

Rola granulocytów zasadochłonnych (bazofili) w świetle badań z ostatnich lat

The role of basophils in the light of recent research

Joanna Kopeć-Szlęzak

Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Streszczenie

Granulocyty zasadochłonne (bazofile) stanowią niewielką, ale ważną subpopulację leukocytów, aktywną zarówno w reakcjach uczuleniowych, jak i w odporności wrodzonej i nabytej. Uczestniczą także w patogenezie chorób autoimmunologicznych i białaczek z komórek linii mieloidalnej. Mogą być zidentyfikowane na podstawie obecności metachromatycznych ziaren w cytoplazmie, a przede wszystkim przez oznaczenie ich fenotypu metodą cytometrii przepływową jako komórki FcεRI+CD123+CD203c-/+, czyli odpowiednio — receptora dla IgE, IL-3 oraz ektoenzymu z grupy ektonukleotydomy pyrofosfataz/fosfodiesteraz. Bazofile człowieka pochodzą z komórki wspólnej dla eozynofili i bazofili (CFU Eo/B), a interleukina IL-3 jest główną cytokiną odpowiedzialną za ich dojrzewanie i różnicowanie. Znacznikiem aktywności bazofili jest silna ekspresja CD63 i CD203c oznaczana przy użyciu testu aktywacji bazofili (BAT), stosowanego między innymi w rozpoznawaniu alergii. Przylączenie IgE do receptora na powierzchni bazofila wywołuje jego aktywację, prowadzącą do rozpoczęcia procesu degranulacji całkowitej (we wstrząsie uczuleniowym) lub stopniowej (częściowej). Głównymi substancjami wydzielanymi przez bazofile są histamina, leukotrieny i interleukina IL-4. W procesach odporności wrodzonej bazofile poprzez receptory powierzchniowe z grupy toll-like (TLR) mogą wiązać substancje pochodzenia bakteryjnego, na przykład flagelinę z bakterii Gram-ujemnych, i przyczyniać się do rozwoju procesu zapalnego. W odporności nabytej główną rolą bazofili jest stymulacja powstawania limfocytów Th2, a w chorobach autoimmunologicznych — podtrzymywanie procesu zapalnego. Bazofilia występuje w przebiegu rzadkich białaczek bazofilowych oraz w fazie zaostrzenia przewlekłej białaczki szpikowej.

Słowa kluczowe: granulocyty zasadochłonne (bazofile), immunofenotyp, rola, bazofilia

J. Transf. Med. 2016; 9: 45–53

Summary

Basophils are defined as a small but important subpopulation of leukocytes, active in hypersensitivity as well as innate and adaptive immunity responses. They are also involved in pathogenesis of autoimmune diseases and myeloid leukemias. Human basophils are differentiated from eosinophil/basophil colony forming units (Eo/B CFUs) and IL-3 is the main cytokine responsible for their maturation and differentiation. Basophils can be phenotypically identified as FcεRI + CD123+ CD203c+ leukocytes. Activation markers CD63 and/or CD203c are recommended as conventional basophil activation test (BAT). Following crosslinking of IgE

bound to FcεRI (after basophil activation) in degranulation processes mainly histamine and interleukin IL-4 are secreted. In allergy and asthma upon exposure to allergen-bound IgE and intracellular signal transduction histamine and others mediators of granules are released. In innate immunity basophil toll-like receptors (TLR) link flagellin or other microbe-derived particles and promote inflammation processes. In adaptive immunity basophils stimulate Th2 differentiation and in autoimmune diseases they are involved in inflammation processes. Basophilia is connected with acute or chronic rare basophilic leukemia as well as accelerated phase in chronic myeloid leukemia.

Key words: basophils, immunophenotype, role, basophilia

J. Transf. Med. 2016; 9: 45–53

Wstęp

Granulocyty zasadochłonne — bazofile, opisane przez Paula Ehrlicha w 1879 roku — znajdowały się przez wiele lat na marginesie badań komórek krwi i szpiku, między innymi ze względu na ich niewielką liczebność w krwi, stanowiącą około 1% leukocytów, tj. do 150 komórek w 1 μ l [1]. Bazofile w ostatnich latach były przedmiotem wielu analiz ze względu na ich stwierdzony związek z chorobami uczuleniowymi [2]. Obecnie są nie tylko określane jako komórki aktywne w procesach uczuleniowych i w reakcjach na pasożyty jelitowe, lecz także traktowane jako istotny element procesów zapalnych i odpornościowych. Granulocyty zasadochłonne uważa się za komórki dynamiczne o własnościach efektorowych i regulacyjnych w procesach odpornościowych [3]. Według niektórych badaczy proces zapalny należy traktować jako mający charakter odpornościowy w rozwijającej się odpowiedzi organizmu na zakażenie patogenami lub uraz tkanek. Odpowiedź ta charakteryzuje się aktywacją wielostopniowej kaskady zjawisk prowadzących do kumulacji leukocytów w ognisku zapalnym [4].

Główną rolą bazofili w procesach odpornościowych jest aktywność przeciw patogenom (np. pochodzenia bakteryjnego) oraz wydzielanie dużych ilości interleukiny IL-4 z grupy tak zwanych cytokin Th2, która przede wszystkim stymuluje powstawanie i różnicowanie limfocytów Th2, podobnie jak w reakcjach uczuleniowych. Interleukina IL-4 pochodząca z bazofili pobudza różnicowanie monocytów w makrofagi typu 2 o zmniejszonym wydzielaniu cytokin prozapalnych, co wpływa na hamowanie procesu zapalnego [5].

Pochodzenie i różnicowanie bazofili

Na podstawie badań doświadczalnych u myszy stwierdzono, że bazofile i mastocyty mają wspól-

ną komórkę progenitorową o immunofenotypie CD34+Ftl3+c-kit+sca-1+, z której pochodzi populacja komórek prekursorowych dla bazofili i mastocytów [6]. Czynnikiem transkrypcyjnym, najważniejszym dla różnicowania bazofili u myszy, jest czynnik transkrypcyjny C/EBP α [7].

Wyniki badań pochodzenia bazofili wykazały, że niezależnie od mastocytów u człowieka komórki te wywodzą się ze wspólnej dla eozynofili i bazofili komórki progenitorowej [8]. Ponadto w krwi pępowinowej badanej *ex vivo* stwierdzono, że stymulacja receptorów typu *toll-like* (TLR, *toll-like receptors*) lipopolisacharydami bakteryjnymi (LPS) powoduje różnicowanie eozynofili i bazofili z komórek określonych jako jednostki tworzące kolonie (CFU Eo/B, *eosino/basophil colony forming units*) [9]. Podobne ujęcie pochodzenia eozynofili i bazofili przedstawia inna praca [10]. Główną cytokiną niezbędną dla dojrzewania i różnicowania rozwoju bazofili jest interleukina IL-3 [3]. W rozwoju procesu zapalnego na tle atopowego uczulenia dróg oddechowych stwierdzono, że wydzielana z komórek nabłonka dróg oddechowych obok cytokin IL-3 i IL-5 limfopoetyna TSLP (*thymic stromal lymphopoietin*) powoduje rekrutację z krwi hematopoetycznych komórek progenitorowych, które ulegają różnicowaniu w eozynofile i bazofile w drogach oddechowych; proces ten nazwano hematopoezą *in situ* [11]. Jednakże pochodzenie i różnicowanie bazofili jest poznane mniej aniżeli innych linii komórkowych układu białokrwinkowego.

Charakterystyka, aktywacja i degranulacja bazofili

Bazofile mają rozmiary 7–11 μ m, zwykle dwupłatowe jądro komórkowe i charakteryzują się występowaniem w cytoplazmie licznych okrągłych, zasadochłonnych ziaren, barwiących się odczynkiem Wright-Giemsa i błękitem toluidynny

metachromatycznie, uzyskując zabarwienie od amarantu i koloru niebieskiego do fioleto. Ziarna bazofili zawierają głównie histaminę, a ponadto siarczan heparanu o strukturze podobnej do heparyny, o działaniu hamującym krzepnięcie krwi [1].

Pod wpływem czynników aktywacyjnych, na przykład IgE, wydzielane są pochodne kwasu arachidonowego — leukotrien LTC₄ i prostaglandyna PGD₂, a także interleukiny, przede wszystkim IL-4, stymulująca różnicowanie limfocytów Th2 i IL-13, która ma działanie przeciwpasożytnicze. Bazofile mają bardzo wysoką zdolność wydzielania IL-4, znacznie wyższą niż inne leukocyty. W bazofilach syntetyzowane i wydzielane są także chemokiny CCL5 (RANTES, *regulated upon activation normal T cell expressed and secreted*), CCL3 (MIP-1 α , *macrophage inflammatory protein*), CCL2 (MCP-1, *monocyte chemoattractant protein*) oraz granulocytarno-makrofagowy czynnik wzrostu GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony stimulating factor*) [3].

Każda z tych substancji uczestniczy w rozwoju procesu zapalnego. Histamina jest głównym mediatorem rozszerzenia naczyń krwionośnych w okresie początkowym procesu zapalnego; podobnie działają leukotrien LTC₄ oraz prostaglandyna PGD₂. Wydzielany również czynnik aktywujący płytki (PAF, *platelet activating factor*) działa nie tylko rozszerzająco na naczynia krwionośne, lecz także chemotaktycznie na neutrofile i monocyty. Chemokina RANTES wywołuje głównie chemotaksję neutrofile i monocytów, chemokina MIP-1 α (CCL3) aktywuje monocyty i eozynofile, a MCP-1 (CCL2) wpływa na chemotaksję monocytów. Działanie tych mediatorów prowadzi w efekcie do kumulacji leukocytów w ognisku zapalnym [3].

Metodą cytometrii przepływowej bazofile oznacza się na podstawie pozytywnej ekspresji zasadniczych molekuł typowych dla immunofenotypu bazofili: Fc ϵ RI+CD123+CD203c-/+, czyli odpowiednio: dla receptora dla immunoglobuliny IgE, dla podjednostki receptora dla IL-3 oraz dla ektoenzymu z grupy ektonukleotydowych pyrofosfataz/fosfodiesteraz (E-NNP3). Receptor Fc ϵ RI dla IgE składa się z łańcucha α wiążącego IgE, z dwóch łańcuchów γ , które odpowiadają za czynności sygnalizacyjne tego receptora, oraz z łańcuchów β , które wzmacniają sygnalizację [12].

Przedstawiony immunofenotyp jest charakterystyczny dla bazofili nieaktywnych, natomiast po aktywacji, wywołanej najczęściej związaniem IgE do receptora Fc ϵ RI, pojawia się ekspresja CD69 (cząsteczki charakteryzującej aktywne leukocyty [lektyny typu C — białka wiążące węglowodany

glikoprotein wielu komórek]) i tetraspaniny CD63 (cząsteczki o własnościach regulujących ekspresję molekuł adhezyjnych z grupy integryn, oznaczanej też jako LAMP-3 [*lysosomal associated membrane glycoprotein-3*]) oraz wzrasta ekspresja CD203c [3]. Aktywacja bazofili może także zachodzić niezależnie od wiązania IgE; wtedy zaangażowane są receptory z grupy *toll-like*: TLR-2 i TLR-4, które wiążą antygeny bakteryjne, a także może zachodzić wiązanie składnika dopełniacza C5a przez receptor CR5a. Podobnie wiązanie interleukiny IL-3 (uczestniczącej w krwiotworzeniu), IL-5 (stymulującej różnicowanie eozynofili) oraz IL-33 (z rodziny IL-1, o własnościach prozapalnych i indukującej proliferację mastocytów) — odpowiednio przez receptory CD123, CD125 i IL-33R — powoduje aktywację granulocytów zasadochłonnych [3].

Obecnie istnieją w diagnostyce testy określające stan aktywacji bazofili. Według Kima [13] stosuje się najczęściej zestaw przeciwciał przeciw receptorom CD123 oraz CCR3 dla chemokiny CCL11 — eotaksyny — o działaniu chemotaktycznym na eozynofile, a także stosowany od kilku lat zestaw przeciwciał anty-CD203c i anty-CD63.

Migracja bazofili wiąże się między innymi ze wzrostem ekspresji molekuł adhezyjnych z grupy integryn CD11b i CD18 oraz przejściem tych komórek przez śródbłonek naczyń krwionośnych do ognisk zapalnych w sposób charakterystyczny dla leukocytów. W miejscach tych bazofile wydzielają z ziaren PAF, który zwiększając przepuszczalność naczyń krwionośnych (podobnie jak histamina), ułatwia migrację innych komórek układu odpornościowego do miejsc zapalnych [3].

W badaniach u myszy doświadczalnych stwierdzono, że bazofile mogą zachowywać się podczas migracji w specyficzny sposób. Uszkodzenie skóry powoduje wydzielanie chemokin, na które bazofile reagują chemotaksją, wiążąc chemokiny do odpowiadających im receptorów — na przykład dla CCL5 (RANTES), CCL11 (eotaksyny, działającej chemotaktycznie na eozynofile) oraz CCL2 (MCP-1). W procesie migracji współuczestniczy śródbłonek naczyń krwionośnych zwiększający aktywację molekuł adhezyjnych z grup selektyn i integryn, co skutkuje silnym przyleganiem bazofili do śródbłonka. Następny etap migracji może różnić się od typowej fazy diapedezy (przejścia leukocytów przez śródbłonek). Zaobserwowano zatrzymanie bazofili wzdłuż błony podstawnej śródbłonka, gdzie antygeny związane z IgE i pośrednio z receptorem Fc ϵ RI powodują wydzielanie z bazofili interleukiny IL-4, wywołując ekspresję molekuły adhezyjnej VCAM (*vascular adhesion molecule*) na

śródbłonku. Aktywność tej molekuly prowadzi do zatrzymania krążących w krwi eozynofili oraz ich kumulację, charakterystyczną dla eozynofilowego stanu zapalnego skóry [14].

Zasadniczą czynnością granulocytów zasadochłonnych i rolą w wielu procesach jest degranulacja ziaren oraz wydzielanie ich zawartości, występujące wskutek aktywacji bazofili. Degranulacja ta może mieć charakter nagły i szybki, co jest charakterystyczne w przebiegu procesów anafilaktycznych, kiedy następuje fuzja błony ziaren z błoną komórkową bazofila i zawartość ziaren zostaje wydzielona całkowicie, jak gdyby „jednorożowo”. Znacznikiem tego rodzaju degranulacji jest silna ekspresja molekuly CD63, związanej z błoną ziaren. Innym rodzajem degranulacji jest proces częściowego i stopniowego wydzielania zawartości ziaren, którego wyznacznikiem jest wzrost ekspresji ektoenzymu CD203c [15].

Rozpoczęcie procesu degranulacji bazofili to wynik zmiany stanu równowagi między czynnikami pobudzającymi ten proces (aktywującymi) a hamującymi. Oznaką intensywnego działania czynników hamujących może być wysoka ekspresja na bazofilach molekuly CD300a, o własnościach modulujących reakcje odpornościowe [16]. Występowanie na bazofilach receptora CD200R dla cząsteczki CD200, o właściwościach regulujących procesy odpornościowe, wiąże się z hamowaniem aktywności bazofili. Niektóre wirusy *Herpes*, na przykład HHV6, HHV7 i HHV8, charakteryzuje obecność homologicznej cząsteczki do CD200, która łączy się z receptorem CD200R na bazofilach. W tych przypadkach, jak i w wypadku wirusa *Herpes* związanego z mięsakiem Kaposiego (KSHV, *Kaposi sarcoma-associated herpesvirus*), dochodzi do hamowania aktywności granulocytów zasadochłonnych [17].

Udział bazofili w procesach odpornościowych

Odporność wrodzona

Udział granulocytów zasadochłonnych w procesach odporności nieswoistej opiera się na:

- rozpoznawaniu cząsteczek pochodzących od patogenów poprzez receptory z grupy *toll-like*;
- rozpoznawaniu flagelliny, białka strukturalnego wici głównie bakterii Gram-ujemnych;
- wydzielaniu peptydów antybakteryjnych i tworzeniu struktur niszczących bakterie.

Rozpoznawanie cząsteczek pochodzących od patogenów (PAMP, *patogen-associated molecular patterns*), w tym pochodzących od bakterii (MAMP, *microbe-associated molecular patterns*), jest cechą

komórek układu odporności wrodzonej i zachodzi przez ich wiązanie do cząsteczek TLR. Receptor TLR-4 obecny na granulocytach zasadochłonnych rozpoznaje lipopolisacharydy bakteryjne (LPS) [2, 3]. Ekspresja na powierzchni bazofili receptorów z grupy *toll-like* pozwala też rozpoznawać molekuly, takie jak flagellina — główne białko strukturalne wici bakteryjnych. Stwierdzono, że flagellina pochodząca z bakterii Gram-ujemnych jest induktorem wytwarzania cytokin, a TLR-5 — jej receptorem na bazofilach. W badaniach *in vitro* na liniach komórkowych bazofili KU812 wykazano, że flagellina indukuje syntezę interleukiny IL-6 (m.in. czynnika regulującego odporność) przez receptor TLR-5. Podobnie receptor TLR-2 na bazofilach wiąże się z kwasem lipotejcholowym pochodzącym z gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*), co również pobudza syntezę i wydzielanie interleukin w bazofilach u człowieka [18]. Rozpoznanie patogenów przez bazofile prowadzi do aktywacji tych komórek, wydzielania mediatorów zapalenia i rozpoczęcia procesu zapalnego.

Bazofile w odpowiedzi na zakażenie bakteryjne mogą wydzielać peptydy o działaniu antybakteryjnym, na przykład β -defensynę i katelicynę, które podobnie jak w neutrofilach hamują proces namnażania bakterii. Pod wpływem IL-3, a także aktywacji receptora dla fragmentu dopełniacza C5a (C5aR) lub receptora Fc ϵ RI, bazofile mogą tworzyć pozakomórkową „pułapkę” dla bakterii (BET, *basophil extracellular trap*), zawierającą mitochondrialne DNA i białka typu proteazy o działaniu antybakteryjnym [19]. Strukturę taką — jako NET (*neutrophil extracellular trap*) — opisano po raz pierwszy w neutrofilach; wskazano, że jest to specyficzna cecha pozwalająca na pozakomórkowe niszczenie bakterii w procesach odporności wrodzonej [20].

Odporność nabyta

Udział bazofili w reakcjach odporności nabytej przejawia się:

- przez syntezę i szybkie wydzielanie dużych ilości interleukin IL-4 i IL-13;
- w działaniu bazofili jako komórek prezentujących antygen (APC, *antigen presenting cells*);
- przez uczestniczenie w regulacji procesów odporności nabytej.

Wydzielanie dużych ilości zwłaszcza IL-4, która stymuluje proces różnicowania naiwnych limfocytów pomocniczych Th0 w Th2, uważa się za najczęstszą i najważniejszą rolę granulocytów zasadochłonnych w procesach odporności nabytej. Limfocyty Th2 charakteryzują tak zwaną odporność

typu II, związaną głównie z procesami występującymi w alergiach skórnych i astmie [1].

W badaniach prowadzonych na myszach doświadczalnych stwierdzono, że bazofile mogą funkcjonować jako „nieprofesjonalne” komórki prezentujące antygen (APC), z uwagi na ekspresję na ich powierzchni cząsteczek MHC-II (*major histocompatibility complex*) i molekuł kostymulacyjnych CD86 oraz CD80. Mogą więc indukować tą drogą powstawanie zwiększonej liczby limfocytów Th2 [21]. U człowieka zdrowego nie stwierdzono dotąd ekspresji tych molekuł, natomiast u chorych na toczeń rumieniowaty układowy zauważono ekspresję cząsteczek antygenów zgodności tkankowej HLA (*human leukocyte antigen*) na bazofilach i ich migrację do węzłów chłonnych. W badaniach *in vitro* zaobserwowano jednak, że tylko 11–17% bazofili wykazywało ekspresję HLA-DR, ponadto była ona na tyle słaba, że nie wystarczała do indukcji różnicowania limfocytów Th2 [22]. Problem współdziałania pomiędzy bazofilem a komórką dendrytyczną, jako komórką prezentującą antygen, dotąd nie został wyjaśniony [21].

Niektóre prace wskazują na rolę bazofili jako immunoregulatora przebiegu procesów odporności nabytej. Przykładowo, stymulowanie przez granulocyty zasadochłonne powstawania limfocytów Th2 jednocześnie hamuje różnicowanie naiwnych limfocytów Th0 w limfocyty Th1. Ponadto badania *in vitro* ludzkich bazofili wykazały, że komórki te mogą wiązać IL-33, co obniża aktywację monocytów wywołaną przez lipopolisacharydy bakteryjne reagujące z TLR na tych komórkach. Reakcja ta wpływa na przebieg procesu zapalnego [23]. Bazofile, aktywowane przez IL-33, zwiększają ekspresję receptora FcγRIIb na makrofagach, modulując przebieg reakcji zapalnej, co zaobserwowano w doświadczalnym zapaleniu stawów na modelu mysim [4]. W migdałkach u człowieka bazofile mogą stymulować wydzielanie immunoglobulin IgE i IgG przez limfocyty B, co przyczynia się do zwiększenia intensywności odpowiedzi humoralnej [24].

Udział bazofili w procesach uczuleniowych (alergiach)

Procesy uczuleniowe rozwijają się wskutek rozwoju odpowiedzi immunologicznej, którą charakteryzuje obecność immunoglobulin IgE. Bazofile są jednym z rodzajów komórek uczestniczących w procesach uczuleniowych dzięki ich zdolności do wiązania IgE. Interakcja alergenu (zwanego antygenem prowokującym) związanego z IgE i reagującego z receptorem FcεRI dla IgE na powierzch-

ni bazofila jest podstawą reakcji uczuleniowej, w której dochodzi do uwalniania mediatorów alergii z ziaren bazofili. Rodzaj wewnątrzkomórkowej drogi sygnalizacyjnej po związaniu IgE prowadzącej do degranulacji zależy od wysokiego lub niskiego stopnia powinowactwa receptora FcεRI do IgE [12].

Liczne granulocyty zasadochłonne stwierdzono *in situ* w błonie śluzowej dróg oddechowych chorych na katar sienny i astmę; w chorobach skóry na tle uczuleniowym cechą obecnych w skórze bazofili jest wysoka ekspresja receptora FcεRI dla IgE [25]. Może także występować pogłębienie stanu zapalnego przez udział bazofili w wydzielaniu IL-4, czego następstwem jest zwiększenie liczebności limfocytów Th2 [26].

Udział bazofili w rozwoju astmy jest istotnym ogniwem w rozwoju tej choroby. Nabłonek dróg oddechowych pod wpływem alergenu wydziela cały szereg substancji wywołujących reakcję uczuleniową, np. interleukinę IL-33, dla której bazofile wykazują ekspresję receptora IL-33R (oznaczanego też jako ST2) i wskutek aktywacji wydzielają mediatory reakcji alergicznej [27]. W reakcji tej wydzielane są też leukotrieny związane z rozwojem procesu zapalnego [28]. Ponadto wykazano *in vitro*, że stymulacja bazofili nie tylko przez IL-33, lecz także przez interleukinę IL-25 (pobudzającą eozynofile) aktywuje te komórki w kierunku wzmacniania rozwoju reakcji uczuleniowej. Uzasadnia to określenie obu tych interleukin mianem alarmin, tj. substancji w bardzo szybki sposób wywołujących aktywację i migrację bazofili oraz wydzielanie mediatorów astmy [29]. Inną cytokiną wpływającą na rozwój procesów zapalnych w reakcjach uczuleniowych jest limfopoetyna TSLP wydzielana przez nabłonek, na przykład dróg oddechowych — pod wpływem zarówno alergenów, jak i substancji bakterio pochodnych lub cytokin prozapalnych. Limfopoetyna działa na bazofile, stymulując je w kierunku wydzielania IL-4 i powstawania limfocytów Th2 związanych z rozwojem procesów uczuleniowych [30].

W procesach zapalnych skóry na tle alergicznym, na przykład w uczuleniu kontaktowym, bazofile naciekają na skórę, czemu u około 60% chorych towarzyszy napływ eozynofili. Bazofile mogą wytwarzać czynnik wzrostu śródbłonka naczyń VEGF (*vascular endothelium growth factor*), co powoduje nasilenie procesów zapalnych w przebiegu uczulenia [31, 32]. W przypadkach alergii, gdzie zachodzi uszkodzenie nabłonka przez alergeny, wydzielana z komórek nekrotycznych IL-33 stymuluje bazofile do wytwarzania nie tylko IL-4, lecz także interleukiny IL-5. Wywołuje to zwiększenie rekrutacji eozynofili i nasila rozwój procesu zapalnego [33].

Specyficznym rodzajem uczulenia jest alergia pokarmowa, w której aktywność bazofili w ścianie jelita przejawia się w późniejszej fazie jej rozwoju [34].

Badania nad udziałem bazofili w procesach uczuleniowych stanowią punkt wyjścia do znalezienia odpowiednich metod terapii chorób alergicznych. Rozwój reakcji uczuleniowej w przebiegu astmy mogą ograniczać naturalne autoprzeciwciała typu IgG, na przykład IgG4, które wiążą się specyficznie do IgE w surowicy lub do IgE związanej z receptorem FcεRI na bazofilach. Mechanizm ich działania jest jednak odmienny od sposobu działania omalizumabu — przeciwciała anty-IgE, opartego na egzogennych immunoglobulinach IgG. Omalizumab — humanizowane przeciwciała monoklonalne — wiąże domenę CH3 umieszczoną blisko miejsca wiązania receptora ludzkiej IgE i zatrzymuje procesy uczuleniowe, ale nie aktywuje bazofili tak jak IgE [35]. Ponadto przeprowadzane są próby stosowania supresji reakcji uczuleniowych przez stymulowanie różnicowania limfocytów regulatorowych T (*Treg*), które między innymi hamują migrację bazofili do miejsc rozwoju procesu uczuleniowego i w ten sposób przeciwdziałają rozwojowi alergii [36]. Na modelu mysim badano mechanizm działania leczniczego promieniowania UVB (290–320 nm) w atopowym zapaleniu skóry. Stwierdzono, że istotną rolę odgrywa wydzielana z bazofili (również u człowieka) amfiregulina. Jest to cząsteczka zbliżona budową do czynnika wzrostu naskórka (EGF, *epidermal growth factor*), wiążąca się z receptorem EGF komórek naskórka i pobudzająca jego odnowę [37].

Szczegółowe dane na temat udziału granulocytów zasadochłonnych w procesach zapalnych w chorobach uczuleniowych zawiera opracowanie Siracusy i wsp. [2].

Bazofile w chorobach autoimmunologicznych

W kilku chorobach o podłożu autoimmunologicznym badano zachowanie się populacji bazofili — w tym w toczniu rumieniowatym układowym (SLE, *systemic lupus erythematosus*) i w reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS). W SLE występuje duże stężenie krążących autoprzeciwciał. Wprawdzie jest to związane z powstawaniem autoreaktywnych limfocytów B, ale zaobserwowano, że w przypadkach z obecnością autoreaktywnej IgE zaangażowane są bazofile. Aktywacja bazofili przez kompleksy immunologiczne zawierające IgE zwiększa wytwarzanie autoprzeciwciał i sprzyja rozwojowi choroby [38].

W pracy podsumowującej rolę bazofili w RZS stwierdzono na podstawie badań 800 chorych, że liczba krążących w krwi bazofili była obniżona, ale obecne tam bazofile wykazywały cechy aktywności. Autorzy tłumaczą to zaangażowaniem bazofili w proces zapalny, a obniżenie liczby bazofili wiąże z ich migracją do ognisk zapalnych i/lub węzłów chłonnych. Natomiast w młodzieńczym reumatoidalnym zapaleniu stawów obserwowano wzrost liczby bazofili w okresie początkowym rozwoju choroby. W RZS dochodzi do zaburzeń równowagi pomiędzy limfocytami Th1 i Th2 i na początku choroby w młodym wieku występująca przewaga liczebności limfocytów Th2 jest wywołana zwiększeniem liczby bazofili pobudzających różnicowanie limfocytów Th2 [39].

Bazofile w nowotworach układu krwiotwórczego

W niektórych chorobach rozrostowych układu krwiotwórczego stwierdzana jest bazofilia, czyli zwiększenie liczby bazofili w krwi i/lub w szpiku. Występuje ona w ostrej białaczce bazofilowej (ABL, *acute basophilic leukemia*) i przewlekłej białaczce bazofilowej (CBL, *chronic basophilic leukemia*); są to choroby rzadkie, w piśmiennictwie przedstawiane głównie jako opisy poszczególnych przypadków [40].

Bazofilia może występować także w nowotworach komórek z linii mieloidalnej, co zwykle ma miejsce w fazie przyspieszenia przebiegu przewlekłej białaczki szpikowej (jest to od dawna znane w hematologii). Opisano również chorego z przewlekłą białaczką szpikową, u którego zaobserwowano pojawienie się bazofili niedojrzałych o cechach komórek blastycznych i z ekspresją CD123+CD203c+ typową dla bazofili. Jednocześnie autorzy stwierdzają, że temu rzadkiemu występowaniu bazofilii z niedojrzałych komórek towarzyszyły zmiany chromosomalne i molekularne: 50XY i t(9;22) [41].

Ostra białaczka bazofilowa jest zespołem chorobowym, w którym występuje wysoki odsetek blastów i bazofili. U 15-letniej chorej stwierdzono odsetek bazofili osiągający 53% leukocytów krwi i 17% blastów; poza translokacją t(6;9), (p23;q34) występował u niej dodatkowy chromosom 8 bez długiego ramienia, a także dodatkowy chromosom 21 [42].

Przewlekła białaczka bazofilowa występuje wyjątkowo rzadko; dotychczas opisano mniej niż 10 przypadków, z czego cztery — w klinice Mayo

w Stanach Zjednoczonych [40]. Uwagę zwraca fakt, że automatyczne analizatory komórek krwi klasyfikują zmienione nowotworowo bazofile jako neutrofile, ponieważ mają zbliżoną liczbę i wielkość ziaren do występujących w cytoplazmie neutrofilii. Na przykład u pacjenta stwierdzono 2,6% bazofili w ocenie automatycznej, a w tradycyjnym liczeniu rozmazu — 46% (w tym 11% form niedojrzałych). Wskazuje to na konieczność wykonywania rozmazu manualnego przy ocenie liczby tych komórek w celu przeprowadzenia prawidłowego procesu diagnostycznego. W przedstawionym przykładzie przypadek dotyczy wystąpienia nietypowej postaci białaczki z komórek tucznych (mastocytów), z którą współistniała CBL. Towarzyszyły temu takie objawy, jak zmieniona morfologia mastocytów oraz wzrost stężenia białka ostrej fazy CRP (*C-reactive protein*) i interleukiny IL-6 [43].

Porównanie bazofili i mastocytów

Od wielu lat komórki te traktowano jako zbliżone pod względem morfologii i czynności. Jednakże badania ostatnich lat wykazały, że różnią się one pod względem pochodzenia i procesu różnicowania, a także immunofenotypu i czynności, zwłaszcza w sposobie zaangażowania w procesy zapalne, odpornościowe i rozwój nowotworów. Ważniejsze podobieństwa i różnice pomiędzy tymi komórkami przedstawia tabela 1.

Podsumowanie

Zainteresowanie rolą granulocytów zasadochłonnych — bazofili — jest w ostatnich latach bardzo szerokie, ale wiele z ukazujących się prac dotyczy bardzo wąskich, wycinkowych zagadnień związanych z aktywnością tych komórek. Z tego powodu dokonanie obecnie pełnego podsumowania problemów związanych z udziałem tych komórek w procesach zachodzących w organizmie jest utrudnione.

Przypisywane od wielu lat granulocytom zasadochłonnym istotne wielostronne znaczenie w rozwoju ostrych i przewlekłych chorób alergicznych nie wyczerpuje zakresu ich roli w organizmie. W ostatnich latach pojawiło się wiele prac stwierdzających, że bazofile uczestniczą w reakcjach odpornościowych. W wypadku odporności wrodzonej wykazują istotne działanie przeciwbakteryjne, w odporności nabytej zaś mają udział w inicjowaniu odpowiedzi immunologicznej przez szybkie wydzielanie dużych ilości IL-4, co stymuluje proces różnicowania limfocytów Th0 w Th2. Bazofile mogą też wpływać na aktywność innych komórek układu białokrwinkowego w procesach zapalnych. Można zatem powiedzieć, że na podstawie licznych najnowszych badań znaczenie roli granulocytów zasadochłonnych zostało lepiej poznane.

Tabela 1. Porównanie właściwości granulocytów zasadochłonnych (bazofili) i mastocytów [wg 2, 3, 15, 44–46]

Table 1. Basophils and mast cells comparison [acc. 2, 3, 15, 44–46]

Cecha komórki	Bazofil	Mastocyt
Pochodzenie i różnicowanie	U człowieka: CFU Eo/B; stymulacja różnicowania przez IL-3	Komórka prekursorowa pre-BMC (u myszy); stymulacja różnicowania przez SCF
Dojrzewanie i lokalizacja	Szpic, krew (dojrzałe bazofile) — czas przeżycia 2–5 dni; tkanki — obecne w procesach zapalnych, uczuleniowych	Tkanka docelowa (np. skóra); komórki długo żyjące (czas życia liczony w tygodniach, miesiącach)
Immunofenotyp i zawartość ziaren	Ekspresja FcεRI, CD123, CD203c, TLR Ziarna: histamina, siarczan heparanu, leukotrien LTC4, prostaglandyna PGD2, PAF, peptydy przeciwwzakaźne (np. katelicyna)	Ekspresja CD117, FcεRI, CD123 Ziarna: histamina, heparyna, tryptaza, chymaza, leukotrieny, prostaglandyny, VEGF
Główne wydzielane cytokiny	Interleukiny IL-4, IL-13; chemokiny CCL2, CCL3, CCL5; czynnik wzrostu GM-CSF	Liczne interleukiny, chemokiny, TNF-α
Udział w procesach odpornościowych, uczuleniowych, nowotworowych	Udział w reakcjach antybakteryjnych i przeciw pasożytom oraz w stymulacji limfocytów Th2; w rozwoju reakcji uczuleniowych (np. w rekrutacji eozynofili w płucach i skórze oraz we wstrząsie uczuleniowym); brak doniesień o udziale w procesach nowotworowych	Udział w reakcjach antybakteryjnych; w reakcjach uczuleniowych (w tym we wstrząsie uczuleniowym); działanie pronowotworowe (uczestniczą w angiogenezie w nowotworach i w supresji układu odpornościowego) i antynowotworowe (wydzielają TNF-α)

CFU Eo/B (*eosino/basophil colony forming unit*) — jednostka tworząca kolonie eozynofili i bazofili; PAF (*platelet activating factor*) — czynnik aktywujący płytki; TLR (*toll-like receptor*) — receptor *toll-like*; TNF-α (*tumor necrosis factor*) — czynnik martwicy nowotworu

Piśmiennictwo

1. Chirumbolo S. State-of-the art review about basophil research in immunology and allergy: is the time right to treat these cells with the respect they deserve. *Blood Transf.* 2012; 10: 148–164.
2. Siracusa M.C., Kim B.S., Spergel J.M., Artis D. Basophils and allergic inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 132: 789–798.
3. Cromheecke J.L., Nguyen K.T., Huston D.P. Emerging role of human basophil biology in health and disease. *Curr. Allergy Astma Rep.* 2014; 14: 408–419.
4. Sarfati M., Wakahara K., Chapuy L., Delespesse G. Mutual interactions of basophil and T cells in chronic inflammatory diseases. *Front. Immunol.* 6: 399.
5. Egawa M., Mukai K., Yoshikawa S. i wsp. Inflammatory monocytes recruited to allergic skin acquire an anti-inflammatory M2 phenotype via basophile — derived IL-4. *Immunity* 2013; 38: 570–580.
6. Metcalf D., Ng A.P., Baldwin T.M., Di Rago L., Mifsud S. Concordant mast cell and basophil production by hematopoietic blast colony-forming cells. *PNAS* 2013; 110: 0931–0935.
7. Huang H., Yapeng L. Mechanisms controlling mast cell and basophil lineage decisions. *Curr. Allergy Astma Rep.* 2014; 14: 457–465.
8. Gauvreau G.M., Denburg J.A. Human mast cell and eosinophil/basophil progenitors. *Methods Mol. Biol.* 2015; 1220: 59–68.
9. Reece P., Baatjes A.J., Cyr M.M., Sehmi R., Denburg J.A. Toll-like receptor — mediated eosinophil/basophil differentiation. *Immunology* 2013; 139: 256–264.
10. Gorgens A., Radtke S., Mollmann M. i wsp. Revision of the human hematopoietic tree. *Cell. Rep.* 2013; 3: 1539–1552.
11. Hui C.K., Rusta-Sallehy I., Asher I., Heroux D., Denburg J.A. The effect of thymic stromal lymphopoietin and IL-3 on human eosinophil/basophil lineage commitment. *Immunity Inflamm. Disease* 2014; 2: 44–55.
12. Dema R., Suzuki R., Rivera J., Reth I. Linking the role of immunoglobulin E and its high affinity receptor: new insight in allergy and beyond. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2014; 164: 271–279.
13. Kim Z., Choi B.S., Kim J.K., Won D. Basophil markers for identification and activation in the indirect basophil activation test by flow cytometry for diagnosis. *Ann. Lab.* 2016; 36: 28–35.
14. Cheng L.E., Sullivan B.M., Retana L.E. i wsp. IgE-activated basophils regulate eosinophil tissue entry by modulating endothelial functions. *J. Exp. Med.* 2015; 212: 513–524.
15. Mc Gowan E.C. Update on the performance and application of basophil activation test. *Curr. Allergy Astma Rep.* 2013; 13: 101–109.
16. Sabato V., Verweij M.M., Bridts C.H. i wsp. CD300a is expressed on human basophils and seems to inhibit IgE/FcεRI — dependent anaphylaxis degranulation. *Cytometry Part B* 2012; 82: 132–138.
17. Mousavinezhad-Moghaddam M., Amin A.A., Rafatpanath H., Rezaee S.W. A new insight into viral proteins as immunomodulatory therapeutic agents: KSHV vOX2 a homolog of human CD200 as a potent anti-inflammatory protein. *Iran. J. Basic. Med. Sci.* 2016; 19(1): 2–13.
18. Jeon J.H., Ahn K.B., Kim S.K., Im J., Yun C.H., Han S.M. Bacterial flagellin induces IL-5 expression in human basophils. *Mol. Immunol.* 2015; 65: 167–176.
19. Morshed M., Hluschuk R., Simon D. i wsp. NADPH-oxidase independent formation of extracellular DNA traps by basophils. *J. Immunol.* 2014; 192: 5319–5323.
20. Branzk N., Papayannopoulos V. Molecular mechanisms regulating netosis in infection and disease. *Semin. Immunopathol.* 2013; 35: 513–530.
21. Otsuka A., Kabashima K. Contribution of basophils to cutaneous immune reactions and Th2- mediated allergic responses. *Front. Immunol.* 6: 393.
22. Voskamp A.L., Prickett S.R., Mackay F., Rolland J.M., O’Hehir R.E. MHC class II expression on human basophils: induction and lack of functional significance. *PLOS one* 2013; 8: e81777.
23. Rivellesse F., Suurmond J., de Paulis A., Marone G., Huizinga T., Toes E. IgE and IL-33-mediated triggering of human basophils inhibit TLR4- induced monocyte activation. *Eur. J. Immunol.* 2014; 44: 3045–3055.
24. Cerutti A., Puga M., Cols M. New helping friends for B cells. *Eur. J. Immunol.* 2012; 42: 1956–1968.
25. Park C.O., Noh S., Jin S. i wsp. Insight into newly discovered innate immune modulation in atopic dermatitis. *Exp. Dermatol.* 2013; 22: 6–9.
26. Wakahara K., Van V.O., Baba N. i wsp. Basophils are recruited to inflamed lungs exacerbate memory Th2 responses in humans. *Allergy* 2013; 68: 180–189.
27. Lambrecht B.N., Hammad H. Asthma: the importance of dysregulated barrier immunity. *Eur. J. Immunol.* 2013; 43: 3127–3147.
28. Hall S., Agrawal D.K. Key mediators in the immunopathogenesis in allergic asthma. *Int. Immunopharmacol.* 2014; 23: 316–329.
29. Salter B.M., Oliveira J.P., Musca G. i wsp. IL-25 and IL-33 induce type 2 inflammation in basophils from subject with allergic asthma. *Respire. Res.* 2016; 17: 5.
30. Ziegler S.F. Thymic stromal lymphopoietin (TSLP) and allergic disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012; 130: 845–852.
31. Boriello A., Granata F. Marone G. Basophils and skin disorders. *J. Invest. Dermatol.* 2014; 62: 13–20.
32. Otsuka A., Kabeshima I. Mast cells and basophils in cutaneous immune responses. *Allergy* 2015; 70: 131–140.
33. Nakae S., Morita H., Ohno T., Arae K., Matsumoto K., Saito H. Role of interleukine-33 in innate-type immune cells in allergy. *Alergol. Intern.* 2013; 62: 13–20.
34. Valenta R., Hochwallner H., Linkart B., Pahr S. Food allergies: the basics. *Gastroenterology* 2015; 148: 1120–1138.
35. Chan Y.C., Ramadani F., Santos A.F. i wsp. „Auto-anti-IgE”: naturally occurring IgG anty IgE antibodies may inhibit allergen-induced basophil activation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014; 134: 1394–1401.
36. Akdis C.A., Akdis M. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy and immune tolerance to allergies. *World Allergy Org. Journ.* 2015; 8: 17.
37. Meulenbrock C., van Weelden H., Schwartz C. i wsp. Basophil — derived amphiregulin is essential for UVB-irradiation induced immune suppression. *J. Invest. Dermatol.* 2015; 135: 222–228.
38. Pelletigues C., Charles N. The deleterious role of basophils in systemic lupus erythematosus. *Curr. Opin. Immunol.* 2013; 25: 704–711.
39. Tang P., Chen Q., Lan Q. i wsp. Role of basophils in rheumatoid arthritis. *Exp. Therap. Med.* 2015; 9: 1567–1571.
40. Cehreli C., Ates H., Cehreli R., Sercan Z., Demirkan F. New paraneoplastic syndrome in chronic basophilic leukemia. *Int. J. Hematol.* 2013; 97: 498–504.

41. Babiker H.M., Proytchewa M. Basophilic blast phase of chronic myelogenous leukemia. *Blood* 2014; 124: 2464–2465.
42. Servitzglou M., Gremelia M. Baka M. i wsp. A novel karyotype in acute myeloid leukemia with basophilia. *Pediatr. Hematol. Oncol.* 2014; 31: 149–156.
43. Cehreli C., Alacacioglu I., Piskin O. Mast cell leukemia associated with undefined morphology and chronic basophilic leukemia. *BMC Hematology* 2014; 14: 17.
44. Sharma M., Hegde P., Armaniunda V. i wsp. Circulating human basophils. Lack the features of professional antigen presenting cells. *Scient. Rep.* 2013: 31188.
45. Duriancik D.M., Hoag K.A. Mistaken, identity purified basophils likely contaminated with dendritic cells. *Cytometry Part A* 2014; 65A: 570–572.
46. He S., Zhan H., Zeng X., Chen D., Yang P. Mast cells and basophils essentials for allergies: mechanisms of allergic inflammation and a proposal procedure of diagnosis. *Acta Pharmacol. Sin.* 2013; 34: 1270–1283.