

UDZIAŁ NANOTUB BŁONOWYCH W KOMUNIKACJI MIĘDZYKOMÓRKOWEJ

PARTICIPATION OF MEMBRANE NANOTUBES IN INTERCELLULAR COMMUNICATION

Agnieszka KNOPIK-SKROCKA, Agata ŚNIEGOWSKA

Zakład Biologii Komórki, Instytut Biologii Eksperymentalnej,
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Streszczenie: Kilka lat temu odkryto nieznaną do tej pory typ połączeń między komórkami zwierzęcymi, zaangażowany w ich komunikację. Ze względu na swoją specyficzną nanoarchitekturę nazwano je nanotubami tunelowymi lub nanotubami błonowymi. Nanotuby zapewniają transport zarówno błonowych, jak i cytoplazmatycznych składników komórkowych, włączając w to organelle. Uczestniczą także w transdukcji sygnału wapniowego oraz sygnału śmierci apoptotycznej. Długość dystansu, na jakim możliwy jest transfer za pomocą nanotub sięga kilkuset mikrometrów. Dotychczasowe dane wskazują na heterogenność budowy nanotub. Wśród nich można wyróżnić połączenia, które zapewniają bezpośredni kontakt cytoplazmy połączonych komórek (struktura typu otwartego) oraz takie, których transport wymaga pokonania bariery, jaką jest błona komórkowa (struktura typu zamkniętego). Ważnym odkryciem w badaniach nad nanotubami było wykazanie ich zdolności do transmisji patogenów, takich jak wirus HIV, czy nieprawidłowa forma białka prionowego PrP. Ponadto nanotuby pośredniczą w międzykomórkowym transporcie białka MDR, odpowiedzialnego za oporność komórek nowotworowych na chemioterapię. Oznacza to, iż ten typ połączeń może odgrywać bardzo istotną rolę w patomechanizmie AIDS, chorób prionowych oraz nowotworowych.

Słowa kluczowe: nanotuby błonowe, komunikacja międzykomórkowa, transport organelli, transdukcja sygnałów, transmisja patogenów

Summary: A few years ago a so far unknown type of intercellular connections between animal cells, involved in their communication was discovered. Due to its specific nano-architecture, these connections were named tunneling nanotubes or membrane nanotubes. Nanotubes ensure the transfer of both membrane and cytosolic cellular components, including organelles. They also participate in calcium signal transduction and apoptosis signal. The length of the distance at which cells contact via nanotubes reaches several hundred micrometers. The published data suggest that nanotubes have heterogeneous structure. Among them, there are nanotubes which provide direct contact of the cytoplasm in

connected cells (open-ended structure), and those, in which the transport requires overcoming a barrier, which is the cell membrane (close-ended structure). An important finding in the study of membrane nanotubes was demonstrating the ability of these connections of the transmission of pathogens, such as HIV, or abnormal form of PrP prion protein. In addition, nanotubes mediate a transport of MDR protein, involved in resistance of cancer cells to chemotherapy. It means that this type of cell connection may play an important role in the pathomechanism of AIDS, prion as well as cancer diseases.

Key words: membrane nanotubes, intercellular communication, organelle transport, signal transduction, transmission of pathogens

Wykaz skrótów: **ABC** – (ang. *ATP-Binding Cassette transporters*) – rodzina białek błonowych z kasetą wiążącą ATP; **Akt3** (ang. *RAC-gamma serine/threonine-protein kinase*) – izoforma gamma kinazy białkowej serynowo-treoninowej; **ALPS** (ang. *Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome*) – autoimmunizacyjny zespół proliferacyjny; **anty-EEA1** (ang. *Early Endosome Autoantigen 1 Antibody*) – przeciwciało skierowane przeciwko wczesnemu autoantygenowi endosomalnemu; **CD4** (ang. *Cluster of Differentiation 4*) – antygen różnicowania 4; **CD59** (ang. *Cluster of Differentiation 59*) – antygen różnicowania 59; **CDC42** (ang. *Cell Division Control protein 42*) – białko kontrolne cyklu komórkowego; **DC-STAMP** (ang. *Dendritic Cell-Specific Transmembrane Protein*) – białko transbłonowe specyficzne dla komórek dendrytycznych; **DiD** (ang. *1,1'-Diiodo-3,3,3',3'-tetrametyloindodikarbocyanine perchlorate*) – nadchloran 1,1'-diiodo-3,3,3',3'-tetrametyloindodikarbocyaniny; **DiO** (ang. *Diiodo-3,3'-diiodo-3,3,3',3'-tetrametyloindodikarbocyanine perchlorate*) – nadchloran 3,3'-diiodo-3,3,3',3'-tetrametyloindodikarbocyaniny; **EPC** (ang. *Endothelial Progenitor Cells*) – progenitorowe komórki endotelialne; **GFP** (ang. *Green Fluorescent Protein*) – białko zielonej fluorescencji; **GMI** (ang. *Monosialotetrahexosylganglioside*) – monosialotetraheksosogangliozyd; **GPCR** (ang. *G Protein Coupling Receptors*) – receptory sprzężone z białkiem G; **GPI** (ang. *Glycosyl-Phosphatidylinositol*) – glikozylofosfatydyloinozytol; **HEK293T** (ang. *Human Embryonic Kidney cells*) – komórki zarodkowe ludzkiej nerki; **HIV** (ang. *Human Immunodeficiency Virus*) – wirus zespołu nabytego braku odporności; **HUVEC** (ang. *Human Umbilical Vein Endothelial Cells*) – ludzkie komórki endotelialne; **I-BAR** (ang. *Bin-Amphiphysin-Rvs superfamily proteins*) – nadrodzina białek deformujących błonę; **m-βCD** (ang. *methyl-β-Cyclodextrin*) – metyl-β-cyklodekstryna; **MDR** (ang. *Multidrug Resistance Protein*) – białko oporności wielolekowej z rodziny białek ABC; **MHC** (ang. *Major Histocompatibility Complex*) – główny układ zgodności tkankowej; **MLV** (ang. *Murine Leukemia Virus*) – wirus mysiej białaczki; **MMSC** (ang. *Mesenchymal Multipotent Stromal Cells*) – multipotencjalne mezenchymalne komórki podścieliska; **MSCs** (ang. *Mesenchymal Stem Cells*) – mezenchymalne komórki macierzyste; **M-Sec** (ang. *tumor necrosis factor-α induced protein 2*) – białko indukowane czynnikiem α martwicy nowotworu; **MSTO-211H** (ang. *Human malignant pleural Mesothelioma*) – ludzkie komórki nowotworu płucnej; **mTOR** (ang. *mammalian Target Of Rapamycin*) – kinaza serynowo-treoninowa zwana ssaczym celem rapamycyny; **NK** (ang. *Natural Killers*) – komórki układu odpornościowego zwane naturalnymi zabójcami; **PC12** (ang. *rat Pheochromocytoma Cells*) – szczurze komórki guza chromochłonnego; **PI3K** (ang. *Phosphoinositide 3-Kinase*) fosfatydyloinozytolo-3-kinaza; **PrP** (ang. *Prion Protein*) – białko prionowe; **PrP^{sc}** (ang. *scrapie Prion Protein*) – patologiczna forma białka prionowego PrP; **QGY-7703** (ang. *human hepatocellular carcinoma cells*) – komórki ludzkiego nowotworu wątroby; **Ra1A** (ang. *Ras-related small GTPase*) – mała GTP-aza należąca do nadrodziny białek Ras; **Rho** (ang. *Ras homologous protein family*) – białko należące do rodziny małych białek G; **RTC** (ang. *Renal Tubular Cells*) – komórki nabłonka kanalików nerkowych; **RT4** (ang. *cell line derived from a transitional epithelium of urinary bladder*) – komórki nabłonka przejściowego pęcherza moczowego; **SH-SY5Y** (ang. *neuroblastoma*) – komórki nerwiaka płodowego; **T24** (ang. *Transitional cell carcinoma of urinary bladder*) – komórki nowotworu nabłonka przejściowego pęcherza moczowego; **TNTs** (ang. *Tunneling Nanotubes*) – nanotuby tunelowe, błonowe

WSTĘP

Międzykomórkowa komunikacja jest fundamentalnym zjawiskiem, zapewniającym kontrolę i integrację fizjologicznych procesów organizmu [46]. U roślin wymianę informacji i łączność cytoplazmy komórek zapewniają odkryte ponad 100 lat temu plazmodesmy [5, 17, 58]. Kanały te zawierają między innymi mikrofilamenty aktynowe oraz tak zwaną desmotubulę, biegnącą przez środek plazmodesmy, stanowiącą fragment zmodyfikowanego retikulum endoplazmatycznego ER.

Klasycznym mechanizmem komunikacji międzykomórkowej u zwierząt jest wydzielanie cząsteczek substancji sygnałowych poza komórkę i ich przekazywanie do komórek docelowych, głównie na drodze parakrynni i hemokrynni [35]. Swój udział w międzykomórkowym przekazywaniu sygnałów chemicznych mają uwalniane z komórek mikropęcherzyki, zarówno egzozomy, jak i ektosomy. Struktury te stanowią nośniki mRNA, miRNA oraz białek [6, 35, 42]. Do białek transportowanych za pomocą mikropęcherzyków należą między innymi śródbłonkowy czynnik wzrostu, płytkopochodny czynnik wzrostu, metaloproteazy, integryna $\beta 1$, a także receptory chemokin [35] i receptory sprzężone z białkiem G [21].

Transport międzykomórkowy za pomocą mikropęcherzyków nie wymaga kontaktu komórka-komórka. Taki kontakt jest natomiast niezbędny do wytworzenia połączeń szczelinowych, stanowiących drogę transportu niskocząsteczkowych substancji oraz wtórnych przekaźników informacji, takich jak jony Ca^{2+} [76].

Bezpośrednie oddziaływanie komórki donorowej i akceptorowej jest charakterystyczne także dla połączeń określanych jako synapsy immunologiczne [55]. Kontakt za ich pośrednictwem jest prawdopodobnie jednym z mechanizmów zjawiska trogocytozy, polegającej na pozyskiwaniu przez komórkę akceptorową fragmentów błony komórki donorowej wraz z wbudowanymi do niej białkami antygenowymi [13, 53], a także w przypadku na przykład komórek NK, na preferencyjnym przeniesieniu cytotoksycznych substancji do komórki docelowej [55, 68].

Rustom i wsp. [57] jako pierwsi opisali nieznaną dotąd rodzaj połączeń międzykomórkowych. Ze względu na wymiary i morfologię struktury te nazwano nanotubami błonowymi lub nanotubami tunelowymi (TNTs) [57]. Wewnętrznym składnikiem strukturalnym TNTs zaobserwowanych między szczurzymi komórkami linii guza chromochłonnego PC12 były mikrofilamenty aktynowe. Późniejsze badania, prowadzone na innych typach komórek dowiodły, iż nanotuby mogą także zawierać mikrotubule [9, 48] oraz filamenty pośrednie [71].

Imponująca jest różnorodność komórek, w przypadku których stwierdzono zdolność komunikowania się za pośrednictwem nanotub w warunkach *in vitro*. Wśród nich są komórki linii HEK293T [57], komórki HUVEC [73], komórki linii RT4 i T24 [28], QGY-7703 [44], MSTO-211H [38], czy ostatnio komórki HeLa [59]. Komórkami, które chętnie komunikują się za pomocą TNTs są także komórki układu immunologicznego – makrofagi [48], limfocyty T [4, 66], komórki NK [9]

oraz komórki dendrytyczne [59]. Obserwacji nanotub *in vivo* udało się dokonać do tej pory jedynie na komórkach dendrytycznych w mysiej rogówce [11].

Ostatnie doniesienia wskazują także na udział nanotub w komunikacji międzykomórkowej bakterii [15], co przemawia za tym, iż nanotuby błonowe nie są charakterystyczne tylko dla organizmów wielokomórkowych.

Ciągle wzrastająca liczba typów komórek, dla których udokumentowano zdolność formowania TNTs oraz bogactwo składników transportowanych przy udziale nanotub, włączając w to organelle, składniki zasocjowane z błoną komórkową, czy cząsteczki sygnałowe [27, 41] świadczą o tym, iż połączenia te reprezentują powszechny mechanizm funkcjonalnej łączności między komórkami. Przełomowymi odkryciami w badaniach nad TNTs były niewątpliwie wyniki, które wskazały na udział tych połączeń w międzykomórkowym przenoszeniu wirusa HIV [16, 31, 32, 66], białka prionowego PrP [7, 20, 34], a także białka MDR [50]. Z tego względu nanotuby błonowe stanowią obiekt intensywnie prowadzonych badań, które pozwolą na szczegółowe poznanie już nie tylko struktury i mechanizmów funkcjonowania TNTs, ale przede wszystkim czynników regulujących proces ich powstawania, co może mieć ogromne znaczenie w opracowaniu nowych terapii wybranych chorób.

Celem obecnej pracy jest syntetyczne przedstawienie aktualnego stanu wiedzy na temat biologii TNTs oraz ich udziału w patomechanizmie niektórych chorób. Prezentowane dane literaturowe stanowią wyniki wielokierunkowych badań prowadzonych w oparciu o liczne metody i techniki, jakimi dysponuje biologia komórki.

METODY WIZUALIZACJI I BADAŃ TNTs

Dużym ograniczeniem w realizacji badań nad nanotubami jest fakt, iż są to struktury o bardzo małych wymiarach oraz krótkim czasie trwania. Identyfikacja tych połączeń opiera się głównie na kryteriach morfologicznych. Obserwacje połączeń TNTs w mikroskopie elektronowym transmisyjnym [21, 66, 71], skaningowym [15, 71, 31, 32, 75] lub w oparciu o optykę kontrastu fazowego i różnicowo-interferencyjnego [8, 48] pozwoliły głównie na badania strukturalne nanotub błonowych. Z kolei badania z wykorzystaniem fluorescencji pozwalają analizować zarówno strukturę TNTs, jak również dostarczają informacji na temat ich funkcji związanej z transferem międzykomórkowym. W tym celu szeroko stosowane są takie barwniki jak DiD i DiO [8, 31, 32, 67], czy białko zielonej fluorescencji GFP. Umożliwiają one znakowanie zarówno elementów przemieszczających się wzdłuż powierzchni nanotub, jak i w ich wnętrzu [23, 48, 66]. Do wizualizacji elementów cytoszkieletu TNTs w postaci mikrofilamentów aktynowych stosuje się falloidynę z fluorochromem Alexa Fluor 488, a mikrotubule znakuje się przy pomocy skoniugowanego z fikoerytryną przeciwciała monoklonalnego skierowanego przeciwko α -tubulinie [44, 48, 66, 75].

Zdolność nanotub do transportu organelli można ocenić przy użyciu znaczników wybranych kompartmentów. Przykładami są Lyso Tracker selektywnie kumulujący się w lizosomach [20, 57, 78], ER Tracker dla retikulum endoplazmatycznego oraz Golgi Tracker umożliwiający detekcję aparatu Golgiego [31]. W podobnym celu stosowany jest Mito Tracker wobec mitochondriów [25, 48, 52]. W przeciwieństwie do klasycznych znaczników tego kompartmentu, których przykładem jest rodamina, Mito Tracker kumuluje się w sposób trwały, także podczas utrwalania komórek. Jego kumulacja nie zmienia się także w zależności od potencjału błon mitochondrialnych, co ułatwia obserwacje transportu mitochondriów z komórki do komórki. Z kolei do lokalizacji transportu endosomów pomocne może być zastosowanie przeciwciał anti-EEA1 [32].

Ostatnie wyniki wskazują ponadto na możliwość praktycznego zastosowania w badaniach nad TNTs znaczników nieorganicznych – fotostabilnych nanocząstek zwanych kropkami kwantowymi [14, 44, 74]. Po internalizacji, w komórce tworzą agregaty, z których wiele zostaje zamkniętych w lizosomach lub endosomach i w takiej postaci mogą przemieszczać się w obrębie nanotub. Ze względu na swoje właściwości, kropki kwantowe uważa się za dogodne narzędzie w badaniach międzykomórkowego transportu leków [64].

Analizom obrazów mikroskopowych uzyskanych dzięki szerokiej gamie znaczników elementów strukturalnych oraz składników transportowanych przy udziale TNTs, towarzyszą analizy prowadzone w oparciu o cytometrię przepływową [4, 8, 40, 78, 75]. Przykładem takich badań jest ocena ilościowa międzykomórkowego transportu organelli po zadziałaniu cytochalazyny B jako czynnika dezorganizującego aktynę F nanotub [8]. Warto podkreślić, iż ponad 3-krotny spadek transportu odnotowany za pomocą cytometrii przepływowej nie różnił się istotnie od wyniku uzyskanego metodą mikroskopową (2,9-krotny spadek transportu).

W badaniach nad wpływem składu i organizacji błony komórkowej na formowanie i stabilizację nanotub [37] stosuje się znaczniki traw lipidowych, czyli obszarów charakteryzujących się wysoką zawartością cholesterolu i sfingomieliny. Przykładem znacznika najnowszej generacji jest ostreolizyna, izolowana z boczniaka Oyster mushroom. Związek ten różni się od dotychczasowych znaczników tym, iż wiąże się z kompleksami, w skład których wchodzi równocześnie cholesterol i sfingomielina. Do oddziaływań pomiędzy ostreolizyną a cholesterolem i sfingomieliną nie dochodzi natomiast wówczas, gdy lipidy te występują osobno.

Analizy proteomiczne TNTs stwarzają możliwości poznania ilościowego udziału białek obecnych w tych połączeniach. Dotyczy to nie tylko białek cytoskieletu, ale także białek charakterystycznych dla określonych organelli lokalizowanych w nanotubach [31].

Dzięki połączeniu dotychczasowych możliwości, jakie stwarza mikroskopia fluorescencyjna, z nowoczesnymi technikami komputerowymi, opracowano me-

tość automatycznej detekcji nanotub w komórkach hodowanych *in vitro* [26]. Na jej wyniki mają wpływ warunki, w jakich prowadzona jest hodowla komórek. Dotyczy to na przykład odległości między komórkami. Zbyt mała odległość między komórkami utrudnia detekcję. Rozwiązaniem tego problemu jest wprowadzenie standaryzowanych warunków kultur komórkowych. Pozwala na to metoda z wykorzystaniem tak zwanych platform mikrostrukturalnych, stanowiących odpowiednio przygotowane podłoże, z którym w sposób uporządkowany zostają związane pojedyncze komórki (singularyzacja) [1]. Przy założeniu, iż proces formowania nanotub może przebiegać odmiennie w warunkach prawidłowych i patologicznych, dane uzyskane w oparciu o taką metodę byłyby bardzo istotne w aspekcie możliwości prowadzenia poszukiwań leków, wykazujących wpływ na przebieg procesu powstawania TNTs.

STRUKTURA TNTs

Nanotuby błonowe stanowią pod względem struktury heterogenną grupę połączeń międzykomórkowych. W zależności od typu komórek uczestniczących w formowaniu TNTs, struktury te wykazują określone cechy (tab. 1). Zróżnicowanie strukturalne dotyczy rodzaju obecnego składnika cytoszkieletu oraz obecności lub braku ciągłości błony komórek. Opisane przez Rustoma i wsp. [57] połączenia formowane między komórkami linii PC12 to struktury o średnicy 0,05-0,2 mikrometrów i długości przekraczającej kilkaset mikrometrów, zawierające mikrofilamenty aktynowe. Zachowana ciągłość błony między komórkami PC12 zapewnia łączność cytoplazmy. Ten typ TNTs określa się jako struktury typu otwartego (ang. *open-ended*), dzięki którym możliwe jest przemieszczanie się zarówno składników zasocjowanych z błoną komórkową, jak i składników cytozolowych oraz organelli (ryc.1).

Do TNTs o strukturze otwartej należą także nanotuby błonowe formowane przez makrofagi. Wśród nich wyróżniono dwa typy różniące się składnikiem cytoszkieletu oraz średnicą [48]. Typ I to cienkie nanotuby, o średnicy < 0,7 mikrometra, zawierające aktynę F. Typ II to grube nanotuby, mające średnicę równą lub przekraczającą 0,7 mikrometra. Ten typ połączeń wykazuje obecność zarówno aktyny F, jak i mikrotubul.

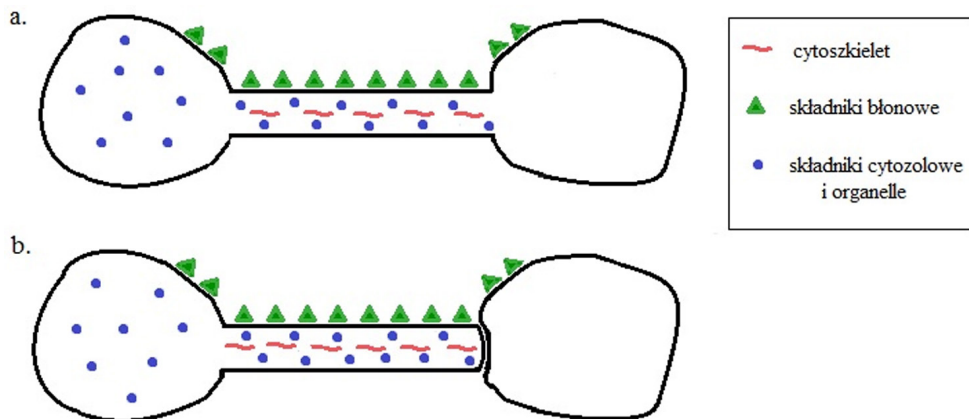
Połączenia TNTs między limfocytami T, opisane przez Sowinski i wsp. [66], zawierają tylko mikrofilamenty aktynowe i nie zapewniają łączności cytoplazmy komórek. Stąd określa się je jako struktury typu zamkniętego (ang. *close-ended*). Dla tego typu nanotub charakterystyczne jest przemieszczanie się składników zasocjowanych z błoną (ryc.1). Doniesienia Arkwrighta i wsp. [4] wskazują jednak, iż limfocyty T stymulowane FasL mogą formować także TNTs o budowie otwartej (tab. 1). To sugeruje, iż ten sam typ komórki może formować nanotuby o różnej strukturze, w zależności od sygnałów dochodzących do nich.

TABELA 1. Heterogenność struktury połączeń TNTs zidentyfikowanych w różnych typach komórek
 TABLE 1. Heterogeneity of TNTs structure identified in various cell types

KOMÓRKI	SKŁADNIKI CYTOSZKIELETU	CIĄGŁOŚĆ BŁONY	LITERATURA
PC12	mikrofilamenty aktynowe	+	[57]
RT4, T24 typ I	mikrofilamenty aktynowe	+	[71]
typ II	filamenty keratynowe	+	
nabłonka pigmentowego siatkówki	mikrofilamenty aktynowe	+	[75]
makrofagi typ I	mikrofilamenty aktynowe	+	[48]
typ II	mikrofilamenty aktynowe, mikrotubule	+	
limfocyty T	mikrofilamenty aktynowe	-	[66]
limfocyty T	mikrofilamenty aktynowe	+	[4]
NK	mikrofilamenty aktynowe, mikrotubule	-	[9]

Z obserwacji prowadzonych na komórkach nabłonka pęcherza moczowego linii RT4 oraz T24 wynika, iż komórki te mogą formować zarówno krótkie połączenia o długości około 30 mikrometrów, zawierające aktynę F, jak i długie (>100 mikrometrów), stabilizowane filamentami keratynowymi [71]. W obu przypadkach TNTs to struktury z zachowaną ciągłością błony komórkowej, czyli należące do typu o budowie otwartej.

Mimo różnic w budowie, wszystkie TNTs charakteryzuje brak fizycznego kontaktu z podłożem. To pozwala odróżnić je od podobnych do nich struktur, których przykładem są filopodia, cytonemy oraz mosty filopodialne. Filopodia, podobnie jak TNTs, zawierają mikrofilamenty aktynowe, jednak ich średnia długość wynosi zaledwie kilka mikrometrów [2, 8, 36, 41]. Cytonemy to struktury bogate w aktynę, o długości ponad 100 mikrometrów, które opisuje się jako połączenia zaangażowane na przykład u muszki owocowej *Drosophila melanogaster* w transport morfogenów [33]. U ssaków, cienkie wypustki podobne do cytonem nazwano mostami filopodialnymi. Ze względu na udział w przenoszeniu retrowirusów określa się je także mianem cytonem wirusowych [61].



RYCINA 1. Schemat budowy TNTs a) typu otwartego, b) typu zamkniętego
 FIGURE 1. Scheme of TNTs structure a) open-ended, b) close-ended

TNTs różnią się ponadto od opisanych ostatnio połączeń tubularnych między ludzkimi komórkami nabłonka oskrzeli, mimo, iż struktury te nie wiążą się z podłożem i zawierają aktynę oraz mikrotubule [79]. Mosty nabłonkowe (ang. *epithelial bridges*) są w porównaniu z nanotubami błonowymi szersze (1-20 mikrometrów) oraz dłuższe (25 mikrometrów-1 milimetr) i zachowują stabilność przez ponad 48 godzin, podczas gdy dla TNTs czas ten wynosi maksymalnie do kilku godzin [79].

MECHANIZMY POWSTAWANIA TNTs

Do tej pory znane są dwa mechanizmy powstawania nanotub. Jednym z nich jest mechanizm oparty na zdolności komórki do tworzenia TNTs na bazie wypustek podobnych do filopodiów i zawierających aktynę F. Taki sposób powstawania TNTs *de novo* opisano między innymi dla komórek linii PC12 [8, 57]. Powstawaniu i elongacji TNTs towarzyszy polimeryzacja aktyny. Wykazano, iż w wyniku stosowania latrunkuliny, związku depolimeryzującego aktynę F [57], dochodzi do zablokowania tego procesu. Co ciekawe, cytochalazyna B blokuje formowanie nowych nanotub, natomiast jej wpływ na już istniejące nanotuby jest słaby.

Molekularny mechanizm polimeryzacji aktyny w trakcie powstawania TNTs *de novo* jak dotąd nie został dokładnie poznany. Nie wyklucza się jego podobieństwa do mechanizmu tworzenia filopodiów [2]. Być może tak jak w ich przypadku, następuje aktywacja białka CDC42, należącego do rodziny białek Rho i zaangażowanego w organizację mikrofilamentów aktynowych [54].

Po zakończonej elongacji, koniec wypustki wchodzi w kontakt z komórką docelową. W przypadku komórek linii PC12, formujących TNTs typu otwartego, pro-

wadzi to do adhezji i fuzji błon. Zaproponowany przez Lokar i wsp. [36] model zakłada, iż do pełnej stabilizacji wymagane jest uformowanie połączeń adhezyjnych w kilku miejscach błony komórki docelowej. W powyższych obszarach wykazano obecność takich białek adhezyjnych jak N-kadheryna i β -katenina.

Drugi mechanizm formowania TNTs wiąże się z uprzednim kontaktem komórek, po którym komórki oddalają się od siebie, a między nimi formowana jest nanotuba. Ten sposób formowania TNTs jest charakterystyczny dla takich komórek układu immunologicznego jak makrofagi [48], czy limfocyty T [66]. Proces formowania TNTs w oparciu o ten mechanizm jest zależny od czasu kontaktu komórek [67]. Krótki, przejściowy kontakt między limfocytami T, trwający około 2-3 minut, rzadko prowadzi do uformowania nanotuby. Wraz z wydłużeniem się czasu kontaktu komórek powyżej kilku minut wzrasta istotnie częstość formowania TNTs.

Dla komórek NK wykazano, iż ich bliski kontakt z inną komórką prowadzi do uformowania na styku nanotuby z błoną komórki docelowej synapsy immunologicznej, pośredniczącej w cytotoksyczności komórek NK [9]. Uformowanie dojrzałej synapsy immunologicznej wymaga uprzednio zarówno polaryzacji, jak i adhezji komórek uczestniczących w jej powstawaniu. W procesie tym kluczową rolę odgrywają zmiany w obrębie błony komórkowej oraz rearanżacja aktyny F [19].

Istotny wpływ na proces powstawania, a także stabilność TNTs ma skład oraz organizacja błony komórkowej. Z badań Lokar i wsp. [37] wynika, iż obecność cholesterolu jest bardzo istotna dla prawidłowego przebiegu formowania i stabilności nanotub. Jego częściowe usunięcie z błony komórkowej w wyniku traktowania komórek metylo- β -cyklodekstryną, jak i hodowla komórek w środowisku pozbawionym cholesterolu, powoduje wyraźne ograniczenie formowania nanotub.

Dla komórek linii RT4 oraz T24 wzrost liczby TNTs obserwowano wraz ze wzrostem liczby cząsteczek gangliozydu GM1 w danym obszarze błony komórkowej [28]. Związek ten jest znanym markerem tratw lipidowych, do którego wiąże się toksyna B cholery [63]. Wykazano, że liczba nanotub w komórkach nowotworowych linii T24 jest istotnie większa niż w prawidłowych linii RT4. Różnicę tę obserwowano zarówno w normalnych warunkach hodowli, jak i w obniżonej temperaturze oraz po zastosowaniu toksyny B cholery. Bardziej stymulujące działanie tej toksyny na komórki nowotworowe może wynikać z większej zawartości tratw lipidowych w ich błonach komórkowych [28].

W zrozumieniu mechanizmów i sił rządzących procesem powstawania TNTs pomocne mogą być także badania na sztucznych układach lipidowych. W literaturze opisano powstawanie nanotubularnych połączeń między liposomami [71]. Wykazują one mechaniczną stabilność mimo, iż nie posiadają, w przeciwieństwie do nanotub obecnych w systemach komórkowych, elementów wzmacniających, takich jak mikrofilamenty aktynowe. Za stabilność zarówno nanotub w sztucznych, jak i biologicznych układach mogą odpowiadać bogate w cholesterol i sfingomielinę tratwy lipidowe o odpowiedniej krzywiznie [30, 71]. W obszarze, gdzie dochodzi

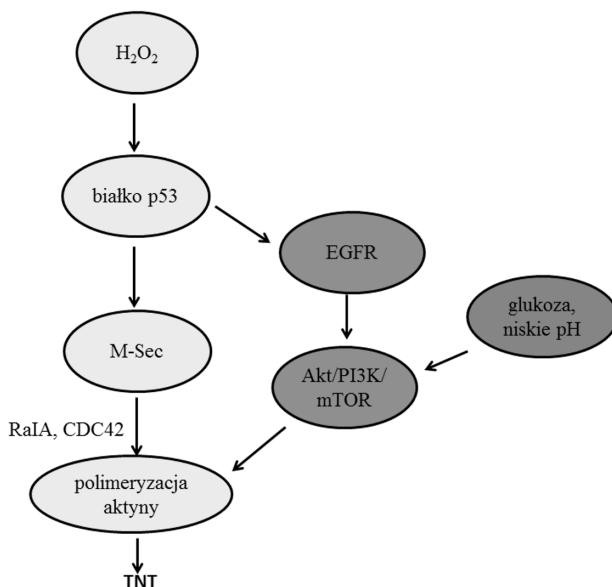
do powstawania nanotuby, preferowana jest tak zwana krzywizna anizotropowa w kształcie cylindra. Dodatkowym czynnikiem wpływającym na taką geometrię błony są towarzyszące tratwom białka I-BAR. Znana jest ich rola w oddziaływaniach mikrofilamentów aktynowych z błoną komórkową [80]. Stabilność nanotub jest zapewniona tylko w specyficznym zakresie krzywizny błony, przy niezbyt dużej gęstości białek I-BAR [29].

REGULATORY PROCESU POWSTAWANIA TNTs

Czynnikiem, który stymuluje komórki do formowania TNTs *de novo* jest stres wywołany niedotlenieniem. Badania prowadzone na szczurzych astrocytach i neuronach hipokampa wykazały, iż komórki te są stymulowane do tworzenia nanotub w obecności H_2O_2 [73]. Komórki podlegające stresowi zaczynają wytwarzać nanotuby w kierunku komórek, na które nie działają czynniki stresowe. Ci sami autorzy wykazali ponadto, iż w warunkach niedotlenienia następuje aktywacja białka p53, co stanowi punkt wyjścia do kaskady zdarzeń prowadzących ostatecznie do powstania TNTs (ryc.2). Jednym z genów aktywowanych przez p53 jest gen receptora czynnika wzrostu naskórka. W efekcie dochodzi do uruchomienia ścieżki sygnałowej Akt/PI3K/mTOR [73]. O istotnej roli mTOR w formowaniu TNTs przemawiają wyniki Lou i wsp. [2012]. Obecność inhibitora mTOR (ewerolimus) prowadzi bowiem do zahamowania tego procesu. Stymulowanie formowania nanotub pod wpływem środowiska bogatego w glukozę, o niskim pH [38] może wynikać z nadaktywacji ścieżki mTOR w tych warunkach.

Kolejnym regulatorem procesu formowania nanotub jest białko M-Sec [22, 47]. Ekspresja M-Sec wzrasta w warunkach niedotlenienia i może być regulowana przez białko p53 [73]. Białko M-Sec, indukowane czynnikiem α -TNF, jest obecnie uznawane za jeden z możliwych molekularnych markerów połączeń TNTs [47]. Wyniki badań nad rolą M-Sec w powstawaniu TNTs wskazują, iż białko to współpracuje z GTPazą RaIA. RaIA jest zaangażowana w reorganizację aktyny F w komórce oraz w transport pęcherzykowy, za pośrednictwem którego następuje dostarczenie odpowiednich składników błonowych w region tworzonej nanotuby. M-Sec i RaIA regulują polimeryzację aktyny, włączając w to białko CDC42, o którym wspomniano już wcześniej.

Jak pokazują powyższe dane, udział białka M-Sec jako czynnika regulującego powstawanie TNTs prawdopodobnie ogranicza się tylko do nanotub zawierających mikrofilamenty aktynowe. To sugeruje, iż powstawanie TNTs, w których obecne są mikrotubule wymaga innych niż M-Sec czynników [33]. Ich poznanie, podobnie jak dalsze badania nad M-Sec wydają się bardzo istotne, gdyż mogą doprowadzić do odkrycia lub opracowania leków wpływających na ich aktywność, a tym samym regulujących powstawanie nanotub.



RYCINA 2. Czynniki stymulujące formowanie TNTs
 FIGURE 2. Factors stimulating TNTs formation

MECHANIZMY TRANSPORTU PRZY UDZIALE TNTs I FIZJOLOGICZNA ROLA TYCH POŁĄCZEŃ

Jak wykazały liczne badania nanotuby błonowe stanowią drogę międzykomórkowego transportu zarówno składników cytozolowych, organelli, jak i składników związanych z błoną komórkową (tab. 2). Nanotuby o strukturze otwartej, zawierające tylko aktynę F umożliwiają jednokierunkowy transport [16, 20, 57], podczas gdy nanotuby otwarte, zawierające zarówno aktynę F, jak i mikrotubule są zdolne do dwukierunkowego transportu [44, 48].

W transport odbywający się wzdłuż mikrofilamentów aktynowych jest zaangażowana miozyna [44, 74], natomiast kinezyzna i dyneina to białka związane z transportem wzdłuż mikrotubul [44]. Jest to proces aktywny, który zostaje zablokowany w obecności azydku, związku hamującego syntezę ATP [48, 74].

W przypadku, gdy wymiary składnika transportowanego przekraczają wewnętrzną średnicę nanotub, transport może odbywać się za pośrednictwem tak zwanych dy-latacji. Są to rozszerzenia na przebiegu nanotub, przypominające swoim wyglądem gondole [14, 71]. Struktury te stanowią integralną część połączeń TNTs, zarówno zawierających aktynę F, jak i filamenty keratynowe [71]. Średnia szybkość, z jaką gondole przemieszczają się w obrębie nanotub wynosi 40 nanometrów/sekunda.

TRANSPORT ORGANELLI JAKO STRATEGIA NAPRAWCZA KOMÓREK

Transport organelli odbywający się przy udziale nanotub błonowych wydaje się odgrywać istotną rolę zwłaszcza w przypadku, gdy komórki podlegają uszkodzeniom, bądź przedwczesnemu starzeniu się. Stąd podkreśla się ich znaczenie w strategii naprawczej komórek.

Cukrzycy, miażdżycy oraz chronicznemu zapaleniu nerek towarzyszy stres oksydacyjny i indukowany nim przedwczesny proces starzenia się komórek nabłonka naczyń krwionośnych [18]. Efektem działania warunków stresowych jest między innymi dysfunkcja lizosomów, akumulacja gangliozydów w komórce oraz autofagia [51]. Transport lizosomów z zachowaną integralnością ich błon obserwowano w obrębie nanotub kierowanych z nieuszkodzonych endotelialnych komórek progenitorowych EPC do komórek HUVEC poddanych stresowi na skutek działania czynnika indukującego glikację kolagenu I. Średnia szybkość tego procesu wynosiła 1 mikrometr/minuta [77].

Efekt naprawczy polegający na wzmożonym transporcie mitochondriów obserwowano pomiędzy zdrowymi komórkami EPC i komórkami HUVEC, traktowanymi cytotoksycznym stężeniem adriamycyny (doxorubicyny) [77]. W wyniku jej działania dochodzi bowiem do zaburzeń w funkcjonowaniu mitochondriów.

Kolejnym przykładem udziału TNTs w ratowaniu komórek są wyniki Cselenyak i wsp. [12]. Przeżywalność szczurzych kardiomioblastów H9c2 inkubowanych w środowisku pozbawionym glukozy, w 0,5% O₂ i 99,5% N₂ przez 150 minut istotnie zwiększyła się w wyniku kontaktu ze zdrowymi mysimi macierzystymi komórkami mezenchymalnymi MSCs i transportu zarówno organelli, takich jak mitochondria, jak i składników cytozolowych.

Wyniki Plotnikov i wsp. [52] wskazują, iż TNTs mogą także pośredniczyć w różnicowaniu ludzkich multipotencjalnych mezenchymalnych komórek podścieliska MMSC. Transportowi mitochondriów ze zróżnicowanych komórek nabłonka kanalików nerkowych RTC towarzyszy transport cytozolowych składników odpowiedzialnych za różnicowanie MMSC.

Nadal pozostaje otwarte pytanie, w jaki sposób dochodzi do inicjacji formowania nanotub przez komórki nie poddane czynnikom stresowym oraz selektywnego transportu ich składników. Prawdopodobnie komórki poddane stresowi wysyłają sygnały w kierunku komórek nieuszkodzonych, a te rozpoczynają formowanie nanotub. Takim sygnałem może być na przykład akumulacja fosfatydyloseryny w zewnętrznej monowarstwie dwuwarstwy lipidowej błony [78]. Zablockowanie takiego sygnału, na przykład poprzez związanie aneksyny V z fosfatydyloseryną istotnie obniża stopień transportu organelli.

TRANSMISJA SYGNAŁU WAPNIOWEGO

Watkins i Salter jako pierwsi wskazali na udział TNTs w transmisji jonów Ca^{2+} [27]. Dzięki nanotubom sygnał wapniowy jest przekazywany pomiędzy komórkami układu immunologicznego w ciągu zaledwie kilku sekund z odległości nawet kilkuset mikrometrów. Dalsze badania wykazały, iż przekaz sygnału wapniowego za pomocą TNTs następuje także w przypadku komórek nabłonka siatkówki, komórek linii HEK, czy komórek nerwiaka płodowego linii SH-SY5Y [22, 65, 72, 75]. W przypadku TNTs typu zamkniętego polega to na przekazaniu wzdłuż nanotub tzw. fali depolaryzacyjnej kierowanej z komórki pobudzonej w kierunku komórki niepobudzonej [72, 75]. To powoduje przejściowy wzrost stężenia Ca^{2+} na skutek aktywowanych w komórce docelowej kanałów Ca^{2+} zależnych od potencjału.

Na styku pomiędzy nanotubą a powierzchnią komórki docelowej wykazano obecność koneksyny 43, składowej połączeń szczelinowych [72, 75]. O istotnej roli tych struktur w przesyłaniu sygnału przemawia fakt, iż użycie kwasu meklofenamowego, blokera połączeń szczelinowych, znosi transmisję fali depolaryzacyjnej w komórce docelowej i otwarcie kanałów Ca^{2+} .

Wykazano, iż za pomocą nanotub może także następować bezpośredni przepływ jonów Ca^{2+} . Dotyczy to jednak tylko nanotub o strukturze otwartej [22, 65]. Równocześnie stwierdzono, że bierny przepływ jonów Ca^{2+} nie jest wystarczająco efektywny do pobudzenia komórki docelowej [65]. We wzmacnieniu sygnału biorą udział receptory trójfosforanu inozytolu. Ich obecność wykazano w obrębie ER wewnątrz nanotub.

TRANSMISJA SYGNAŁU ŚMIERCI APOPTOTYCZNEJ

Z ostatnich badań wynika, iż stymulacja limfocytów T za pomocą FasL, zaangażowanego w zewnątrzpochodny szlak śmierci apoptotycznej, stymuluje komórki do tworzenia nanotub i przesyłania sygnału śmierci [4, 40]. Mutacja w obrębie domeny cytoplazmatycznej receptora śmierci, leżąca u podstaw autoimmunizacyjnego zespołu proliferacyjnego ALPS, wyklucza możliwość pobudzenia limfocytów T do formowania połączeń TNTs [4].

Rozpowszechnianie sygnału śmierci może polegać na przemieszczaniu się związanego z błoną komórkową liganda dla receptora śmierci [4]. Ponadto wykazano w obrębie nanotub błonowych mobilność kaspazy-3, jednego z enzymów odpowiedzialnych za realizację programu apoptozy [4]. O ile przemieszczanie się błonowego składnika można tłumaczyć opisanymi przez Sowinski i wsp. [66] nanotubami o strukturze zamkniętej, to przemieszczanie się kaspazy między połączonymi komórkami jest możliwe tylko przy udziale nanotub typu otwartego [4].

TRANSPORT SKŁADNIKÓW ZWIĄZANYCH Z BŁONĄ

Szczególnym rodzajem transportu odbywającego się przy udziale TNTs jest transport składników związanych z błoną komórkową. Obejmuje on przemieszczanie się białek zakotwiczonych za pomocą GPI, białek antygenowych, czy receptorów błonowych (tab. 2).

TABELA 2. Rodzaje składników transportowanych przy udziale TNTs

TABLE 2. Types of cargo transported by TNTs

KATEGORIA	SKŁADNIK	LITERATURA
organelle	aparat Golgiego, ER	[31]
	endosomy	[32]
	lizosomy	[20, 57, 78]
	mitochondria	[25, 48, 52]
cytozol	kalceina	[52]
	cytozolowy GFP	[23]
sygnał wapniowy	Ca ²⁺	[72]
	Ca ²⁺ , receptor trójfosforanu inozytolu	[65]
sygnał śmierci	FasL, kaspaza-3	[4]
	cytotoksyczny (perforyny)	[9]
błona komórkowa	antygen CD59	[4]
	MHC I	[59]
	receptory GPCR	[21]
	GFP zakotwiczone przy pomocy GPI	[66]

Ostatnie doniesienia Schillera i wsp. [59] wskazują na udział nanotub w transporcie cząsteczek MHC klasy I między komórkami HeLa. Obecność inhibitora polimeryzacji aktyny (latrunkulina A) istotnie redukuje stopień tego transportu. Wykazano, iż białko antygenowe HLA-A2 znakowane GFP może podlegać transportowi nie tylko w formie związanej z błoną TNTs, ale także poprzez cytoplazmę.

Na uwagę zasługują również wyniki Takahashi i wsp. [70] wskazujące na udział TNTs w transporcie białka transbłonowego DC-STAMP, odgrywającego kluczową rolę w fuzji prekursorów osteoklastów w procesie osteoklastogenezy.

W wyniku odbywającego się za pośrednictwem TNTs transportu błonowych receptorów GPCR, dochodzi do akumulacji wtórnego przekaźnika cAMP w komórce docelowej [21]. Przemawia to za zachowaną podczas transportu funkcjonalną aktywnością tych receptorów.

Różnica w potencjale błonowym, istniejąca w poprzek dwuwarstwy lipidowej, stanowi prawdopodobnie siłę napędową dla transportu błonowego w obrębie TNTs, na skutek przesuwania się lipidów z regionów o niskim potencjale do regionów o wysokim potencjale błonowym [27].

UDZIAŁ TNTs W PATOMECHANIZMIE CHORÓB

Dotychczasowe dane sugerują, iż nanotuby błonowe mogą odgrywać ważną rolę w rozwoju i przebiegu niektórych chorób. Zarówno wirus HIV, jak i białko PrP^{sc} mogą przy udziale nanotub przemieszczać się z komórek zainfekowanych do komórek niezainfekowanych [16, 20, 34, 66].

Za pośrednictwem TNTs może także dochodzić do międzykomórkowego rozprzestrzeniania się bakterii [48].

Istotnym zagadnieniem jest także rola TNTs w patogenezie i inwazji nowotworów. Sugeruje się, iż nanotuby mogą uczestniczyć w nabywaniu przez komórki nowotworowe oporności na chemioterapię oraz w przekazywaniu organelli, w tym mitochondriów [38, 39, 50]. To z kolei może stanowić ważną strategię dla zapewnienia wydajnego oddychania komórek nowotworowych [38].

TRANSFER WIRUSA HIV

Transmisja patogenu, jakim jest wirus HIV, odbywająca się poprzez fizyczny kontakt komórka-komórka, jest nawet kilka tysięcy razy bardziej wydajna w porównaniu z infekcją za pośrednictwem pozakomórkowo rozprzestrzeniających się wirusów [10, 66]. W przypadku, gdy możliwy jest bliski kontakt między komórkami preferowana jest droga rozprzestrzeniania wirusa za pomocą tak zwanych polisynaps. Struktury te powstają między jednym zainfekowanym limfocytym T i równocześnie kilkoma niezainfekowanymi [56].

Za udziałem TNTs w transmisji HIV przemawiają wyniki Sowinski [66, 67]. Struktury te zostały zaklasyfikowane do TNTs typu zamkniętego. Różnią się one znacząco od cytonem wirusowych, którym również przypisuje się udział w przenoszeniu wirusa HIV, podobnie jak wirusa mysiej białaczki MLV [61, 62, 67].

Ważną cechą różniącą cytonemy wirusowe od TNTs jest zależność mechanizmu ich tworzenia od interakcji między białkiem otoczki transportowanego wirusa

HIV i antygenem CD4 błony komórki docelowej (tab. 3). Mechanizm, zgodnie z którym cząstki wirusa są transportowane polega na ich „surfowaniu” wzdłuż zewnętrznej powierzchni cytonemu.

Z kolei tworzenie nanotub zaangażowanych w transfer HIV jest niezależne od interakcji między białkiem otoczki wirusa a antygenem błonowym CD4 na komórce docelowej. Przemieszczanie się białka kapsydu wirusa znakowanego za pomocą GFP odbywa się wzdłuż nanotub. Brak jednak jasnego zdefiniowania, czy jest to transfer odbywający się wewnątrz, bądź na zewnątrz nanotub. Nadal pozostaje niejasne jak wirus HIV, przemieszczający się za pomocą TNTs, pokonuje barierę w postaci błony komórkowej. Prawdopodobnie dochodzi do endocytozy zależnej od receptora na końcu TNTs [66].

TABELA 3. Charakterystyka TNTs typu zamkniętego oraz cytonem wirusowych zaangażowanych w transfer wirusa HIV. Na podstawie [67] zmodyfikowane. ^awyniki z [66], ^bwyniki z [61]

TABLE 3. Characteristics of close-ended TNTs and viral cytonemes, involved in HIV transfer. According to [67] changed. ^athe results from [66], ^bthe results from [61]

CECHA	TNTs TYPU ZAMKNIĘTEGO ^A	CYTONEMY WIRUSOWE ^B
Morfologia i formowanie	struktury o prostym przebiegu, bez kontaktu z podłożem, formowane po kontakcie z inną komórką	struktury zakrzywione, zachowujące kontakt z podłożem, formowane przez komórkę niezainfekowaną, bez uprzedniego kontaktu z inną komórką
Długość	-25 mikrometrów	-5,8 mikrometrów
Średnica	180-380 nanometrów	75-200 nanometrów
Mechanizm transferu HIV	niezależny od interakcji między otoczką wirusa a CD4, transfer znakowanego GFP białka kapsydu z komórki zainfekowanej w kierunku komórki niezainfekowanej	zależny od interakcji między otoczką wirusa a CD4 transfer cząstek wirusa po zewnętrznej powierzchni cytonemy
Szybkość transferu	0,08 ± 0,03 mikrometrów/sekunda	0,011 ± 0,003 mikrometrów/sekunda

Najnowsze wyniki badań Kadiu i Gendelmana [31, 32] wskazują na możliwość rozprzestrzeniania się tego wirusa między makrofagami za pomocą TNTs o strukturze otwartej. Obecność wirusa HIV stymuluje komórki do formowania połączeń o długości około 100 mikrometrów, zawierających zarówno mikrofilamenty aktywne, jak i mikrotubule. Znakowane fluorescencyjnie białka otoczki oraz kapsydu wirusa obserwowano w endosomach oraz w aparacie Golgiego.

Szczegółowa analiza proteomiczna izolowanych TNTs wykazała, iż białka wirusa HIV stanowią około 3% wszystkich zidentyfikowanych białek. Dla pozostałych ich udział procentowy przedstawia się następująco: białka cytozolowe (23%), białka

cytoszkieletu (19%), błony komórkowej (15%), przedziału endosomalnego (14%), białka mitochondrialne (7%), ER (9%), aparatu Golgiego (4%). Sekwestracja wirusa i jego transfer za pomocą tych połączeń stanowi całkowite zabezpieczenie przed oddziaływaniem środowiska zewnątrzkomórkowego, a w szczególności układu immunologicznego.

TNTs W CHOROBAH NEURODEGENERACYJNYCH I PRIONOWYCH

Zwraca uwagę potencjalna zdolność TNTs do transportu uszkodzonych mitochondriów pomiędzy komórkami ośrodkowego układu nerwowego. Taki transfer może przyczyniać się do rozwoju chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera, czy choroba Parkinsona [43]. W chorobie Parkinsona prawdopodobnie rolę czynnika uszkadzającego mitochondria pełni α -synukleina, prowadząca do degradacji tych organelli przez fragmentację [45]. W degeneracji neuronów u chorych na Alzheimera swój udział mogą mieć uszkodzenia mitochondriów wywołane przez reaktywne formy tlenu [69].

Przyjmuje się, iż nanotuby stanowią ponadto narzędzie do rozprzestrzeniania się egzogenego, jak i endogenego białka prionowego PrP^{sc}, odpowiedzialnego u ludzi za chorobę prionową Creutzfeldta-Jakoba [7, 20, 34]. Do tej pory zakładano, iż przemieszczanie się prionów może się odbywać poprzez bezpośredni kontakt komórka-komórka, przy udziale egzosomów, lub poprzez wydzielanie PrP^{sc} przez komórkę zainfekowaną do przestrzeni zewnątrzkomórkowej [3]. Decydującą rolę w przeniesieniu PrP^{sc} egzogenego z obszaru przewodu pokarmowego do obwodowego, a następnie do centralnego układu nerwowego odgrywają połączenia TNTs formowane między komórkami dendrytycznymi i neuronami oraz między samymi neuronami [20, 34]. Mechanizm transferu PrP^{sc} oraz charakter uczestniczących w nim nanotub nie zostały jeszcze dokładnie poznane. Nie wyklucza się zarówno transportu przy udziale endosomów, jak i przemieszczania się białka wzdłuż zewnętrznej powierzchni nanotub [41]. Zgodnie z danymi Langevin i wsp. [34] proces ten ma charakter transportu zagregowanej postaci PrP^{sc} (agregosomów) z cytoplazmy komórki zainfekowanej do niezainfekowanej, co wskazywałoby na strukturę otwartą połączeń.

TRANSFER BAKTERII I ICH OPORNOŚCI NA ANTYBIOTYKI

Badania Onfelta i wsp. [48] wykazały, iż bakterie *Mycobacterium bovis bacillus*, z ekspresją GFP, przemieszczają się pomiędzy ludzkimi makrofagami wykorzystując do tego nanotuby o średnicy $< 0,7$ mikrometra, zawierające aktynę F. Pierwszym etapem omawianego procesu jest związanie się komórek bakterii z błoną nanotub, następnie ich surfowanie wzdłuż powierzchni TNTs i fagocytoza w miej-

scu, gdzie nanotuba ma kontakt z komórką docelową. Bakterie wiążą się również z powierzchnią nanotub o większej średnicy, zawierających obok aktywny F także mikrotubule. Jednak po tym związaniu nie dochodzi do ich surfowania w kierunku komórki docelowej [48], co świadczy o selektywności tego procesu.

Same komórki bakterii, zdolne do formowania połączeń TNTs [15], mogą je wykorzystywać do niegenetycznego i genetycznego transferu oporności na antybiotyki. Transport białek oraz plazmidów wykazano nie tylko między komórkami bakterii należących do tego samego gatunku *Bacillus subtilis*. Może się on również odbywać międzygatunkowo – *Bacillus subtilis* i *Staphylococcus aureus* oraz *Bacillus subtilis* i *Escherichia coli* [15].

TNTs W CHOROBYCH NOWOTWOROWYCH

W określonych warunkach komórki nowotworowe silniej niż komórki zdrowe odpowiadają na czynniki stymulujące tworzenie TNTs [28]. Czynnikiem stymulującym komórki zmienione nowotworowo jest między innymi niskie pH, a powstające połączenia umożliwiają między innymi transport mitochondriów [38]. Według Lou i wsp. [38], paradoksalnie do efektu Warburga, zgodnie z którym komórki nowotworowe prowadzą głównie metabolizm beztlenowy, transfer mitochondriów może w konsekwencji przyczynić się do zwiększenia produkcji energii i tym samym stopnia proliferacji komórek.

Równocześnie przy udziale TNTs może dochodzić do transferu mitochondrialnego DNA, a tym samym jego mutacji [24]. Wykazano, że komórki nawet tego samego pacjenta z nowotworem charakteryzują się wysokim stopniem heterogenności mitochondrialnego DNA pod względem mutacji [24].

Prawdopodobnie nanotuby błonowe uczestniczą w nabywaniu przez komórki nowotworowe oporności na leki stosowane w ramach chemioterapii [50]. Do tej pory zjawisko to określane mianem oporności wielolekowej wiązano z nadmierną ekspresją i aktywnością białek błonowych, należących do rodziny ABC [60]. W efekcie dochodzi do aktywnego wypompowania leków z komórki, co uniemożliwia osiągnięcie ich stężeń terapeutycznych. Wśród białek za to odpowiedzialnych główną uwagę zwraca się na białko MDR. Jest to białko o masie ok. 170 kDa, obecne między innymi w komórkach nabłonka jelit, nerek, w komórkach śródbłonka bariery krew-mózg [60].

W nowotworach rozwijających się z tkanek wykazujących wysoką ekspresję genu kodującego MDR obserwuje się niską odpowiedź na chemioterapię. W przypadku innych nowotworów, ekspozycja na leki cytotoksyczne może prowadzić do ekspresji MDR *de novo* w komórkach, które do tej pory jej nie wykazywały [49]. Takie nowotwory określa się jako wtórnie odporne.

Wyniki badań Pasquier i wsp. [50] z wykorzystaniem komórek raka piersi linii MCF-7 wykazały, iż nanotuby są zaangażowane w transfer samego białka MDR. Oznacza to, że komórki nowotworowe wrażliwe na leki, niewykazujące ekspresji tego białka (MDR⁻), mogą nabywać oporność w wyniku jego pozyskania z komórek opornych (MDR⁺).

PODSUMOWANIE

Nanotuby błonowe uznawane są obecnie za powszechny i niezwykle ważny sposób komunikowania się komórek. Dotyczy to zarówno komórek zwierzęcych, jak i bakteryjnych. Dzięki intensywnie prowadzonym badaniom nasza wiedza na temat struktury i roli TNTs jest coraz pełniejsza. Niewątpliwie przyczynił się do tego rozwój metod pozwalających na wizualizację zarówno budowy, jak i rodzaju transportu międzykomórkowego zachodzącego przy udziale tych połączeń. Struktury te są zaangażowane w wiele procesów fizjologicznych, w tym w odpowiedź immunologiczną i naprawę komórek. Zwraca uwagę ich heterogenność i tym samym nasuwa pytanie, co decyduje o rodzaju TNTs tworzonych przez komórki i czy proces powstawania nanotub jest specyficzny komórkowo. Niektóre dane sugerują, iż komórki w zależności od sygnałów mogą tworzyć różne typy nanotub błonowych. Biorąc pod uwagę fakt, iż połączenia te stanowią narzędzie międzykomórkowej komunikacji także w warunkach patologicznych, bardzo istotnym wydaje się dokładne poznanie mechanizmu ich formowania oraz czynników regulujących ten proces. Zrozumienie tych kwestii może się w przyszłości przyczynić do opracowania leków i strategii ograniczających rozwój i rozprzestrzenianie się w organizmie niektórych chorób.

PODZIĘKOWANIA

Praca finansowana z Działalności Statutowej Zakładu Biologii Komórki

LITERATURA

- [1] ABEL M, RIESE SR, SCHLICKER O, BUKORESHTLIEV N, GERDES H, SPATZ JP, RUSTOM A. Microstructured platforms to study nanotube-mediated long-distance cell-to-cell connections. *Biointerphases* 2011; **6**: 22-31.
- [2] ABOUNIT S, ZURZOLO CH. Wiring through tunneling nanotubes – from electrical signals to organelle transfer. *J Cell Sci* 2012; **125**: 1089-1098.
- [3] AGUZZI A., CALELLA AM. Prions: Protein aggregation and infectious diseases. *Physiol Rev* 2009; **89**: 1105-1152.

- [4] ARKWRIGHT PD, LUCHETTI F, TOUR J, ROBERTS CH, AYUB R, MORALES AP, RODRIGUEZ J, GILMORE A, CANONICO B, PAPA S, ESPOSTI MD. Fas stimulation of T lymphocytes promotes rapid intercellular exchange of death signals via membrane nanotubes. *Cell Res* 2010; **20**: 72-88.
- [5] BALUSKA F, HLAVACKA A, VOLKMANN D, MENZEL D. Getting connected: actin-based cell-to-cell channels in plants and animals. *Trends Cell Biol* 2004; **14**: 404-408.
- [6] BELTING M, WITTRUP A. Nanotubes, exosomes, and nucleic acid-binding peptides provide novel mechanisms of intercellular communication in eukaryotic cells: implications in health and disease. *J Cell Biol* 2008; **183**: 1187-1191.
- [7] BRUNDIN P, MELKI R, KOPITO R. Prion-like transmission of protein aggregates in neurodegenerative diseases. *Mol Cell Biol* 2010; **11**: 301-307.
- [8] BUKORESHTLIEV NV, WANG X, HODNELAND E, GURKE S, BARROSO J, GERDE HH. Selective block of tunneling nanotube (TNTs) formation inhibits intercellular organelle transfer between PC12 cells. *FEBS Lett* 2009; **583**: 1481-1488.
- [9] CHAUVEAU A, AUCHER A, EISSMANN PH, VIVIER E, DAVIS D. Membrane nanotubes facilitate long-distance interactions between natural killer cells and target cells. *PNAS* 2010; **107**: 5545-5550.
- [10] CHEN P, HUBNER W, SPINELLI MA, CHEN BK. Predominant mode of human immunodeficiency virus transfer between T cells is mediated by sustained Env-dependent neutralization-resistant virological synapses. *J Virol* 2007; **81**: 12582-12595.
- [11] CHINNERY HR, PEARLMAN E, MCMENAMIN PG. Cutting edge: Membrane nanotubes in vivo: a feature of MHC Class II+ cells in the mouse cornea. *J Immunol* 2008; **180**: 5779-5783.
- [12] CSELENYAK A, PANKKOTAI E, HORVATH E, KISS L, LACZA Z. Mesenchymal stem cells rescue cardiomyoblasts from cell death in an in vitro ischemia model via direct cell-to-cell connections. *BMC Cell Biol* 2010; **11**: 29.
- [13] DAUBEUF S, AUCHER A, BORDIER CH, SALLES A, SERRE L, GAIBELET G, FAYE J-CH, FAVRE G, JOLY E, HUDRISIER D. Preferential transfer of certain plasma membrane proteins onto T and B cells by trogocytosis. *PLoS ONE* 2010; **5**: e8716.
- [14] DOMHAN S, MA L, TAI A, ANAYA Z, BEHESHTI A, ZEIER M, HLATKY L, ABDOLLAH I. Intercellular communication by exchange of cytoplasmic material via tunneling nanotube like structures in primary human renal epithelial cells. *PLoS ONE* 2011; **6**: e21283.
- [15] DUBEY GP, BEN-YEHUDA S. Intercellular nanotubes mediate bacterial communication. *Cell* 2011; **144**: 590-600.
- [16] EUGENIN EA, GASKILL PJ, BERMAN JW. Tunneling nanotubes (TNTs) are induced by HIV-infection of macrophages: a potential mechanism for intercellular HIV trafficking. *Cell Immunol* 2009; **254**: 142-148.
- [17] GERDES HH, BUKORESHTLIEV NV, BARROSO JF. Tunneling nanotubes: A new route for the exchange of components between animal cells. *FEBS Lett* 2007; **581**: 2194-2201.
- [18] GOLIGORSKY MS, CHEN J, PATSCHAN S. Stress-induced premature senescence of endothelial cells – a perilous state between recovery and point of no-return. *Curr Opin Hematol* 2009; **16**: 215-219.
- [19] GORDON-ALONSO M, VEIGA E, SANCHEZ-MADRID F. Actin dynamics at the immunological synapse. *Cell Health Cytoskel* 2010; **2**: 33-47.
- [20] GOUSSET K, SCHIFF E, LANGEVIN C, MARIJANOVIC Z, CAPUTO A, BROWMAN DT, CHENOUEAU N, DE CHAUMONT F, MARTINO A, ENNINGA J, OLIVO-MARIN JC, MANNEL D, ZURZOLO C. Prions hijack tunneling nanotubes for intercellular spread. *Nat Cell Biol* 2009; **11**: 328-336.
- [21] GUESCINI M, LEO G, GENEDANI S, CARONE S, PEDERZOLI F, CIRUELA F, GUIDOLIN D, STOCCHI V, MANTUANO M, BORROTO-ESCUOLA DO, FUXE K, AGNATI LF. Microvesicle and tunneling nanotube mediated intercellular transfer of g-protein coupled receptors in cell cultures. *Exp Cell Res* 2012; **318**: 603-613.
- [22] HASE K, KIMURA S, TAKATSU H, OHMAE M, KAWANO S, KITAMURA H, ITO M, WATARAI H, HAZELETT CC, YEAMAN CH, OHNO H. M-Sec promotes membrane nanotube formation by interacting with Ral and the exocyst complex. *Nat Cell Biol* 2009; **11**: 1427-1432.

- [23] HE K, LUO W, ZHANG Y, LIU F, LIU D, XU L, QIN L, XIONG C, LU Z, FANG X, ZHANG Y. Intercellular transportation of quantum dots mediated by membrane nanotubes. *ACS Nano* 2010; **4**: 3015-3022.
- [24] HE Y, WU J, DRESSMAN DC, IACOBUZIO-DONAHUE CH, MARKOWITZ SD, VELCULESCU VE, DIAZ LA, KINZLER KW, VOGELSTEIN B, PAPADOPOULOS N. Heteroplasmic mitochondrial DNA mutations in normal and tumor cells. *Nature* 2010; **464**: 610-614.
- [25] HE K, ZHANG X, DANG S, MA X, LIU F, XU M, LV Z, HAN D, FANG X, ZHANG Y. Long-distance intercellular connectivity between cardiomyocytes and cardiofibroblasts mediated by membrane nanotubes. *Cardiovasc Res* 2011; **92**: 39-47.
- [26] HODNELAND E, LUNDERVOLD A, GURKE S, TAI XCH, RUSTOM A, GERDES HH. Automated detection of tunneling nanotubes in 3D images. *Cytom Part A* 2006; **69A**: 961-972.
- [27] HURTIG J, CHIU DT, ONFELT B. Intercellular nanotubes: insights from imaging studies and beyond. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotech* 2010; **2**: 260-276.
- [28] KABASO D, LOKAR M, KRALJ-IGLIC V, VERANIC P, IGLIC A. Temperature and cholera toxin B are factors that influence formation of membrane nanotubes in RT4 and T24 urothelial cancer cell lines. *Int J NanoMedicine* 2011; **6**:495-509.
- [29] KABASO D, BOBROVSKA N, GÓZDŹ W, GOV N, KRALJ-IGLIC V, VERANIC P, IGLIC A. On the role of membrane anisotropy and BAR proteins in the stability of tubular membrane structures. *J Biomech* 2012; **45**: 231-238.
- [30] KABASO D, BOBROVSKA N, GÓZDŹ W, GONGADZE E, KRALJ-IGLIC V, ZOREC R, IGLIC A. The transport along membrane nanotubes driven by the spontaneous curvature of membrane components. *Bioelectrochemistry* 2012; **87**: 204-210.
- [31] KADIU I, GENDELMAN HE. Macrophage bridging conduit trafficking of HIV-1 through the endoplasmic reticulum and Golgi network. *J Proteome Res* 2011; **10**: 3225-3238.
- [32] KADIU I, GENDELMAN HE. Human Immunodeficiency virus type 1 endocytic trafficking through macrophage bridging conduits facilitates spread of infection. *J Neuroimmune Pharmacol* 2011; **6**: 658-675.
- [33] KIMURA S, HASE K, OHNO H. Tunneling nanotubes: Emerging view of their molecular components and formation mechanisms. *Exp Cell Res* 2012; **318**: 1699-1706.
- [34] LANGEVIN CH, GOUSSET K, COSTANZO M, RICHARD-LE GOFF O, ZURZOLO C. Characterization of the role of dendritic cells in prion transfer to primary neurons. *Biochem J* 2010; **431**: 189-198.
- [35] LEE TH, D'ASTI E, MAGNUS N, AL-NEDAWI K, MEEHAN B, RAK J. Microvesicles as a mediators of intercellular communication in cancer – the emerging science of cellular “debris”. *Semin Immunopathol* 2011; **33**:455-467.
- [36] LOKAR M, IGLIC A, VERANIC P. Protruding membrane nanotubes: attachment of tubular protrusions to adjacent cells by several anchoring junctions. *Protoplasma* 2010; **246**: 81-87.
- [37] LOKAR M, KABASO D, RESNIK N, SEPCIC K, KRALJ-IGLIC V, VERANIC P, ZOREC R, IGLIC A. The role of cholesterol-sphingomyelin membrane nanodomains in the stability of intercellular membrane nanotubes. *Int J Nanomed* 2012; **7**: 1891-1902.
- [38] LOU E, FUJISAWA S, MOROZOV A, BARLAS A, ROMIN Y, DOGAN Y, GHOLAMI S, MOREIRA A, MANOVA-TODOROVA K, MOORE MA. Tunneling nanotubes provide a unique conduit for intercellular transfer of cellular contents in human malignant pleural mesothelioma. *PLoS ONE* 2012; **7**: e33093.
- [39] LOU E, FUJISAWA S, BARLOS A, ROMIN Y, MANOVA-TODOROVA K, MOORE MA, SUBRAMANIAN S. Tunneling nanotubes: A new paradigm for studying intercellular communication and therapeutics in cancer. *Commun Integr Biol* 2012; **5**: 399-403.
- [40] LUCHETTI F, CANONICO B, ARCANGELETTI M, GUESCINI M, CESARINI E, STOCCHI V, DEGLI ESPOSTI M, PAPA S. Fas signaling promotes intercellular communication in T cells. *PLoS ONE* 2012; **7**: e35766.
- [41] MARZO L, GOUSSET K, ZURZOLO CH. Multifaceted roles of tunneling nanotubes in intercellular communication. *Front Physiol* 2012; **3**: 1-14.
- [42] MATHIVANAN S, JI H, SIMPSON RJ. Exosomes: Extracellular organelles important in intercellular communication. *J Proteomics* 2010; **73**: 1907-1920.

- [43] MCGOWAN M. Tunneling nanotubes – crossing the bridge. *J Cell Mol Biol* 2011; **9**: 11-18.
- [44] MI L, XIONG R, ZHANG Y, LI Z, YANG W, CHEN J, WANG P. Microscopic observation of the intercellular transport of CdTe quantum dot aggregates through tunneling-nanotubes. *J Biomat Nanobiotech* 2011; **2**: 173-180.
- [45] NAKAMURA K, NEMANI VM, AZARBAL F, SKIBINSKI G, LEVY JM, EGAMI K, MUNISHKINA L, ZHANG J, GARDNER B, WAKABAYASHI J, SESAKI H, CHENG Y, FINKBEINER S, NUSSBAUM RL, MASLIAH E, EDWARDS RH. Direct membrane association drives mitochondrial fission by the Parkinson disease-associated protein α -synuclein. *J Biol Chem* 2011; **286**: 20710-20726.
- [46] NIU X, GUPTA K, YANG JT, SHAMBLOTT MJ, LEVCHENKO A. Physical transfer of membrane and cytoplasmic components as a general mechanism of cell-cell communication. *J. Cell Sci* 2008; **122**: 600-610.
- [47] OHNO H, HASE K, KIMURA S. Emerging secrets of tunneling nanotube formation. *Commun Integr Biol* 2010; **3**: 231-233.
- [48] ONFELT B, NEDVETZKI S, BENNINGER RK, PURBHOO MA, SOWINSKI S, HUME AN, SEABRA MC, NEIL MA, FRENCH PM, DAVIS D. Structurally distinct membrane nanotubes between human macrophages support long-distance vesicular traffic or surfing of bacteria. *J Immunol* 2006; **177**: 8476-8483.
- [49] PASQUIER J, MAGAL P, BOULANGE-LECOMTE C, WEBB G, LE FOLL F. Consequences of cell-to-cell P-glycoprotein transfer on acquired multidrug resistance in breast cancer: a cell population dynamics model. *Biol Direct* 2011; **6**: 1-18.
- [50] PASQUIER J, GALAS L, BOULANGE-LECOMTE C, RIOULT D, BULTELE F, MAGAL P, WEBB G, LE FOLL F. Different modalities of intercellular membrane exchanges mediate cell-to-cell P-glycoprotein transfers in MCF-7 breast cancer cells. *J Biol Chem* 2012; **287**: 7374-7387.
- [51] PATSCHAN S, CHEN J, GEALEKMAN O, KRUPINCA K, WANG M, SHU L, SHAYMAN JA, GOLIGORSKY MS. Mechanisms of premature cell senescence: lysosomal dysfunction and ganglioside accumulation in endothelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; **294**: 100-109.
- [52] PLOTNIKOV EY, KHRYAPENKOVA TY, GALKINA SI, SUKHIKH GT, ZOROV DB. Cytoplasm and organelle transfer between mesenchymal multipotent stromal cells and renal tubular cells in co-culture. *Exp Cell Res* 2010; **316**: 2447-2455.
- [53] RECHAVI O, GOLDSTEIN I, KLOOG Y. Intercellular exchange of proteins: The immune cell habit of sharing. *FEBS Lett* 2009; **583**: 1792-1799.
- [54] RIDLEY AJ. Life at the leading edge. *Cell* 2011; **145**: 1012-1022.
- [55] RODA-NAVARRO P, REYBURN HT. Intercellular protein transfer at the NK cell immune synapse: mechanisms and physiological significance. *FASEB J* 2007; **21**: 1636-1646.
- [56] RUDNICKA D, FELDMANN J, PORROT F, WIETGREFE S, GUADAGNINI S, PREVOST M-CH, ESTAQUIER J, HAASE AT, SOL-FOULON N, SCHWARTZ O. Simultaneous cell-to-cell transmission of Human Immunodeficiency Virus to multiple targets through polysynapses. *J Virol* 2009; **83**: 6234-6246.
- [57] RUSTOM A, SAFFRICH R, MARKOVIC I, WALTHER P, GERDES HH. Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science* 2004; **303**:1007-1010.
- [58] RUSTOM A. Hen or Egg? Some thoughts on tunneling nanotubes. *Nat Genetic Engin Nat Genome* 2009; **1178**: 129-136.
- [59] SCHILLER CH, HUBER JE, DIAKOPOULOS KN, WEISS EH. Tunneling nanotubes enable intercellular transfer of MHC class I molecules. *Hum Immunol* 2013; **74**: 412-416.
- [60] SHAROM FJ. ABC multidrug transporters: structure, function and role in chemoresistance. *Pharmacogenomics* 2008; **9**: 105-127.
- [61] SHERER NM, LEHMANN MJ, JIMENEZ-SOTO LF, HORENSAVITZ CH, PYPART M, MOTHE W. Retroviruses can establish filopodial bridges for efficient cell-to-cell transmission. *Nat Cell Biol* 2007; **9**: 310-315.
- [62] SHERER NM, MOTHE W. Cytosomes and tunneling nanotubules in cell-cell communication and viral pathogenesis. *Trends Cell Biol* 2008; **9**: 414-420.
- [63] SIMONS K, SAMPAIO JL. Membrane organization and lipid rafts. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011; **3**: a004697.
- [64] SINGH R, NALWA HS. Medical applications of nanoparticles in biological imaging, cell labeling, antimicrobial agents and anticancer nanodrugs. *J Biomed Nanotechnol* 2011; **7**: 489-503.

- [65] SMITH IF, SHAI J, PARKER I. Active generation and propagation of Ca^{2+} signals within tunneling membrane nanotubes. *Biophys J* 2011; **100**: L37-L39.
- [66] SOWINSKI S, JOLLY C, BERNINGHAUSEN O, PURBHOO MA, CHAUVEAU A, KOHLER K, ODDOS S, EISSMANN PH, BRODSKY FM, HOPKINS C, ONFELT B, SATTENTAU Q, DAVIS D. Membrane nanotubes physically connect T cells over long distances presenting a novel route for HIV-1 transmission. *Nature Cell Biol* 2008; **10**: 211-219.
- [67] SOWINSKI S, ALAKOSKELA JM, JOLLY C, DAVIS D. Optimized methods for imaging membrane nanotubes between T cells and trafficking of HIV-1. *Methods* 2011; **53**: 27-33.
- [68] STINCHCOMBE JC, SALIO M, CERUNDOLO V, PENDE D, ARICO M, GRIFFITHS GM. Centriole polarization to the immunological synapse direct secretion from cytolytic cells of both the innate and adaptive immune systems. *BMC Biol* 2011; **9**: 45-52.
- [69] SU B, WANG X, NUNOMURA A, MOREIRA PI, LEE HG, PERRY G, SMITH MA, ZHU X. Oxidative stress signaling in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2008; **5**: 525-532.
- [70] TAKAHASHI A, KUKITA A, ZHANG J, NOMIYAMA H, YAMAZA T, AYUKAWA Y, KOYANO K, KUKITA T. Tunneling nanotube formation is essential for the regulation of osteoclastogenesis. *J Cell Biochem* 2012 /doi/ 10.1002/jcb.24433.
- [71] VERANIC P, LOKAR M, SCHUTZ GJ, WEGHUBER J, WIESER S, HAGERSTRAND H. Different types of cell-to-cell connections mediated by nanotubular structures. *Biophys J* 2008; **95**:4416-4425.
- [72] WANG X, VERUKI ML, BUKORESHTLIEV NV, HARTVEIT E, GERDES HH. Animal cells connected by nanotubes can be electrically coupled through interposed gap-junction channels. *PNAS* 2010; **107**: 17194-17199.
- [73] WANG Y, CUI J, SUN X, ZHANG Y. Tunneling nanotube development in astrocytes depends on p53 activation. *Cell Death Differ* 2011; **18**: 732-742.
- [74] WANG ZG, LIU SL, TIAN ZQ, ZHANG ZL, TANG HW, PANG DW. Myosin-driven intercellular transportation of wheat germ agglutinin mediated by membrane nanotubes between human lung cancer cells. *ACS Nano* 2012; **6**: 10033-10041.
- [75] WITTIG D, WANG X, WALTER C, GERDES HH, FUNK RH, ROEHLECKE C. Multi-level communication of human retinal pigment epithelial cells via tunneling nanotubes. *PLoS ONE* 2012; **7**: e33195.
- [76] YAO J, OITE T, KITAMURA M. Gap junctional intercellular communication in the juxtaglomerular apparatus. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; **296**: F939-F946.
- [77] YASUDA K, PARK HCH, RATLIFF B, ADDABBO F, HATZOPOULOS K, CHANDER P, GOLIGORSKY MS. Adriamycin nephropathy. A failure of endothelial progenitor cell-induced repair. *Am J Pathol* 2010; **176**: 1685-1695.
- [78] YASUDA K, KHANDARE A, BURIANOVSKYY L, MARUYAMA S, ZHAN F, NASILETTI A, GOLIGORSKY MS. Tunneling nanotubes mediate rescue of prematurely senescent endothelial cells by endothelial progenitors: exchange of lysosomal pool. *Aging* 2011; **3**: 597-608.
- [79] ZANI BG, INDOFLI L, EDELMAN ER. Tubular bridges for bronchial epithelial cell migration and communication. *PLoS ONE* 2010; **5**: e8930.
- [80] ZHAO H, PYKALAINEN A, LAPPALAINEN P. I-BAR domain proteins: linking actin and plasma membrane dynamics. *Curr Opin Cell Biol* 2011; **23**: 14-21.

Redaktor prowadzący – Lilla Hryniewiecka

Otrzymano: 20.02.2013

Przyjęto: 21.04.2013

Agnieszka Knopik-Skrocka

Zakład Biologii Komórki Instytut Biologii Eksperymentalnej

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza

ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań

tel.: 61 829 58 24

e-mail: askro@amu.edu.pl

