTES kivételével –, a fentiekben felsorolt sejtekre nem jellemző a kemokineknek a szintézist követő, átmeneti tárolása. Maga a szintetizált peptid a szekréciót követően gyakran még inaktív és N–terminális proteolízisét követően válik csak biológiailag is hatásos kemokinné. E mechanizmus lehetőséget ad az aktivitás lokális szabályozására is, jó példa erre a vérlemezke bázikus protein (PBP), melyet monocita eredetű proteázok alakítanak át a neutrofilekre ható NAP–2–vé.

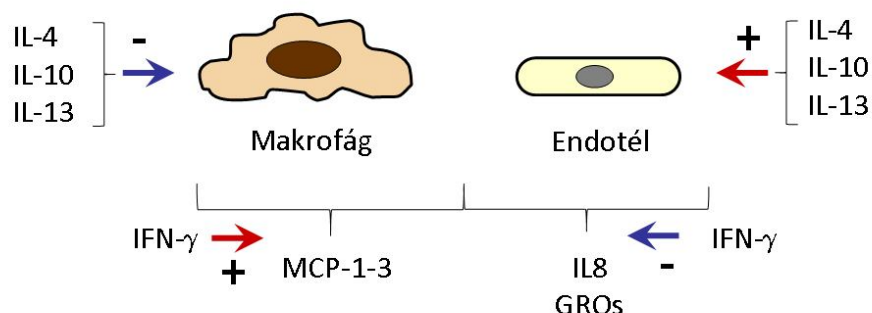
A szekréció indukálásában a CXC és CC kemokin-családok esetében egyező és eltérő vonások is felfedezhetők. Míg az ú.n. proinflammatorikus citokinek – IL-1, IL-2, TNF-alfa –, valamint interferon és leukotrién B4 általános induktoroknak tűnnek, az IL-4, IL-10, GM-CSF, PDGF és egyes növényi mitogének szelektív CC kemokin (MCP) induktorok. Ezen túl, a termelés, illetve szekréció klinikai szempontból fontos, általános induktorainak számítanak egyes bakteriális (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*) eredetű anyagok pl. endotoxinok és egyes vírusok (pl. RSV) is. A kemokin termelés leállításában is citokinek (IL-4, IL-10, IL-13), a transzformációs növekedési faktor (TGF-béta), valamint egyes glukokortikoszteroidok játszanak szerepet, természetesen más-más kemokin felszabadulását eredményezve.

A kemokinek szintézisét követő **poszttranszlációs módosítás** két legfontosabb eleme a glikoziláció és a proteolitikus átalakítás. A proteolízis fő kivitelezői a mátrix metalloproteinázok (MMP), melyek a molekulák N-terminális részén hasítanak. Az átalakítás eredményeként változik a kemokin receptor-specifitása és más szignalizációs jellemzői is, de maga a receptor-affinitás nem módosul.

A fenti folyamatra jó példa az eredetileg 99 aminosavból felépülő IL-8. Az első proteolitikus lépés, az N-terminális szakasz szignál szekvenciájának eltávolítása, melyet egy célsejt specifikus módosítás követ. Ez utóbbi eltérő hosszúságú peptideket eredményez (endotél, fibroblaszt 1-77 AS szekvencia; monocita, neutrofil grc., limfocita 6-77 AS szekvencia). A peptid rövidítés eredménye a biológiai hatással is szoros kapcsolatban van, az első 1-8 szekvencia eltávolítása hatásfokozó, míg az 1-10 szekvencia hiánya már antagonistá hatást okoz. E kemokin esetében a módosítást leggyakrabban előidéző enzimek a MMP-1, MMP-9, plazmin és a thrombin.

A kemokinek **szekréciójának szabályozása** eltérő – néha ellentétes – eredményekkel jár a különböző termelő sejtek esetében. Mint a 6.5 ábra is mutatja az IL-4, IL-10 és IL-13 a CXC kemokinek (IL-8 és GRO-k) szintézisét és felszabadulását is elősegíti endotél sejtekben, míg ugyanezek a szabályozó molekulák makrofágban gátlóan hatnak a CC kemokinek (MCP-

1–3) termelésére. A gamma interferon szintén reciprok módon hat ezeken a sejteken/kemokineken, de itt a makrofág serkentését és az endotél gátlását tapasztalhatjuk.



6.5 ábra Kemokin szintézis és felszabadulás reciprok szabályozása makrofág és endotél sejtekben.

6.4 Célsejtek

A szakirodalmi adatok bizonyítják, hogy már az egysejtű Tetrahymena is termel kemokineket és a környezetében lévő CC és CXC típusú kemokinek egyaránt képesek migrációjának indukálására. Mint a 6.7 táblázatból látható, az emlősök/ember szintjén nem csupán a kemokinek termelése, hanem azok célsejt specifikitása terén is magas fokú a redundancia.

6.7 táblázat Kemokinek célsejtspecifikitása emberben

Kemokin alosztály	Hivatalos név	Hagyományos név	Célsejt
CXC	CXCL1	GRO1	neutrofil grc. endotél
	CXCL2	GRO2	neutrofil grc., hematopoetikus őssejt
	CXCL3	GRO3	monocita
	CXCL4	PF-4	monocita, neutrofil grc., monocita
	CXCL5	ENA-78	neutrofil grc.
	CXCL6	GCP-2	neutrofil grc.
	CXCL7	NAP-2	neutrofil grc.
	CXCL8	IL-8	neutrofil grc., endotél, makrofág, hízósejt, keratinocita
	CXCL9	MIG	monocita, T és NK limfocita
	CXCL10	IP-10	monocita, makrofág, T és NK limfocita, dendritikus sejt, endotél

CC	CXCL11	I-TAC	T és NK limfocita
	CXCL12	SDF-1	T limfocita, hematopoetikus őssejt
	CXCL13	BCA-1	B limfocita
	CXCL14	BRAK	monocita, NK limfocita, dendritikus sejt, endotél (-)
	CXCL15	Lungkine	neutrofil grc.
	CXCL16	SR-PSOX	T és NK limfocita
	CXCL17	VCC1	monocita, dendritikus sejt
	CCL1	I-309	monocita, NK és B limfocita, dendritikus sejt
	CCL2	MCP-1	monocita, T limfocita, hízósejt, bazofil grc., őssejts
	CCL3	MIP-1 $\square$	monocita, T, B, és NK limfocita, hízósejt, bazofil grc., dendritikus sejt, őssejt
	CCL4	MIP-1 $\square$	monocita, T és NK limfocita, őssejt
	CCL5	RANTES	monocita, T és NK limfocita, eozinofil grc., dendritikus sejt
	CCL6	C10	<i>mieloid sejtek (csak egérben leírt kemokin!!!)</i>
	CCL7	MCP-3	monocita, T limfocita, hízósejt, eozinofil grc., dendritikus sejt
	CCL8	MCP-2	monocita, T és NK limfocita, hízósejt, bazofil grc. eozinofil grc.
	CCL9	MIP-1 $\square$	dendritikus sejt oszteoklaszt
	CCL10	már nincs használatban	-
	CCL11	Eotaxin-1	eozinofil grc.
	CCL12	MCP-5	monocita, limfocita, eozinofil grc.
	CCL13	MCP-4	monocita, T limfocita, bazofil grc., eozinofil grc.
	CCL14	HCC-1	[monocita]
	CCL15	MIP-5	neutrofil grc., monocita, limfocita
	CCL16	LEC	monocita, limfocita
	CCL17	TARC	T limfocita

	CCL18	MIP-4	T limfocita
	CCL19	ELC	T és B limfocita, dendritikus sejt
	CCL20	LARC	limfocita, dendritikus sejt, neutrofil grc.
	CCL21	SLC	T és B limfocita, dendritikus sejt
	CCL22	MDC	neutrofil grc
	CCL23	MIP-3	monocita, T limfocita, neutrofil grc.
	CCL24	Eotaxin-2	eozinofil grc., T limfocita, neutrofil grc.
	CCL25	TECK	timocita, makrofág, dendritikus sejt
	CCL26	Eotaxin-3	eozinofil és bazofil grc.
	CCL27	CTACK	T limfocita
	CCL28	MEC	T és B limfocita, eozinofil grc.
C (vagy XC)	CL1	Limfotaktin alfa	T limfocita
	CL2	Limfotaktin béta	T limfocita
CX ₃ C	CX ₃ CL	Fraktalkin	monocita, T és NK limfocita

A fenti összesítésből jól látható, hogy egyes kemokin alosztályok esetében bizonyos célsejtek kiemelt gyakorisággal fordulnak elő. Így a CXC kemokinek hatásának gyakori célpontjai a **neutrofil granulociták**, CC kemokinek pedig **monocita/makrofág**, illetve **dendritikus sejteken** hatnak. Az egyes limfocita alakoknál nem állapítható meg kemokin alosztály preferencia, lényegében mind a négy alosztály tagjai képesek a T és NK limfociták migrációjának indukciójára.

A fenti eltéréseknek több, az alábbiakban még tárgyalandó oka közül az egyik éppen e molekulák hatásainak sokfélesége lehet, hiszen a kemokinek nevük ellenére nem csupán magának a kemotaxisnak a kiváltására képes molekulák, de több, a sejtek célzott migrációjának alapját képező folyamat induktorai is (6.6 táblázat). Ilyen sejtelettani-kórtani szempontból egy tengelyre felfűzhető, kemokinek által kiváltott történés a sejtadhézió -reaktív O—gyökök felszabadulása - degranuláció - killing reakciósora, de szorosan ezekhez kapcsolható a citotoxicitás, angiogenezisre kifejtett hatások és számos biológiailag aktív molekula (pl. hisztamin, arachidonsav, kollagenáz) felszabadulása is.

6.8 táblázat CXC és CC kemokinek célsejtjei és hatásaik az egyes sejtekre

Kemokin	Célsejt	Kemotaxis indukálása melletti egyéb aktivitás
IL-8	neutrofil grc.	adhézió, O ⁻ felszab., degranuláció, killing, mitogenízis, hisztamin felszab. angiogenezis
GRO	neutrofil grc., endotél	adhézió, agniogenezis
IP-10	T-sejt, NK-sejt, endotél	adhézió, citotoxicitás, angiogenezis gátlása
PF-4	monocita, neutrofil grc., endotél	angiogenezis gátlása
MCP-1	monocita, T sejt, hízósejt, bazofil grc., őssejtek	adhézió, O ⁻ felszab., arachidonsav aktiválás,
MCP-2	monocita, T sejt, hízósejt, eozinofil grc.	hisztamin felszab.
MCP-3	monocita, T sejt, hízósejt, eozinofil grc.,	arachidonsav aktiválás, hisztamin felszab.
MIP-1	monocita, T és B sejt, NK sejt, hízósejt, bazofil grc.,	O ⁻ felszab., adhézió, kollagenáz felszab.,
MIP-1	monocita, T sejt, őssejtek	adhézió, MIP-1 alfa anti- proliferatív
RANTES	monocita, T sejt, NK sejt, eozinofil grc., bazofil grc.,	adhézió, kationos fehérje felszab.,

Az előzőekben felsorolt igen sokszínű kemokin hatásspektrum ellenére az alábbiakban a legjellemzőbb tulajdonság, a kemotaxis kiváltása szempontjából tárgyaljuk az egyes kemokinek és célsejtjeik viszonyát.

A fentiekben már említett **redundancia** – több kemokin hat ugyanazon a receptoron – és a **pleiotrópia** – ugyanazon a kemokin több receptorról is bír – együttes eredménye, a finom, volumenében és specifitásban is érzékeny szabályozás. Egy-egy kemokin számos célsejtre képes hatni, kialakítva ezáltal egy ma még csak részleteiben ismert „**termelő-sejt – kemokin – célsejt**” **hálózatot**, melynek plaszticitása adja az immunrendszer egyik fő jellemvonását, a dinamikus, szinte percek alatt áthangolódni képes jelleget. Fentiek ellenére megtalálhatók az egyes alcsoportokra kitüntetetten nagyobb arányban reagáló célsejtek.

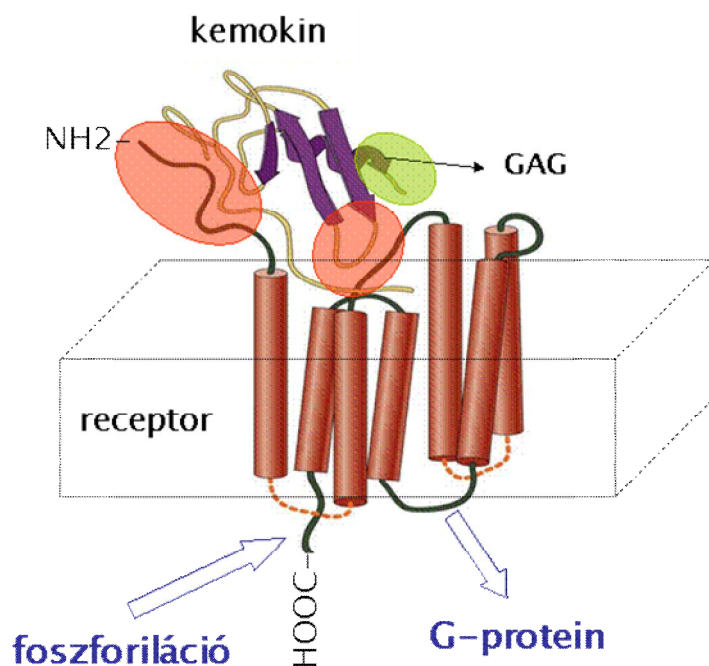
A CXC kemokinek esetében ilyenek a neutrofil granulociták, illetve egyes limfocita csoportok. E célsejt specifitás a kemokin szerkezete által jól meghatározott, s csupán azok a polipeptidek képesek a neutrofil granulociták migrációját kiváltani, melyeknél a kemokin amino-terminális ciszteinje előtt, egy glutaminsav-leucin-arginin (ELR) szekvencia található (pl. IL-8, GCP-2, GRO peptidek, ENA 78, NAP-2, LIX). Az ELR szekvenciát nem tartalmazó CXC kemokinek fő célsejtjei a T limfociták és az NK sejtek. Az ELR szekvencia beépítése az ezt nem tartalmazó kemokinekbe (PF4, IP10 vagy MCP-1) csak részleges sikerrel járt (ld. PF4), ezzel is jelezve, hogy a kemokinek egyéb szerkezeti sajátosságai is szerepet játszanak a célsejt-specifitás meghatározásában.

A CC kemokinek jellemzően monociták, eozinofilek, bazofilek és limfociták aktiválásában vesznek részt, bár egyes molekulák, pl. MIP-1alfa a proinflammatorikus sejtek zömére (neutrofilek, CD8+ szuppresszor és citotoxikus T sejtek, valamint B sejtek) is hat. E csoporton belül elkülönítünk egy jelentős (65%) szerkezeti homológiát mutató alcsoportot (MCP-k, MIP-ek és eotaxin), melynek tagjai monociták és eozinofilek indukálására is képesek. A CC kemokinek biológiai aktivitásáért, illetve célsejt-specifitására is az amino-terminális régió tűnik felelősnek. Az MCP-1 esetében egyetlen aminosav hozzáadásával a biológiai aktivitás kb. 1/100–1/1000-ére csökken, s egyetlen aminosav delécioja egy CC kemokin bazofil specifitását eozinofil típusúra változtathatja. A C kemokinek jellemző tagja a limfotaktin, mely, mint neve is mutatja szelektíven limfociták indukálására képes. Végül a legújabban felfedezett CX3C család tagjai (pl. fraktalkin) szerkezeti sajátosságaiknál fogva két úton is hathatnak. Egyrészt, mint membránhoz kötött molekulák az endotél felszínén T sejtek és monociták adhézióját segíthetik elő, mely folyamat indukálásában IL-8-nak is szerepe van. Maga a kemokin sejtfelszínen történő expresszáció jó lehetőséget nyújt arra, hogy – amennyiben e felszíneken a fraktalkin koncentráció gradiense épül ki –, a sejtmigráció egy korábbiakban már említett, speciális formája, a haptotaxis alakulhasson ki. A többi kemokinhez hasonlóan, szolubilis faktorként is hathat ez a kemokin, ekkor T sejtek, monociták és neutrofil granulociták migrációját is képes befolyásolni.

6.5 Kemokin receptorok – Szignáltranszdukció

A kemokin receptorok a törzsfa számos szintjén kimutathatók, molekuláris genetikai elemzésük kimutatta, hogy mind a kemokinek, mind receptoraik filogenezeise 8–8 egymástól független csoportot hozott létre, s a ma fellelhető variánsok ezek **ko-evolúciós fejlődésének** eredményei. E folyamatnak köszönhető az a ma megkülönböztethető mintegy 20 valódi, szignalizáló és a további 3 scavenger, nem szignalizáló kemokin receptor.

A kemokin-csoportok közötti jelentős szerkezeti eltérések, illetve a célsejtek sokfélesége miatt már a kemokin-kutatás kezdeti szakaszán sejtették, hogy az egyes kemokinek eltérő receptorokon át fejtik ki hatásukat a különböző szövetekben, sejtekben. E receptorok általános jellemzője, hogy a sejtmembránban elhelyezkedő, a 7 transzmembrán doménből álló, ún. **szerpentin receptorok** csoportjába tartoznak (6.6 ábra).



6.6 ábra kemokin receptor jellegzetes elhelyezkedése a membránban

Az extracellulárisan elhelyezkedő **amino-terminális lánc** a felelős a ligandkötés specifitásáért, mely kötés további stabilizálójá a **6. és 7. transzmembrán domént összekötő**, extracelluláris hurok. Mint azt a 6.6 ábra is mutatja a kemokin ligandumnak is kitüntetett molekuláris doménjei vesznek részt a receptorral kialakított kapcsolatban. Ebben a molekula N-terminális része, az N-hurok, valamint a 30s hurok játszik kitüntetett

szerepet.

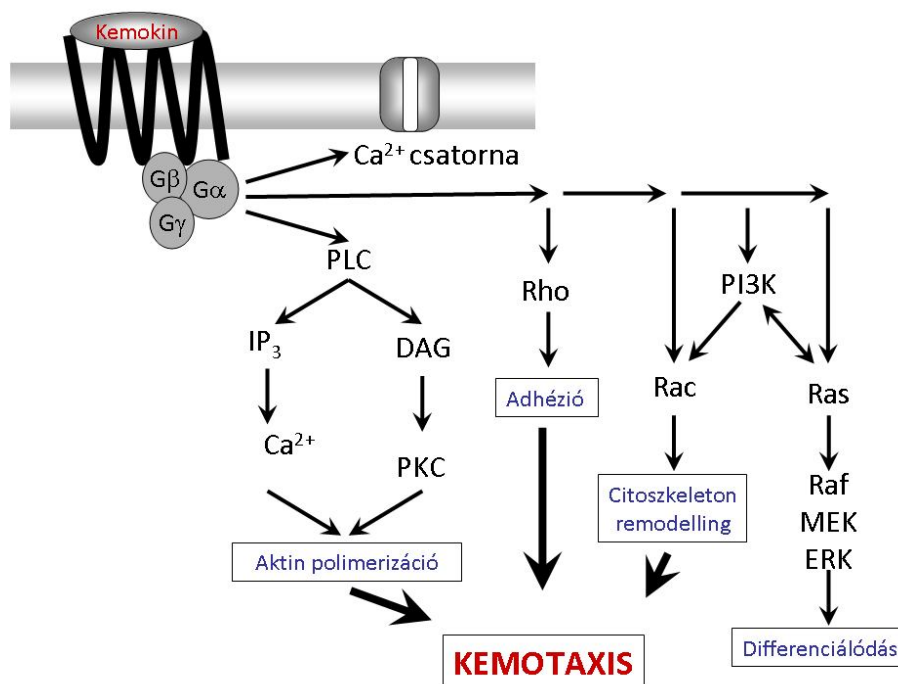
Mivel a kemokinek által mediált egyik legjellemzőbb folyamat a leukociták intravazális adhézioja majd az ezt követő extravazáció, már itt rá kell világítanunk az endotél – kemokin – leukocita kölcsönhatás egyik fő sajátosságára. Az endotél felszínének jellemző komponensei egyes **glükózaminoglikánok (GAG)** pl. heparán-szulfát proteoglikán. Ezek a kemokin molekulák karboxi-terminális részén elhelyezkedő, heparinkötő doménekkel alakítanak ki kapcsolatot, míg ugyanezen kemokin amino-terminális szakasza a leukocita kemokin receptorához kötődik, biztosítva ezzel a leukocita adhézio és aktiváció megfelelő felszínen való bekövetkezését. A GAG-ok egyben bizonyos kemokinek (CCL4, CXCL8, CXCL12) esetében a receptoraik közvetlen közelében történő dimerizációjuknak is elősegítői. (A GAG-ok jelenléte az egyes sejtek felszínén különösen fontos, mivel az endotél felszíneken viszonylag hosszú időn át fennmaradó koncentráció gradiens létrehozására képesek, s a kemokinek kötését követően alkalmasak az intravazális "kemokin- prezentációra", mely a leukocita haptotaxis és diapedezis igen fontos korai lépése.) A sejtek felszínén expresszálandó GAG-ok azonban nem csupán, mint a kemokinek receptorokhoz kihorgonyzását elősegítő faktorok szerepelnek, hanem sejtek egymáshoz kapcsolódását is elősegítik. Erre legjobb példa az endotél (GAG) és leukocita (kemokin) adhézio kapcsolatok kiépülése.

A kemokin szignalizáció GAG-okhoz kötött voltát terápiás célból is kiaknázzák ma már, így pl. heparint alkalmazva megnyújtható a GAG asszociált kemokinek sejt felszínhez kötésének ideje is, mely a kemokinek lebomlását is késlelteti. Egyes gyulladásos megbetegedésekben (asztma, gyulladásos bélbetegségek) ez a GAG-kemokin kölcsönhatás gyulladásgátló módon is hathat.

E sejt felszíni jelenségeket követően, a kemokin receptorok szignáltranszdukciója jellemzően **G-protein kapcsolt** folyamat, melyben a receptor intracelluláris oldalán az 5. és a 6. transzmembrán domént összekötő hurok, mint a G-protein alfa alegységhez kapcsoló rész szerepel, míg a molekula karboxi-terminális szakaszán foszforilációra alkalmas elemek találhatók. A receptor fenti felsorolt komponensei mellett a 2.

intracellularis hurok filogenetikusan jól **konzervált DRY (Asp-Arg-Tyr)** motívuma is elengedhetetlen a G-protein aktivációhoz. (Megjegyzendő, hogy a legújabb adatok alsóbb rendűeknél beszámolnak olyan cAMP-függő, G-protein mediált kemotaxis receptorról is, mely szignalizációja nem igényli a receptor foszforilációját.)

A kemokinek szignáltranszdukciója a receptorhoz való kötődésüket követően két fő úton haladhat, egyrészt tirozin kináz aktiválásán keresztül egy **ras/raf/MAP kináz útvonalon**, PKC-től függetlenül, másrészt **foszfolipáz C (PLC)/PKC/MAP kináz úton** is hathatnak. A vázolt szignalizációs folyamatok eredménye egyrészt a sejt citoskeleton aktinjának polimerizációja, mely elengedhetetlen előfeltétele a sejt elmozdulásának. E folyamat létrejöttében döntően két hatásnak van szerepe, az IP₃ indukálta intracelluláris Ca²⁺ koncentráció szint emelkedésének, valamint a DAG indukálta PKC aktiválódásának. E mellett, – mint 6.7 ábránk is mutatja –, a kemokin-receptor indukciójával olyan más, a mozgás kivitelezésében fontos folyamatok is aktiválódnak, mint a sejtadhézió, a citoskeletonális elemek átrendeződése, mely a folyamatos sejtmozgás alapfeltételét jelenti, valamint egyéb differenciálódási folyamatok.



6.7 ábra A kemokin receptor indukcióját követő intracelluláris szignalizációs utak

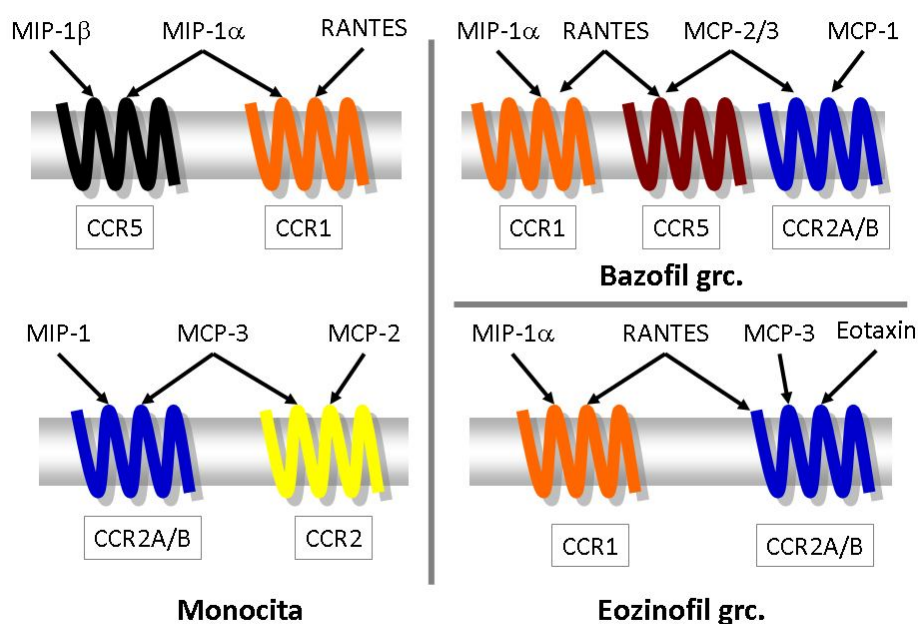
Bár fenti szignalizációs utakra mind a CXC, mind a CC család tagjainál találunk példát a receptorok szerkezete, illetve affinitásuk alapján két nagy csoportra bonthatók: a CXC alcsoport tagjait kötő 17, CXCR-rel és a CC kemokineket kötő 28, CCR-rel jelölt és számokkal is ellátott receptorra. Mint azt a 6.9 táblázat is mutatja mind a két nagy kemokin család esetében találhatók olyan tagok, melyek nem csupán egy receptoron keresztül képesek hatni.

6.9 táblázat Kemokin-receptorok ligand-specifitása és fellelési helyeik emberben

Típus	Receptor– Kemokin kapcsolat alosztályok szerint	Példák	Ligandok hagyományos neve
Specifikus (Homeostatikus)	CXCR–CXCL	CXCR4–CXCL12	SDF–1
		CXCR5–CXCL13	BCA–1
		CXCR6–CXCL16	SR–PSOX
	CCR–CCL	CCR6–CCL20	LARC
		CCR9–CCL25	TECK
	CX3CR–CX3CL	CX3CR1–CX3CL1	Fraktalkin
Megosztott (Imflammatorkus)	CXCR–CXCL	CXCR1– CXCL6, 8	GCP–2, IL–8
		CXCR2– CXCL1,2,3,5,6,7,8	GRO1,–2,–3, ENA–78, GCP–2 NAP–2, IL–8
		CXCR3–CXCL9–10–11	IP–10, I–TAC
	CCR–CCL	CCR1–CCL3, 4, 5, 7, 14, 15, 16, 23	MIP–1a, –1b, MCP–3, HCL–1, MIP–5, LEC, MIP–3
		CCR2 –CCL2, 7, 8, 12, 13	MCP–1, MCP–3, MCP– 2, MCP–5, MCP–4,
		CCR3– CCL5, 7, 11, 13, 15, 24, 26, 28	RANTES, MCP–3, Eotaxin–1, MCP–4, MIP–5,Eotaxin–2, Eotaxin–3,MEC
		CCR4– CCL2, 3, 5, 17, 22	MCP–1, MIP–1a, RANTES, TARC, MDC
		CCR5– CCL3, 4, 5, 8	MIP–1a, MIP–1b, RANTES, MCP–2
		CCR7– CCL19, 21	ELC, SLC
		CCR8– CCL1, 4, 17	I–309, MIP–1b, TARC
		CCR10– CCL27, 28	CTAK, MEC
	CR–CL	CR1–CL1, 2	Limfotaktin –a, –b
Virális		KSHV– CXCL1, 8, 10, 12	GRO1, IL–8, IP–10, SDF–1
		E1 – CCL11	Eotaxin–1
		UL12 – CCL2, 3, 4, 5	MCP–1, MIP–1a, 1b,

		RANTES
	US28 – CCL2, 3, 4, 5, 7	MCP-1, MIP-1a, 1b, RANTES, MCP-3
	ECRF3 – CCL1, 5, 7	Eotaxin-1, RANTES, MCP-3
Nem-szignalizáló	Duffy – CCL2, 5; CXCL1, 8	MCP-1, RANTES; GRO1, IL-8
	D6 – CCL2, 3, 5, 7, 17, 22	MCP-1, MIP-1a, RANTES, MCP-3, TARC, MDC
Forrás: Balkwill, F. Cancer and the chemokine network. Nature Reviews Cancer 4, 540-550 (2004)		

A CXC receptorok esetében ilyenek a CXCR1 és CXCR2, az IL-8 mindkét receptorhoz képes kötődni, de míg az R1-es típus csupán az IL-8-at köti nagy affinitással (2 nM), az R2-es receptor az IL-8 mellett a GRO1, ENA-78 és a NAP-2 hasonló affinitású kötésére is képes. A CC receptorok még bonyolultabb ligandkötési keresztreakcióit a 6.8 ábra szemlélteti.



6.8 ábra. CC receptorok ligandkötési keresztreakciói

Itt kell szólnunk a vörösvérsejtek felszínén található kemokin receptorokról, melyekről immunológiai és biokémiai vizsgálatok kiderítették, hogy megegyeznek a már az 1950-es években leírt *Duffy antigénnel*, melyet a *Plasmodium vivax* parazita is felhasznál a vörösvértestekbe történő inváziója

során. Noha szerkezetileg a Duffy antigén receptor (DARC és D6) is a 7 transzmembrán domént tartalmazó receptorok csoportjába tartozik, viszonylag alacsony homológiát mutat a már tárgyalt többi kemokin receptorral, s számos vizsgálat utal arra, hogy ebben az esetben pl. G-proteinek nem kapcsolódnak a receptorhoz, tehát egy speciális, "nem-szignálátadó", scavenger receptorról van szó. A DARC kemokin kötéseért felelős, extracellulárisan elhelyezkedő, amino-terminális része igen gazdag savas aminosavakban, melynek köszönhetően az igen alkalmas a bázikus karakterű kemokinek kötésére. Vélhetően ennek is köszönhető, hogy a DARC mind CXCL8 (IL-8, GRO1), mind a CC (MIP-1, RANTES) kötésére egyaránt képes. A lényegi különbség a receptor szignálátadó részében van, nevezetesen a DRY motívum hiányában, melynek következménye a szignáltranszdukciós folyamatok hiánya ebben az esetben. A DARC jelenlétét a vörösvértest mellett a szervezet számos szervének (vese, lép, tüdő, pancreas, thymusz, szív) posztkapilláris endotéljei felszínén is sikerült már kimutatni, s általánosan elfogadott, hogy a fentebb már említett "kemokin-prezentációban" lehet szerepe.

A CX₃C kemokinek fő képviselőjének a fraktalkin-nak vizsgálatai jelzik, hogy e molekula egy a klasszikus kemokin receptorokhoz hasonló és G-proteinhez kapcsolt képleten keresztül fejti ki a hatását, melyet azonban önálló receptornak tekintünk, erre utal a CX₃CR jelölés is.

Fontos tudnunk, hogy nem csupán a kemokinek, de receptoraik is képesek dimer vagy oligomerek képzésére – homo- vagy heteromer formákat alkotva. Ebben a receptorok 1. és 4. transzmembrán doménjei játszá a kulcsszerepet. A kialakult dimerek és oligomerek esetében mind a receptorok specificitása, mind a belőlük kinduló intracelluláris szignalizációs folyamatok eltérőek lehetnek. A kialakult receptor-komplexek esetében a domináló szignáltovábbító elemek a komplex méretétől függően változnak: monomer – PLC, PI3K; dimer – PKB, ERK, JAK; oligomer – arresztin-kötött internalizáció; és a sejtes válaszok ideje is megnyúlik: monomer – <15 mp; dimer 20–60 mp; oligomer >60 mps.

A fent említett klasszikus kemokin-receptorok mellett mind többet tudunk olyan vírusokról, melyek a kemokineket nagy affinitással kötni tudó

molekulák szintézisét kódolják. Ennek háttérében génkészletük egyes emlős génekkel való – egy korábbi fertőzés során bekövetkezett – feldúsulása állhat. E receptorok felfedezése az ú.n. „open reading frame” technikának köszönhető, mely során egy vírus genomjának megismerése után azt számítógépes analízissel vetik össze már ismert proteinek szekvenciáival. Ilyen vizsgálatok vezettek a 7 hidrofób szekvenciát tartalmazó, rhodopszin-szerű fehérjék fellelésére, melyek – bár szekvencia homológiájuk nem több 20–30%-nál –, mind fenti szerkezetüknél fogva, mind a jellegzetes savas amino terminális végük és G-proteinhez kötöttségük révén megfelelnek a kemokin receptorok szerkezeti és funkcionális követelményeinek. E virális kemokin receptorok közé tartozik a Cytomegalo vírus US28-a, melynek MIP-1alfa, RANTES és MCP-1 kötése felülmúlja a nem fertőzött sejtek kötési értékeit. A CXC ligandok kötésére képes ECRF3-at a Herpes vírus saimiri kódolja, s ez IL-8, GRO1 vagy NAP-2 kötésére képes.

6.6 A kemokinek fő funkciói

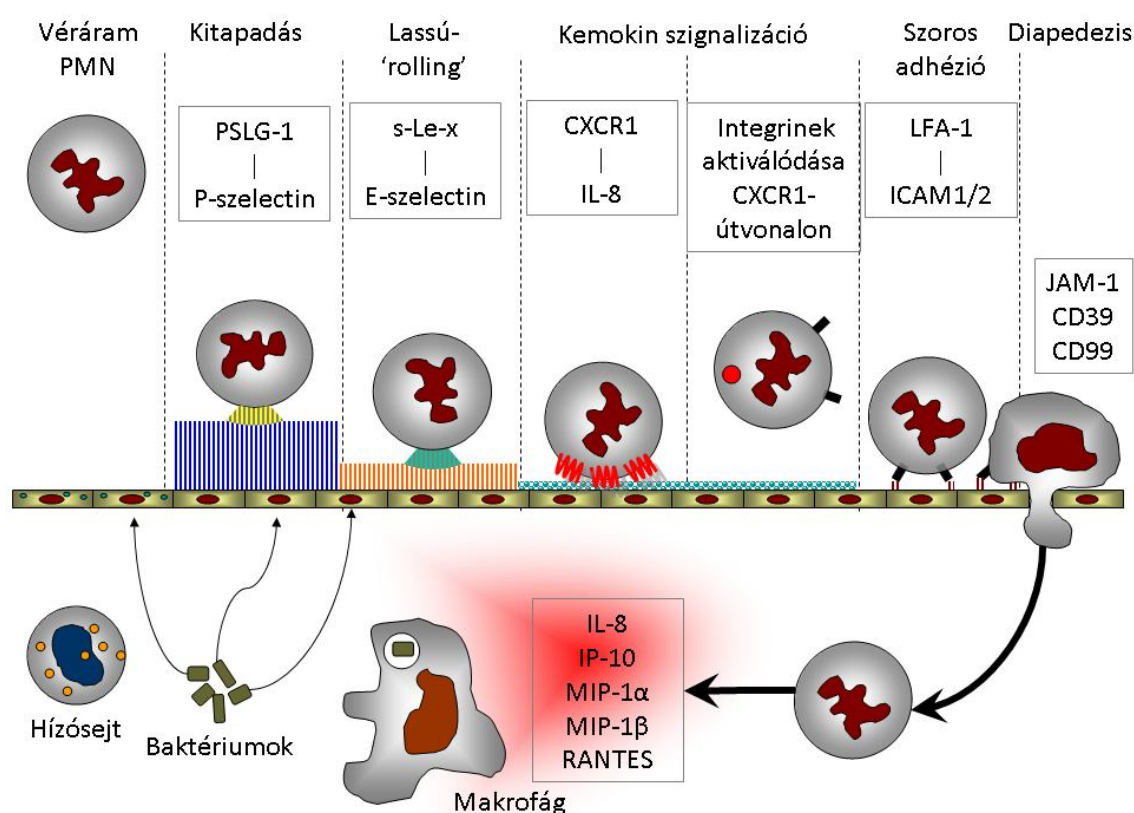
Mint látható, már az eddig megismert kemokinek is, mintegy hálózatot alkotva indirekt és direkt hatások lépcsőzetes és sok helyütt egymásba fonódó láncolatán keresztül fejtik ki hatásukat, s ezáltal jutnak az emberi szervezet számára fontos folyamatokban (pl. gyulladás) irányító szerephez. Látva a számos kemokin együtthatását, felmerül a kérdés vajon szükség van-e minden egyes kemokinre a kívánt hatások eléréséhez, mi indokolja a tapasztalható redundanciát? A válasz megadása nehéz, egyre több meggyőző adat áll azonban rendelkezésre olyan genetikailag knock out modellekről, melyek éppen egyes kemokinek termelődésére deficiens egyedeket eredményeznek. Ezek vizsgálata egyértelműen jelzi az adott kemokin esszenciális voltát. Feltételezi, hogy éppen maguknak a kemokinek által modulált folyamatoknak alapvető fontossága lehet a magyarázat e szabályozás összetettségére, melyet jól tükröz a kemokinhatások szövet-, illetve sejt-specifitása is. Az alábbiakban azokat a folyamatokat tekintjük át, melyekben a kemokineknek kiemelt szerepét bizonyították az elmúlt évek vizsgálatai. A folyamatok döntő többsége a kemotaxisához kötődik, illetve

annak leggyakoribb megnyilvánulási formájának a gyulladás valamely részfolyamatának induktora.

6.6.1 Lokális leukocita-szaporulat

A perifériás vérben található leukocita csoportok szervezeten belüli lokalizált felszaporodásának, a gyulladásnak kezdeti lépését

(i) az **ér belső felszínéhez való laza adhéziót** (kitapadás) a leukociták felszínén található P-szelectin glicoprotein ligand (PSLG-1), valamint az endothél felszín P- és E-szelektinjei mediálják (6.9 ábra).



6.9 ábra Leukocita érfalon történő transzmigrációjának főbb lépései és az azokat meghatározó molekuláris kölcsönhatások

(ii) A sejtek endothélhez történő laza rögzülését egy másik molekuláris kapcsolat, a **szialil-Lewis-x (s-Le-x) tetraszaccharid és E-szelektinek** kapcsolódása követi. A s-Le-x – többek között –, a gyulladás esetében migráló sejtek (granulociták, monocita, T helper limfocita) felszínén expresszálandó O-glikán, mely az endothél szelektinjeivel teremt kapcsolatot (E-szelektin), lehetővé téve ezzel a kezdeti kitapadást követő második fázis a

„rolling” kialakulását. Ennek folyamán, a viszonylag laza sejtes kapcsolat eredményeképpen a marginalizálódott sejtek görgő mozgást végeznek az endotél felszínén, mintegy keresve a következő fázis kialakításához szükséges molekuláris kapcsolatokat.

(iii) E kapcsolatok közül a legfontosabbnak az endotél felszínén **expresszáldó kemokinek** (pl. IL-8) tekinthetők, melyeket a transzmigrációt végző sejt membránjának megfelelő kemokin receptorai érzékelnek. E „kemokin szignalizáció”-nak is nevezett szakasznak azonban csak első lépése a kemokin–kemokin receptor kapcsolódás. Ennek kialakulása ugyanis két szempontból is fontos eredménnyel jár: egyrészt a sejtek közötti szorosabb membrán–membrán kapcsolat kialakulását teszi lehetővé, valamint a kemokin receptor indukciója révén a sejt felszínén új adhézios molekula típus, az integrinek (pl. Lymphocyte function-associated antigen 1 – LFA-1) jelenik meg.

(iv) A transzmigráló sejt integrinjei és az endotél felszínén megjelenő **ICAM-1 és ICAM-2** (valamint VCAM-1) adhézios molekulák kapcsolódása teszi teljessé a migráló sejt–endotél kapcsolatát, kialakítva az ú.n. „**firm adhesion**” (szoros adhézio) fázisát.

(v) Ebben a fázisban a migráló sejt már képes megkeresni/felismerni az érfalon való átlépés legalkalmasabb pontjait. Ezek lehetnek akár két szomszédos endotél sejt közötti mikroszkopikus rések, de az endotél elvékonyodó, ú.n. fenesztált citoplazma ablakait is felhasználhatja e célra a sejt. A legújabb vizsgálatok kemokinek szubendoteliális tér és az érlumen közötti ú.n. transzendoteliális gradiensét is feltételezik, mely szintén e fenesztált endotéleken történő sejtátjutást segítené elő. A „diapedesis” lényege az átlépő sejt és az endotél közötti molekuláris szintű kapcsolatok kialakulása, melyben a **JAM-1** (junctional adhesion molecule 1), **PECAM** (Platelet endothelial cell adhesion molecule), **CD39, CD99 és VE-kadherin** adhézios molekulák vesznek részt, a sejt állabát homofil molekuláris kapcsolatokkal irányító–kihorgonyzó módon.

A sejt mozgását az extravaszkuláris térbe jutva is számos kémiai jel vezérli. Ezek közül a kötőszöveti térben rendszerint már megjelent makrofágok által kibocsátott CXC és CC kemokinek dominálnak, de az egész folyamatot

beindító baktériumszaporulatból felszabaduló bakteriális peptidek (pl. fMLF) is célbajuttató szerepet töltenek be.

Az egyes kemokinek megadott sejtspecifitással vesznek részt a folyamat indukálásában, így neutrofilek esetében az IL-8, GRO; T sejteknél az IP-10, MIP-1 α és MIP-1 β és RANTES, monocitáknál az MCP-1; NK sejteknél MIP-1 α indukálja az adhézió egyes lépéseit. IL-8 és MIP-1 β esetében kimutatták, hogy a kemokinek nem csupán az integrinokkal való kötés kialakítását segítik elő, de az LFA-1 és az endotél ICAM-1-ja közötti kötés létrejöttéhez is szükségesek. Az endotél-felületen található GAG-ok (pl. heparán szulfát) – mint már említettük –, szintén fontos szerepet játszanak egyes kemokinek felszíni prezentálásában. Fentiek mellett az IL-8 és RANTES kötőhelyein tapasztalt átfedések arra utalnak, hogy a lumenális endotél felületének kemokin-specifitása egyes esetekben kismértékű.

6.6.2 Leukocita aktiválás

A kemokinek nem csupán a leukociták gyulladás helyén való összegyűjtésének és irányított migrációjának, kemotaxisának indukálásával fejtenek ki szabályozó hatást, de a leukociták aktiválásával számos effektor mechanizmust is indukálnak. Ilyen kemokinek az IL-8, MCP-1, MIP-1 α és a RANTES.

Az IL-8, a neutrofilek *mikroorganizmusokat elimináló* aktivitását fokozza azáltal, hogy a fagocitózis és a szuperoxid képzés elősegítője. A degranulációra egyes sejtek esetében eltérően hat, neutrofileknél annak induktora, de bazofileknél gátolja azt. Fentiek mellett az IL-8 a B sejtekre kifejtett IL-4 hatás antagonistája és az IL-4 által indukált IgE termelést is képes szelektíven gátolni. TNF- α -val együtt indirekt módon is képes a kemotaxis befolyásolására, mivel T sejtekre ható kemoattraktánsok felszabadulását idézi elő neutrofilekből. Egyes adatok a CXC alosztály tagjainak a kemokin-prezentációt autoreguláló tulajdonságát is bizonyították. Ezek szerint a kemokinek endogén heparináz aktivitásuk révén szabályozhatják a GAG-kötött molekulák koncentrációját az erek endoteliális felületein.

Az ontogenezis korai szakaszában történő sejtváándorlásban betöltött irányító szerepükre utal, hogy SDF-1 deficiens egerek perinatalis korban elpusztulnak, mivel hiányában zavart a haemopoietikus sejtek fetális májból csontvelőbe történő vándorlása.

Az SDF-1 mellett más kemokinek is hatással vannak a *haemopoiesis* folyamatára. A MIP-1alfa és a RANTES a T sejtek osztódását két úton is serkenti: egyrészt az antigént prezentáló sejtek B7 expressziójának fokozásával, másrészt az IL-2 termelés fokozása révén. Az NK sejtek és a CD8+ T sejtek citotoxikus hatását szintén fokozzák e kemokinek. Érdekes, hogy a hemopoetikus őssejtek proliferációjára a két MIP peptid antagonisztikusan hat, míg a MIP-1alfa stimuláló, a MIP-1béta gátló hatást fejt ki az IL-3-függő őssejtekre. Az MCP-1 hatását vizsgálva anti-MCP-1 antitestekkel történő, in vivo neutralizációs tesztek eredményei arra utalnak, hogy e kemokin jelenléte nem csupán fő kemotaktikus célsejtjeinek a mononukleáris fagocitáknak és a CD4+ T sejteknek a proliferációjához szükséges, de a CD8+ T sejtek, a B sejtek és neutrofilek osztódásának is induktora. Ezen kívül az MCP-1 olyan a gyulladásra jellemző egyéb folyamatok induktora, mint a bazofilekben a hisztamin felszabadulása vagy a monociták arachidonsav felszabadulása, valamint az O_2^- és H_2O_2 felszabadítás (respiratory burst).

A **kemokin-hálózat** komplexitását mutatja az is, hogy bizonyos kemokin-receptorok expressziója sejtaktivációs, illetve differenciálódási folyamatokhoz kötött. A CXCR3 receptorok a T1 helper limfocitákon, míg a CCR3 eozinofil és bazofil granulocitákon, valamint az allergiás immunválaszban szerepet játszó T2 típusú helper limfocitákon voltak kimutathatók. Így érthető, hogy a leukocitákon a kemokin receptorok átmeneti "up-regulációjával" a T1-es dominanciájú sejt, vagy az allergiás T2 típusú válaszok szelektíven erősödhetnek fel.

6.6.3 Angiogenezis

Az új erek kialakulása mind a fejlődő szervezet szöveteinek, illetve szerveinek képzése során, mind a sebgyógyulás és egyes krónikus gyulladások kísérő jelenségeként megfigyelhető. E folyamat döntően az

endothél sejtek migrációjának kemokinek által szabályozott indukcióját jelenti, s nem minden eleme ismert még. Tudjuk, hogy a CXC kemokinek csoportjába tartozó, s **ELR szekvenciát** tartalmazó IL-8 és GRO1 az angiogenezist elősegítő molekulák, míg az ELR szekvencia nélküli IP-10 és a PF-4 gátló hatásúak a folyamatra. Más adatok arra utalnak, hogy a gátló hatások kifejlődése egyes, az endothél felszínén található, heparán-szulfáthoz kötött növekedési faktorok (pl. BFGF, TGF-alfa) kemokinek általi leszorításával is kapcsolatba hozhatók. Fentiek jelzik, hogy feltehetően az angiogenezis szintjén is több kemokin hatásának egyensúlyi állapota határozza meg annak indukált vagy gátolt állapotát.

6.6.4 Biológiaiilag aktív anyagok felszabadulása

Bár a kemokinek termelődésüket tekintve maguk is auto- vagy parakrin természetű anyagok, számos egyéb anyag felszabadulását is befolyásolni képesek. A célsejtek sora ebből a szempontból is hosszú, kiemelkedő jelentőségűek a leukocita degranuláció termékei, hiszen ezek számos klinikai tünet kialakulásában is fontos szerepet játszanak (6.10 táblázat).

6.10 táblázat Kemokinek hatása biológiaiilag aktív anyagok szintézisére, illetve felszabadulására leukocitákban

Célsejt	Felszabaduló anyag
PMN	mieloperoxidáz elasztáz
Makrofág	„respiratory burst” enzimei
Eozinofil grc.	peroxidáz kationos fehérjék
Bazofil grc./Hízósejt	hisztamin

6.6.5 Egyéb kórélettani folyamatok

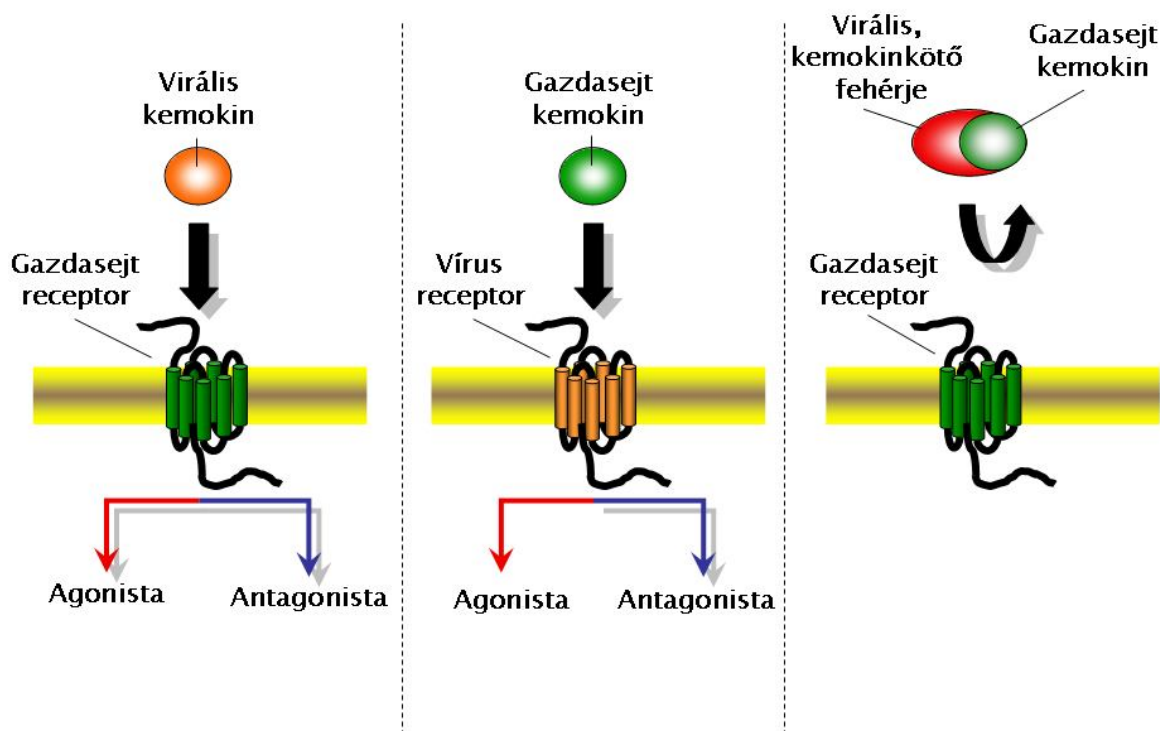
A kemokinek általi homeosztatis egyensúly megbomlása tekinthető felelősnek számos kórtani állapot kifejlődése során. A leggyakrabban a

kemokinek hiánya, vagy túltermelődése kíséri az allergiás reakciókat (fokozott eotaxin szintek); **daganatok áttétképzését** (a szövetek kemokin expressziója magában meghatározója lehet az áttét helyének, ezideig 13 kemokin receptort sikerült azonosítani, mint daganatok áttéteinek célbajuttatási faktorait); és átültetett szervek/szövetek kilökődését (egyes kemokin receptorokról – CCR1, CCR5 és CXCR3 – bizonyították, hogy akut vagy krónikus allograft rejekciókért felelősek a helyi leukocita-szaporulat előidézése, illetve a vaszkuláris rendszerre kifejtett közvetlen hatások révén).

6.6.6 Kemokin–mimikri

Az elmúlt években egy speciális jelenség, a „kemokin–mimikri” különböző módozatait írták le. A tüdőben az extracelluláris mátrix (ECM) egyik fő alkotóelemének, a kollagénnak bomlástermékéről, egy **rövid acetilált peptidfragmentumról (acPGP)** mutatták ki, hogy a CXCL8 – IL-8 kemoattraktáns funkcióját utánozza. E tripeptid fragmentumok a tüdő kötőszöveti terében található MMP enzimatis bontásának termékei, hatásukra a CXCR1 és CXCR2 pozitív neutrofil grc. sejtek azonos arányban akkumulálódnak, hasonlóan a monocitákból felszabaduló természetes ligandum (IL-8) kemoattraktáns hatásához.

A mimikri másik formája egy **vírus-függő** típus, melyre már több példa is van mind a ligandum, mind a receptor vonatkozásában (6.10 ábra).



6.10 ábra Virális kemokin-mimikri eddig leírt kemokin-receptor-függő variánsai.

E virális kemokin mimikri során a vírusok kemokin szerkezeti homológok termelésével (CXC és CC kemokinek) agonista és antagonistá hatások elérésére is képesek a gazdaszervezetben. E mellett kemokin receptor homológok képzésére is képesek, ezek a humán kemokin receptorral kb. 25–59%-ban átfedő receptorok számos kemokin kötésére képesek. A fenti két lehetőség mellett egy harmadikkal is élnek a vírusok, kemokint kötő proteinek szintézisét kódoló szekvenciáik révén olyan fehérjék expresszióját váltják ki, melyek a kemokinek heparinkötő régióival lépnek kölcsönhatásba és semlegesítik az adott kemokint.

A felsorolt lehetőségek közül talán a leggyakrabban említett forma a HIV vírus gp120-as glikoproteinje, mely a CXCR4 vagy a CCR5 kemokin receptorokkal lép kapcsolatba és elősegíti a vírus sejtbe történő bejutását (ld. részletesebben alább). Más vírusok a kemokinek és receptoraik széles skálájával rendelkeznek (6.11 táblázat), s ezeket veleszületett vagy szerzett immunválaszok elkerülésére tudják felhasználni.

6.11 táblázat Vírusok által indukált, klinikai jelentőséggel bíró kemokin–mimikrik

Vírus	Kemokin	Kemokin receptor
Respiratórikus szinciciális vírus (RSV)	CX3CL1	
Gamma herpesz vírus (GHV)	MIP-1, CCL7, CCL8	ORF74 (CXCR)
Citomegalovírus (CMV)	CXCL1, CXCL2 MCK-1 / -2	US-28 (CC, CX3CR)
Human immunodeficiencia vírus (HIV)		CXCR4 CCR5

6.7 Klinikum

A jegyzet következő, 7. fejezete a kórtani–klinikai kérdéseket tárgyalja ugyan, de úgy érezzük, hogy a kemokinek egyre nagyobb klinikai jelentősége miatt már itt említést érdemes tenni azokról a fontos mechanizmusokról melyek főszereplői e molekulák.

Mint az előzőekben tárgyaltakból is következik a kemokinek leukocita adhézióra kemotaxisra és fagocitózisra kifejtett közvetlen és közvetett hatásaik révén számos klinikai szempontból is fontos folyamat kulcsszereplői. Az általuk mediált, illetve indukált hatások eredménye azonban különböző lehet. Egyrészt a klasszikus gyulladásos megbetegedésekben a szervezet veleszületett immunitásának részeként, a patogén kórokozók elleni védelmet segítik elő. Más esetekben a fenti csoportba nem sorolható, sokszor krónikus lefolyású gyulladásos betegségekben a kemokinek a kóros állapot fenntartásának kulcsszereplői, ezáltal a szövetkárosodások, szervi elégtelenségek és a fokozott mortalitás oki tényezői.

Az alábbiakban e fő csoportosítási szempontok figyelembe vételével foglaljuk össze az egyes kemokin–csoportok klinikai jelentőségét humán beteganyagon tett megfigyelések, valamint állatkísérletes modelleken (pl.

nyúl, egér, patkány) nyert adatok alapján.

6.7.1 Patogén kórokozók elleni akut védekezés

A szervezetre mikroorganizmusok által kifejtett támadások kivédésében, klasszikus értelemben is nagy szerep jut az egyes leukocita sejtcsoportok (neutrofilek, mononukleáris fagociták) gyors és szelektív lokalizációjának. E folyamatban az előzőekben már vázolt kemotaktikus hatású szolúbilis és szolid-fázisú gradiensek kialakulása a sejtek migrációját irányító hatása révén alapvető, ebben számos kemokin kulcsfontosságú induktor, illetve mediátor.

Az egyes *pneumóniák* még ma is e megbetegedések klinikai szempontból leggyakoribb incidenciájú csoportját képezik. Míg a bakteriális eredetű (pl. *Klebsiella pneumoniae*) pneumóniák esetében a tüdő alveoláris makrofágjai által termelt GRO a neutrofilek akkumulációját idézi elő, a gombás (pl. *Cryptococcus neoformans*) eredetű betegségformában egy CC kemokin, az MCP-1 jelenléte a domináns, s mennyisége egyenes arányt mutat a szövetben található CD4⁺ és CD8⁺ T sejtek, valamint B sejtek és neutrofilek számával. Más bakteriális pneumóniák, valamint az akut respiratorikus distressz szindróma (ARDS) szintén masszív neutrofil granulocita beáramlással járnak, melynek hátterében az IL-8 emelkedett szintje áll, melyre a bronchoalveoláris mosófolyadék emelkedett IL-8 szintje is utal.

Az *intracellularis és extracellularis patogének* ellen irányuló sejtes immunválaszra, valamint a késői típusú (IV) hiperszenzitivitási reakciókra a T helper limfociták (TH1) jelenléte jellemző. *Yersinia enterocolitica* antigénnel indukált TH1-es dominanciájú válaszban specifikusan három CC kemokin, a MIP-1alfa, a MIP-1béta és a RANTES felszaporodását figyelték meg humán perifériás vér mononukleáris sejtjeiben.

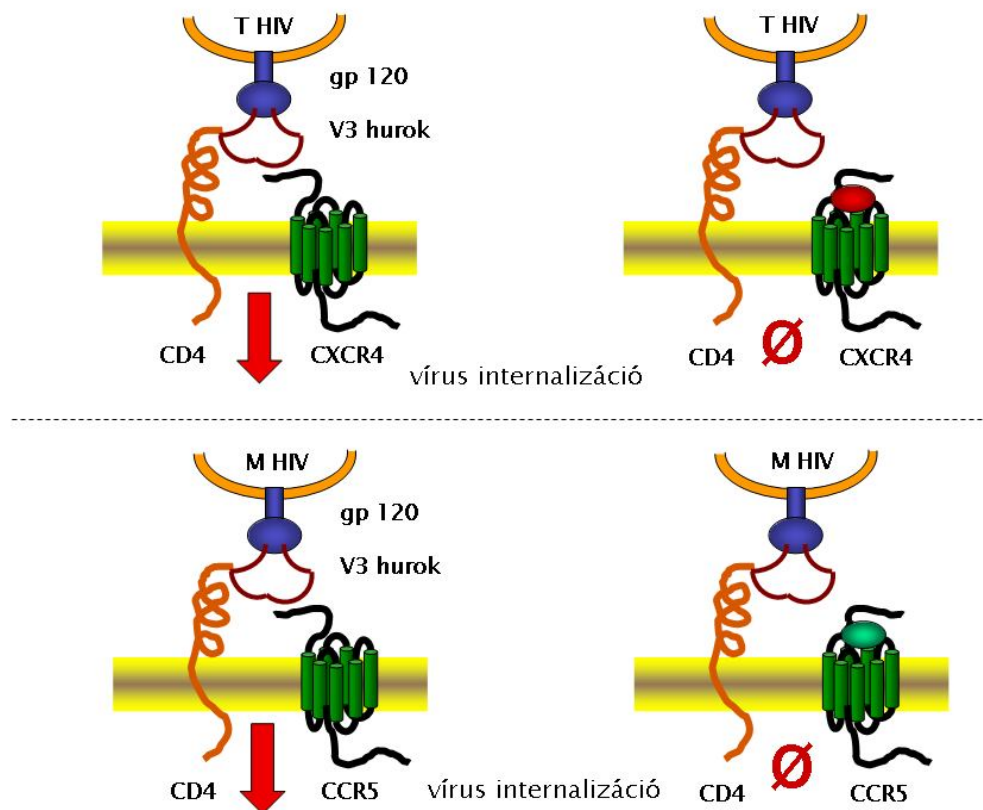
Az *agyi gyulladós folyamatokban* az endotél és mikroglia sejtjei által termelt CX₃C kemokin, a fraktalkin (neurotaktin) szintje emelkedik meg jelentősen. Itt T limfociták, monociták, valamint neutrofilek lokális akkumulációját váltja ki ez a kemokin. Fentiek mellett egyre több vírusos eredetű gyulladós megbetegedés leküzdésének hátterében fedezhetjük fel a kemokineket. Így vírusos meningitisben az agyhártyák limfocitás és

monocitás infiltrációjáért az IP-10 és az MCP-1 emelkedett likvor-szintjei lehetnek felelősek.

A betegség kórjóslata szempontjából értékes információt jelent az a vizsgálat, amely a septicus betegekben mért emelkedett IL-8 és MIP-1 alfa szérumszintek és a betegség későbbi kimenetele közötti kapcsolatot elemezi. Eredményei szerint a komplikációk, mint sokszervi elégtelenség, disszeminált intravaszkuláris koaguláció (DIC), központi idegrendszeri diszfunkció, veseelégtelenség esetén korreláció mutatható ki a kezdetben mért magasabb szérumszintek és betegségek magasabb halálozási aránya között. A másik vizsgált kemokin, a MIP-1 esetében e kapcsolat nem fedezhető fel, bár egészségesekben a vizsgált kemokinek egyike sem mutatható ki a szérumban.

Az eddig említettekben látható volt, hogy a kemokinek a szervezetet érő mikroorganizmusok által kialakított behatások (baktérium-, gomba-, vírus-fertőzések) elleni hatásos védelem fontos részét képezik. A közelmúltban tett megfigyelések jelzik, hogy egyes mikroorganizmusok, – az immunrendszert becsapva –, különösen a leukociták receptorait használják fel az általuk fertőzött sejtekbe való bejutásra. Ilyen a *Plasmodium vivax* is, mely a vörösvértesteken található DARC receptoron át jut be a vörösvértestekbe és hasonló mechanizmust figyeltek meg egyes vírusok esetében. Így az Epstein-Barr vírus a komplement receptor 3-hoz (CD21), egyes rhinovírusok az ICAM-1 adhéziós molekulához kötődve lépnek a sejtekbe.

Kiemelt klinikai jelentőségűnek tűnik az a felfedezés, mely szerint a humán immundefficiencia vírusa (HIV) is kemokin receptorhoz kötődve fertőzi egyes célsejtjeit. A T-sejt tropikus HIV-1 a T-sejtek CXCR4, a makrofágokban szaporodó HIV-1 pedig a makrofágok CCR5 receptorához kötődik (6.11 ábra). A folyamat első lépésében a vírus membrán gp120 protein V3 hurka alakít ki kapcsolatot a CD4 molekulával és a kemokin receptorral, majd a mélyebben elhelyezkedő virális gp41 protein és a célsejt membrán fúziója történik meg.



6.11 ábra Kemokin receptorok jelentősége a HIV T-sejtbe, illetve makrofágba történő internalizációjában

A CXCR4/CCR5 humán populációs polimorfizmusai magyarázatot adnak arra is, hogy egyes HIV-1 infekcióra magas rizikójú személyek miért nem fertőződnek meg. Mivel a CCR5 gén 32 bázispárnnyi deléciójára homozigóta egyének képtelenek működő CCR5 fehérjét szintetizálni, így a vírus számára nem található a sejtek felszínén behatolási kapu, s heterozigótákban is lassabb a HIV-1 fertőzés progressziója. A HIV kemokin receptor mediálta internalizációjának felfedezése, mintegy 15 évvel ezelőtt nagy reménnyel töltötte el a HIV elleni gyógyszerek kutatásán dolgozókat és a közvéleményt egyaránt. Rá kellett azonban döbbsen, hogy egy hosszú kísérleti út kezdetét jelenti csak a felfedezés, hiszen a receptorok a természetben előforduló ligandummal (pl. SDF-1) való tartós „fedése”, mint profilaktikus beavatkozás nem képzelhető el. Sokkal több eredmény volt várható attól, hogy egy megfelelő szintetikus készítmény kidolgozásával sikerül a már HIV fertőzésen átesett betegekben a vírus propagációját megállítani, s ezáltal a klinikai fázisok előrehaladtát megakadályozni. Ennek a kutatási vonalnak számos terméke közül ma talán

a legreménykeltőbbnek a Maraviroc (4,4-difluoro-N-{{(1S)-3-[3-(3-izopropil-5-metil-4H-1,2,4-triazol-4-il)-8-azabicyclo [3.2.1]okt-8-il]-1-fenilpropil}ciklohexánkarboxamid) tekinthető. Ez a CCR5-ön ható, retrovírus internalizációt gátló anyag ma már klinikai vizsgálatokban is hatásos, a vírus-terhelést (viral load) gátló anyagnak bizonyult. (Itt említjük meg a HIV-fertőzés szövődményeként is jelentkező Kaposi szarkómát, melynek Herpes 8 vírus fertőzéshez asszociált formájában a sejtproliferáció kialakulásában a kemokin receptorok is szerepet játszanak.)

6.7.2 Krónikus gyulladásos betegségek

E betegség-csoporton belül az **allergiás patomechanizmusúak** azok, melyek esetében eddig talán a legtöbb esetben írták le egyes kemokinek szerepét. Régóta ismert, hogy az allergiás légúti obstrukció hátterében a peribronchiálisan felszaporodó eozinofilek állnak. Az e sejtek lokalizációját kiváltó két fő kemokin induktor kóroki szerepére azonban csak az utóbbi évek azon vizsgálatairól irányították a figyelmet, melyek az ilyen betegségben szenvedők bronchusmosó folyadékának analizálásakor a MIP-1alfa és a RANTES emelkedett szintjét regisztrálták. Egyéb kutatások eredményei más kemokinek (pl. eotaxin, MCP-3) "háttér" hatását is valószínűsítik. Erre utal, hogy asztmások bronchusmosó folyadékában, légúti hámfájában és submucosa sejtjeiben egyaránt fokozott magának az eotaxinnak és mRNS-ének expressziója, az egészségesekéhez viszonyítva.

Egyéb allergiás megbetegedésekben, mint atopiás dermatitisben, allergiás rhinitisben az allergén provokációt követően az epitéliumban is megemelkedett az eotaxin és az MCP koncentrációja és hatásukra eozinofil granulociták és hízósejtek vándorolnak az érintett szövetekbe. Ezáltal a kemokinek molekuláris összekötő kapcsot képeznek az antigén specifikus immunaktiváció és az eozinofilek szövetbe vándorlása között. Megemlítendő, hogy az eotaxin és az MCP fenti aktivitásuk mellett adott esetekben fontos hisztamin felszabadító faktoroknak is tekinthetők, még antigén és IgE hiányában is.

A krónikus kórlefolyású betegségek között az autoimmun **reumatoid arthritisz**

szintén jó példa arra, ahol a betegség kialakulását kísérő mononukleáris és neutrofil sejtszaporulat induktoraik között a kemokinek széles skálája található. Ezek között főként az ízületi folyadékból izolálható molekulák között találunk mind CXC (IL-8, ENA-78, GRO1), mind CC (MCP-1, MIP-1 alfa, RANTES) csoportba tartozó kemokineket. Az e területen végzett állatkísérletek a humán terápiában is új utakat nyithatnak. Ilyenek a fenti kemokinek ellen képzett monoclonális antitestekkel történt kezelések, melyek hatására az állatokban a krónikus ízületi gyulladást fenntartó, keringő monociták ízületbe bevándorlása csökken, s így az artritisz incidenciája és súlyossága is javul.

A bélrendszer gyulladásos megbetegedéseinek – colitis ulcerosa, Crohn betegség – krónikus szakaszában makrofágok és limfociták, akut kiújuló szakaszaiban eozinofil és neutrofil granulociták hagyják el az érpályát a bél intesztinális mukózájába lépve. Az e betegségekben szenvedők bélszövetében számos kemokin (eotaxin, MCP-1, RANTES, MIP-1 alfa, IP-10) szintje emelkedett.

A kemokinek nem csupán a leukocita infiltrációt okozó hatásukkal játszhatnak fontos patofiziológiai szerepet egyes betegségekben. Akut, immunkomplex mediálta glomerulonefritisz állatmodellben anti-IL-8 antitestek alkalmazása 40%-kal is képes csökkenteni a neutrofil granulociták akkumulációját, s emellett teljesen kivédi a glomeruláris epitélisejtek állábképződését, az állábak fúzióját és ezek következményét a proteinuriát.

6.7.3 Egyéb betegségek

Fentiek mellett egyre több egyéb betegség esetében is leírják a kemokinek szerepét. **Miokardiális infarktus, mezenterialis iszkémia, perifériás érbetegségek, szervátültetés, keringési sokk** – mind olyan megbetegedések melyek során a fellépő iszkémiás szövetkárosodások, a reaktív oxigéngyökök és egyéb neutrofil granulocita mediátorok keletkezését követően jelennek meg a vizsgált molekulák. A neutrofilek akkumulációját ezesetben is az anoxia, vagy éppen hiperoxia hatására az endotélből és mononukleáris sejtekből felszabaduló IL-8 okozza. Más adatok arra utalnak, hogy az ateroszklerózis patogenezisében fontos szerepet játszanak, a plakkokat

infiltráló makrofágok és limfociták, melyek jelenlétéért az egészséges carotis arteriában ki nem mutatható MCP-1 is felelős. Aktív szarkoidozisos betegek bronchusmosó folyadékában talált IP-10 szintek az aktivált T-limfociták számával mutatnak korrelációt, míg psoriasisos plakkokban a neutrofilek infiltrációját eredményező IL-8 és GRO1, valamint aktivált T-limfocitákat vonzó IP-10 és MCP-1 magas szintjeit mérték. Ép bőrterületeken e molekulák nem mutathatók ki, és a betegség eredményes kezelését követően szintjük a plakkokban szintén csökken, így a jövőben az eredményesség egyik fokmérő indexe is lehet e kemokinek koncentrációjának változása. Transzplantációs komplikációk elemzéséből kitűnik, hogy az allograft rejekciók esetében mind a graftok sejtes elemei, mind az infiltráló limfociták számos, a mononukleáris sejtes beszűrődést kiváltó CC kemokint szecernálnak.

A kemokin-kutatás klinikai vonatkozásainak eddig említett eredményeit döntően a diagnosztika értékesítheti, megfelelő érzékenységgű kemokin, illetve kemokin-receptor kitek (BD, R&D, Roche) bevezetése révén. Napjainkban az IL-8 és a MCP-MIP kutatások terén felhalmozott tapasztalatok szemléltetik talán legjobban a fejlődés új irányát.

6.7.4 Kemokin-célpontú terápia

A gyakorlati alkalmazás másik igen érdekes s egyben új oldalát a kemokinek terápiás jelentőségének felismerése jelenti. E kérdés speciális vonzatait is figyelembe véve napjainkban egyre több megközelítési mód válik ismertté. Egyrészt a terápia célpontja lehet a leukociták vándorlásához szükséges koncentráció gradiens, melyet intravénásan bejuttatott "kemokin-felesleg" révén módosíthatunk vagy akár meg is szüntethetjük azt. Allergiás betegségekben és asztmában a domináló eozinofil granulociták specificitása miatt az e sejteket vonzó és aktiváló kemokinek (pl. eotaxin, illetve az azt termelő sejtek) a terápiás beavatkozások fontos célpontjai lehetnek.

Hatásosnak bizonyult olyan kemokin ellenes neutralizáló antitestek kifejlesztése is, melyek az adott kemokin megkötése révén csökkentik annak lokális szöveti koncentrációját s így a gyulladásos reakciók hátrányos

következményeit minimalizálják. A biotechnológia jelen fejlettségi szintjén mód van olyan genetikailag módosított kemokinek előállítására is, mely molekulák receptorkötő képessége ugyan megőrzött, ám funkcionális aktivitásuk – receptor indukáló képességük –, elveszett, s így nem váltják ki a molekulára jellemző biológiai hatást. Ilyen az a rekombináns MIP-1alfa protein, amelynek heparin-kötő doménje deletált, így kötődik ugyan a CCR1 receptorhoz, de a monociták migrációját nem befolyásolja.

Fentiek mellett egyes kemokin receptor antagonisták kifejlesztése szintén felhasználható lehet a terápiában. Kísérletek eredményei jelzik, hogy segítségükkel mód nyílhat a HIV-1 transzmisszió gátlására is, mivel a CCR5-receptorhoz kötődő ligandok (RANTES, MIP-1alfa és MIP-1béta) a makrofágok, a CXCR4-receptor SDF-1 ligandja pedig a T-sejtek fertőződését gátolhatják. Az e téren elért eredmények igen biztatók, s a kemokinekkal, illetve–, kemokin receptor antagonistákkal végzett kezelések gátolni képesek az autoimmun, allergiás és szeptikus folyamatokat, másrészt növelhetik is a szervezet infekciókra, tumorokra vagy vaccinákra adott válaszreakcióit.

Bár a tumor-biológiában játszott szerepük nem tisztázott, de tény, hogy egyes őssejt proliferációt gátló hatású kemokinek, pl. a MIP-1alfa, illetve a neovaszkularizációt, metasztázis képzést és tumornövekedést gátló PF-4 és IP-10 kemokinek szerepet kaphatnak a daganatok kemoterápiájában.

Meg kell jegyeznünk azonban, hogy bár a fentiekben összegzett kísérletes és klinikai tapasztalatok egyaránt biztatók, ma még csak viszonylag kevés az olyan a terápiás beavatkozás, amelyekben a kemokinek egyértelműen ajánlhatók. Ennek fő okát az esetlegesen fellépő infekciós szövődmények képezik. Nem feledkezhetünk el ugyanis e molekuláknak a szervezet védekező reakcióiban betöltött fontos és még ma sem minden szempontból jellemzett szerepéről, s arról, hogy az ajánlott kezelési módok nagy része a kemokin-cascade egy láncszemét semlegesíti, más, esetleg kontrtollálhatatlan mechanizmusok aktiválása mellett. Ilyen veszélyt jelent például a szervezet számos sejtjének felszínén jelen lévő CXCR4 receptorokon keresztül megvalósítani kívánt, az előzőekben említett terápiás út is, mely csak akkor járható, ha sikerül egyéb szelektivitást biztosító

tényezőket is a ligandum szintjén biztosítani. Még megoldandó problémát jelentenek azok a tapasztalatok is, melyek szerint a kezelések hatására az invazív patogének elleni immunválaszban a leukociták gyulladás helyére történő vándorlása és aktivációja is zavart szenved, s mint egy egér bakteriális pneumonia modellen végzett antikemokin-terápia eredményei is jelezték, a nem megfelelően célzott terápia ekkor a mortalitást akár növelheti is.



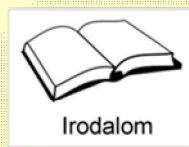
<http://www.youtube.com/watch?v=zIWvmCsKr34>

http://www.chemotaxis.usn.hu/CHTXhpg/Movie/HIVek/cell_entry/cell_entry.asf

<http://www.chemotaxis.usn.hu/CHTXhpg/Movie/HIVek/attachment/attachment.asf>

<http://www.chemotaxis.usn.hu/CHTXhpg/Movie/HIVek/co-receptor/co-eceptor.asf>

http://www.chemotaxis.usn.hu/CHTXhpg/Movie/HIVek/fusion_inhibition/fusion_inhibition.asf



1. Adams, D.H., Lloyd, A.R. Chemokines: leukocyte recruitment and activation cytokines. *Lancet* 349, 490–495 (1997).
2. Balkwill, F. Cancer and the chemokine network. *Nature Rev. Cancer* 4, 540–550 (2004).
3. Dunon, D., Piali, L., Imhof, B.A. To stick or not to stick: the new leukocyte homing paradigm. *Curr. Op. Cell Biol.* 8, 714–723 (1996).
4. Hébert, C.A., Lowman, H.B. Structure–function relationships of IL–8 and its two neutrophil receptors: IL–8–RA and IL–8–RB. In: Horuk, R. Chemoattractant ligands and their receptors. New York: CRC Press; p. 30–53 (1996)
5. Horuk, R., Pieper, S.C. The Duffy antigen receptor for chemokines. In: Horuk, R. Chemoattractant ligands and their receptors. New York: CRC Press; p. 125–144 (1996).
6. Hub, E., Middleton, J., Rot, A. Mechanism of chemokine–induced leukocyte adhesion and emigration. In: Horuk, R. Chemoattractant ligands and their receptors. New York: CRC Press; p. 301–325 (1996).
7. Luster, A.D. Chemokines – Chemotactic cytokines that mediate inflammation. *New Engl. J. Med.* 338, 436–445 (1998).
8. Mackay, C.R. Chemokines: What chemokine is that? *Curr. Biol.* 7, R384–R386 (1997).
9. Nelson, P.J., Segerer, S., Schlondorff, D. Chemokines in transplantation biology. In: The chemokine receptors. Humana Press, New Jersey, Eds. Harrison, J.K., Lukacs, N.W, p. 139–154 (2007).

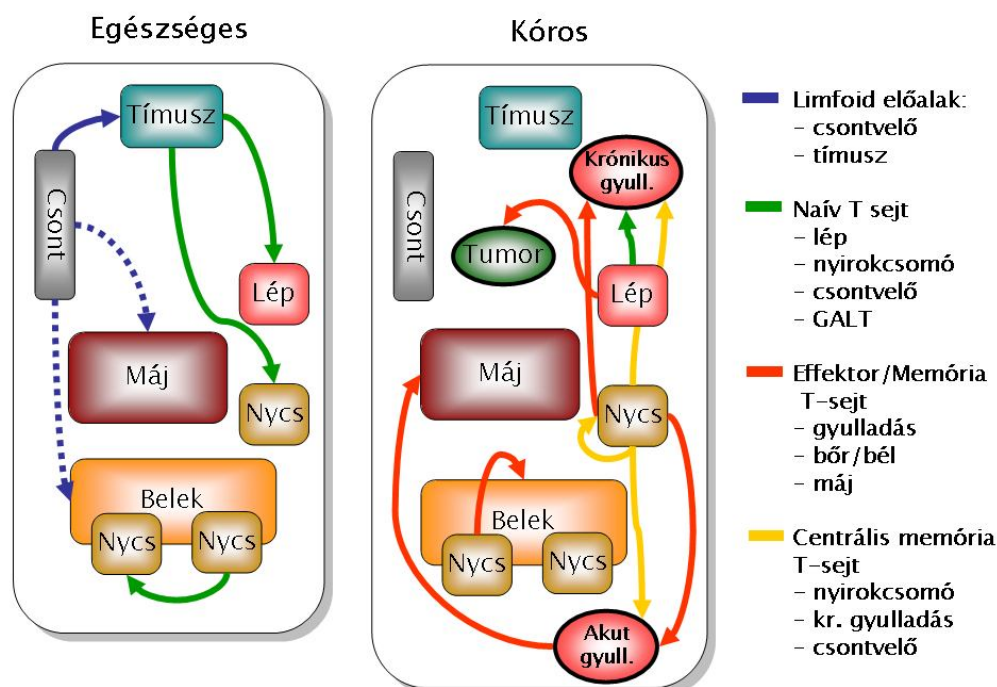
10. O'Garra, A., McEvoy, M., Zlotnik, A. T-cell subsets: Chemokine receptors guide the way. *Curr. Biol.* 8, R646–R649 (1998).
11. Pardigol, A., Forssmann, U., Zucht, H.D., Loetscher, P., Schulz-Knappe, P., Baggiolini, M., Forssmann, W.G., Mägert, H.J. HCC-2, a human chemokine: Gene structure, expression pattern, and biological activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 6308–6313 (1998).
12. Premack, B.A., Schall, T.J. Chemokine receptors: gateways to inflammation and infection. *Nature Med.* 2, 1174–1178 (1996).
13. Rot, A. Neutrophil attractant/activating protein-1 (interleukin-8) induces in vitro neutrophil migration by haptotactic mechanism. *Eur. J. Immunol.* 23, 303–306 (1993).
14. Schluger, N.W., Rom, W.N. Early responses to infection: chemokines as mediators of inflammation. *Curr. Opin. Immunol.* 9, 504–508 (1997).
15. Stoklosa, T. Chemokines the new family of inflammatory cytokines. *Centr. Eur. J. Immunol.* 22, 69–77 (1997).
16. Streiter, R.M., Standiford, T.J., Huffnagle, G.B., Colletti, L.M., Lukacs, N.W., Knukel, S.L. The good, the bad, and the ugly. The role of chemokines in models of human disease. *J. Immunol.* 156, 3583–3586 (1996).
17. Tripp, R.A. Chemokines and viral infection. Ed. Mahalingam, S.; Kluwer Academic, New York; p. 67–70 (2004).
18. Zlotnik, A., Yoshie, O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity* 12, 121–127 (2000).

7. Kórképek

Az előző fejezetben már – a kemokinek hatásaira fókuszálva –, áttekintettük a kemotaxis klinikai és kórtani szerepét. Fontosnak tűnik azonban a sejtek migrációja és a klinikum kérdésköréhez tartozó esetek többi típusának áttekintése is.

E problémakör esetében is a gyulladásos folyamatokhoz kapcsolódó migráció tekinthető talán a legjobb példának, a kemotaxis kórélettani jelentőségét illetően, bár maga e téma sok részre ágazó.

Ha a gyulladásban részt vevő sejtek szervezeten belüli migrációját tekintjük, igen különböző – sejtípustól és klinikai állapottól is nagyban függő – képet kapunk. Ennek egyik szemléletes példáját adja a T limfocita alcsoportok szervezeten belüli migrációs útvonalainak áttekintése (7.1 ábra), mely jól mutatja, hogy az egészséges és kóros (gyulladás vagy tumor) szervezet esetében az egyes T limfociták más-más célszervek felé vándorolnak.



Forrás: Sumen, C., Mempel, T.R., Mazo, I.B., von Andrian, U.H. Immunity, 21, 315–329 (2004).

7.1 ábra T limfociták szervezeten belüli migrációjának jellemző útvonalai és célszervei egészséges és kóros állapotokban.

A folyamatban kulcsfontosságú leukocita funkció zavarait három nagy csoportba sorolhatjuk:

- adhézió
- primer kemotaxis
- fagocitózis zavarai

(i) Az adhézió zavarainak egyik formájában a folyamat fontos adhéziós molekulái, pl. az integrin diszfunkciója dominál, míg más esetekben egyes szolubilis faktorok hiánya, mint pl. az autoszomális recesszív öröklődésű LFA-1 vagy a MAC-1 hiányok teszik kórossá a gyulladás korai fázisát, a leukociták érfalhoz való kitapadását.

(ii) A kemotaxis primer zavarai esetében két alcsoportra különíthetjük el a kórképeket: intrinsic és extrinsic kórereditűekre. Az intrinsic csoport azon zavarokat foglalja magába, melyeknél a sejtek migrációjának defektusa celluláris okokra vezethető vissza, pl. az autoszómális recesszíven öröklődő **Chédiak-Higashi szindróma** esetében a sejt mozgását megnehezítő, hatalmas lizoszómák jelenléte, illetve a mikrotubulus működés zavarai vagy diabetes mellitusban a PMN sejtek kemokinetikus aktivitásának fokozódása. Szintén az intrinsic kórereditű csoportba tartozik az 1933-ben **Kartagener M.** által leírt és szindróma, melyet ma már inkább **primer ciliáris diszkinezis** néven említ a szakirodalom. Az autoszómális recesszív öröklésmentű kórképre a situs inversus–krónikus sinusitis–bronchiectasia tüneti triásza jellemző, a problémák hátterében pedig a csillók valamely vázalkotó peptidjének a hiánya áll. A különböző szervekben található csillók működési zavara miatt a fenti tünetek mellett halláskárosodás és infertilitás is felléphet. Az extrinsic csoportba a kemotaktikus faktorok képzésének zavarai tartoznak, mint például a komplement képzés zavara.

(iii) A kemotaxis cél-funkciójának, a fagocitózisnak zavarait is intrinsic és extrinsic csoportokra oszthatjuk. Az intrinsic zavarok esetében a fagocitózishoz szükséges, intracelluláris mechanizmusok elégtelen volta szerepel, pl. a fagocitotikus vakuólum képzés, vagy internalizáció során

fontos szerepet betöltő aktin diszfunkciója. Az extrinsic zavarokat a fagocitózis előkészítő lépéseihez pl. opszonizáció szükséges szolúbilis elemek pl. IgG vagy komplement hiányok okozhatják.

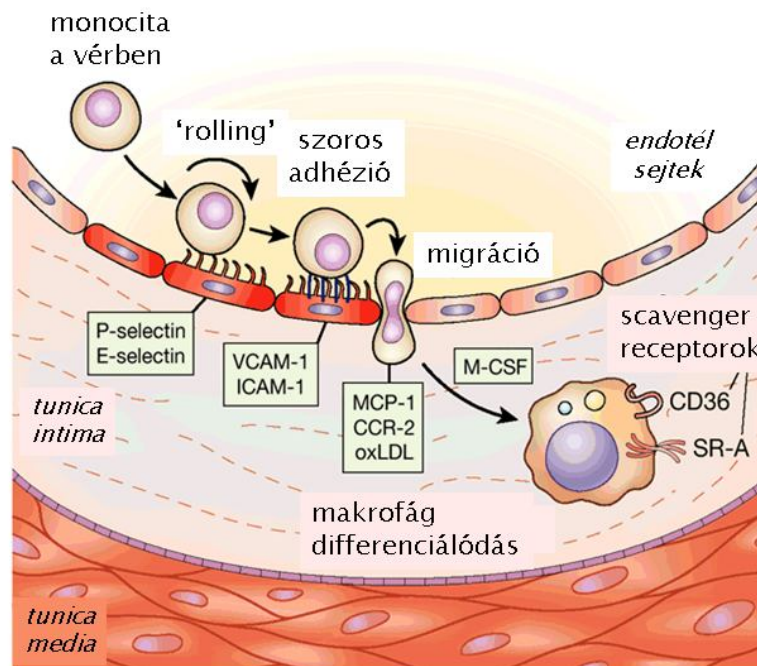
Mint már a fenti pár példa is jelzi, a kialakuló zavarok hátterében sok helyen átfedő mechanizmusok hálózata áll. Ugyanakkor a különböző gyulladások igen sok olyan kórfolyamat részét is képezhetik, melyek maguk alapvetően különböznek. Mindezen túl, több olyan kórkép kialakulásában is szerepet játszik a kemotaxis, melyek hátterében nem a gyulladás áll, hiszen több olyan kórképet ismerünk melyben a kemotaxis fiziológiástól eltérő, fokozott vagy csökkent, de ennek oka az, hogy a migráló sejtek morfológiai és biokémiai karaktere a fiziológiástól eltérő, s ezek mind a kemotaxis megváltozásához vezethetnek.

Az alábbiakban igyekszünk összefoglalni azokat a fő kórkép-csoportokat, melyek a fiziológiás kemotaxis megváltozásának eredményeként alakulnak ki, vagy – ma még ugyan ismeretlen okból – a kemotaxis megváltozása kíséri kifejlődésüket. Előre jelezzük, hogy az alábbi kiemelések csak azokra a betegségekre hívják fel a figyelmet, melyekben a legkarakterisztikusabb a sejtek migrációjának változása és ennek kóroki szerepe. Ugyanakkor tudnunk kell, hogy szinte határtalan azoknak a betegségeknek a száma, melyekben szekunder vagy terciér tünetként kerül leírásra a kemotaxis érintettsége.

A tárgyalt kórkép csoportok a következők:

- Fiziológiás chemotaxis megváltozásával járó betegségek
- Fertőzések
- Primer gyulladások
- Újszülöttkori kemotaxis defektusa
- A keringési szervrendszer megbetegedései
- Tumorok
- Toxikus ártalmak

(A következőkben a fenti 7 csoport tárgyalása során nagyobb részletességgel



Forrás: Li, A.C., Glass, C.K. Nature Med. 8, 1235–1242 (2000).

7.2 ábra Ateroszklerózis plakk kialakulásának alapja – Kóros monocita migráció és szekvesztrálódás

A fent leírt és napjainkban elsődlegesnek tartott mehanizmus kiváltó okai közé számos talán kisebb, kevésbé általános érvényű komponens is felsorakozik. Ezek közé tartozik a monociták érfalhoz való kitapadásának („firm” adhézió) és C5 irányú migrációjának **peptidoglikánok** általi aktiválása, valamint a **hemoglobin** azon hatása is, melyet a CD163-on keresztül fejt ki monociták és dendritikus sejtek migrációjára az érfalban. Utóbbi, hemoglobin mediálta hatás, nem csupán a plakk-képződést elősegítő tényezőként hat, de ugyanakkor az ateroszklerotikus léziók instabilitását is fokozza.

7.2 Fertőzések

Fertőzések esetében a bakteriális fertőzések a gyulladások gyakori kórokaiként is szerepelnek. Legnagyobb kaput a fertőzések számára a gyakori **akut bőrsérülések** jelentik, ám ezek az esetek döntő százalékában észrevétlenek maradnak éppen az immunrendszer sejtjei kemotaxisának és az ezt követő hatásos védekezési mechanizmusoknak köszönhetően. A kórokozók bejutását követő azonnali reakció azonban el is maradhat. Egyes

bőrsérülések csekély kemotaxist kiváltó voltára utalnak azok az kutatások, melyek e sérüléseket követően a citokinek koncentrációját vizsgálva azt mutatták ki, hogy csak az egyik legpotensebbnek mondható kemokin, az IL-8 szintje emelkedik e sérüléseket követően, míg az IL-6 és TNF szintek nem változnak. Maga az IL-8 hatásos lehetne még ebben az esetben is, de sok baktérium képes az IL-8 által indukált kemotaxis semlegesítésére is, elég, ha a baktériumokról szóló fejezetben említett CHIPS fehérjék kemotaxis receptort neutralizáló, lefedő képességére gondolunk (5.1 ábra). E mechanizmusok felhasználásával a nagy patogenitású mikróbák úgy tudnak szinte "láthatatlanul" átjutni a szervezet immunológiai védővonalán, hogy éppen azoknak a sejteknek kemotaxisát gátolják az általuk termelt anyagokkal, melyek e kórokozók eliminálására lennének hivatottak. Ilyen módon hatnak az ún. biofilm képző baktériumok közül a *Pseudomonas aeruginosa* és a *Klebsiella pneumoniae*, vagy a brucellózis kórokozója, mely utóbbi mintegy fél évig képes nem csak kemotaxist, de fagocitózist gátló hatást is kifejteni a fertőzött szövetben.

Érdekes kettős hatást tapasztalunk a **gyomorfekély** kialakulásának patomechanizmusában kulcsszerepet betöltő *Helicobacter pylori* esetében is. E Gram negatív baktérium terméke a 30 kDa-os porin, mely kemotaxis-gátló hatású, bár 3 órás porin inkubáció már TNF, s a még hosszabb, 18 órás inkubáció egy sereg más kemotaxin (gamma-IF, GM-CSF, IL-8, IL-3, IL-4) termelődésének indukálása révén már kemotaxist fokozó hatású.

A napjainkban gyógyászati és közegészségügyi szempontból egyaránt nagy jelentőséggel bíró, virális eredetű **szerzett immunhiányos állapot (AIDS)** esetében is találkozunk több vonatkozásban is kóros kemotaxissal. Két, élénk kemotaktikus aktivitású sejt típus, a monocita és a makrofág is a HIV célsejtjének és egyben rezervoírjának is tekinthető, viszonylag széles szöveti reprezentációval (központi idegrendszer, tüdő, máj, perifériás vér). E sejtekben a vírus replikációs ciklusa is eltér a fertőzött limfocitákétól. A HIV-fertőzött makrofágok és monociták esetében követéses vizsgálatok jelzik, hogy e sejtek kemotaktikus képessége a betegség előrehaladtával fokozatosan csökken (2 hónap – 19%; 4 év – 32% csökkenés normál

kontrollokhoz viszonyítva), s a kemotaxis célfunkciójának tekintett fagocitotikus aktivitás is szignifikáns csökkenést mutat (6% – 18% a két fenti időpontban vizsgálva). A kóros állapot hátterében vélhetően több, ma még nem pontosan tisztázott mechanizmus áll. A rendelkezésre álló adatok, pl. a kemotaxis kiváltásában fontos citokin termelés zavara is jelzi ezen effektor sejtek mind intrinsic, mind extrinsic érintettségét. A kép azonban igen összetett s nem mondhatjuk, hogy e kemotaxisgátló hatás a HIV-fertőzött sejtek általános jellemzője lenne, hiszen más vizsgálatok az alveoláris limfociták fokozott kemotaxisával kísért limfocitózist, s az alveoláris makrofágok MIP-1 expresszióját is regisztrálták.

7.3 Primer gyulladások

E kórképek esetében, mint az elnevezés is utal rá, a megbetegedés elsődleges okaként maga a gyulladásos folyamat áll s bár a fokozott kemotaktikus válaszreakciók igen gyakoriak mégsem mondható, hogy e kórképekre általánosságban csupán a kemotaktikus válaszkészség érintettsége lenne jellemző.

7.3.1 Fokozott kemotaxissal járó kórképek

Reumatoid artritiszben a krónikus gyulladás szakában az IL-8 és a vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF) szintek perifériás vérben mért koncentrációi emelkedettek. E betegség esetében az IL-8 indukálta kemotaxis kóroki szerepét olyan vizsgálatok is megerősítették, melyekben mesterségesen, IL-8 adásával idéztek elő reumatoid artrítiszt.

Asztma bronchiale esetében, a bazofil sejtek fokozott kemotaktikus aktivitásuk révén jutnak el a respiratorikus rendszer megfelelő pontjaira, hogy ott a biogén aminok felszabadítása útján a légutak szűkületét előidézve kiváltsák a betegség vezető tünetét a nehézlégzést.

A középső szemburok gyulladása, az ***uveitisz*** esetében a kemotaxis függ az LFA és MAC-1 kötésében fontos szerepet betöltő CD11/CD18 integrintól.

7.3.2 Változatos migrációs képet mutató betegségek

Peritonítisz esetében a limfociták ATP tartalma csökkent s ennek következményeként a sejtek energiaigényes migrációja, kemotaxisa is csökkent mértékű. Más a helyzet a makrofágok esetében, melyek fokozott MIP-1 expressziót mutatnak, s bár e sejtek kemotaxisa is csökkent, kemokinetikus aktivitásuk ezzel szemben számottevő.

A primer gyulladásos folyamatok és a kemotaxis kapcsolata sokat vizsgált kérdés a **periodontitiszes** esetek patogenezisében is. E betegség juvenilis formájában emelkedett szérum TNF és IL-1 koncentrációk mellett a neutrofilek fokozott kemotaxisát találjuk. Más megfigyelések szerint a szérum PGE1 szintjének emelkedése gátolja a gyulladás kialakulását, míg az IL-1 kiváltotta fokozott lokális neutrofil kemotaxisnak jelentős szerepe van a csontfelszívódás folyamatában is. Az IL-1 migrációra kifejtett, azt fokozó hatása mellett, több növekedési faktor (IGF, FGF, PDGF) az oszteoblasztok kemotaxisára, sejtproliferációjára és differenciálódására fejt ki összetett pozitív hatást, mely révén fontos szerepet játszik a betegség késői, regenerációs fázisában.

7.4 Újszülöttkori kemotaxis defektusa

A születést követő periódus klinikai szempontból igen jellegzetes, melynek eltéréseire számos haematológiai és immunológiai adat utal. A kemotaxis vizsgálata szintén azt mutatja, hogy e korai életszakasz a kemotaxisért felelős sejtcsoportok "ráhangolódási" idejének tekinthető. Ezt jelzi a neutrofil granulociták születést követő 1-8 nap alatti csökkent kemotaktikus aktivitása, mely csupán a születést követő kb. két hetes korra válik normálissá. A jelenségért egyes kutatások a sejtfelszíni membrán **CD11 integrin**, illetve **L szelektin** tartalmának kezdeti alacsony voltát tartják felelősnek. Itt említendő meg, hogy a szteroiddal történő esetleges terápiás beavatkozásoknak – pre- vagy posztnatálisan végezve azokat –, nincs hatásuk a kemotaxis alakulására e korai szakaszban. Érdekes, hogy a kemotaktikus aktivitás és e sejtek kemokinetikus aktivitása a születést követően eltérést mutat, 1-2 napig a sejtek kemokinetikus aktivitása normális, csak a kb. 3. naptól mutat kis csökkenést.

Ugyanezen korcsoport *fMLF*-re adott kemotaktikus válaszainak értékelése azt jelzi, hogy sejteik rendelkeznek ugyan a szükséges fMLF-receptorokkal, azonban a ligandum fiziológiás (10^{-9} M) koncentrációban képtelen e sejteket migrációs válaszra serkenteni, és magasabb (10^{-6} M) koncentrációkban is csak kb. 50%-os válaszra voltak képesek.

7.5 A keringési szervrendszer megbetegedései

7.5.1 Szív koszorúerei

A *szívizom iszkémiás keringési zavarainak* kialakulásában, illetve az azt követő ú.n. reperfúziós szakaszban a kemotaxis fontos szerepet tölt be. A szív koszorús ereinek hosszabb-rövidebb ideig tartó spazmusa az ér simaizom elemeinek a mediából az ér intima rétege felé történő vándorlását idézi elő, melyet az intimában található szabad fibrinogén molekulák kemotaktikus hatása idéz elő. Ugyanitt a fibrinogén kötött formában is megtalálható, s ez is befolyásolja e sejtcsoport mozgását, de ekkor már a fibrinogént a felszínen expresszáló, haptotaktikus ingerként hatva. A koszorús erek spazmusát követő reperfúziós szakasz korai fázisában megfigyelt kemoattraktáns anyagok felszabadulása (pl. E szelektinek) a neutrofil granulociták invázióját segíti elő, az így megjelenő sejtek a károsodott szövetek regenerációjában játszanak szerepet.

Fentiek alapján a *CAD*-os (coronary artery disease) betegekhez viszonyítva az *ACS* (acute coronary syndrome) jellemző markerének is gondolhatnánk egyes, fokozott monocita/makrofág migrációt kiváltó szolúbilis faktorok jelenlétét. A vizsgálati eredmények azonban sem az MCP-1, sem a VEGF-A esetében nem tudtak különbséget kimutatni, ami arra utal, hogy ha van is fokozott migrációt kiváltó anyag azt más mechanizmushoz kötötten kell keresnünk.

A szív erek iszkémiás betegségeihez hasonló klinikai jelentőségű az agyi erek hasonló érintettsége. E szöveti térben az FGF több izoformáját is kimutatták: E növekedési faktorok nem csupán a kemotaxis fokozása révén javítják a reperfúzió esélyeit, de mitózist fokozó és a differenciálódásra

kifejtett pozitív hatásuk révén az érképzés elősegítői is.

7.5.2 Perifériás erek

Perifériás erek esetében, már viszonylag rövid ideig tartó érelzáródásokat (kb. 3 óra) követően 24 órával szintén megfigyelhető a neutrofil grc. sejtcsoport fokozott kemotaxisa az érintett szövetek felé. E regenerációs folyamatok során az angiogenezist három fő szöveti mechanizmus: a fokozott proliferáció, a morfogenezis és a kemotaxis segítik elő. Ellentétes hatású anyagokról is beszámol azonban az irodalom. Ilyen a trombospondin 1 (TSP1), mely mind a kemotaxis, mind a morfogenezis gátlásával lassítja a fenti reparációs folyamatokat.

Agyi erek iszkémiája az FGF felszabadulás serkentése útján vezet egy olyan összetett folyamathoz, mely a korai szakaszban a sejtek kemotaxisát, illetve azok mitotikus folyamatait indukálja, később pedig az érképzéshez nélkülözhetetlen differenciálódási folyamatok egyik serkentője.

Számos egyéb belgyógyászati kórkép kísérő jelensége egyes sejtcsoportok kemotaktikus aktivitásának megváltozása. Így **IDDM típusú diabéteszben** szenvedő betegeknél is leírt a PMN sejtcsoport kemokinetikus aktivitásának fokozódása, mely azonban orális antidiabetikus kezelésben részesülő betegek esetében jellegzetes csökkenést mutat. A kemotaxis vizsgálatok eredményei e téren igen ellentmondóak, azonban úgy tűnik, hogy a kemotaxis pozitív vagy negatív értelemben, de mindenképpen érintett e betegcsoportban is, s a tapasztalt lényeges eltérések hátterében, többek között a vizsgált betegcsoportok eltérő súlyossági foka állhat, valamint az alkalmazott mérési technikák eltérő, – sok esetben nem megfelelő – volta is magyarázhatja a szakirodalomban leírt ellentmondásokat.

Egy másik endokrin kórkép, a **primer hipotireozis** esetében gyakori bakteriális fertőzések hátterében is a sejt-migráció érintettsége áll. Itt a sejtek fokozott adhézioja mellett csökkent kemokinetikus aktivitás tapasztalható, melyeknek következménye az érintett sejtcsoport "lomhává" válása, mely teret enged a bakteriális fertőzésnek.

Hasonló az ok a **szklerózis multiplexet** kísérő, gyakori bakteriális fertőzések esetében, azonban itt a sejtek, mondhatni minden, a baktériumok felismerését és eliminálását elősegítő funkciója – adhézió, kemotaxis, fagocitózis – egyaránt csökkent aktivitást mutat. Evvel szemben a betegségben szenvedők egyes T-sejt alpopulációinak fokozott kemotaxisát írták le fibroblasztok irányába (pl. allograft inflammatorikus faktor 1 – AIF-1 pozitív sejtek).

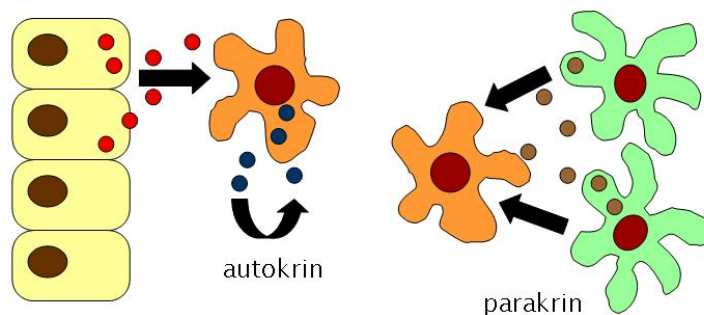
A **pszoriázis** bőrtüneteinek kialakulását szintén fokozott migrációs aktivitás kíséri. Itt TGF és IL-8 felszabadulás mellett monociták fokozott kemotaxisa, majd adhéziója figyelhető meg. A betegek leukocitáinak migrációs aktivitása egyéb, referenciaként elfogadott ligandumok (LTB₄, fMLF) esetében is fokozott. Ezek mellett a kórképre specifikus kemoattraktáns, a pszoriázis leukotaktikus faktort (PLF) is sikerült izolálni, mely kb. 12,5kD-os fehérje és a PMN leukocitákra erős kemoattraktánsként hat, valamint kemokinetikus mozgási paramétereiket is képes fokozni.

Végül, a számos belgyógyászati kórkép részjelenségeként megjelenő **tüdőödéma** és a **légmell** (pneumotorax és a következményes hemotorax) kialakulását szintén a kemotaktikus válasz kivitelezésében fontos sejtpopulációk (neutrofil grc., eozinofil grc., limfocita, makrofág) számbeli változása kíséri, melynek következménye egyes kemoattraktáns anyagok (pl. IL-5, IL-6, IL-8, TNF-alfa), szintjének emelkedése, míg más anyagok (pl. RANTES) szintje csökkenést is mutathat.

7.6 Tumorok

A tumorok kialakulása, illetve a metasztázis képzés folyamata során több ponton is fontos szerephez jutnak a szabadon elmozduló, migráló sejtcsoportok. Mint azt alábbi 7.3 ábránk is szemléltetni igyekszik e sejtek mozgása a környező szöveti tér sejtjei által termelt anyagok útján, parakrin módon szabályozott (1), másrészt maguk a kemotaxist végző sejtek is képesek parakrin (2) és önreguláló, autokrin (3) módon befolyásolni e migrációt. E folyamat során a kibocsátott anyagok angiogén hatása is érvényesül, melynek eredménye az újonnan kialakult tumor vaszkularizációja, s ez idővel a távoli metasztázisképzés fenyegető

lehetőségével is párosul.



7.3 ábra A kemotaxis szerepe a tumorok lokális és távoli hatásainak kialakulásában

A tumorok növekedésének és áttétképzésének komplex folyamata számos szabályozási mechanizmus eredőjének tekinthető, ennek leírása túlmutat a jelen fejezet keretein, fő vonalaiban azonban vázolnunk kell a tumorok kialakulásáért felelős mechanizmusokat és azok szereplőit.

Közelebbről vizsgálva a kérdést a tumorok növekedése és az áttétképzés a kemotaxis szempontjából is igen összetett folyamat. A sejtek számának fokozódása a szöveti térben új környezeti viszonyokat teremt, mely (i) egyrészt a mikrokörnyezetet adó strómasejtek és extracelluláris mátrix elemeinek proteázok általi átalakítását jelenti, (ii) másrészt a szövetek érellátási viszonyaiban teremt változást a hipoxia angiogenetikus hatásai és a régi érendotélre kifejtett proliferációt fokozó hatások által.

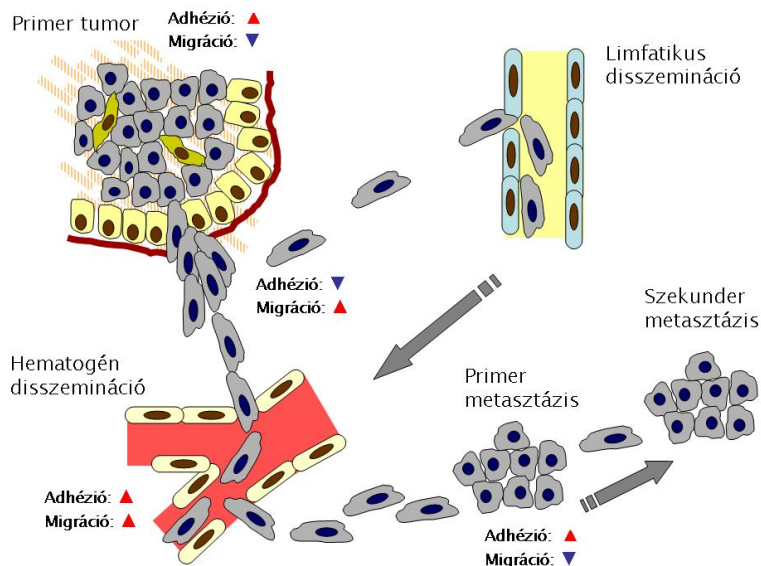
7.6.1 Növekedési fázis

A primer tumor növekedése és az immunrendszer kontrolljának sikeres kijátszása számos komponens összjátékának eredménye. Ezek közül igen fontosnak tűnik az alább még részletesen jellemzett szöveti proteázok szerepe, ezek teszik lehetővé, hogy az IGF (insulin-like growth factor) az azt kötő fehérjétől megszabadulva kapcsolódhasson a tumorsejtek felszínén expresszált receptorához és a sejtek proliferációját indukálja. A tumorsejtek felszínén expresszált integrinek és az ECM kapcsolata is meghatározó már a növekedés e kezdeti szakaszában is. Itt kell megemlítenünk a TGF (transforming growth factor) alfa és béta formáit, melyek ellentétes hatásúak, míg a TGF-alfa a daganatos sejtek növekedését stimulálja, a TGF-béta – az aktivitását gátló, ún. latens TGF-béta-kötő-proteinről leválva – receptorán

keresztül a tumorsejtek osztódásának gátlójaként hat. Egyes, a sejtközötti térben található mártix metalloproteinázok (pl. MMP7) segítik a tumorokat abban is, hogy az immunrendszer kontrollja alól kibújjanak, például fenti enzimek tüntetik el sejtek felszínéről azokat a Fas–ligandokat, melyek jelenlétében a citotoxikus T limfociták hatásosan képesek a tumorsejtek eliminálására. Emellett egyéb mechanizmusok, pl. csökkent antigén prezentáció, az immunreaktív sejtek számos kulcsfontosságú funkciójának neutralizálása (adhézió és fagocitózis gátlása, kemoattraktánsok lebontása) is e kóros sejtek túlélését segíti elő.

7.6.2 Az angiogenezis és áttétképzés szakaszai

A tumornövekedés szempontjából elengedhetetlen angiogenezis esetében több komponens együttes hatása eredményezi a daganat vérerekkel való ellátásának fokozódását. Ezek között szerepelnek az érendotél megfelelő receptorain ható VEGF, TGF–béta és FGF2, valamint az ECM elemeinek (kollagén I és IV, fibrin, perlekán) enzimatis bontása révén felszabaduló és szintén angiogenetikus hatású peptidek is. A vázolt folyamat eredményeként kialakuló új erek a kemotaxis egy speciális formájára adnak lehetőséget: az atriovenózus söntök és az egészséges erek szerkezetétől eltérő, simaizomban szegényebb falú erek kialakulása is sejtek irányított mozgásának eredménye. A gyenge, sokszor daganatsejtekből is álló érfalak (ld. szinuszoidok fala) már magukban hordozzák a fokozott áteresztő képességet, melyet egyes anyagok (pl. VEGF) csak fokoznak, lehetővé téve ezzel a kórosan gyenge adhézios kapcsolatokkal rendelkező, primer tumorról leváló tumorsejtek számára a keringésbe történő bejutást. A tumorsejtek két útvonalon, a hematogén (vérerek) és a limfatikus (nyirokerek) disszemináció útján juthatnak el az áttétképzés elsődleges pontjaira, az ún. primer metasztázis helyére, ahonnan a másodlagos metasztázisok már rendszerint a keringési szervrendszer felhasználása nélkül, közvetlen disszeminációval is képesek kialakulni (7.4 ábra).

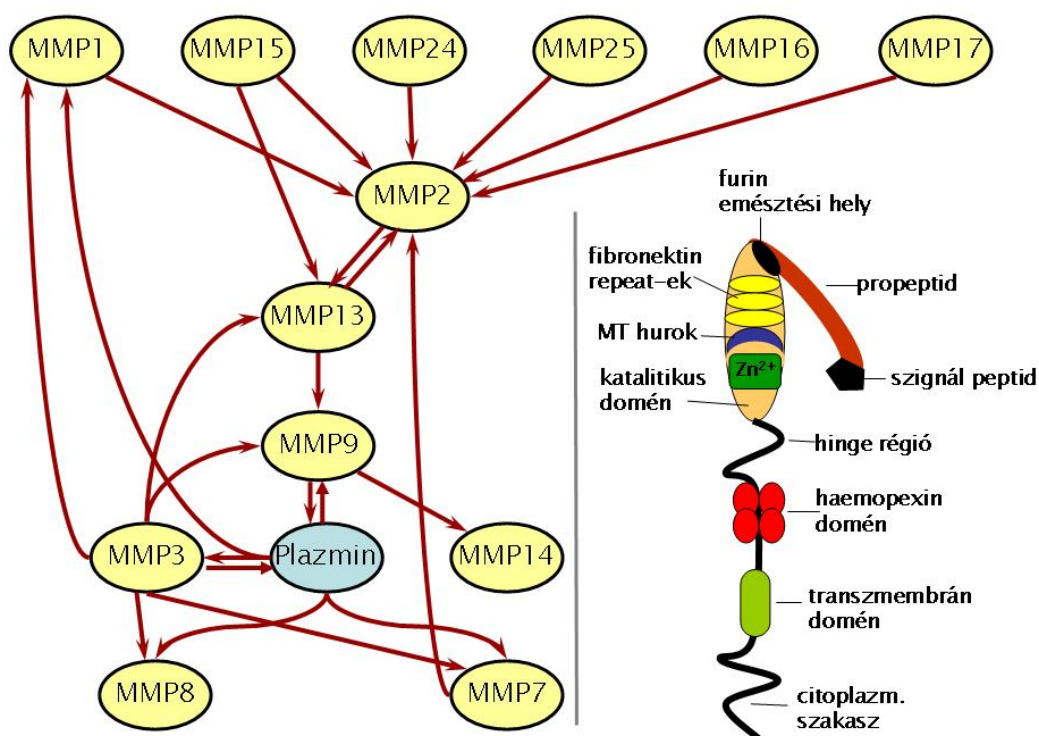


7.4 ábra Tumorok áttétképzése és a sejtadhézió–migráció aktivitásának változó fázisai

7.6.3 Enzimek és a tumorsejtek migrációja

A tumorok áttétképzése, az egyes kötőszöveti rétegeken, bazális membránon át történő invázió elősegítő komponensei az enzimek, melyek az egyes komponensek bontása révén teszik szabaddá az utat a migráló tumorsejtek előtt. A sok enzim közül a proteázok csoportja a legnépesebb, s ezek közül is a **mátrix metalloproteinázok (MMP)** népes csoportja tűnik a legmeghatározóbbnak. A 7.5 ábra e molekula-család viszonyait mutatja be utalva az MMP2 és a plazmin központi szerepére s arra, hogy számos MMP viszonylag kis szerkezeti változtatások révén a család eltérő karakterű egyéb tagjaivá alakítható át. Az ábra jelzi az MMP-k általános szerkezeti felépítésének fő elemeit s ez jó alkalmat ad arra, hogy mint cseppben a tengert példaként vizsgáljuk rajta egy enzimfehérje szerkezet-hatás összefüggéseit. Láthatjuk, hogy a molekula szintézisét követő intracelluláris transzport céljait szolgáló szignál peptid viszonylag könnyen eltávolítható, független viszonyban van a molekula enzimatis karakterét adó katalitikus doménnel. A szerkezet egyben jó példáját adja a molekulán belüli szabályozásnak, hiszen a haemopexin domén 4 lapos, propeller-szerű alegysége a katalitikus domén szubsztrátspecifitását szabályozza, ugyanakkor az ehhez kapcsolódó gátló fehérje a TIMP (tissue inhibitor of metalloproteinase) e funkciót képes gátolni. A molekula N-terminálisán

elhelyezkedő domének az enzim felszíni membránhoz kötését teszik lehetővé, mely, mint a későbbiekben látni fogjuk egyes tumorok áttétképzésénél is komoly szerepet kap. A fenti általános leírás természetesen nem mutathatja be a mintegy 30 MMP-t, azonban már itt utalunk arra, hogy az ECM-en ható enzimek e nagy tagszámú csoportja milyen széles hatásspektrumal (pl. proliferáció, sejtadhézió, differenciálódás, angiogenezis, apoptózis) képes a migrációt is szabályozó/befolyásoló működésekben részt venni.



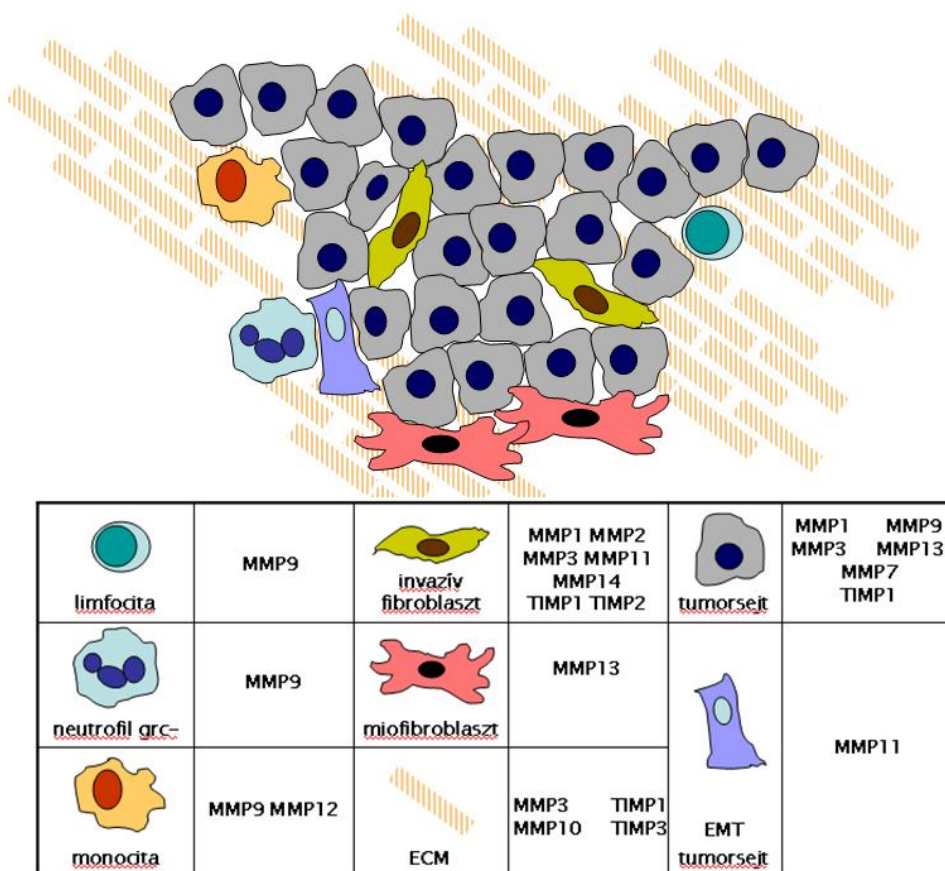
7.5 ábra A metalloproteinázok (MMP) egymásba történő átalakulásának folyamata és a metalloproteináz molekula felépítésének sémás rajza.

7.6.4 Sejtes kölcsönhatások – Tumorsejtek inváziója

A kemotaxis szempontjából a tumorok növekedése esetében talán legkézenfekvőbb részfolyamat az invázió, tehát az a folyamat, amely során a helyben ülő és a környező sejtek által jól izolált tumoros sejtcsoport átlépi e határvonalat. Ahhoz, hogy ezt a folyamatot jól lássuk egyrészt meg kell figyelnünk a tumorok izolálásában részt vevő sejteket. Mint azt az alábbi, 7.6-os ábra is mutatja, számos sejt vesz részt ebben, egyes sejtek jellemzően az izoláló felszínt képezik (ld. miofibroblasztok), más sejtek a tumor infiltrálásában is aktívan részt vesznek (ld. invazív fibroblaszt, limfocita,

monocita). Az MMP-profil fontos meghatározója e sejtek-sejtcsoportok aktivitásának, mint környezeti tényező is befolyásolhatja a tumoros sejtek invazív karakterének alakulását. Hatásukra alakulnak ki például az invazív tumorsejtek migrációját elősegítő laminin-5 fragmentumok, az E-kadherinektől és a CD44 bontása révén segítenek a tumorsejt adhéziós kapcsolatainak lazításában. (Egyes esetekben az MMP-k az inváziót gátló hatást is kifejtenek, például a SDF-1 (CXCL12) bontása révén.)

Az invázió fenti, a tumorsejt számára „környezeti” hatások mellett, a daganatok migráló elemeinek endogén átalakulását is igényli, tehát e sejtek karakterükben jelentős változáson kell, hogy átmenjenek ahhoz, hogy egy „helytülő” sejtől migrálónak váljanak. Ez a jelenség – az egészséges szervezet fejlődése során is több helyen leírt és, főleg proliferáló sejteknél említett – **epitelio-mezenhímális-átalakulás** (epithelio-mesenchymal transition – EMT). Jellemzői a TGF- β indukció, a sejtadhézió szignalizációs láncának (integrin, Wnt) módosulásai, a már fentebb is említett E-kadherinektől vesztesége, melyek mind az adhéziócsökkenését és egyben a motilitás fokozódását eredményezik.



7.6 ábra Tumorok és azok demarkálódásában részt vevő sejtek, valamint az egyes elemekre jellemző MMP-profilok.

7.6.5 Sejtadhézió és migráció viszonya tumorokban

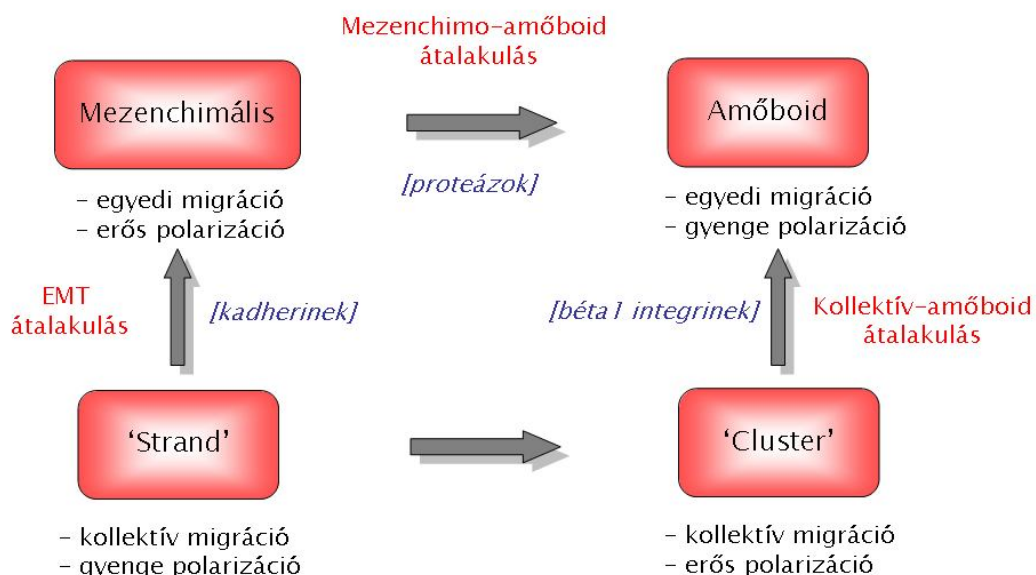
A fentiekből is láttuk, hogy a sejtek mozgása és a sejtadhézió egymást feltételező viszonya a tumorok esetében egészen sajátos megvilágításba kerül. A primer tumorok esetében a beteg számára kifejezetten kedvező, ha a tumort alkotó sejtek migrációs aktivitása alacsony fokú, míg a sejtadhézió fokozott, s ezáltal a tumorsejtek nagy százaléka a primer tumoron marad, nem ad áttétet – ez egyik célja is e korai fázisban a célzott terápiának. Evvel ellentétes helyzet alakul ki abban a szakaszban, amikor a primer tumor sejtjei – csökkent adhéziójukból és a tumor érrendszerének gyengeségeiből adódóan –, leválnak és nagy számban jelen vannak már a perifériás keringésben is. Ebben a fázisban már nem lehet cél a sejtadhézió fokozása, hiszen az egyre újabb metasztázisok kialakítását segítené elő. Észre kell vennünk ugyanakkor, hogy a sejtadhézióval ellentétben a tumorsejtek migrációjához való viszonyát a terapia sokkal könnyebben ítélni meg: akár primer vagy áttéti állapotról legyen szó a migrációs képesség gátlása mindkét klinikai fázisban kedvező eredményt ígér, különösen akkor, ha az szelektíven képes a tumorsejtekre hatni, s az immunrendszer sejtjeinek aktivitása nem változik.

7.6.6 Tumorok migrációs formái

Eddig a tumor sejtek migrációjának főbb mechanizmusai, illetve az azt elősegítő tényezők áttekintése volt célunk, de az e sejtekre jellemző mozgásformákról nem beszéltünk. A kérdés áttekintése azért fontos, mivel láthattuk, számos tényező hatására, több fázis (pl. EMT tumorsejt kialakulása) közbeiktatásával alakulnak ki az egyes tumor-fázisok, s ezekre más-más mozgásforma jellemző. A szövettanilag eltérő hovatartozású tumorok esetében is, adaptálódva a környezet sajátosságaihoz, különböző mozgásformák dominálnak.

Leggyakrabban a folyamat a primer tumor egyre növekvő sejtömegéből indul, melyet a korábban már leírt **kollektív sejt migráció** sajátosságai jellemeznek (7.7 ábra). Ez a rendszerint gyenge polarizációt mutató, elnyúlt sejtömeg a

szakirodalomban a '*strand*' (szál, kötel) elnevezést kapta. Ez jellemző az *epiteliális rákokra* és a *vaszkuláris tumorok* egy részére is. Ebből az alapállapotból két átalakulási folyamat is indulhat: az egyik a még mindig kollektív migrációt mutató sejtegyüttes, a '*cohort*' vagy '*cluster*', mely már lényegesen polarizáltabb. Hasonlóan a '*strand*' formához, *epiteliális rákok* és *melanómák* jellemző migrációs formája ez. A fenti két csoport esetében még egyértelműen jellemző a sejtadhéziós kapcsolatok (integrinek, gap junction, kadherine) megléte. A kezdeti '*strand*' állapotú sejtömegekről leváló, egyedi sejtek másik csoportja, *EMT átalakulás* során, elveszítve fontos sejtadhéziós proteinjeiket (pl. kadherine) a mezenchimális migrációs formába mennek át. Több kifejezetten rosszindulatú tumor, *glioblasztóma*, *fibroszarkóma*, *anaplasztikus tumorok* mozgásformája ez a típus. Mint azt a vonatkozó ábrán is láthatjuk az út mind a '*cluster*' állapotból, mind a mezenchimális mozgásformából egy végső, migráció szempontjából kevésbé vektoriális és kifejezetten egyedi sejtekre jellemző '*amőboid*' forma felé vezet, mely már a leszakadó, áttétképző sejtek állapotát képviseli. *Limfómák*, *leukémiák* vagy *kissejtes tüdőrák* esetében írják le ezeket a mozgásformákat. Ennek során a béta-integrinek számának drasztikus csökkenése (kollektív-amőboid átalakulás), vagy egyes proteázok szintézisének és aktivitásának csökkenése (mezenchimo-amőboid átalakulás) figyelhető meg.



Forrás: Nature Reviews Cancer 3, 362–374 felhasználásával

7.7 ábra Tumoros sejtek eltérő mozgásformái, az azokat jellemző fő migrációs profil és az inaktivált fő adhézións molekula/enzim típus (kék).

A 7.7 ábrán jelölt 4 migrációs állapot sejteire eltérő más-más szabályozó faktorokból álló együttes jellemző. Általánosságban elmondható, hogy a **kollektív migráció**s formákat a **RhoA1 fokozott**, míg a **béta 1 integrin és MMP-k csökkent** expressziója jellemzi. Evvel szemben az egyedi mozgásformákra az előbb említett szabályozók ellentétes irányú elmozdulása hat, valamint az L1CAM, ALCAM, N-cad és Rac fokozott és az E-cad és Rho csökkent aktivitása jellemző.

7.6.7 ECM remodelling

Maga a sejtek mozgásának intracelluláris háttere az általános részben leírtakhoz hasonló: alapjait a citoszkeleton kortikális elemei (aktin) és az arp2/3, vinkulin, paxillin, alfa-aktinin által kialakított hálózat, valamint annak FAK, talin, tenzin és más partner molekulák általi integrinekhez történő kapcsolása képezi. Mint az előzőekben láthattuk sejtmembrán integrinek közvetítette kapcsolódása az ECM-hez csak átmeneti. Számos tumoros és egészséges sejt (fibroblaszt, epitel, makrofág, neutrofil grc.) összjátéka a folyamat, melyben az enzimatis bontást MMP-k, katepszinek, plazminogén, gelatináz, elasztáz stb. végzik. A tumorsejtek ECM-mel érintkező, migráló frontális felszínén az „ECM-remodelling” folyamata zajlik. Ebben a tumor-asszociált makrofágok által termelt EGF a rákos sejteket vonzza a vérerek felé, míg a rákos sejtek által termelt CSF-1 a makrofágok akkumulációját segíti elő. Emellett egy sereg növekedési faktor (VEGF, FGF, TGF-béta stb.) is megtalálható itt. Különös jelentőséggel bír az MT1-MMP (MT – membrane type), mely a tumorsejtek membránjához asszociált MMP. Segítségével a membrán közvetlen közelében lévő ECM rostok bontása indul be, azonban a folyamat befejezéséhez már a fluid fázisban lévő MMP1,-2, -9-re és a szepráz (más néven FAP) bontó aktivitására van szükség.

A sejt migrációjának polaritásától függően eltérő a kialakuló tumorsejt-ECM viszony. Míg a frontális felszínen a fentiekben leírt folyamatok révén az ECM átalakítása folyik, a sejtek elmaradó pólusán a sejt-ECM kapcsolatok bontása jellemző, melyben a „shedase” összefoglaló néven említett, MMP-tartalmú, transzmembrán proteinek vesznek részt. Ezek fő funkciója az integrin-ECM

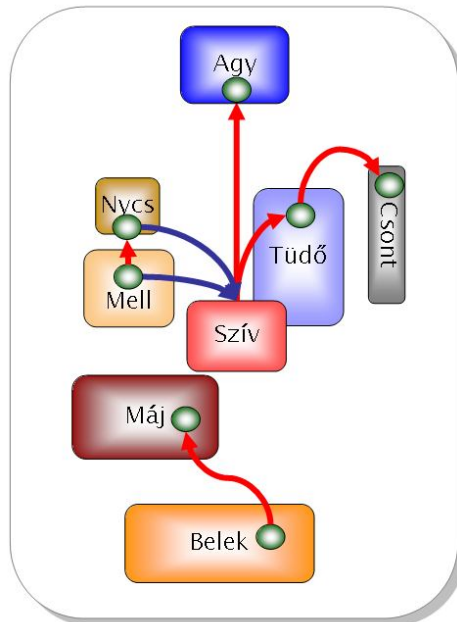
kapcsolatok bontása, mely által lehetővé válik a sejt elmaradó nyúlványának mozgás irányba történő elmozdulása.

7.6.8 Hízósejtek és tumorok

A tumorok és környezetük közötti kapcsolat vázlatos leírása nem lenne teljes egy nagyon speciális sejt, a hízósejt tumorok növekedésére vagy éppen regressziójára kifejtett hatásainak említése nélkül. Mint ismeretes e sejtek számos biogén amin és egyéb biológiailag aktív molekula szintézisére képesek, ebből adódóan már a tumorok keletkezésének korai időszakában a daganatok hízósejtes infiltrációja révén képesek lehetnek immunszuppressziós vagy éppen proliferációs hatások indukálására is. A növekvő daganatok hízósejtes beszűrődése az **angiogenezist** és az **ECM remodelling**-jét egyaránt előidéző tényező lehet, egyes anyagai az áttétképzést is elősegítik. Azonban a tumorfejlődés e késői szakaszában sem egyértelmű a hízósejtek szerepe, mivel termékeik között találunk több olyan anyagot, melyek gátolják a tumorok növekedését és migrációját is elősegítő faktorok hatásainak kialakulását (anti-TNF, anti-VEGF), sőt maguk a hízósejtek ú.n. 'direct killing' mechanizmussal is képesek a daganatok sejtjeinek eliminálására.

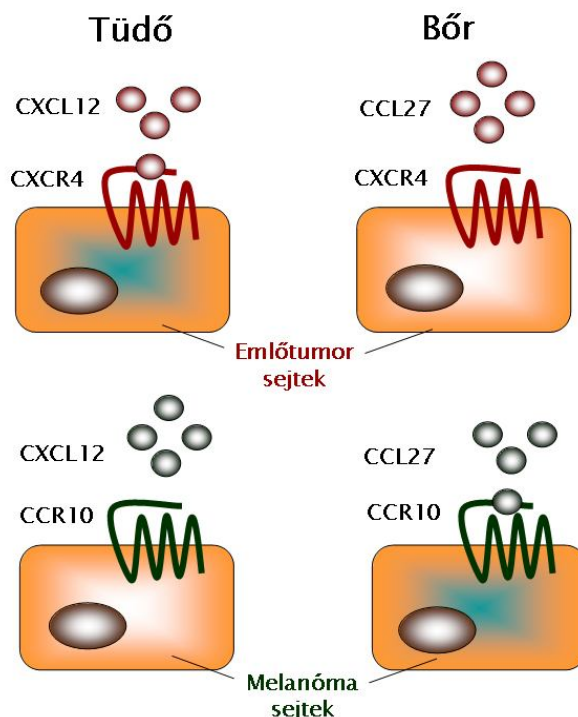
7.7 Az áttétképzés célszervi-meghatározottsága

A klinikum és a kórbonctani vizsgálatok egyaránt már régen felfigyeltek arra a jelenségre, hogy egyes tumorok áttétképzésekor célszervi preferenciák figyelhetők meg. Kezdetben ennek okát csupán a szervek keringési rendszeren belüli sajátos „kapcsoltsági” viszonyaiban keresték, s mint azt a 7.8 ábra mutatja nem alaptalanul. A szívből kiinduló nagyerek, a kis- és a nagyvérkör esetében egyaránt kijelölnek ilyen szerveket (tüdő és agy), de a belek és a máj, valamint az emlők és a környéki nyirokcsomók hasonló kapcsolatát is statisztikai adatok támasztják alá.



7.8 ábra Áttétképzés fő útvonalai és célszervei az emberi szervezetben

Fentiek ellenére, számos olyan esetről tudunk, ahol csupán keringési preferenciákkal nem magyarázható az áttétek megjelenése, illetve azok közötti jelentős szervek közötti különbségek. A probléma megválaszolásában sokat segített a **kemokinek és receptoraik** felfedezése, illetve az emberi szervezet egyes sejtjeire és szöveti tereire jellemző kemokin/kemokin receptor profilok megadása. A 7.9 ábra ezen adatok felhasználásával nyert szép példán mutatja be a kemokinek szerepét a vizsgált folyamatban. Mint látható emlőtumor és melanóma sejtek áttétképzése esetében az eltérő célszervek okát a tumoros sejtek felszínén található kemokin receptorok (emlőtumor –CXCR4, melanóma –CCR10), illetve a célszervek által kibocsátott és az áttéti sejtek migrációjára hatással levő kemokinek (tüdő – CXCL12; bőr – CCL27) termelésében kereshetjük. A vizsgált példa esetében tehát a fenti ligandum–receptor egyezés magyarázza azt, hogy emlőtumorok nagy gyakorisággal tüdőbe, míg melanómák bőrbe adják áttéteiket.



7.9 ábra A kemokin–kemokin–receptor viszony meghatározó szerepe szervi áttétképzés során

A fentiekben vázoltakhoz hasonló mechanizmust indukálnak a **myelomás** sejtek, melyek fMLP-hez hasonló kemotaktikus faktorok termelésére képesek, valamint azok a **humán leukémiás sejtek**, melyek membránján, integrinhez kapcsoltan komplement receptor tulajdonságú MAC-1 molekulák találhatók.

Melanóma sejtek a magasabb rendűek vazóaktív peptidje, az endothelin-1 termelése révén a perivaszkuláris térben elhelyezkedő sejtek kemokinetikus aktivitását fokozzák. E sejtek azonban több, úgy is mondhatnánk, hogy trükkös mechanizmust is felhasználnak s ezek közül számos valamilyen szempontból a kemotaxist használja fel eszközként. Már maga a melanómává alakulás, illetve a szervezet védekező rendszerének kijátszása is ide tartozik, hiszen ekkor egy az immunrendszert képviselő, migráló makrofágok közelítik meg a csekély migrációs aktivitást mutató melanóma sejteket. A makrofágok kezdetben fagocitálnak melanóma sejteket, erre utal a citoplazmájukban felhalmozódó pigmentszemcsék nagy tömege és állapotukat leíró új nevük (melanofág) is. Később azonban a melanofágok egy része fúzionál egy melanóma sejttel és átmenetileg egy heterokarionú – két eltérő sejtből

származó sejtmagot tartalmazó – sejt alakul ki. A folyamat egy hibrid sejtmag kialakulásához vezet és maga az újonnan kialakult sejt a tumoros melanóma sejt tulajdonságait ötvözi a makrofág migrációs kapacitásával, egy új, áttétképző formát alakítva így ki.

Maga a melanóma áttétképzése során is érdekes folyamatot írtak le. Ebben az áttét képzése a melanómás sejtcsoport egy (kevés) tagjának migrációával indul. Ezek a sejtek a számukra kedvező kémiai gradiensek mentén haladva bontják az ECM komponenseit, különösen egyes MMP-ok darabolása jellemző. Az így kialakított rövid peptid fragmentumok, mint egy haladást jelző nyomvonal mutatják a többi áttétet képező melanóma sejtnak az utat, e rövid peptidek haptotaktikus módon irányítják a sejteket a „pionír” melanóma sejt által kiválasztott áttét helyére.

A kemotaxis befolyásolhatósága a tumorok terjedése szempontjából is egyre gyakrabban vizsgált kérdés, s egyben, mint a terápia egy lehetséges célponti eleme is felvetődik. A tumor-terápiában a kemotaxis gátlás, mint hatásos eszköz mellett szólnak többek között azok a *Lewis karcinómás* betegeken nyert eredmények, melyekben egy A vitamin származék, a retinsav került bevezetésre, mint a kezelés egyik hatóanyaga. A kezelés hatására a béta4 integrinek expressziója jelentős csökkenést mutat, melynek következménye, hogy a tumoros sejtek kemotaktikus aktivitása kb. 1/10-re, míg kemoinvázios képességük 1/60-ra csökkent.

7.8 Toxikus ártalmak

A szervezetet érő toxikus hatások közül nem egyről bizonyított, hogy a káros hatás kialakulásában jelentős tényező egyes sejtcsoportok kemotaktikus aktivitásának megváltozása.

Így az akut *alkohol-mérgezést* a máj Kupffer sejtjei, valamint a neutrofil granulociták kemotaxisának fokozódása kíséri. Ez 30 mM ethanol-lal történő indukció esetén a sejtfelszíni f-MLP receptorok számának 3 órán belüli 100%-os, s 24 órát követően kb. 300% emelkedését is jelenti egyben. Krónikus alkohol intoxikációt a kemotaxis target funkciója, a fagocita funkció

zavara kíséri, mely jelzi, hogy az akut intoxikáció képes ugyan aktiválni a szervezet fő célszervében, a májban egyes védekező mechanizmusokat, de a szervezetet krónikusan érő noxa e védekező mechanizmus más elemeit már mintegy “kifárasztja”, s ezzel is megteremti az alkohol szövetkárosító hatásainak alapját.

Az alkohol melletti másik mindennaposnak mondható toxikus környezeti ártalom, a **dohányzás** útján a testbe jutó nikotin, melynek a szervezetre gyakorolt káros hatásai között a fentihez hasonló kapcsolatra lelünk. Hatására csökkent egyes citokinek (TNFalfa és IL-6) termelése, ám az egyik legpotensebb kemokin, az IL-8 termelése fokozódik. E változásokat a krónikus alkohol intoxikációhoz hasonlóan, a makrofág fagocita diszfunkciója kíséri.

Számos **mutagén ágens** pl. benzpyrén, 12-dimetil-benzantracén káros hatásai mellett a kemotaxis fokozódását és egyes sejtcsoportok kemoinvazivitásának emelkedett szintjét is leírja a szakirodalom.

Hasonló, kemotaxist fokozó hatású a ma már csak munkahelyi toxikus ártalomként számontartott azbeszt is, bár ez a nikotinnal ellentétben IL-1 és TNFalfa felszabadulását indukálja, majd ezek következményes hatásaként IL-8 szaporulata mérhető, mely a fokozott kemotaxis kiváltója.

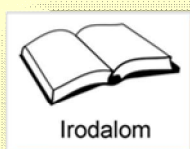
Fentivel ellentétes hatásúak a szintén munkahelyi ártalomként ismert **kvarc (SiO_2), ózon (O_3) és nitrogén dioxid (NO_2)**, melyek közül az első kettő a TNFalfa szintjének emelését, a harmadik annak csökkenését idézi elő. E változásoktól függetlenül, a kvarc és a NO_2 is csökkent kemotaxist eredményeznek. Szólnunk kell végül a **metilezett higany** származékokról és a **szilícium laktátról** is, melyek neutrofil granulocitákra hatva, nem csupán azok kemotaktikus aktivitását csökkentik, de az egyértékű oxigén-gyökök felszabadulásának csökkenése révén e sejtek killing funkcióit is károsítják.

Mint fenti néhány reprezentatív adatból is látható a kemotaxis-kérdéskör nem csupán elméleti és kórtani vonatkozásait tekintve, de klinikai oldalról is igen sokszínű képet mutat, s talán nem tekintjük a világot túlzottan a kemotaxis “szemüvegén” keresztül, ha azt mondjuk, vélhetően ez csak a jéghegy csúcsa. A számtalan kemokin felfedezése, a szignalizációs hálózatok

felvázolása, valamint a mind pontosabb, receptor-szintű vizsgálatok segítségével történő klinikai elemzések egyre több kórkép esetében mutatnak rá a kemotaxis kóroki szerepére, egyben a terápia új lehetőségeit is felvetve.



<http://www.hybridmedicalanimation.com/work/animation/pathology-of-ra/>
<http://www.haemochrom.de/en/flashvideo/system-of-haemostatis.html>
http://www.pharmacology2000.com/Pulmonary/respiratory_anesthesiology/respiratory2.htm
http://kbratlie.public.iastate.edu/Site/Enzyme_Activation.html



1. Balkwill, F. Cancer and the chemokine network. *Nature Rev. Cancer* 4, 540–550 (2004).
2. Buttari, B., Profumo, E., Di Cristofano, C., Pietraforte, D., Lionetti, V., Capoano, R., Salvati, B., Businaro, R., Di Giammarco, G., Riganò, R. Haemoglobin triggers chemotaxis of human monocyte-derived dendritic cells: possible role in atherosclerotic lesion instability. *Atherosclerosis*. 215, 316–322 (2011).
3. Chakraborti, S., Mandal, M., Das, S., Mandal, A., Chakraborti, T. Regulation of matrix metalloproteinases: An overview; *Mol Cell Biochem* 253, 269–285 (2003).
4. Chambers, A.F., Groom, A.C., MacDonald, I.C. Metastasis: Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nature Rev. Cancer* 2, 563–572 (2002).
5. Charo, I.F., Ransohoff, R.M. The Many Roles of Chemokines and Chemokine Receptors in Inflammation *N. Engl. J. Med.* 354, 610–621 (2006).
6. Csaba, G., Horvath, C., Acs, T. Some new data concerning the biology of tumours. The effects of heparin and its components on tumor growth. *Br. J. Cancer*. 14, 362–375 (1960).
7. Csaba, G., Acs, T., Horváth, C., Kapa, E. Some New Data concerning the Biology of Tumours: The Effects of Heparin Inhibitors on Tumour Growth. *Br. J. Cancer*. 14, 367–375 (1960).
8. Csaba, G., Acs, T., Horvath, C., Mold, K. Genesis and function of mast cells. Mast cell and plasmacyte reaction to induced, homologous and heterologous tumours. *Br J Cancer*. 15, 327–335 (1961).
- 9.

10. Czepluch, F.S., Zweigle, B., Waltenberger, J. Chemotaxis analysis of circulating monocytes in patients with a recent acute coronary syndrome. *Atherosclerosis* 204,304–308 (2009).
11. Del Galdo, F., Jiménez, S.A. T cells expressing allograft inflammatory factor 1 display increased chemotaxis and induce a profibrotic phenotype in normal fibroblasts in vitro. *Arthritis Rheum.* 56, 3478–3488 (2007).
12. Devine, L., Lightman, S.L., Greenwood, J. Role of LFA-1, ICAM-1, VLA-4 and VCAM-1 in lymphocyte migration across retinal pigment epithelial monolayers in vitro. *Immunology* 88, 456–462 (1996).
13. Donovan, R.M., Goldstein, E., Kim, Y., Lippert, W., Kailath, E., Aoki, T.T., Cheung, A.T., Miller, M.E., Chang, D.P. A computer-assisted image-analysis system for analyzing polymorphonuclear leukocyte chemotaxis in patients with diabetes mellitus. *J. Infect. Dis.* 155,737–741 (1987).
14. Friedl, P., Wolf, K. Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nature Rev. Cancer* 3, 362–374 (2003).
15. Friedl, P., Alexander, S.. Cancer invasion and the microenvironment: plasticity and reciprocity. *Cell.* 147, 992–1009 (2011).
16. Friedl, P., Locker, J., Sahai, E., Segall, J.E.. Classifying collective cancer cell invasion. *Nature Cell Biol.* 14,:777–783 (2012).
17. Heidecker, J., Kaplan, A., Sahn, S.A. Pleural fluid and peripheral eosinophilia from hemothorax: hypothesis of the pathogenesis of EPE in hemothorax and pneumothorax. *Am. J. Med. Sci.* 332,148–152 (2006).
18. James, D.W., Walker, J.R., Smith, M.J. Abnormal polymorphonuclear leucocyte chemotaxis in Behçet's syndrome. *Ann. Rheum. Dis.* 38, 219–221 (1979).
19. Kartagener M Zur Pathogenese der Bronchiektasien: Bronchiektasien bei Situs viscerum inversus. *Beiträge zur Klinik der Tuberkulose.* 83, 489–501 (1933).
20. Kumar, R.S., Prakash, S. Impaired neutrophil and monocyte chemotaxis in chronic and aggressive periodontitis and effects of periodontal therapy. *Indian J. Dent. Res.* 23, 69–74 (2012).
21. Lafleur, M.A., Handsley, M.M., Edwards, D.R. Structure-dependent subgrouping of the matrix metalloproteinases (MMPs). *Expert Rev. Mol. Med.* <http://www.expertreviews.org/> Vol. 5
22. Li, A.C., Glass, C.K. The macrophage foam cell as a target for therapeutic intervention. *Nature Med.* 8, 1235–1242 (2000).
23. Liu, Y.K. Effects of alcohol on granulocytes and lymphocytes. *Semin. Hematol.* 17,130–136 (1980).
24. Nijhuis, M.M., Pasterkamp, G., Sluis, N.I., de Kleijn, D.P., Laman, J.D., Ulfman, L.H. Peptidoglycan increases firm adhesion of monocytes under flow conditions and primes monocyte chemotaxis. *J. Vasc. Res.* 44, 214–222 (2007).
25. Pantel, K., Brakenhoff, R.H. Dissecting the metastatic cascade. *Nature Rev. Cancer* 4, 448–456 (2004).
26. Pawelek, J.M., Chakraborty, A.K. Fusion of tumour cells with bone marrow-derived cells: a unifying explanation for metastasis. *Nature Rev. Cancer* 8, 377–386 (2008).
27. Sumen, C., Mempel, T.R., Mazo, I.B., von Andrian, U.H. Intravital microscopy: Visualizing immunity in context. *Immunity*, 21, 315–329 (2004).

28. Tagami, H., Kitano, Y., Suehisa, S., Oku, T., Yamada, M. Psoriatic leukotactic factor. Further physicochemical characterization and effect on the epidermal cells. *Arch. Dermatol. Res.* 272, 201–213 (1982).
29. Ternowitz, T. Monocyte and neutrophil chemotaxis in psoriasis. Relation to the clinical status and the type of psoriasis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 15, 1191–1199 (1986).
30. Türkmen, M., Satar, M., Atici, A. Neutrophil chemotaxis and random migration in preterm and term infants with sepsis. *Am. J. Perinatol.* 17, 107–112 (2000).
31. Wolach, B., Sonnenschein, D., Gavrieli, R., Chomsky, O., Pomeranz, A., Yuli I. Neonatal neutrophil inflammatory responses: parallel studies of light scattering, cell polarization, chemotaxis, superoxide release, and bactericidal activity. *Am. J. Hematol.* 58, 8–15 (1998).
32. Yin, K., Wilmanski, J., Wang, C., Qiu, G., Tahamont, M. Lung compartmentalization of inflammatory cells in sepsis. *Inflammation.* 24, 547–557 (2000).
33. Zhao, Y., Su, Y., Ye, L. Slit–Robo: a potential way to treat periodontitis. *Med. Hypotheses.* 79, 186–188 (2012).
34. Zivert, A.K. Über einen Fall von Bronchiectasie bei einem Patienten mit situs inversus viscerum. *Berliner klinische Wochenschrift.* 41, 139–141 (1904).

8. Létezik-e élet kemotaxis nélkül?

E fejezetünk címe a kérdés tárgyalásának már szinte filozófiai megközelítését sejteti, s valóban, mint látni fogjuk, a kemotaxis szerepének elemzése már a legalapvetőbb, általános biológiai kérdések (a sejtes szerveződéstől a szervezet egészéig tekintve azt) megválaszolásánál is elengedhetetlen. Természetesen itt nem az élet eredetére, s az ivartalan szaporodás egyes formáira utaló vizsgálatok eredményeire kell gondolnunk, hanem a fejlődés későbbi, ám biológiai szempontból koránt sem másodrendű, ivari szaporodási formái azok, amelyek esetében az egyes egyedek, illetve ivarsejtjeik a kemotaktikusan ható szignálok segítségével lelik meg egymást. E kemotaktikus "drive" az ivarsejtek összeolvadását meghatározó receptorális elemek mellett a fajspecifitás megőrzésének fontos eleme s szelekciós faktorként biztosítja, hogy mind egyedi szinten a különmemű egyedek, mind ivarsejtek szintjén az eltérő mobilitású ivarsejt-csoportokból a legéletképesebb elemek adhassák tovább a genetikusan őrzött információt a következő generációnak.

8.1 Feromonok

Talán a leggyakrabban említett molekulacsoport, mely – többek között – a különmemű egyedek fajspecifikus egymásratalálását és csoportokon belüli hierarchia kialakulását is elősegíti. A feromonokat, e három helikális domént tartalmazó fehérjéket – bár már egysejtű protozoonok is képesek szintézisükre pl. *Euplotes* ER-1,-2-10 –, magasabb rendűekben erre specializálódott mirigyek termelik, s azok az állati szervezet által termelt különböző váladékok (vizelet, széklet, verejték stb.) közvetítésével kerülnek a külvilágba. Víz vagy levegő közvetítésével jutnak el az őket érzékelő sejtekhez/élőlényekhez, s a kibocsátó szexuális állapotának aktuális voltát jelzik, illetve ú.n. **"alarm" szignálként** hatnak. Összetételük, minőségi vagy mennyiségi eltéréseik révén árnyalt biológiai szignálok hordozói.

E szignálmolekulák érzékelésében ú.n. **feromon receptorok** vesznek részt,

melyek már a törzsfejlődés igen alacsony szintjén (pl. élesztő sejtek) kimutatható, 7-transzmembrán doménból álló képletek. Ezek intracelluláris szignáltranszdukciójára egyrészt a G-protein átvittel jellemző, de leírt a receptorok klatrin nehéz-lánc-függő internalizációja is.

Mint már jeleztük, a feromonok, illetve receptoraik a filogenezis igen alacsony fokán megjelennek. Példa erre az egysejtű eukarióta *Tetrahymena*, melynek szexuálisan szaporodó, konjugáló taxonjainál kimutathatók feromon által befolyásolt folyamatok (migráció, osztódás stb.) A feromon-szignál jól konzervált jellegére utalnak azok a vizsgálatok, melyek két, magasabb rendűekben hatásos feromon, a tricosene és a bornyl-acetát kemotaxisra kifejtett hatásait vizsgálva *Tetrahymenában* az elsőt attraktánsnak, míg az utóbbit repellensnek találták.

A sokat vizsgált modell-sejt a *Saccharomyces cerevisiae* esetében is több, feromonok által vezérelt folyamatra derült eddig fény. A sejtek felszínének borításában N- és O-oligoszaccharidok vesznek részt. Ezek közül döntő fontosságú a központi régió 80–95%-át kitevő **alfa-agglutinin**, mely a sejtek kitapadásában játszik szerepet. Az e molekula szintézisének kódját magába foglaló alfa-agglutinin gén feromonok általi indukálhatósága a fenti molekulák felszíni membránban való megszorodásának előfeltétele. Ennek következménye az e sejtek szaporodásához elengedhetetlen ún. mating nyúlványok, majd a sejt-sejt kontaktusok kialakulása is. Az e kapcsolatok kialakulását követő sejtmag-vándorlás is feromonok által befolyásolt.

Gombák között is megtalálható a kemotaxis feromonok általi szabályozása. *Allomyces macrogynus* esetében a sirenin már 1 pM koncentrációban is képes a hím ivarsejtek migrációját attraktáns módon befolyásolni. (Ugyanezen sejtekre számos kation – H^+ , K^+ , NH_4^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , La^{3+} – repellens módon hat.)

A törzsfa egy magasabb szintjét képviselő *Trichinella spirális* esetében már jól kimutatható a **szex-feromonok** migrációt befolyásoló hatása, s az egyes nemek által termelt feromonok keresztreakciói is jól nyomonkövethetők. E kísérletek során hím és nőnemű egyedek közös, zárt térben való tartása, – mint deszenzibilizáló effektus – után jellegzetes eltérés volt tapasztalható: míg a hím feromonok igen erős repellens hatásúak, a női ivarúak feromonjai

attraktáns hatással vannak a zárt tenyészet egyedeire. További vizsgálatok azt is kimutatták, hogy a fenti zárt tenyésztés deszenzibilizáló hatása sokban függ az együtt lévő egyedek nemi megoszlásától, pontosabban a nemekre jellemző feromonok arányától. Ezek szerint a hím-nőstény vegyes tenyészetben fellelhető hím feromonok felelősek a nőstényekre kifejtett deszenzibilizációért, melyet igazol, hogy a csak nőstény egyedekből álló zárt tenyészetek egyedeinél nem lép fel ez a jelenség, ezekre a nőstényekre a hím feromonok aktiváló hatással vannak.

A feromonok vizsgálatának egyik legrégebben és legintenzívebben kutatott területe a rovarok feromonjainak vizsgálata. Az itt tapasztalható válaszreakciók sokfélesége oly nagy, – s alaptémánktól a kemotaxis, migráció vizsgálatok kérdésétől sokban már annyira eltérő is –, hogy jelen keretek között csupán néhány jellemző adat ismertetésére szorítkozhatunk.

Az e téren alkalmazott vizsgálatok gyakori modelljéül repülő rovarokat választanak. Ezek mozgás, pontosabban repülési jellemzőinek változásai (irány, gyorsaság, minta) jól regisztrálhatók és jellemezhetők. E repülő rovarok mozgása, hasonlóan egy vízi élőlény válszreakcióihoz, a tér mindhárom dimenzióját betöltő jelenség, s így a kiváltó anyag eloszlásától függő komplex mintázatok kialakulása, ezek kommunikációs elemkénti felhasználása figyelhető meg. Fentiek figyelembevételével az alábbi mozgási fő típusok jellemzőek: schemakinezis tropotaxis, klinotaxis, cikk-cakk minta és look-leap minta.

A gyors, másodperces nagyságrendben mérhető válaszütem – hasonlóan más élőlényekhez –, a rovarok feromon indukálta reakcióira is jellemző. A feromonok észlelésében fontos szerepet betöltő szagló receptorok modulálása azonban e szinten igen tartósnak bizonyul, s 1–2 perctől egészen 90 percig érjedő modulálási időkről is beszámol a szakirodalom. Nem csupán a receptorok modulálásának időbeli jellemzői, de a receptorok érzékenysége, illetve specifikitása is igen figyelemreméltó, mint azt többek között ipsenol, ipsdienol és cis-verbenol dózis-spektrumának szélessége is mutatja. A receptorok modulálhatóságának hőfüggése, mely például a hőmérséklet 20°C-ról 26 °C-ra emelkedésével a repülési meredekség

specifikus és nemre – a hímekre – jellemző változásában, csökkenésében testesül meg szintén e válaszreakciók érzékeny voltára utal.

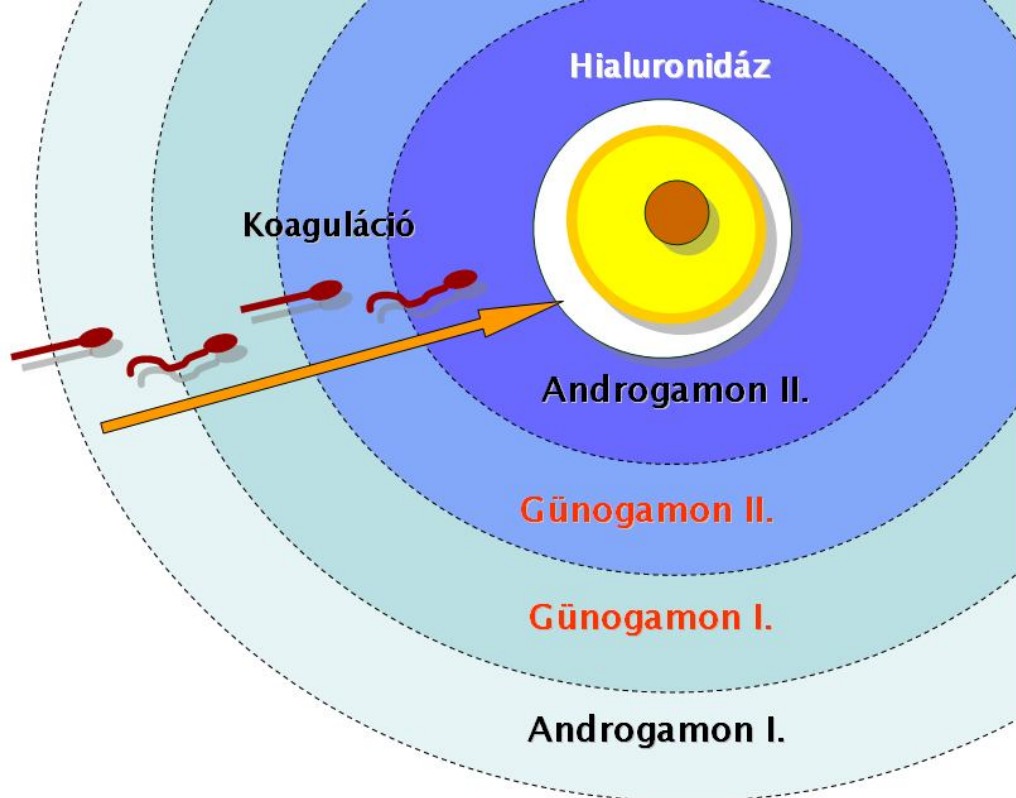
Természetesen nem mellékes a mozgást indukáló feromonhoz való "hozzáférhetőség" sem, jelentős eltérések tapasztalhatók diffúz és kötött feromonok által kiváltott reakciók között.

Rövid áttekintésünkből sem maradhat ki a nem egy fejlett nyugati állam (pl. USA) lakói számára mindennapos gondot okozó, nem repülő faj, a svábbogár, *Platella germanica* mozgás-indukciós vizsgálatainak megemlítése, különös tekintettel arra, hogy e vizsgálatok jelentős részét az ún. rovarcsapdák feltöltéséhez használandó, ideális anyag utáni kutatás motiválja. Ilyen – nem kifejezetten tudományos céllal végzett – kísérletek jelzik, hogy ammónia, metilamin, di-, vagy tri-metilamin hatásai mind eltörpülnek a náluk 1000-szer hatékonyabb 1-dimetilamino-2metil-2propanol derivátum mögött, mely már 10 pM dózisban is aggregáló feromonként hat ezekre a rovarokra. (Kérdés csupán, hogy meddig hat és milyen szelekciós előnyhöz jutnak a nem reagáló mutánsok...)

8.2 Petesejt–hímivarsejt egymásra találása

Magasabb rendűek esetében, bár maga a megtermékenyítés folyamata is – mint már jeleztük –, kémiai szignálok által irányított, a kísérletek jelentős része már nem sejt-szintű, hanem az egyed fiziológiai válaszreakcióinak vizsgálatára, s ezek közül is a szexuális irányultság elemzésére szorítkozik. Kezdjük azonban itt is a sejtszintű folyamatok vizsgálatával.

Magasabb rendűek esetében a hím ivarsejtet is kémiai szignálok vezérlik a petesejt fellelésében. E folyamat során a hím és a női ivarsejtekből attraktáns és repellens (immobilizáló) hatású anyagok szabadulnak fel, melyek optimális hatásukat a petesejttől más-más távolságban fejtik ki (8.1 ábra)



8.1 ábra Gamon-kaszád – melynek során az eltérő eredetű gamonok szakaszosan hatva, a spermiumok mozgásának gátlása és aktiválása révén – egy szelekciós lépéssor beiktatásával segítik elő a petesejt legaktívabb – s így sejtbiológiai-sejtfiziológiai szempontból is legalkalmasabb spermium általi megtermékenyítését

Mint az ábra szemlélteti a petesejttől legtávolabb ható **androgamon I.** a hímivarsejteket immobilizálja, ezzel azok számát növeli. Ettől a tartománytól proximálisan helyezkedik el a **gūnogamon I.** hatásának zónája, melyben az előző rétegben feldúsult spermiumok a női eredetű gamon hatására ismét visszanyerik motilitásukat, s a koncentráció gradiens emelkedésének megfelelően egyre közelebb jutnak a petesejthez. E közelítő mozgás ismételten megszakad, mivel a szintén petesejt eredetű **gūnogamon II.** hatására újra átmeneti immobilizálódás figyelhető meg a petesejt közvetlen közelében. Magát a megtermékenyítést végül a folyamatban ható második spermium eredetű anyag az **androgamon II.** teszi lehetővé, mely nem más, mint a spermium feji, akroszómális részéből felszabaduló hialuronidáz enzim. Ez a spermiumok aktív mozgását indukálja, melyet a petesejtet körülvevő rétegeken (corona radiata és zona pellucida) történő penetráció követ, ebben is alapvető fontosságú a **hialuronidáz** enzim jelenléte.

+

8.2.1 A spermium mozgására ható anyagok

A fenti folyamat szemléletes volta a szakemberek és érdeklődők nagy részét rendszerint olyannyira lenyűgözi, hogy már annak ténye feledésbe kerül – ezt a mechanizmust csupán tüskésbőrűeken sikerült ilyen szépen bemutatni, ember esetében a bizonyítás még várat magára. Kétségtelen azonban, hogy jó okunk van arra, hogy bízzunk a hasonló, sőt a fentinél bonyolultabb szabályozási rendszerek jelenlétére is. Erre utalnak azok a szakirodalmi adatok is (8.1 táblázat), melyek gerinctelen és emlős kísérleti modellekben egyaránt a molekulák széles tárházát mutatják be, mint a spermiumok mozgását indukálni képes anyagokat.

8.1 táblázat A törzsfa különböző szintjein a spermium mozgására ható anyagok

Gerinctelenek		
Molekula	Kísérleti modell	
3,4,7,26-tetrahidroxikolesztán-3, 26-diszulfát (SAAF)	zsákállat	<i>Ciona intestinalis</i>
Dodeca-2,3-diynol	virágállat	<i>Montopora digitata</i>
Resact (SAP-IIA) CVTGAPGCVGGGRL-NH ₂	tengerisün	<i>Arabica punctulata</i>
[Ser ⁵]-speract GFDSGGGVG -NH ₂	tengerisün	<i>Lytechinus pictus</i>
Asterosap GQTQFGVCIARVRQQHQGQDEASIFQAILSQCQS	tengericsillag	<i>Asterias amurensis</i>
SepSAP PIDPGV-NH ₂	tintahal	<i>Sepia officinalis</i>
Allurin (184 AS)	kétéltű	<i>Xenopus laevis</i>
Tryptophan (Trp)	tengeri fülcsiga	<i>Haliotis rufescens</i>
Emlősök		
N-formil peptidek	számos kísérleti modell egér, patkány, kutya, ember	
Atriális natriuretikus peptid (ANP) SLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCNSFRY		
Progeszteron		

RANTES (69 AS)	
Bourgeonal	
3-(4-tert-butil-fenilenil)propanal	
Lyrar	
4-(4-Hidroxi-4-metilpentil)-1-ciklohex-3-enekarboxaldehid	

Mint a fenti táblázatból is jól látható egyszerű aminosavaktól (Trp) oligopeptideken keresztül egészen nagy peptidekig (184 AS) tart csak a peptid típusú ligandumok sora, melyek mellett igen változatos egyéb szerkezetek is jelzik, hogy a jelmolekulák törzsfajlódása során a spermiumokra ható attraktáns anyagok terén sem egy molekula-típus szelektálódott, mint hatásos ligandum, hanem a jelmolekulák széles tárháza képes a spermium mozgásának indukciójára.

Ugyanakkor számos esetben egy biológiai folyamat más-más pontján ható, szerkezetileg is homológiát mutató anyagokkal találkozunk, melyre a kételtű *Xenopus laevis*-ben található allurin jó példa. Ez az anyag magas fokú homológiát mutat az emlősök CRISP szekréciós fehérjéivel, melyek szintén képesek a spermiumhoz kötődni. Még magasabb fokú az allurin homológiája a tesztis specifikus spermatocita proteinnel (TPX-1), mely a spermatociták Sertolli sejtekhez való kitapadását segíti elő, valamint a savas karakterű epididimis szekréciós proteinekkel (AEG), melyek a spermium-petesejt fúzióban játszanak szerepet.

Emberben is több sejt, szövet vagy szerv képes a spermiumok mozgását befolyásoló anyagok képzésére. Ezek közül a legfontosabbak a méh nyakcsatorna (cervicalis mucus), méh, follikuláris folyadék, cumulus sejtek és maga az intakt, meg nem termékenyített petesejt is. Ezek közül a follikuláris folyadék összetételének vizsgálata – annak ciklusfüggő volta is – jelzi talán legjobban, hogy mennyire összetett kérdésről is van szó (8.2 táblázat).

8.2 táblázat Emberi folliculáris folyadék összetétele

Folliculáris folyadék kemotaxisra ható anyagai	
LH	Kallikrein
Progeszteron	Anti-thrombin III.
Adrenalin	Atriális natriuretikus peptid
Oxitocin	1000 Da Hőstabil peptid
Insulin	

8.2.2 Spermiumok száma

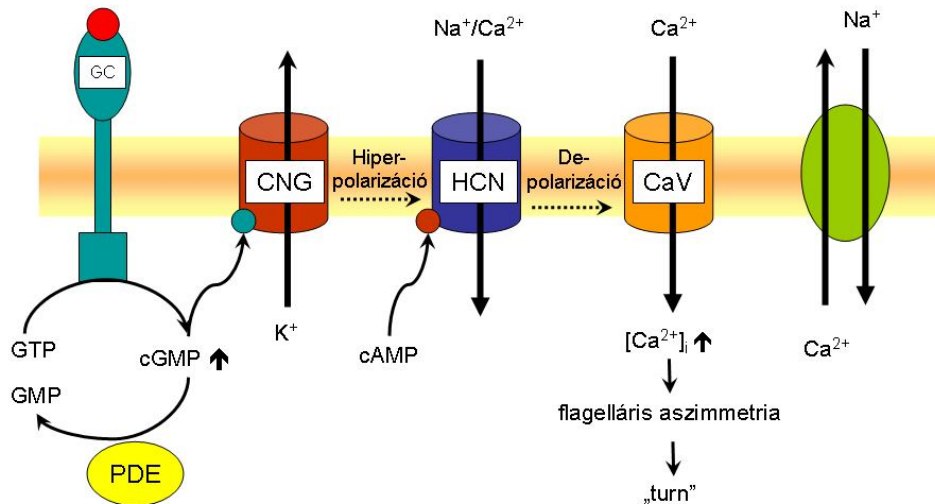
Természetesen a sikeres megtermékenyítést az abban részt vevő spermiumok száma és endogén tényezők sora is befolyásolja. Maguk a spermiumok a férfi nemi szervekben is más-más migrációs aktivitást mutatnak, a here tubuli seminiferi contorti és tubuli seminiferi recti-ben aktív ostoros mozgással haladnak, a tároló funkciót betöltő mellékherében azonban jellemzőbb a sejtek passzív transzportja. A szakirodalom régi (1940), emberi mintákról szóló adatai szerint a spermiumok számára vonatkoztatott fiziológiás adat 100–150 millió sejt/ml (350–525 millió sejt/3,5 ml ejakulátum) volt. Az 1990-es évekre a fenti adatok jelentősen módosultak, több forrás a 60–80 millió sejt/ml-t (170–225 millió sejt/2,8 ml/ejakulátum) is elegendőnek találta a fiziológiás fogamzóképeség kimondásához. Természetesen felvetődik a kérdés, hogyan változhattak viszonylag rövid időn belül ekkorát a normálértékek. A pontos választ senki sem tudja, azonban több tényező magyarázatot adhat az eltérésre, így a scrotum herét hűtő hatásának új öltözékek divatba kerülése miatti csökkenése (ld. szoros farmer nadrág), a dohányzás és stresszel terhelt életvitel, valamint a számos új kemokália megjelenése mind okai lehetnek a drámai csökkenésnek. A **normálérték 40–50%-os csökkenése** felveti a kérdést, hogy ember esetében milyen határérték lehet, amely mellett még biztosítottnak mondható a megtermékenyítés? Szarvasmarha esetében az ejakulátumba 5 milliárd spermium kerül, s kimutatott, hogy ennek már 0,24%-a, tehát kb. 200 millió sejt/ejakulátum is elegendő a biztos

megtermékenyítéshez. (Amennyiben emberre is igaz lenne a fenti arány úgy az 1940-es adatokat fogadva el alapértéknek, 840000–1260000 sejt/ejakulátum adódik legalsó elméleti küszöbnek.)

8.2.3 Spermium mozgására ható endogén tényezők

A spermium mozgását meghatározó endogén tényezők is igen sokfélék és jelentősen befolyásolják a megtermékenyítés sikerét (ld. spermium sejtek szelekciója). Maga a spermium-populáció is erősen heterogén, irodalmi adatok szerint follikuláris folyadékra adott kemotaktikus vagy respiratorikus választ mérve kb. **70% ad csak pozitív reakciót**. Ezt a jelenséget magyarázza, hogy a válaszkészséget a spermiumok kora jelentősen befolyásolja, sem az éretlen sem az előregedett sejtek nem adják a sejtfiziológiai szempontból kielégítő választ. E válasz azonban számos egyéb tényezőtől is függ, ezek közül tekintünk át néhányat az alábbiakban:

- A spermiumokban leírt ***hOR 17-4 receptor/gén*** közeli rokonságot mutat a szaglóhámreceptoraival, jelezve a kemotaxis és a szaglás egy szignalizációs pontról eredő voltát.
- Bár maga a szignalizációs folyamat még sok tekengerisün spermium esetében a membránban található szignalizációs rendszer ligandum általi aktivációja egy felszíni ***membránhoz kötött guanilát cikláz*** aktiválódásával indul (8.2 ábra). Ennek terméke a cGMP, amely K⁺ érzékeny, cGMP által szabályozott inocsatornák (***CNG***) nyitása révén a sejt hiperpolarizációját váltja ki. A cGMP PDE általi lebontásával párhuzamosan a membrán másik ciklikus nukleotid (***cAMP***) által szabályozott csatornája (***HCM***) nyílik meg, melyen Na⁺ és Ca²⁺ áramlik a fokozatosan depolarizálódó sejtbe, majd a depolarizáció teljessé válik a feszültség-függő Ca²⁺ csatornákon beáramló Ca²⁺ hatására. Ez a depolarizált állapot segíti elő a spermium ostor aszimmetrikus csapásmódba váltását, mely a spermiumok úszási pályájának tekervényessé válását idézi elő. A folyamatot a ***Ca²⁺/Na⁺*** kicserélő csatornák repolarizációt elősegítő működése állítja le.



Spermium kemotaxis – Tengerisün (*Arbacia punctulata*)

Forrás: Kaupp et al., Nature Cell Biol. 2006

8.2 ábra Tengerisün spermium kemotaxisának guanilátcikláz–kapcsolt receptor indukcióján alapuló mechanizmusa.

- Az fMLF kemotaxist indukáló hatása nem csak neutrofileken, de az utóbbi néhány év során spermiumokon is bizonyítást nyert. A női genitális rendszerben az **fMLF kettős hatását** bizonyították, egyrészt a follikuláris folyadék összetevőjeként hat a spermiumok kemotaxisára, másrészt a neutrofil grc. aggregációjának indukciója révén a szervrendszerben ciklikusan termelődő salakanyagok lebontását is elősegíti.
- **Intracelluláris Ca^{2+} szignál** tekinthető talán a legszélesebb körben meghatározónak. A kemotaxis indukciója mellett a sejtlégzés, akroszóma reakció, kortikális reakció és adhézión lépések mind érzékenyen függenek ettől az indextől.
- A spermiumok másik legfontosabb komponense a **nitrogén oxid szintáz (NOS)**, mely L-arginin kiindulási anyagból **nitrogén monoxid (NO)** kialakítását végzi. Spermiumban a NOS fő aktivátora az akroszómális reakció, de a petesejt is a környezetbe juttat némi NOS-t. A termelődő NO a fentiekben már jelzett Ca^{2+} szint emelkedését váltja ki, mely a spermiumok mozgásának egyik fő induktora, egyben feedback mechanizmusa segítségével a NOS további aktiválását is elősegíti.

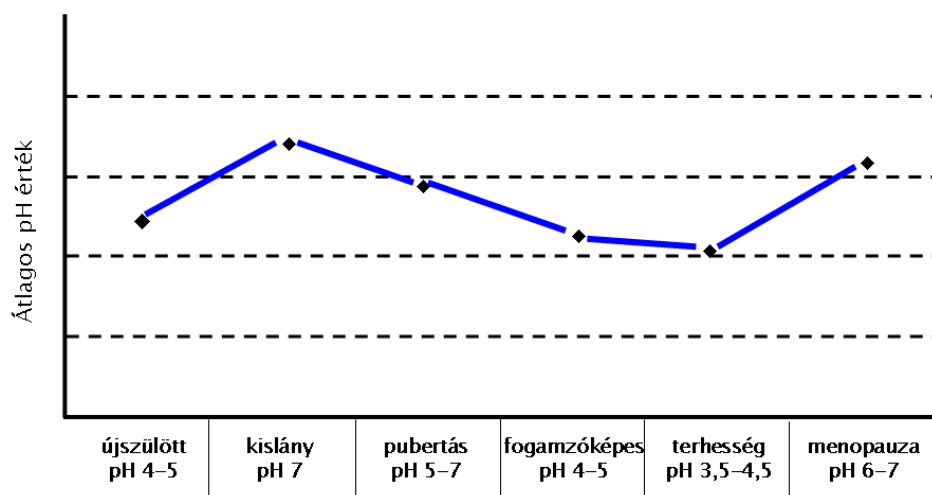
- A spermium kemotaxis további szabályozói az ostor membránjához asszociáltan működő **protein karboxi-metiláz** és a foszfolipidek metilációját csökkentő enzimrendszer. Utóbbi a foszfolipidek 40%-os metiláció csökkenését is eredményezheti a megtermékenyítést megelőző kemotaxis során.
- Fentiek mellett protein kináz gátlók és cAMP-függő foszforilációs rendszerek is a spermium kemotaktikus aktivitásának szabályozó elemei.

8.2.4 Megtermékenyítés

8.2.4.1 A spermium útja a női ivarszervben

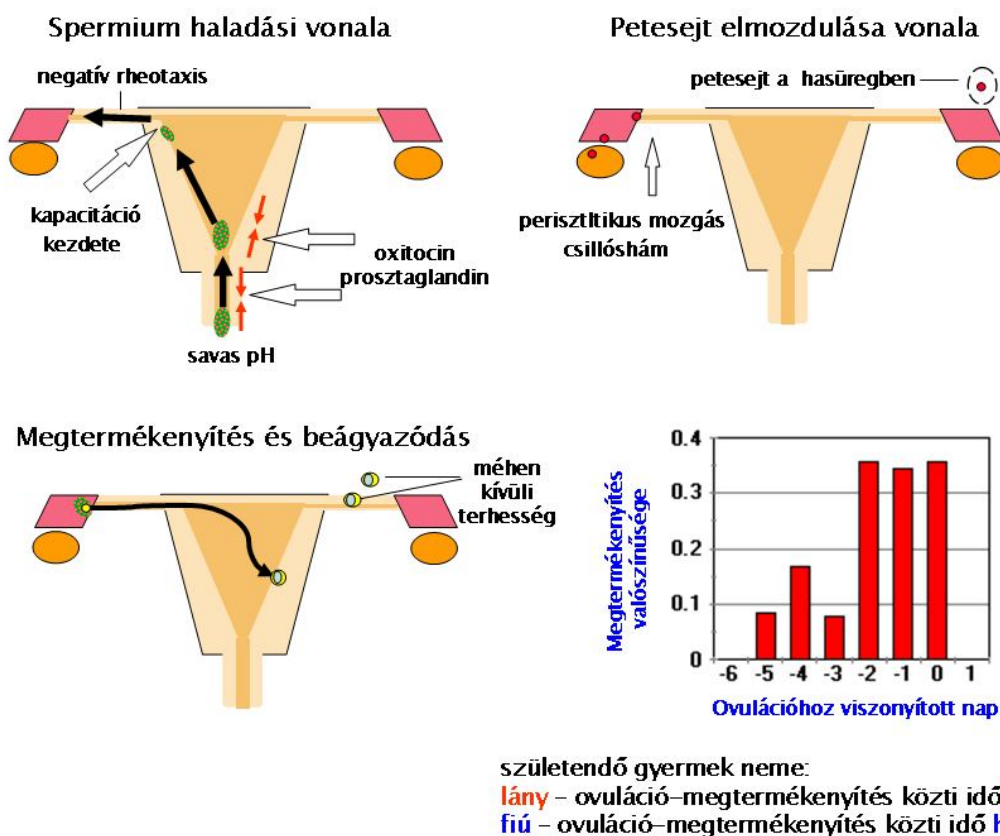
A megtermékenyítés folyamata – a kemotaxis szempontjából is – számos összehangolt lépés eredőjének tekinthető. A spermiumok mozgását befolyásoló talán legegyszerűbb tényező a **pH-k váltakozása**, melyek már a here (lúgos) – mellékhere (savas) útvonal esetében is hatással vannak a spermiumok mozgására. Az ejakulátum spermiumai a hüvely savas (pH 4–5) környezetébe kerülnek (8.3 ábra), melynek pH értéke életkortól, de a menstruációs ciklus során is változó (ld. ovulációkor a pH alkalikus). Maga a hüvely savas pH-ja a hüvely mikrobiológiai flórájának egyensúlyát kialakító faktorként alakult ki. Kétségtelen azonban, hogy a megtermékenyítésre – annak gerinces evolúciós távlatait tekintve –, szintén hatással van. Egyes kutatók szerint vadon élő állatoknál a savas pH a hüvelybe bekerült ejakulátum „kicsapása” révén, mintegy helyhez köti a spermiumokat, biztosítva ezáltal a lehetőséget arra, hogy az állat egy későbbi nyugvó fázisban az újból elfolyósodó váladékkal a méhbe kerülhessenek. A savas pH-jú környezet a spermiumok életkilátásait jelentősen limitálja is. Egyes adatok szerint az Y vagy X kromoszómát tartalmazó sejtek között is eltérés van, az Y-t tartalmazó spermiumok lényegesen érzékenyebbek a savas környezetre. Fentiek miatt is fontosak az ejakulátumban a prosztata, az ondóhólyag és a Cowper mirigyek váladékai, ezek lúgos karakterükből adódóan a spermiumok számára kedvezőbb környezet kialakításához

járulnak hozzá.



8.3 ábra A hüvely pH értékei a nő életének különböző szakaszaiban

A spermiumok mozgását a következő lépésben a méh nyakcsatornájának bonyolult kémiai összetétele befolyásolja. Ezt a csatornát kitöltő nagy viszkozitású folyadékból számos a kemotaxisra ható anyagot mutattak ki, közülük különösen fontosnak tűnnek az **MCP-1**, **MCP-3**, **IL-1**, valamint **MMP-ok**. A csatornán való átjutást azonban nem csak kémiai tényezők befolyásolják. A női szervezet oxitocin és prosztaglandin szintjének emelkedése a méh izomzatának összehúzódását váltják ki, mely a nyakcsatorna közelében lévő spermiumokra közvetlen mechanikus szívó hatást gyakorol (8.4 ábra).



8.4 ábra A megtermékenyítést előkészítő lépések és a megtermékenyítés folyamata emberben.

A méh üregébe bejutott spermiumok vándorlásának iránya a petevezető méhbe történő beszájadási pontja felé mutat. A nyakcsatornán történt átlépéssel megkezdődött és itt folytatódik az a lépéssor, melynek eredménye **spermiumok minőségi szelekciójukkal kísért folyamatos számbeli csökkenése**. Még a méh üregében történik meg a megtermékenyítés szempontjából kulcsfontosságú lépés, a **kapacitáció**. Magát a lépést a spermium– méh endotél közötti közvetlen kapcsolat indukálja. Ennek hatására a spermiumok felszínéről leválnak az ú.n. antikapacitációs faktorok (pl. glikoproteinek), aminek egyenes következménye, hogy a sejtek hiperaktív mozgásállapotba kerülnek, oxigén felhasználásuk nő. A kapacitáció maximális fokát akkor éri el, amikor a sejtek a follikuláris folyadék komponenseivel (ld. 8.2 táblázat) találkoznak. A spermiumok ezt követően már a petevezetőben haladnak, mozgásukra az ú.n. **negatív rheotaxis** jellemző, tehát a petevezető falát burkoló csillós hám

csillóinak csapásirányával és az ebből adódó folyadékfilm áramlási irányával is szemben úsznak, mintegy ez az ellenáramú környezet indukálja maximális úszási aktivitásukat.

Egyes adatok a kémiai anyagok alkotta gradiensek mellett a méh-petevezető-méhkürt tengelyében mérhető hőmérséklet különbséget is kiemelik, mint a spermiumok mozgását pozitívan befolyásoló tényezőt. A kb. 1–2 °C-nyi hőmérséklet különbség kb. 0,1 °C/cm termogradienséről már több modell (nyúl, sertés) esetében sikerült bebizonyítani *termotaxist* kiváltó képességét és emberi esetében is feltételezhető a spermiumok hasonló hőérzékenysége.

Maga a megtermékenyítés – a petesejt passzív mozgásából adódóan –, a petevezető-méhkürt találkozási pont környékén történik meg a leggyakrabban. Ezt követően, a már csak passzív mozgásra képes zigótát a folyadékfilm mozgása juttatja le a méh üregébe, ahol a hormonális hatások által előkészített nyálkahártyába ágyazódik be. A leírt, élettaninak tekinthető folyamat mellett – viszonylag ritkán –, a petesejt nem a méhkürt-petevezető útvonalon halad, hanem a kismedence terébe jut, ahol a spermiumok szintén elérhetik. Ennek megtermékenyítése esetében a közeli nyálkahártyába történik a beágyazódás (ld. méhen kívüli terhesség). Ez egyrészt eleve nem tekinthető ekvivalensnek a méh nyálkahártyájával, másrészt a magzat olyan létfontosságú szerveket (pl. belek) és hasi nagyereket érinthet fejlődése során, melyek károsodása az életet veszélyeztető állapotok kialakulásához is vezethet.

8.2.4.2 Spermium–petesejt interakciója

A megtermékenyítés folyamatát természetesen a sejtek szintjén, s a mozgás jelenséget vizsgálva különösen a spermium szempontjából is tárgyalnunk kell.

Magát a spermium jól ismert (fej–nyak–ostor) felépítését itt nem tárgyaljuk, fontosnak ítéljük azonban a Golgiból differenciálódó *akroszóma*, mint a hialuronidáz (hyase), proteázok, foszfatázok és az ú.n. corona penetráló enzimeket kristályos állapotban tároló képlet megemlítését. E sejt másik érdekes tulajdonsága, hogy a fej ekvatoriális zónájában, övszerűen

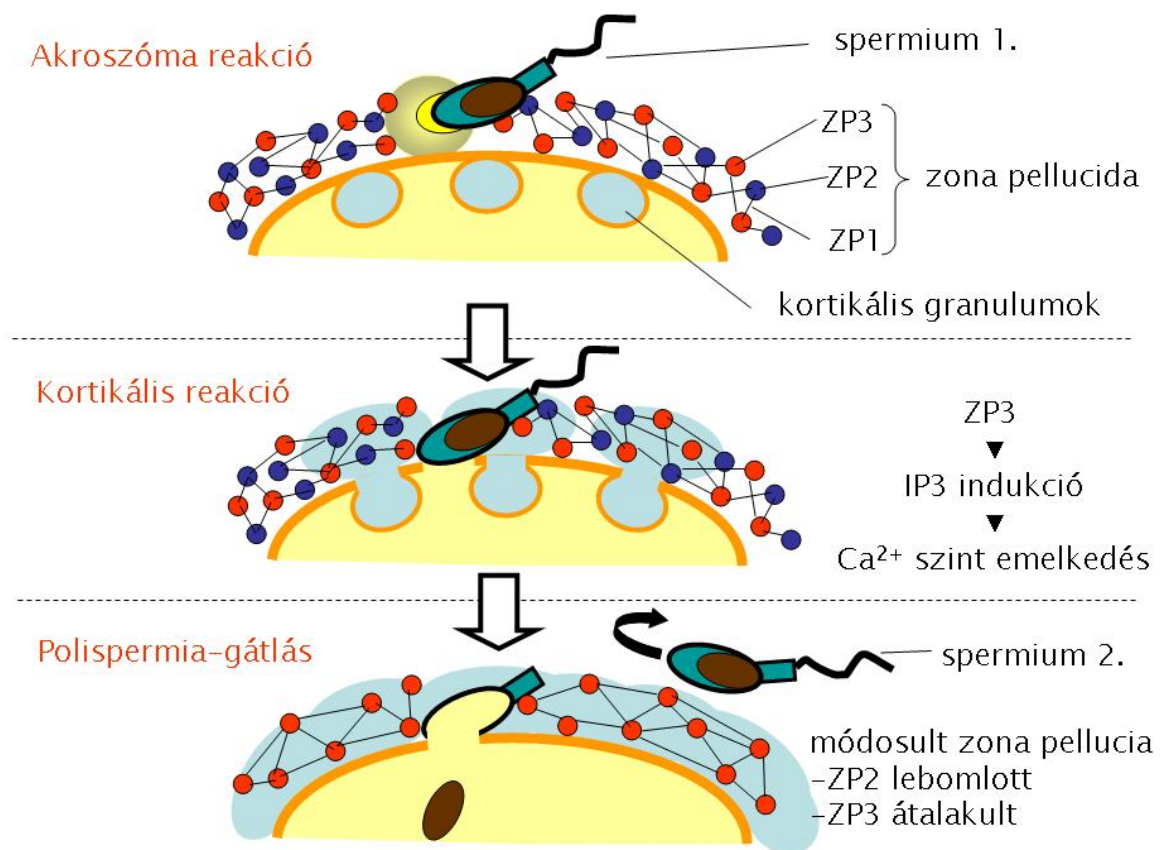
helyezkednek el receptorai, melyek a petesejt felismerésében segítik. A spermiumoknak a petesejt közelébe érve számos rétegen (kocsonyás burrok, corona radiata, zona pellucia, petesejt membrán) kell keresztülhatolni. A folyamat kezdeti szakaszában az akroszómából felszabaduló enzimek segítik az előrehaladásban. A kocsonyás rétegben a hialuronidáz **PH-20 hyase** típusú enzime segíti az előrejutásban, az ez alatti corona radiatát elérve akroszómális proteázok bontják a réteg sejtjeit. Az akroszóma reakció befejező lépése segíti a spermiumot a zona pellucida elérésében (8.5 ábra). Ez a három fő komponensből (**ZP1, ZP2, ZP3**) felépülő réteg, melyek közül a ZP2 és ZP3 tekinthetők szerkezeti és receptor sajátosságot egyaránt hordozó proteineknek. A folyamatban több, spermium eredetű enzim is rész vesz, így (i) a galaktozil traszferáz a ZP3-hoz történő fajspecifikus adhézió eleme; (ii) a receptor tirozin kináz az akroszómális reakció által triggerelt enzim; (iii) a proakrozin ZP2-vel kapcsolt enzim, mely akrozinra alakulása után a zona pellucida oldásában vesz részt.

A spermium zona pellucida elemeivel történő kapcsolódása, IP3 indukciója és a következményes Ca^{2+} -szint emelkedés eredményezi az ún. **kortikális reakciót**. Ekkor a petesejt felszíni membránja alatti kortikális granulumok szénhidrátbontó enzimeit a sejt körüli térbe kerülnek, hatásukra a ZP3 szerkezete megváltozik, a ZP2 lebomlik és a petesejtet egy lényegesen rigidebb réteg veszi körül.

E lépéssorral szinkron történik meg a spermium ekvatoriális zónáján lévő receptorok és a petesejt membrán molekuláris elemeinek összekapcsolódása, melyben a petesejt szelektinjei és integrinjei, valamint a spermium membrán **PH-30** nak nevezett komplexe (dizintegrin – RGD, TDE; virális fúziós protein) vesznek részt. A két membrán fúziója révén a spermium feji részéből a petesejt citoplazmájába vándorol a kifejezetten denz állapotú sejtmag, míg egyéb elemek nem követik (amennyiben ez mégis megtörténne – ld. nyaki mitokondriumok – akkor azok kilökődnek).

A fent ismertetett reakciósor egyik utolsó elemeként a zona pellucida megkeményedése mellett, kalcium-függő transzport során víz kerül a megtermékenyített petesejt és a zona pellucia rétege közé – ezáltal többszörösen is lehetetlenné válik a további spermiumok általi

megtermékenyítés (*polispermia-gátlás*).



8.5 ábra Megtermékenyítés – akroszóma reakció, kortikális reakció és polispermia-gátlás

8.2.5 A megtermékenyítés és a nem tervezhetősége

A fenti folyamat áttekintése során vetődik fel gyakran a kérdés, a spermium mozgásának ismeretében tervezhető-e a megtermékenyítés, illetve milyen biztonsággal jósolható meg az embrió neme? (Itt a természetes úton történő teherbeesés és nem az in vitro fertilizáció –IVF – esélyeiről beszélünk.) Mint azt a 8.4 ábránkon is jeleztük, a megtermékenyítés valószínűsége szoros összefüggésben van az **ovuláció napjának beazonosíthatóságával** (ld. hőmérő-módszer, LH-kit vizelet vagy nyál), valamint a petesejt és a hímivarsejtek női nemi traktusban megtermékenyíthető/megtermékenyítő képes voltával. Mivel a petesejt csak 12–24 óráig megtermékenyíthető, de a hímivarsejtek 48 óráig megtermékenyítő képesek – az ovulációt megelőző 24–48 óra tűnik a legkedvezőbbnek (hozzátéve, hogy mind a petesejt, mind

a hímivarsejt esetében a jelzett határértékeknel **lényegesen szélesebb időszávról is** beszámol a szakirodalom!) Az embrió nemének jóslása esetében is több tényezőt kell figyelembe vennünk. Ideális esetben a petesejt már „várja” a hímivarsejteket, s azok közül a leggyorsabb, egyben sejtbiológiai szempontból is a „legegészségesebb” érkezik elsőként, tehát ez fog megtermékenyíteni. Az Y és X kromoszómák közötti jelentős méretbeli eltérés azt eredményezi, hogy a kisebb Y kromoszómát tartalmazó spermiumok gyorsabban haladnak, ebből következően statisztikusan és a valóságban is **több fiú fogan, mint lány** (elsődleges ivararány: ffi 170/ nő 100). A születési statisztikák azonban már nem ezt az arányt mutatják (másodlagos ivararány: ffi 106/nő 100), s arra engednek következtetni, hogy a hím neműek ugyan többen fogannak, de **biológiai ellenálló képességük** (pl. stressz-el szembeni védekező mechanizmusok) az intrauterin élet során lényegesen gyengébb, mint a nőneműeké. (Ismerve az ivararány későbbi életszakaszokra számított értékeit, a nők fent említett biológiai rátermettsége csak még fokozottan igazolódik.)

8.3 Kemotaxisról a viselkedésig

8.3.1 Feromonok hatásai emlős állat-modelleken

A feromonok fiziológiai hatásait vizsgálva mind emlős, mind alsóbb rendű modellek esetében sok tekintetben még olyan megfigyelésekről számol be a szakirodalom, melyek pontos okát nem tudjuk. Kétségtelen, hogy már egysejtűekben kimutatható e szignálmolekulák sejtmozgásra és egyéb sejtélettani folyamatra kifejtett hatása. Az *Euplotes raikovi* feromonojaival (Er-1 és Er-2) egy másik csillós egysejtűn, *Tetrahymena pyriformis*on végzett kísérletek különös érdekessége, hogy az egyébként fajspecifikus hatásúnak leírt feromon az evolúció e szintjén még keresztreakciókat mutat, tehát az *Euplotes* feromonjai – molekulaszervezettől függően – a kemotaxis indukálására és gátlására is képesek a *Tetrahymena* csillós modellen. Az alábbiakban emlősön végzett kísérletek eredményeiből említünk néhányat részletesebben.

Az egereken végzett kísérletek eredményei számos érdekes, sok esetben emberre is adaptálható adattal gazdagították e kérdéskör anyagát. Ilyenek voltak azok a vizsgálatok, melyekben nőstény és hím egereket teljesen izoláltan tartva azt tapasztalták, hogy e fiziológiástól eltérő körülmények között a nőstényeknél az **ösztusz gátlása** (anösztusz) alakult ki (az ösztusz a menstruációs ciklussal nem összekeverendő, számos emlős állatban megtalálható, periodikusan ismétlődő szakasz, amikor az állatok szexuálisan aktívak és megtermékenyíthetők is egyben). E fiziológiásnak nem mondható állapot azonban felfüggeszthető volt az izoláció felfüggesztésével és a nőstényeknek hím egyedekkel való közös tartásával. Ekkor kb. 5 napig tartó érzékeny periódus alakult ki, mely alatt a nőstény egyedek jelentős száma került az ösztusz állapotába, jelezve, hogy ugyan a hím feromonok hiánya, illetve a nőstények által termelt feromonok feldúsulása mintegy "takarékra állítja" a szervezet megfelelő folyamatait, de a kellő szignálmolekulák ismételt megjelenése specifikusan képes indukálni e rendszer működését. (A vázolt kapcsolat biológiai ökonómiáját jellemzi, hogy párzás után lévő állatok esetében már nem figyelhető meg a fenti szenzibilizálódás.)

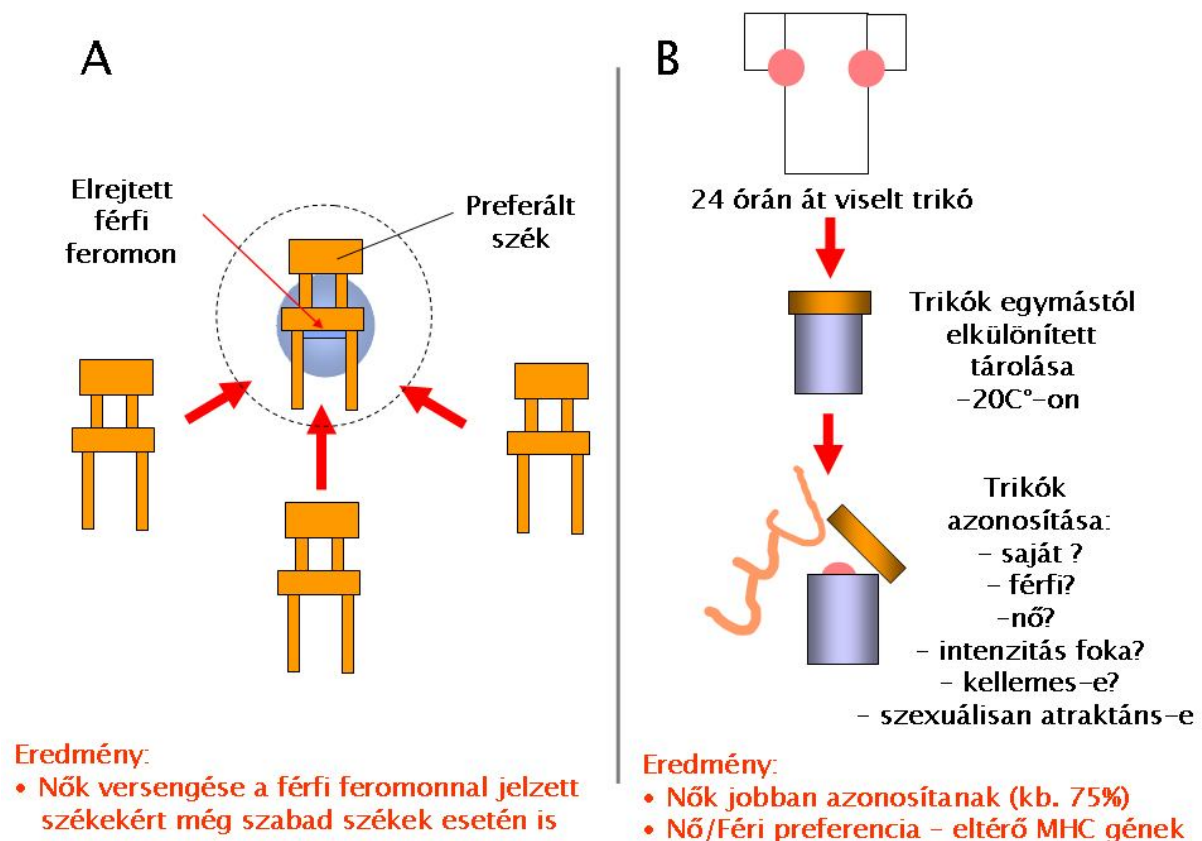
Egyes, a **hisztokompatibilitási markereket** vizsgáló kísérletek adatai jelzik, hogy a feromon-preferencia a markerek által megszabott, öröklődő tulajdonság, s egerek esetében a hím-nőstény preferenciát vizsgálva az H2 gének azonosságát feltételezi. Az egerek megtermékenyíthetőségének fenti, feromonok általi befolyásoltsága, s a H2 egyezések mellett kimutatott, hogy csupán a genetikailag idegennek tekinthető hímek vizeletében található feromonok képesek az ösztusz kiváltására, ezáltal is biztosítva egy kedvező genetikai jelleg, a **heterozigócia** fokának emelését a következő generációban. E tény arra utal, hogy a feromonok által kialakított válaszreakciók sora nem csupán "igen-nem" válaszok adását teszi lehetővé, de a reakciók hátterében a faj fennmaradása érdekében ható fontos faktorok is felfedezhetők.

8.3.2 Emberi viselkedés és a feromonok

Végül e kérdéskörbe tartozik a mozgást már az individuum szintjén, sőt még afeletti szinten magába foglaló kérdéskör tárgyalása is: mennyiben képesek e

feromonok az emberi viselkedés befolyásolására? Természetesen erre kimerítő választ itt nem adhatunk, de úgy érezzük, hogy néhány példa jól szemlélteti a filogenetikailag mélyen gyökerező, magatartást szabályozó szignalizációs szisztéma hatásait emberben (8.6 ábra).

Egyik példánk a szakirodalomban a „*harc a székekért*” nevet viseli, s egy számos variációban megismételt kísérletről szól. Ebben egy terem adott székeit androsztenon (5alfa-androszt-16-én-3-on) emlős hím feromonnal kezelték. A nőkből álló kísérleti csoport tagjai rövid előadások meghallgatását követő szünetek után egyre kevesebb széket találtak a teremben. A székhány azonban csak látszólagos volt, annyi szék a kísérlet befejezéséig maradt a teremben, hogy mindenki leülhetett volna, azonban komoly viták generálódtak a feromonnal jelzett székek birtoklásáért, mely jelezte, hogy a nem is tudatosuló kémiai szignálok milyen mértékben képesek viselkedésünk befolyásolására.



8.6 ábra Emberi feromonok viselkedést meghatározó szerepe. A - férfi feromonnal jelzett székek nők általi preferenciája; B - „T-shirt”-teszt, melyben a feromonok irányította 'saját/idegen', 'férfi/nő' azonosítását, illetve a feromonok szexuális atraktáns jellegét vizsgálták.

A másik kísérlet, mely a „*T-shirt test*” nevet kapta a nemzetközi szakirodalomban a feromonok alapján történő *személyazonosítás* vizsgálatát tűzte ki célul. Ennek keretében nagy számú egyetemi hallgatót kértek meg arra, hogy 24 vagy 48 órán át viseljenek egy bizonyos trikót, melyek így jelentős mennyiségű izzadság útján ürített feromonnal lettek átítva. A trikók szakszerű tárolása után, minden vizsgált személynek 8–8 trikóból vett szagminta alapján azonosítania kellett a saját trikóját, a nőket és férfiakat, valamint a számára kedvező vagy taszító illatokat és az intenzív és gyenge illatokat is. Ezek mellett nyilatkozniuk kellett a vizsgált személyeknek a mintákról, hogy melyek a szexuális szempontból attraktáns vagy éppen repellens szagok.

A kísérletek kimutatták, hogy a *nők egyértelműen érzékenyebb* szagló receptorokkal rendelkeznek mint a férfiak. Egy elvégzett MHC vizsgálat eredményeivel összevetve az eredményeket a nő/férfi preferencia viszonylatában *eltérő MHC genetikai profilú egyének preferenciája* volt megfigyelhető.

Fenti vizsgálatok egyértelműen jelzik, hogy bár az ember szaglásának eltompulása a környezeti szennyező anyagok stb. hatására jelentősnek mondható, a feromon rendszer igen alacsony koncentráción kifejtett hatásainak érzékelésére az ember még mindig alkalmas, kémiai szignálok tömege, tudatosulás nélkül befolyásolja viselkedésünket. Ennek felismerése és figyelembe vétele mindennapi életünk és boldogságunk szempontából sem közömbös, különösen, ha azokra a vizsgálatokra gondolunk, melyek együtt élő és elvált házaspárok esetében elemezték a számukra kedvező és taszító szagingereket. A fentiek alapján talán már nem is megdöbbenő eredmény szerint az együtt élők tolerálták vagy preferálták ugyanazokat a szagokat, míg az elváltak esetében igen magas volt az eltérés vagy az egymás szagingereinek elutasítása.

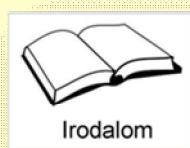
Mindezek alapján jó okunk van bízni abban, hogy a vizsgálatok adatainak ismertetése és mind több tudományos adattal való kiegészítés eredményeként a közeljövőben a feromonokra már nem csak, mint hatásos rovar-repellens anyagokra tekintünk majd, de mint sokak életét közvetlenül

is boldogabbá tevő tudományos iránymutató indexre is.



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26843/>

http://embryology.med.unsw.edu.au/Science/ANAT2341lab02_3.htm



1. Bahat, A., Eisenbach, M., Tur-Kaspa, I. Perioovulatory increase in temperature difference within the rabbit oviduct. *Hum. Reprod.* 20, 2118–2121 (2005).
2. Bahat, A., Tur-Kaspa, I., Gakamsky, A., Giojalas, L.C., Breitbart, H., Eisenbach, M. Thermotaxis of mammalian sperm cells: A potential navigation mechanism in the female genital tract. *Nature Med.* 9, 149–150 (2003).
3. Branscomb, A., Seger, J., White, R.L. Evolution of odorant receptors expressed in mammalian testes. *Genetics* 156, 785–797 (2000).
4. Di Giuseppe, G., Erra, F., Dini, F., Alimenti, C., Vallesi, A., Pedrini, B., Wüthrich, K., Luporini, P. Antarctic and Arctic populations of the ciliate *Euplotes nobilii* show common pheromone-mediated cell-cell signaling and cross-mating. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 108, 3181–3186 (2011).
5. Kaupp, U.B., Hildebrand, E., Weyand, I. Sperm chemotaxis in marine invertebrates – molecules and mechanism. *J. Cell. Physiol.* 208, 487–494 (2006).
6. Kaupp, U.B., Solzin, J., Hildebrand, E., Brown, J.E., Helbig, A., Hagen, V., Beyermann, M., Pampaloni, F., Weyand, I. The signal flow and motor response controlling chemotaxis of sea urchin sperm. *Nature Cell Biol.* 5, 109–117 (2003).
7. Kohidai, L., Gal, G., Banchetti, R. Interspecific effect of Er-1 and Er-2 *Euplotes* pheromones in *Tetrahymena*. *Acta Zool. Sin.* 52, 1125–1132 (2007).
8. Luporini, P., Miceli, C., Ortenzi, C., Vallesi, A. Ciliate pheromones. *Prog. Mol. Subcell. Biol.* 17, 80–104 (1996).
9. Motosugi, N., Dietrich, J.E., Polanski, Z., Solter, D., Hiiragi, T. Space asymmetry directs preferential sperm entry in the absence of polarity in the mouse oocyte. *PLoS Biol* 4, e135 (2006).
10. Revelli, A., Plane, L.D., Casano, S., Molinari, E., Massobrio, M., Rinaudo, P. Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics. *Repr. Biol. Endocrinol.* 7, 40 (2009)

11. Vallesi, A., Giuli, G., Ghiara, P., Scapigliati, G., Luporini, P. Structure–function relationships of pheromones of the ciliate *Euplotes raikovi* with mammalian growth factors: cross–reactivity between Er–1 and interleukin–2 systems. *Exp. Cell Res.* 241, 253–259 (1998).
12. Vanderhaeghen, P., Schurmans, S., Vassart, G., Parmentier, M. Specific repertoire of olfactory receptor genes in the male germ cells of several mammalian species *Genomics*, 39, 239–246 (1997)
13. Wedekind, C., Seebeck, T., Bettens, F., Paepke, A.J. MHC–dependent preferences in humans. *Proc. Royal Soc. London* 260, 245–49. (1995).
14. Yoshida, M, Yoshida, K. Sperm chemotaxis and regulation of flagellar movement by Ca^{2+} *Mol. Hum. Reprod.* 17, 457–465 (2011).

Zárszó

Végére érve a sejtek migrációjáról szóló rövid, áttekintő munkának remélem, hogy sikerült áttekinteni a sejtbiológia, kórtan és klinikum számára egyaránt kitüntetett fontosságú problémákat érintő terület legfontosabb kérdéseit és azokra a modern szakirodalom által leginkább elfogadott válaszokat megadni. Őszintén remélem, hogy az egyes témák esetében is több száz szakirodalmi hivatkozás közül sikerült azokat a témakört legjobban reprezentálókat ajánlani az Olvasónak, melyek olvasása alapján eljut a többi releváns irodalomhoz, mint ahogy bízom abban is, hogy az egyes témákhoz csatolt internetes hivatkozások felkeresése segítségével, élővé és élvezetessé vált a könyv olvasása.

Mint ahogyan azt az Olvasó is tapasztalhatta, a kemotaxis mérésének már inkább gyakorlati kérdéskörére ebben a kötetben már nem került sor. A kérdés azonban megkerülhetetlen, hiszen csak megbízható, adekvát mérések alapján lehet jó kísérleti eredményekhez jutni és a jelen kötet elméleti eredményei is ilyen kísérletek kiértékelésén nyugszanak. Ezekre a technikai jellegű kérdésekre az Olvasó már a jelen kötetrel együtt megjelenő *A kemotaxis mérése egysejtűekben és magasabb rendű szervezetekben* című kötetben talál válaszokat.

A szerző

Táblázatok jegyzéke

- 3.1 Sejtek főbb mozgásformái és az azokat kiváltó hatások
- 3.2 Intermedier filamentumok és jellemző szöveti fellelési helyeik
- 3.3 Integrinek és ECM partner molekuláik
- 3.4 Neutrofil granulociták IL-8 indukciója
- 4.1 Flagelláris proteinek főbb típusai, fellelési helyük, funkcióik és az ismert szerkezeti homológiák
- 5.1 Néhány, a gyulladás kialakulása szempontjából fontos sejttípus kemotaxin termelése
- 6.1 Kemokin alosztályok hivatalos és hagyományos nevei emberben
- 6.2 Kemokin alosztályok és az azokhoz tartozó kemokinek mérete emberben
- 6.3 CXC és CC kemokinekben leírt homológiák (h-h = humán-humán eredetű molekulákra számítva)
- 6.4 Kemokineket kódoló gének emberben
- 6.5 Az egyes kemokinek termelésében kiemelt jelentőséggel bíró szervek – szövetek, illetve sejtcsoportok
- 6.6 Egyes kemokin alosztályok termelésében kiemelt fontosságú sejtcsoportok az emberi szervezetben
- 6.7 Kemokinek célsejtspecifitása emberben
- 6.8 CXC és CC kemokinek célsejtjei és hatásaik az egyes sejtekre
- 6.9 Kemokin-receptorok ligand-specifitása és fellelési helyeik emberben
- 6.10 Kemokinek hatása biológiailag aktív anyagok szintézisére, illetve felszabadulására leukocitákban
- 6.11 Vírusok által indukált, klinikai jelentőséggel bíró kemokin-mimikrik
- 8.1 A törzsfa különböző szintjein a spermium mozgására ható anyagok
- 8.2 Emberi follikuláris folyadék összetétele

Ábrák jegyzéke

- 2.1 Aminosavak kemotaktikus aktivitása és földi megjelenésük közti összefüggés (*Tetrahymena pyriformis* GL)
- 3.1 A sejtmigráció kutatásának meghatározó alakjai
- 3.2 A fluid fázisú gradiens által irányított, illetve nem befolyásolt két fő migráció típus – a kemotaxis és kemokinezis összehasonlítása
- 3.3 Kötött fázisú gradiens irányába történő elmozdulás – haptotaxis
- 3.4 Elhalt sejtéből felszabaduló anyagok pozitív nekrotikus hatása a környező sejtekre
- 3.5 Kollektív migráció – (i) a sejtek összekapcsolásában részt vevő adhéziós molekulák és junctionális kapcsolatok szerepe; (ii) az együtt mozgó sejtek migrációját „sínező” ECM vázelemek jelentősége
- 3.6 A sejt váz három fő komponensének jellegzetes elhelyezkedése az eukarióta sejtben
- 3.7 A mikrofilamentáris rendszert alkotó aktin polimerizációjának és depolimerizációjának folyamata
- 3.8 Mikrotubulus kialakulása alegységeiből
- 3.9 Az intermedier filamentumok felépülése (A) és szerkezeti variánsaik
- 3.10 A sejt váz fő elemeinek mechanikai tulajdonságai – Az intermedier filamentumok pufferelő hatása
- 3.11 A sejt váz alkotó elemeinek motorproteinek által mediált kölcsönhatásai
- 3.12 Aktinkötő fehérjék fő típusai
- 3.13 Aktin hosszát szabályozó fehérjék
- 3.14 Motorproteinek működési ciklusa és annak ATP igénye
- 3.15 Miozin II. szerkezetének átalakulása, melyet a könnyű láncok foszforilációja idéz elő
- 3.16 Kinezin „lépegetése” a mikrotubulus protofilamentum tubulin

heterodimerjei mentén.

- 3.17 Sejt-sejt és sejt-ECM kapcsolatok általános szerkezeti alapjai
- 3.18 A fokális kontaktust alkotó molekuláris rétegek összetétele
- 3.19 Ciklózis molekuláris háttere növényi sejtben.
- 3.20 Az amőboid mozgás mechanizmusa és az állábképzés különböző formái
- 3.21 Mechanikai hatást kifejteni képes F-aktin-membrán kapcsolatok.
- 3.22 Ostor- és csilló-csapás összehasonlítása
- 3.23 Csilló/ostor felépítésében részt vevő főbb fehérjék és azok elhelyezkedése; dinein-karok térbeli helyzete (jobb o. -i panel)
- 3.24 Csillók működése – A dinein motorproteinek szerepét tisztázó kísérlet fő lépései
- 3.25 Centriolum – csilló bazális test közötti kapcsolat primer csilló esetében. (MC – anya-centriolum, DC – leány-centriolum, PCM – pericentrioláris mátrix)
- 3.26 Az ostor-, illetve csillócsapás főbb változatai.
- 3.27 Elektomos erőter hatása aktin polimerizációjára és polaritására
- 3.28 A sejtek migrációját kiváltó, receptor-mediált folyamatok főbb intracelluláris effektor mechanizmusai.
- 3.29 *Dictyostelium discoideum* morfológiájának és intracelluláris aktin elrendeződésének változásai cAMP hatására. Fázisok: (i) nyugvó állapot; (ii) körkörös kitapadás – erős, átmeneti aktin polimerizáltsági fok; (iii) lekerekedés és intracelluláris aktin reorganizáció; (iv) álláb képződés – erős, elhúzódó aktin polimerizáltsági fok
- 3.30 A *Dictyostelium discoideum* kemotaxist eredményező intracelluláris szignalizációs mechanizmusai
- 3.31 *Saccharomyces cerevisiae* szex-feromon által indukált helyzetváltoztatását kiváltó intracelluláris folyamatsor
- 4.1 Baktériumok és eukarióta sejtek eltérő mozgás-mintázatának sejtméret-függése (bal oldali panel); baktériumok kemotaxisát leíró matematikai modellek értelmezése (jobb oldali modell).

- 4.2 Baktérium ostor "bazális test"-tének felépítése
- 4.3 Baktérium ostor forgása és a bazális test protoncsatornáinak működése között kapcsolat
- 4.4 A baktérium ostorának forgásiránya és a sejt úszási mintázata közötti összefüggés.
- 4.5 A környezet oldott anyagai koncentrációjának hatása a baktérium mozgáselemeinek arányára
- 4.6 Baktérium periplazmatikus terének szubsztrátkötő fehérjéi, illetve azok kapcsolódása a megfelelő receptorokhoz.
- 4.7 Baktérium aszparaginsav kemotaxis receptorának homodimer formája
- 4.8 Baktérium kemotaxis receptor (Asp) metilációjának folyamata.
- 4.9 A bakteriális kemotaxis intracelluláris szignalizációs lánc.
- 4.10 Bakteriális kemotaxis szignalizációs folyamatainak összefoglalója
- 4.11 A CheA kemotaxis protein domén szerkezete és azok szerepe a kemotaxis szabályozásában
- 4.12 Baktériumok kemotaxis receptorának oligomerizált szerkezeti modellje (bal oldali panel); az oligomerizálódás szabályszerűségei (jobb oldalt fenn); a receptor-clusterek és az effektor struktúrák bipoláris elrendeződése (jobb oldalt alul).
- 4.13 Baktérium kemotaxis receptor hibridek és azok fő jellemzői. A hibrideket eltérő eredetű ligandkötő és szignalizáló domének összeépítésével hozták létre.
- 5.1 Staphylococcus baktérium kemotaxisgátló, CHIPS és Eap peptidjeinek hatásmechanizmusa.
- 5.2 A komplement aktiváció folyamata – Klasszikus út – C1–C5 szakasz
- 5.3 A komplement aktiváció folyamata – Klasszikus út – C5–C9 szakasz
- 5.4 A komplement aktiváció folyamata – Alternatív út
- 5.5 A C5a térszerkezete és a receptorkötésben szerepet játszó domének
- 5.6 Az arachidonsav kaszkád átalakulási sora a kialakuló termékek kemotaxisra és érkaliberre kifejtett hatásaival.
- 5.7 TNF endotél- és neutrofil granulocita-függő hatásai a neutrofil grc.– endotél kapcsolat kialakulása során.

- 6.1 A kemokin molekula (IL-8) jellegzetes térszerkezete (Terjedelmi korlátok miatt itt nem térhetünk ki egy-egy kemokin-hatás molekulaszervezeti hátterének elemzésére.)
- 6.2 A kemokinek csoportosításának szerkezeti alapjai
- 6.3 Kemokinek funkció alapján történő osztályozása
- 6.4 Kemokinek génjeinek kromoszómális elhelyezkedése és homológiájuk foka
- 6.5 Kemokin szintézis és felszabadulás reciprok szabályozása makrofág és endotél sejtekben.
- 6.6 Kemokin receptor jellegzetes elhelyezkedése a membránban
- 6.7 A kemokin receptor indukcióját követő intracelluláris szignalizációs utak
- 6.8 CC receptorok ligandkötési keresztreakciói
- 6.9 Leukocita érfalon történő transzmigrációjának főbb lépései és az azokat meghatározó molekuláris kölcsönhatások
- 6.10 Virális kemokin-mimikri eddig leírt kemokin-receptor-függő variánsai.
- 6.11 Kemokin receptorok jelentősége a HIV T-sejtbe, illetve makrofágba történő internalizációjában
- 7.1 T limfociták szervezeten belüli migrációjának jellemző útvonalai és célszervei egészséges és kóros állapotokban.
- 7.2 Ateroszklerózis plak kialakulásának alapja – Kóros monocita migráció és szekvesztrálódás
- 7.3 A kemotaxis szerepe a tumorok lokális és távoli hatásainak kialakulásában
- 7.4 Tumorok áttétképzése és a sejtadhézió-migráció aktivitásának változó fázisai
- 7.5 A metalloproteinázok (MMP) egymásba történő átalakulásának folyamata és a metalloproteináz molekula felépítésének sémás rajza.
- 7.6 Tumorok és azok demarkálódásában részt vevő sejtek, valamint az egyes elemekre jellemző MMP-profilok.
- 7.7 Tumoros sejtek eltérő mozgásformái, az azokat jellemző fő migrációs profil és az inaktivált fő adhéziós molekula/enzim típus (kék).
- 7.8 Áttétképzés fő útvonalai és célszervei az emberi szervezetben
- 7.9 A kemokin-kemokin-receptor viszony meghatározó szerepe szervi áttétképzés során
- 8.1 Gamon-kaszád – melynek során az eltérő eredetű gamonok

szakaszosan hatva, a spermiumok mozgásának gátlása és aktiválása révén – egy szelekciós lépéssor beiktatásával segítik elő a petesejt legaktívabb – s így sejtbiológiai–sejtfiziológiai szempontból is legalkalmasabb spermium általi megtermékenyítését

- 8.2 Tengerisün spermium kemotaxisának guanilátcikláz–kapcsolt receptor indukcióján alapuló mechanizmusa.
- 8.3 A hüvely pH értékei a nő életének különböző szakaszaiban
- 8.4 A megtermékenyítést előkészítő lépések és a megtermékenyítés folyamata emberben.
- 8.5 Megtermékenyítés – akroszóma reakció, kortikális reakció és polispermia–gátlás
- 8.6 Emberi feromonok viselkedést meghatározó szerepe. A – férfi feromonnal jelzett székek nők általi preferenciája; B – „T-shirt”– teszt, melyben a feromonok irányította 'saját/idegen', 'férfi/nő' azonosítását, illetve a feromonok szexuális attraktáns jellegét vizsgálták.