

Wybrane selektyny i integryny w zmianach skórnych twardziny układowej

Chosen selectins and integrins in systemic sclerosis skin lesions

Bożena Dziańska-Bartkowiak¹, Agnieszka Żebrowska², Anna Erkiert-Polguj¹, Małgorzata Wągrowa-Danilewicz³, Anna Sysa-Jędrzejowska², Elżbieta Waszczykowska¹

¹Zakład Immunodermatologii Katedry Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Elżbieta Waszczykowska

²Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. n. med. Anna Sysa-Jędrzejowska

³Zakład Nefropatologii Katedry Patomorfologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Małgorzata Wągrowa-Danilewicz

Post Dermatol Alergol 2007; XXIV, 6: 256–262

Streszczenie

Twardzina układowa jest postępującą chorobą, charakteryzującą się naciekami zapalnymi i nadmiernym włóknieniem skóry oraz narządów wewnętrznych. Potwierdzono w tych procesach udział zaburzeń autoimmunologicznych, podobnie jak aktywacji fibroblastów, komórek śródbłonna i limfocytów. Wyniki badań sugerują nadmierną ekspresję wybranych cząsteczek adhezyjnych, wpływających na migrację aktywowanych limfocytów do skóry we wczesnej fazie twardziny. Współdziałanie między komórkami a składnikami macierzy zewnątrzkomórkowej wiąże się z obecnością receptorów na ich powierzchni. Integryny są odpowiedzialne za interakcje zarówno między komórkami, jak i komórkami a białkami macierzy międzykomórkowej. Wyniki badań, dotyczące udziału selektyn i integryn w rozwoju zmian chorobowych w twardzinie, są różnorodne i niejednoznaczne. Celem pracy była ocena lokalizacji i nasilenia ekspresji wybranych selektyn i integryn w zmianach skórnych oznaczanych metodą immunohistochemiczną w twardzinie układowej. Wykazano różną ekspresję wybranych cząsteczek adhezyjnych, tj. L-selektyny na limfocytach, makrofagach i neutrofilach nacieku zapalnego we wczesnym okresie twardziny, E-selektyny w komórkach śródbłonna naczyń, pewnych integryn na keratynocytach warstwy podstawnej, jak i ogniskowo w innych warstwach naskórka. Ekspresja integryny $\beta 1$ i $\beta 3$ obecna była na neutrofilach nacieku wokół naczyń oraz keratynocytach warstwy podstawnej, a integryny $\beta 4$ dotyczyła warstwy podstawnej i miała charakter regularny, liniowy. We wszystkich wykonanych biopsjach osób zdrowych z grupy porównawczej stwierdzono słabą ekspresję badanych cząsteczek tylko w pojedynczych keratynocytach warstwy podstawnej i komórkach śródbłonna. Wyniki badań mogą wskazywać na ważną rolę integryn i selektyn w patogenezie zmian w twardzinie. Aktywność selektyn i integryn, stymulowana wieloma procesami immunologicznymi, może być jednym z czynników odpowiedzialnych za powstawanie zmian skórnych w tej chorobie.

Słowa kluczowe: twardzina układowa, cząsteczki adhezyjne, immunohistochemia.

Abstract

Systemic scleroderma is a progressive condition characterized by inflammation and fibrosis of the skin and internal organs. Autoimmune mechanisms that operate in patients with SSc, as well as the presence of activated fibroblasts, endothelial cells and lymphocytes, including T cells, have been documented. Several studies have suggested that overexpression of selected adhesion molecules contributes to the homing of activated lymphocytes to the skin of patients with early scleroderma. The cell-extracellular matrix (ECM) interactions are mediated through distinct receptors on the cell surface, mainly integrins. Integrins are heterodimeric receptors for cell surface counterreceptors, as well as ECM proteins. Literature data about selectins and integrins in scleroderma are controversial. The aim of our study was to assess the expression of selected adhesion molecules – selectins and integrins – in systemic sclerosis skin biopsies by immunohistochemistry method. Selected adhesion molecules showed different expression: L-selectin was detected in the epithelium and skin leukocytes in samples of early scleroderma skin with infiltration, the moderate

Adres do korespondencji: dr hab. n. med. Bożena Dziańska-Bartkowiak, Zakład Immunodermatologii Katedry Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Krzemieniecka 5, 94-017 Łódź, e-mail: bozenadz@interia.pl

expression of E-selectin in endothelial cells, expression of selected integrins in basal keratinocytes in scleroderma tissue specimens and focally in the other layers of the epidermis. Neutrophils in perivascular infiltrations and basal keratinocytes stained positive for $\beta 1$ and $\beta 3$ integrins. Expression of $\beta 4$ integrin was detected in basal keratinocytes and was of regular and linear type. In all samples obtained from healthy volunteers expression of the examined molecules was weak, detected only in single basal keratinocytes and endothelium cells. Our results suggest that integrins and selectins may play an important role in the pathogenesis of early scleroderma skin pathology. Impaired expression of selectins and integrins, stimulated by immune mechanisms, may be responsible for formation of skin lesions.

Key words: systemic sclerosis, adhesion molecules, immunohistochemistry.

Wprowadzenie

Twardzina układowa (ang. *systemic sclerosis* – SSc) jest chorobą ogólnoustrojową, w której dochodzi do nadmiernego gromadzenia składników macierzy zewnątrzkomórkowej w tkankach. Patogeneza twardziny nadal pozostaje niewyjaśniona. Prawdopodobne jest, że u osób z predyspozycją genetyczną niektóre czynniki środowiskowe mogą powodować uszkodzenie naczyń krwionośnych i aktywację układu immunologicznego, w wyniku czego dochodzi do nieswoistej aktywacji fibroblastów i innych komórek tkanki łącznej. Mechanizm włóknienia również nie jest dokładnie poznany. Włóknienie może być zjawiskiem wtórnym, wynikającym z migracji komórek jedonajdrowych krwi obwodowej do przestrzeni pozanaczyniowej, gdzie pobudzone uwalniają cytokiny prozapalne [1].

Rekrutacja krążących leukocytów do miejsca toczącego się procesu zapalnego jest w części regulowana współdziałaniem leukocytów i komórek endotelium dzięki obecności cząsteczek adhezyjnych na ich powierzchni. Cząsteczki te są przezbłonowymi glikoproteinami, złożonymi z zewnątrzkomórkowych, śródbłonowych i cytoplazmatycznych domen funkcyjnych [2]. Występujące na leukocytach nazywa się receptorami zasiedlania, natomiast obecne na komórkach śródbłonka naczyń – adresynami naczyniowymi, determinującymi miejsce, w którym dochodzi do diapedezy [3].

Wyróżnia się 6 rodzin cząstek adhezyjnych – integryny, selektyny, cząsteczki immunoglobulinopodobne, kadheryny, *cartilage link proteins* i sialomucyny.

Proces przechodzenia leukocytów z krwi do tkanek jest procesem wieloetapowym. W pierwszej fazie dochodzi do zwolnienia przepływu leukocytów, czyli zbliżenia się komórek, co umożliwia kontakt leukocytów ze śródbłonkiem, dzięki łączeniu się selektyn z ligandami oligosacharydowymi. Wiązanie to jest na tyle słabe, że nie może przeciwdziałać napierającemu prądowi krwi, dlatego nie dochodzi do całkowitego zatrzymania komórek, ale do ich toczenia, umożliwiającego aktywację limfocytów, a następnie leukocytów [3–6].

Cytokiny, wydzielane w miejscu zapalenia, stymulują toczące się leukocyty, czego konsekwencją jest zmiana konformacji receptorów integrynowych, zwiększająca ich powinowactwo do własnych ligandów. Dochodzi wówczas

do zatrzymania przepływu komórek, a następnie do ich przeciskania się przez ścianę śródbłonka. W etapie silnej adhezji biorą udział integryny zarówno podrodziny $\beta 1$, jak i $\beta 2$. Diapedeza i migracja w tkankach polega na zatrzymaniu przepływu komórek związanego ze zwiększeniem płynności błony komórkowej, a także ze zmianami w cytoszkieletcie, prowadzącymi do jej odkształcenia. Na tym etapie dochodzi do syntezy ektoenzymów, tzn. enzymów zlokalizowanych na zewnątrz komórki, co ma służyć przygotowaniu komórki do opuszczenia naczynia. Niemal wszystkie komórki opuszczające naczynie mają na swojej powierzchni CD26, czyli ektoenzym – peptydazę dipeptydylową – biorący udział w stymulacji limfocytów [3–6].

Badania nad modulacją aktywności cząsteczek adhezyjnych, biorących udział w zjawiskach zachodzących w skórze, mogą przyczynić się do powstania nowych metod terapeutycznych w chorobach skóry, w tym w twardzinie.

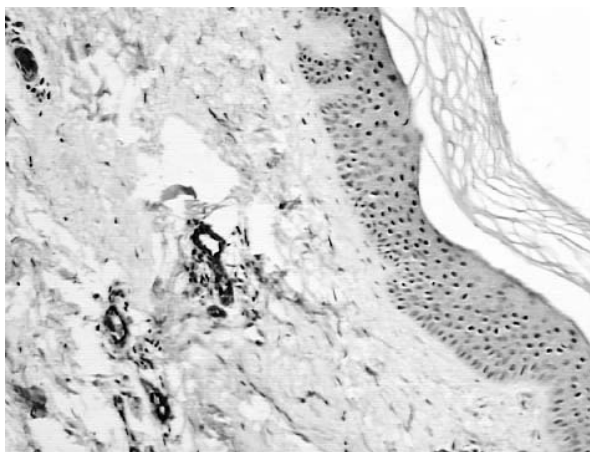
Cel pracy

Celem pracy było określenie lokalizacji i ekspresji wybranych integrynowych i selektyn w tkankach chorobowo zmienionych chorych na twardzinę oraz w skórze osób zdrowych.

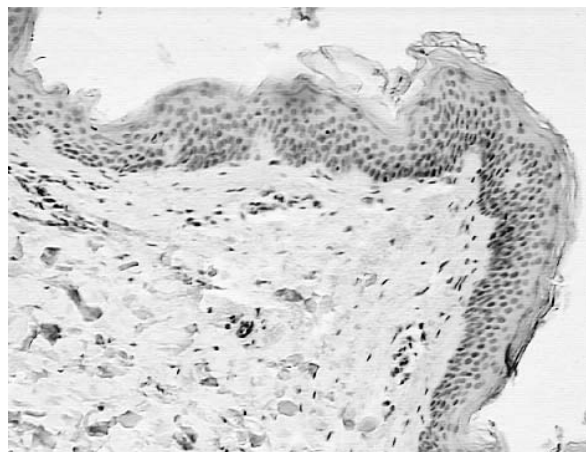
Materiał i metody

Grupę badaną stanowiło 12 chorych na twardzinę (11 kobiet i 1 mężczyzna, w wieku 38–72 lat, średnio – 54,4 roku). Grupę porównawczą stanowiło 10 osób zdrowych (5 kobiet i 5 mężczyzn, w wieku 19–49 lat, średnio – 42 lata). Chorzy na twardzinę układową spełniali kryteria ARA [7]. Na wykonanie badań uzyskano zgodę Komisji Etyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Wycinki skóry pobrano ze zmian chorobowych, a u osób zdrowych z okolicy karku.

Do określenia ekspresji adhezyn zastosowano metodę immunohistochemiczną. Skrawki parafinowe posłużyły do sporządzenia rutynowych preparatów barwionych hematoksyliną i eozyną oraz badań immunohistochemicznych w systemie detekcyjnym DAKO EnVision wg metody immunoperoksydazowej, z użyciem następujących pierwotnych przeciwciał monoklonalnych – CD29 (rodzina $\beta 1$), CD61 (GPIII) (rodzina $\beta 3$), CD104 (rodzina $\beta 4$), CD62E (E-selectin), CD62L (L-selectin) firmy Novocastra (Wielka Brytania).



Ryc. 1. Immunoekspresja E-selektyny w twardzinie (100×)



Ryc. 2. Immunoekspresja E-selektyny w zdrowej skórze (100×)

Do badań immunohistochemicznych skrawki parafinowe, po nałożeniu na szkiełka adhezyjne i wysuszeniu w cieplarni o temp. 56°C przez 24 godz., poddano odparafinowaniu w szeregu składającym się z ksylenów i alkoholi o zmniejszających się stężeniach. Hamowano aktywność endogennej peroksydazy przy użyciu 3-procentowego roztworu perhydroflu w metanolu przez 5 min. Poddawano je 60-minutowej inkubacji w temperaturze pokojowej, w komorze wilgotnej z odpowiednio rozcieńczonymi przeciwciałami – CD62E (E-selectin) 1:50, CD62L (L-selectin) 1:50, CD29 1:40, CD61 (GPIII) 1:25, CD104 1:50.

Nasilenie immunoekspresji CD29, CD61, CD104, CD62E i CD62L w wycinkach ze skóry oceniono półilościowo, stosując następującą skalę, tj. 0 – brak odczynu, 0,5 – odczyn bardzo słaby, w pojedynczych komórkach, 1 – odczyn słaby, w większości komórek, 2 – odczyn mierny, 3 – odczyn silny. Następnie obliczono średnie wartości nasilenia immunoekspresji badanych integryn i selektyn. Wszystkie dane przedstawiono jako średnie \pm odchylenie standardowe.

Ekspresję integryn i selektyn oceniał niezależny patomorfolog przy użyciu mikroskopu Olympus BX 41 (Japonia).

Wyniki

E-selektyna (CD62E)

Immunoekspresję E-selektyny w wycinkach chorych stwierdzono na komórkach śródbłonka i neutrofilach (ryc. 1). W grupie porównawczej ekspresja E-selektyny dotyczyła jedynie pojedynczych komórek śródbłonka, a od-

czyn oceniono jako bardzo słaby (ryc. 2.). Średnia wartość nasilenia immunoekspresji tej selektyny wyniosła u chorych na twardzinę $0,55 \pm 0,16$ (tab. 1).

L-selektyna (CD62L)

Immunoekspresję L-selektyny stwierdzono na limfocytach, makrofagach i neutrofilach (ryc. 3.). W grupie porównawczej ekspresję wykazano jedynie na pojedynczych leukocytach, głównie w świetle naczyń, a odczyn oceniono jako bardzo słaby. Średnia wartość nasilenia immunoekspresji L-selektyny u chorych na twardzinę wyniosła $0,35 \pm 0,34$ (tab. 1).

Integryna $\beta 1$ (CD29)

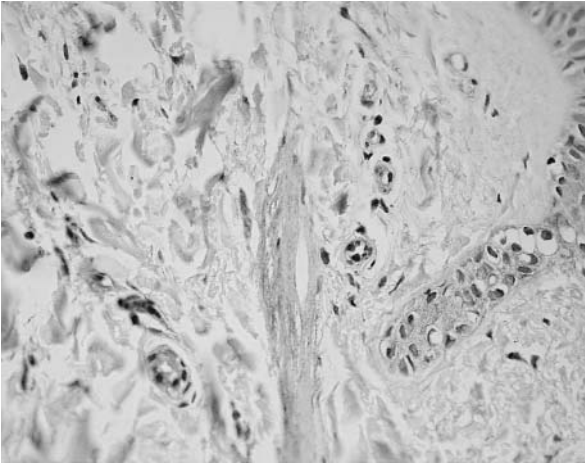
Immunoekspresję integryny $\beta 1$ (CD29) wykryto w komórkach warstwy podstawnej naskórka. W skrawkach pobranych od chorych na twardzinę nasilenie immunoekspresji integryny $\beta 1$ było zróżnicowane, od bardzo nieznacznego w większości preparatów do miernego w 1 przypadku (ryc. 4.). Średnia wartość nasilenia immunoekspresji integryny $\beta 1$ u chorych na twardzinę wyniosła $0,45 \pm 0,44$ (tab. 1.). W skrawkach pochodzących z grupy kontrolnej odczyn był bardzo słaby i obejmował jedynie pojedyncze komórki (ryc. 5.).

Integryna $\beta 3$ (CD61)

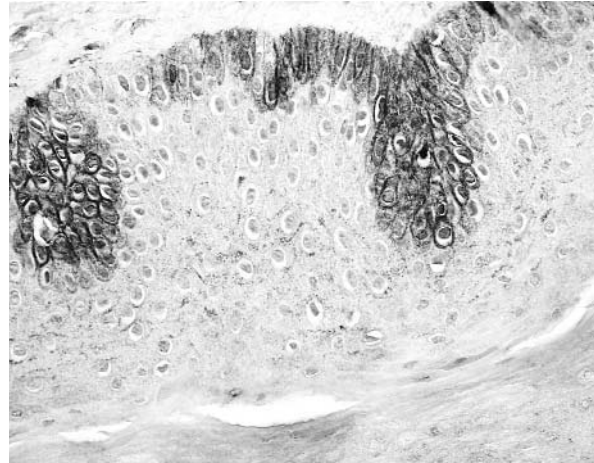
W wycinkach skóry pochodzących od osób zdrowych nie stwierdzono immunoekspresji integryny $\beta 3$. Odczyn z przeciwciałem CD61 był dodatni w wycinkach skóry po-

Tab. 1. Średnie wartości nasilenia immunoekspresji CD29, CD61, CD104, CD62E i CD62L w twardzinie

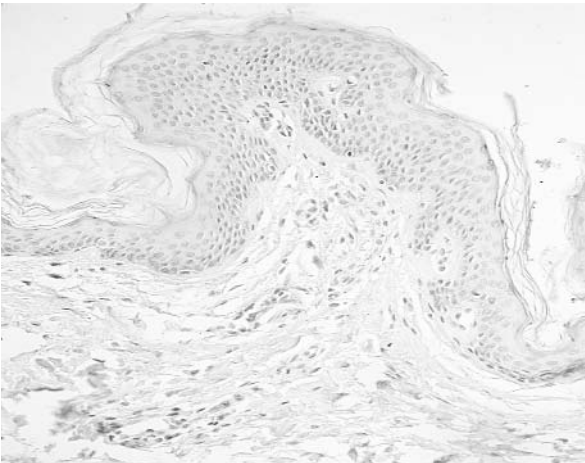
	CD29 (integryna $\beta 1$)	CD61 (integryna $\beta 3$)	CD104 (integryna $\beta 4$)	CD62E (E-selektyna)	CD62L (L-selektyna)
Twardzina	$0,45 \pm 0,44$	$0,45 \pm 0,44$	$0,45 \pm 0,28$	$0,55 \pm 0,16$	$0,35 \pm 0,34$



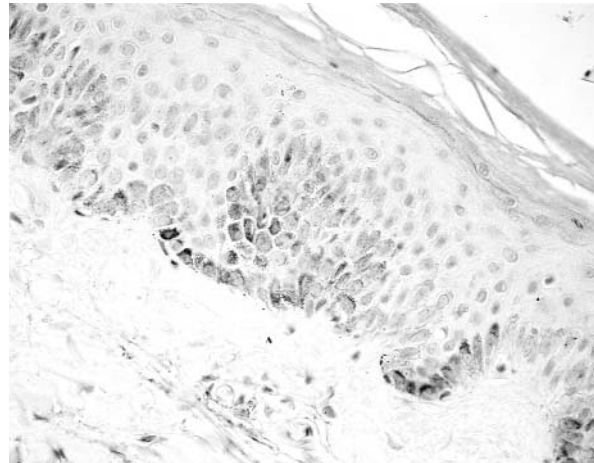
Ryc. 3. Immunoekspresja L-selektyny w twardzinie (400×)



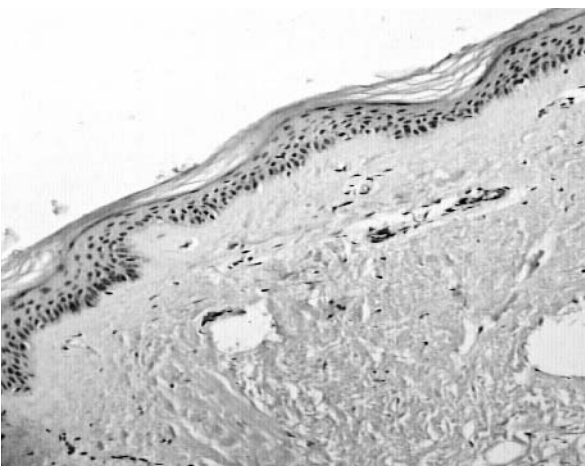
Ryc. 4. Immunoekspresja integryny β 1 w twardzinie (400×)



Ryc. 5. Immunoekspresja integryny β 1 w skórze zdrowej (100×)



Ryc. 6. Immunoekspresja integryny β 3 w twardzinie (400×)



Ryc. 7. Immunoekspresja integryny β 4 w twardzinie (400×)

branych od chorych i obejmował komórki warstwy podstawnej naskórka lub też ogniskowo komórki pozostałych warstw naskórka (ryc. 6.). Średnia wartość nasilenia immunoekspresji CD61 wyniosła u chorych na twardzinę $0,45 \pm 0,44$ (tab. 1.).

Integryna β 4 (CD104)

Immunoekspresję integryny β 4 (CD104) wykryto w hemidesmosomach zarówno w wycinkach pochodzących z grupy kontrolnej, jak i pobranych od chorych (ryc. 7.). Średnia wartość nasilenia immunoekspresji CD104 wyniosła u chorych na twardzinę $0,45 \pm 0,28$ (tab. 1.).

Omówienie wyników

Selektyny są rodziną cząsteczek adhezyjnych, biorących udział w początkowych fazach przylegania leukocytów (neutrofilii, monocytów i limfocytów) do komórek nabłonka

przed ich ścisłą adhezją i diapedezą w miejscach toczącego się procesu zapalnego [2]. Z błoną komórkową wiążą się 3 cząstki – L-selektyna, E-selektyna i P-selektyna – mające unikalną, ale podobną budowę chemiczną. Selektyny te są białkami konserwatywnymi w budowie chemicznej w ewolucji ssaków [2].

Selektynę P przechowuje się w ziarnistościach wydzielniczych, tzw. ciałkach Weibela-Palade’a komórek endotelium i ziarnistościach α płytek krwi. W płytkach krwi uwalniana jest po ich aktywacji, podczas tworzenia skrzepu [2, 5, 8].

Selektyna E znajduje się w stymulowanych komórkach śródbłonna, a produkcję tej cząsteczki indukuje endotoksyna bakteryjna (ang. *liposacharyd* – LPS), cytokiny (interleukina IL-1), czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α) i trombina. Ekspresję tej cząsteczki można stwierdzić tylko w miejscu procesu zapalnego [4].

Selektyna L znajduje się konstytucjonalnie na powierzchni leukocytów. Po aktywacji limfocytów i neutrofilii zmniejsza się ekspresja tej selektyny na ich powierzchni, dzięki proteolitycznemu odszczepieniu receptora z ich powierzchni. Równocześnie ze spadkiem L-selektyny dochodzi do wzrostu ekspresji innych cząstek adhezyjnych. L-selektyna rozpuszczalna jest aktywna i obecna również w surowicy. Nie można wykluczyć, że pełni ona funkcję układu buforowego, który chroni miejsca bez procesu zapalnego przed toczeniem się leukocytów [2, 4, 5, 9].

Rola cząstek adhezyjnych w patogenezie twardziny układowej nie została do tej pory dokładnie poznana, a wyniki badań są niejednoznaczne. Określenie stężenia E-selektyny w surowicy, uznane za wykładnik aktywacji komórek śródbłonna, było przedmiotem badań przeprowadzonych przez Ilna i wsp. [10]. Stwierdzili oni znacząco wyższe stężenie tej cząsteczki w surowicy chorych na SSc w porównaniu z wynikami uzyskanymi w grupie kontrolnej. Wykazano, że stężenie E-selektyny korelowało z włóknieniem płuc u chorych, co potwierdziło, że aktywacja komórek endotelium odgrywa znaczącą rolę w rozwoju choroby. Podobne wyniki uzyskali Denton i wsp. [11]. Natomiast Stratton i wsp. stwierdzili podwyższone stężenie tej selektyny w surowicy chorych z *limited SSc* (ISSc), u których wystąpił przełom nerkowy, jednak nie wykazano, aby stężenie E-selektyny było podwyższone w surowicy pacjentów z nadciśnieniem płucnym [12]. Autorzy ci sugerują, że różnice stężenia E-selektyny w surowicy chorych z nadciśnieniem płucnym w stosunku do pacjentów ze zmianami nerkowymi mogą wynikać z innego mechanizmu prowadzącego do zmian naczyniowych, większego ciśnienia hydrostatycznego w tętniczkach nerkowych bądź nieprawidłowego ciśnienia selektyny w zmianach nerkowych.

Według Yamane i wsp. cząsteczki adhezyjne pełnią ważną funkcję w rozwoju zmian skórnych, również w twardzinie ograniczonej do skóry (*morphea*). Wykazano, że stężenie rozpuszczalnej E-selektyny było znacznie wyższe w surowicy chorych niż u osób zdrowych i odpowiadało liczbie zmian i zajętych obszarów. Nie stwierdzono natomiast, aby korelowało z poziomem przeciwciał ssDNA [13].

W badaniach własnych wykazano ekspresję E-selektyny przede wszystkim w komórkach śródbłonna i neutrofilach, co potwierdza jej znaczący udział w procesach zapalnych toczących się w przebiegu twardziny.

Inni autorzy stwierdzili zwiększoną ekspresję P-selektyny na komórkach endotelium w wycinkach skóry osób z wczesną postacią zmian twardzinowych, a także podwyższony jej poziom w surowicy, co wiązano ze zwiększoną jej produkcją. Stężenie rozpuszczalnej L-selektyny było podobne, jak u osób zdrowych [14]. W badaniach własnych ekspresja L-selektyny w wycinkach pochodzących od chorych była nieznacznie silniejsza w stosunku do wyników uzyskanych u osób zdrowych i zlokalizowana na limfocytach, makrofagach i neutrofilach. Wskazywać to może na niecałkowite odczepienie receptora z powierzchni leukocytów w wyniku trwającego jeszcze procesu zapalnego w tkankach w przebiegu twardziny.

Po związaniu leukocyta przez selektyny zaczynają działać integryny, które silnie mocują leukocyt na śródbłonnku. Integryny są cząsteczkami adhezyjnymi odpowiedzialnymi za interakcje między komórkami a macierzą zewnątrzkomórkową oraz między samymi komórkami, przez przekazywanie sygnału przez te struktury. Są to heterodimery złożone z łańcucha α i β , połączonych niekowalencyjnie. Przechodząc przez błonę cytoplazmatyczną, cząsteczki te łączą środowisko zewnątrzkomórkowe i wewnątrzkomórkowe. Opisano do tej pory u ludzi ok. 15 łańcuchów α i 8β , które łączą się ze sobą w wiele kombinacji [4, 5].

Keratynocyty podczas procesu różnicowania tracą zdolność ekspresji integryn [8]. Związanie integryny z ligandem powoduje inicjację kaskady sygnałowej, która moduluje zachowanie komórek i transkrypcje genów [8]. Integryny są głównymi receptorami komórek podczas ich łączenia się z macierzą zewnątrzkomórkową (np. fibronektyna, witronektyna, kolagen) przez specjalne krótkie fragmenty białkowe, a także biorą udział w adhezji międzykomórkowej [4, 5]. Podzielono je na podrodziny ze względu na podjednostkę β . Integryny z podjednostką $\beta 1$ nazywa się VLA (ang. *very late antigen*) [4]. Biorą udział głównie w interakcji komórek z makromolekułami tkanki łącznej (np. fibronektyną, lamininą, kolagenem). Integryny $\beta 2$ odgrywają rolę w interakcji międzykomórkowej, a $\beta 3$ w łączeniu z ligandami typu fibrynogen, witronektyna, trombospondyna lub czynnik von Willebranda [5]. Podjednostkę $\beta 2$ integryny wykrywano w szczytowej i bocznych częściach błon komórkowych komórek warstwy podstawnej, a w niewielkim stopniu w ich dolnej części przylegającej do błony podstawnej, co sugeruje, iż odpowiada ona głównie za połączenia międzykomórkowe [15].

Integryny $\beta 2$ obecne na leukocytach spełniają bardzo ważną funkcję w rekrutacji tych komórek do miejsc, w których rozwija się stan zapalny, a ich genetycznie uwarunkowana dysfunkcja powoduje zespół niedoboru odporności. Ta rodzina integryn bierze także udział w prezentacji antygenów limfocytom T i aktywacji leukocytów. Interakcje między komórkami somatycznymi a limfocytami T, zacho-

dzące przez cząsteczki adhezyjne, występują w wielu zjawiskach immunologicznych zarówno fizjologicznych, jak i patologicznych zachodzących w skórze w chorobach, takich jak kontaktowe zapalenie skóry, łuszczyca, bielactwo, choroby pęcherzowe, a także twardzina [16]. Integryny aktywowane są wraz z pobudzeniem komórki [6]. Większość z nich jest konstytutywnie w stanie latentnym, obecne na powierzchni komórki nie przytaczają ligandów i nie przekazują sygnałów [17, 18]. Drugą ważną funkcją integryn jest ich rola w transdukcji sygnału. Aktywacja różnorodnych dróg przekazywania sygnałów zależy od rodzaju integryn, związanego białka macierzy oraz czynników stymulujących. Czynniki stymulującymi integryny są cytokiny, czynniki wzrostu, chemokiny oraz inne cząsteczki adhezyjne, włączając w to również same integryny [19].

Zwiększoną ekspresję integryn wykazano również podczas rozwoju zmian nowotworowych i powstawaniu przerzutów. Zjawiska te wiążą się z promowaniem przez integryny migracji komórek, produkcji metaloproteinaz i angiogenezy. Integryny w prawidłowym, niezmiennym naskórku stwierdza się tylko w warstwie podstawnej naskórka i w mieszkach włosowych, jedynie $\alpha 6\beta 4$ obecna jest tylko w hemidesmosomach [20].

Ekspresja różnych rodzin integryn na keratynocytach, fibroblastach, komórkach śródbłonna i komórkach migrujących jest niezbędna m.in. do gojenia ran oraz zjawiska apoptozy [21, 22]. U chorych na twardzinę dochodzi do nadmiernego odkładania się składników macierzy międzykomórkowej, kolagenu, glikozoaminoglikanów, glikoprotein w tkankach [23]. Na fibroblastach obserwuje się ekspresję integryn $\alpha 2\beta 1$ i $\alpha 1\beta 1$, które wykazują duże powinowactwo do kolagenu I oraz $\alpha 1\beta 1$ do kolagenu IV. Pod wpływem integryny $\alpha 1\beta 1$ obserwuje się redukcję syntezy kolagenu *in vitro* i *in vivo*.

W badaniach własnych wykazano zwiększoną ekspresję integryn, zwłaszcza w komórkach podstawnych naskórka, co wskazuje na ich udział w prezentacji antygeny i rozwoju zjawisk immunologicznych. Lokalizacja ich ekspresji podobna była do stwierdzonej wcześniej ekspresji białka sFas, będącego wykładnikiem apoptozy u chorych na SSc [24].

Badania Herzhoffa i wsp. [25] wykazały, iż fibroblasty pobrane od chorych na twardzinę reagują inaczej na czynniki środowiska zewnętrznego niż fibroblasty ludzi zdrowych, natomiast ich oddziaływanie z innymi komórkami zachodzi przy udziale specjalnych receptorów, zwłaszcza integryn $\beta 1$. Integryny $\alpha 1\beta 1$ i $\alpha 2\beta 1$ są głównymi strukturami odpowiedzialnymi za rozpoznawanie kolagenu i przekazywanie sygnału dotyczącego jego produkcji bądź degradacji [25]. Integryna $\alpha 2\beta 1$ indukuje tkankową metaloproteinazę 1, a $\alpha 1\beta 1$ bierze udział w zmniejszaniu ekspresji genów dla kolagenu [26]. Wyniki badań ekspresji integryn u pacjentów z twardziną są sprzeczne. Gruschwitz i wsp. wykazali podobną ekspresję integryn $\alpha 1$ i $\alpha 2$ w skórze chorych na twardzinę i osób zdrowych [27], natomiast Sollberg i wsp. stwierdzili, iż u chorych z SSc

ekspresja integryny $\beta 1$ była nasiloną [28]. Kozłowska i wsp. odnotowali zmniejszenie poziomu mRNA dla podjednostki $\alpha 2$ integryny na fibroblastach od pacjentów z twardziną układową [29], a Ivarsson i wsp. stwierdzili obniżoną ekspresję $\alpha 1\beta 1$ na fibroblastach pobranych od chorych z SSc [30]. Natomiast Herzhoff i wsp. nie odnotowali różnic w ekspresji podjednostek $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$ integryny na fibroblastach osób chorych i zdrowych [25]. Autorzy sugerują, że różnice w oddziaływaniu fibroblastów ze środowiskiem zewnętrznym, mogą wynikać ze zmian w aktywności receptorów, a nie ze zmian w ekspresji integryn.

U chorych na twardzinę stwierdzono również zwiększoną ekspresję integryny $\alpha v\beta 5$ na fibroblastach [23]. Jest ona receptorem dla witronektyny, która stabilizuje aktywną formę inhibitora aktywatora plazminogenu 1. Wynikiem stabilizacji tego inhibitora jest zahamowanie mediowanej przez plazminę okołokomórkowej kaskady proteolitycznej.

Wykazano również wzrost ekspresji integryny $\alpha v\beta 5$ na fibroblastach w twardzinie ograniczonej do skóry [31].

Wyniki badań własnych potwierdzają, iż cząsteczki adhezyjne pełnią istotną funkcję w rozwoju procesu zapalnego, prezentacji antygenów w naskórku oraz aktywacji leukocytów w twardzinie układowej.

Praca finansowana z funduszy Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr: 503-1019-1, 503-8019-1, 502-18-344.

Piśmiennictwo

1. Szymańska E, Słowińska M, Majewski S. Rola składników macierzy zewnątrzkomórkowej w aktywacji limfocytów T w twardzinie układowej. *Pol Merkuriusz Lek* 2003; 15: 89-94.
2. Tedder TF, Steeber DA, Chen A, Engel P. The selectins: vascular adhesion molecules. *FASEB J* 1995; 9: 866-73.
3. Biątek K, Biątek S, Pachecki J, Baltuziak H. Cząsteczki adhezyjne w chorobach alergicznych górnych dróg oddechowych. *Alergia* 2000; 2: 39-41.
4. Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990; 346: 425-34.
5. Fremont AJ. Adhesion molecules. *J Clin Pathol* 1998; 51: 175-84.
6. Parish WE. Inflammation. In: Champion RH, Burton JL, Burner DA, Breathnach SM (eds). *Rook, Wilkinson, Ebling Textbook of Dermatology*. 6th ed. Blackwell Science, Oxford 1998; 229-76.
7. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association in Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. *Arthritis Rheum* 1980; 23: 581-90.
8. Bouvard D, Brakebusch C, Gustafsson E, et al. Functional consequences of integrin gene mutations in mice. *Circ Res* 2001; 89: 211-23.
9. Gearing AJ, Newman W. Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol Today* 1993; 14: 506-12.
10. Ihn H, Sato S, Fujimoto M, et al. Increased serum levels of soluble vascular cell adhesion molecule 1 and e-selectin in patients with systemic sclerosis. *Br J Rheumatol* 1998; 37: 1188-92.
11. Denton CP, Bickerstaff MC, Shiwen X, et al. Serial circulating adhesion molecule levels reflect disease severity in systemic sclerosis. *Br J Rheumatol* 1995; 34: 1048-54.

12. Stratton RJ, Coghlan JG, Pearson JD, et al. Different pattern of endothelial cell activation in renal and pulmonary vascular disease in scleroderma. *QJM* 1998; 91: 561-6.
13. Yamane K, Ihn H, Kubo M, et al. Increased serum levels of soluble vascular cell adhesion molecule 1 and E-selectin in patients with localized scleroderma. *J Am Acad Dermatol* 2000; 42: 64-9.
14. Sfikakis PP, Tsokos GC. Clinical use of the measurement of soluble cell adhesion molecules in patients with autoimmune rheumatic diseases. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997; 4: 241-6.
15. Stepp MA, Spurr-Michaud S, Tisdale A, et al. Alpha 6 beta 4 integrin heterodimer is a component of hemidesmosomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 8970-4.
16. Hynes RO. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell* 2002; 110: 673-87.
17. Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 1992; 69: 11-25.
18. Ginsberg MH, Du X, Plow EF. Inside-out integrin signaling. *Curr Opin Cell Biol* 1992; 4: 766-71.
19. O'Toole TE, Katagiri Y, Faull RJ, et al. Integrin cytoplasmic domains mediate inside-out signal transduction. *J Cell Biol* 1994; 124: 1047-59.
20. Stupack DG, Cheresh DA. Get a ligand, get a life: integrins, signaling and cell survival. *J Cell Sci* 2002; 115: 3729-38.
21. Berman AE, Kozlova NI, Morozovich GE. Integrins: structure and signaling. *Biochemistry (Mosc)* 2003; 68: 1284-99.
22. Xiong JP, Stehle T, Goodman SL, Arnaout MA. New insights into the structural basis of integrin activation. *Blood* 2003; 102: 1155-9.
23. Asano Y, Ihn H, Yamane K, et al. Increased expression of integrin alpha v beta 5 in scleroderma fibroblasts. *Am J Pathol* 2004; 164: 1275-92.
24. Waszczykowska E, Sysa-Jędrzejowska A, Dziankowska-Bartkowiak B, et al. Apoptosis in the skin of patients with autoimmune connective tissue disorders. *Centr Eur J Immunol* 2001; 26: 53-8.
25. Herzhoff K, Sollberg S, Huerkamp C, et al. Fibroblast expression of collagen integrin receptors alpha 1 beta 1 and alpha 2 beta 1 is not changed in systemic scleroderma. *Br J Dermatol* 1999; 141: 218-23.
26. Langholz O, Röcke D, Mauch C, et al. Collagen and collagenase gene expression in three-dimensional collagen lattices are differentially regulated by alpha 1 beta 1 and alpha 2 beta 1 integrins. *J Cell Biol* 1995; 131: 1903-15.
27. Gruschwitz M, von den Driesch P, Keller I, et al. Expression of adhesion proteins involved in cell-cell and cell-matrix interactions in the skin of patients with progressive systemic sclerosis. *J Am Acad Dermatol* 1992; 27: 169-77.
28. Sollberg S, Peltonen J, Uitto J, Jimenez SA. Elevated expression of beta 1 and beta 2 integrins, intercellular adhesion molecule 1, and endothelial leukocyte adhesion molecule 1 in the skin of patients with systemic sclerosis of recent onset. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 290-8.
29. Kozłowska E, Sollberg S, Mauch C, et al. Decreased expression alpha 2 beta 1 integrin in scleroderma fibroblasts. *Exp Dermatol* 1996; 5: 57-63.
30. Ivarsson M, McWhirter A, Black CM, Rubin K. Impaired regulation of collagen pro-alpha 1 (I) mRNA and change in pattern of collagen-binding integrins on scleroderma fibroblasts. *J Invest Dermatol* 1993; 101: 216-21.
31. Asano Y, Ihn H, Jinnin M, et al. Involvement of alpha v beta 5 integrin in the establishment of autocrine TGF-beta signaling in dermal fibroblasts derived from localized scleroderma. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 1761-9.