

Tam Plazmada Fibrinojen Yoğunluğundaki Artışın Granülositlerin Mikrobisidal Aktiviteleri Üzerine Etkisi

Dr. Fadıl ÖZTÜRK, Dr. Davut ALBAYRAK, Dr. Recep SANCAK
Dr. İsmail İŞLEK, Dr. Şükrü KÜÇÜKÖDÜK, Dr. Nuran GÜRSES

O.M.Ü. Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

✓ Akut enfeksiyon sırasında plazma fibrinojen (Fb) yoğunluğu artmaktadır. Ancak bu artışın konakçı yararına mı, yoksa parazit yararına mı olduğu konusunda görüş birliği yoktur. Bu çalışmada in vitro bir yöntem kullanılarak normal plazma ortamında akut fazdaki gibi Fb yoğunluğundaki artışın fagositik öldürme üzerine etkisi araştırıldı. Deneylemizde fagosit olarak insan polimorfonükleer lökositleri (PMNL), mikroorganizma olarak *S.aureus*, *S. pneumoniae*, *E. aerogenes* ve *C. albicans* kullanıldı. Farklı Fb yoğunluklarında kısa bir süre (5 dakika) PMNL'lerin opsonize mikroorganizmaları fagosite etmelerine izin verildi. Yutulmamış mikroorganizmalar bir seri santrifüj ile uzaklaştırıldı ve yutulmuş mikroorganizmaları içeren PMNL'ler farklı yoğunluklarda Fb içeren plazma ortamlarında yeniden inkübe edildi. 0, 30, 60, ve 120. dakikalarda dökme plak yöntemi ile canlı mikroorganizma sayıları belirlendi. Mikroorganizma türü gözönüne alınmadan öldürme indeksleri karşılaştırıldığında 2 ve 8 mg/ml/ Fb eklenen tüplerdeki fagositik öldürme Fb eklenmemiş olanlara göre daha fazla idi ($p<0.01$). Mikroorganizmalar arasında Fb yoğunluğu artışına bağlı olarak öldürme indeksindeki en büyük artış %16'lık artışla *S.pneumoniae*'da görüldü. Bunu %14 ile *C. albicans* ve %10 ile *E. aerogenes* izledi. Çalışmamızın sonuçları, akut faz yanıtı sırasında plazmada yoğunluğu artan Fb'nin büyük olasılıkla patojenik mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlarda konakçı savunmasına katkıda bulunan bir faktör olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Fagositik öldürme, fibrinojen

✓ During acute infection, the concentration of fibrinogen (Fb) increases in the plasma. It is controversial whether this is beneficial for the host. In this study, using an in vitro assay, the intracellular killing of *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. aerogenes* and *C. albicans* by human granulocytes was investigated in whole plasma including different concentration of Fb. Granulocytes were allowed to phagocytose opsonised microorganisms for a short time (5 min), the noningested organisms were removed by a series of differential centrifugation and the phagocytes containing the ingested organisms were reincubated in whole plasma with different concentration of Fb. After various periods of reincubation (at 0, 30, 60, and 120 min) the number of viable microorganisms was determined by a microbiological method. Regardless of the type of microorganism, groups with 2 and 8 mg/ml of Fb had markedly enhanced neutrophil microbicidal activity as compared to group without added Fb ($p<0.01$). According to the types of microorganisms, increase in the Fb concentration significantly induced the ability of neutrophils to kill all microorganisms. There were no differences between groups with 2 and 8 mg/ml of Fb. These data suggest that elevated plasma Fb during acute phase response activate granulocyte microbicidal activity and enhance the host defense against infections.

Key words: Phagocytic killing, fibrinogen.

Akut bakteriyel enfeksiyon sırasında homeostazi yeniden sağlamak için bir dizi fizyolojik değişiklik oluşur. Bu sistemik biyokimyasal değişiklikler "akut faz yanıtı" olarak bilinir^(1,2). Fb karaciğerde sentezlenen majör akut faz proteinlerinden biridir. Akut bakteriyel ve fungal enfeksiyonlar

sırasında plazmada Fb yoğunluğu artar⁽³⁾. Normal plazma yoğunluğunda, koagülasyon ve adezyon için gerekli olduğu halde Fb'nin plazma yoğunluğundaki artışının vücut için yararlı bir etkisinin olup olmadığı bilinmemektedir. Bununla birlikte bu reaksiyon bütün hayvan türlerinde korunmuştur⁽⁴⁾.

Bundan dolayı akut enfeksiyon sırasında plazmada yoğunluğu artan Fb, olasılıkla konakçı savunmasına katkıda bulunan bir faktördür.

Çok sayıda gözlem plazmada Fb ve Fb yıkım ürünlerinin yoğunluğunun artmasının kanın birden çok komponenti üzerinde etkilerinden dolayı inflamatuvar yanıtı değiştirdiğini göstermektedir^(5,6). Fb'nin trombosit aktivasyonu üzerindeki rolü çok iyi araştırılmış olmasına karşın, fagositik öldürme üzerindeki etkileri hakkında az şey bilinmektedir. Fagositozu da, fagositik öldürmeyi de azalttığını ileri süren çalışmalar yanında tersini bildiren çalışmalar da vardır⁽⁷⁻⁹⁾. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada Herrmann ve arkadaşları⁽⁹⁾, yüzeye bağlı fibronektin, Fb, laminin, vitronektin ve tip IV kollajen gibi matriks proteinlerinin hem oksijen bağımlı, hemde oksijenden bağımsız mekanizmalar aracılığı ile bakterisidal aktiviteyi artırdıklarını göstermişlerdir.

Diğer matriks proteinleri gibi Fb hem inflamatuvar dokuda bulunur, hem de kanla dolaşırken protez ve kateterlerin yüzeyinde kolaylıkla birikir⁶. Bundan dolayı nötrofillerin mikrobisidal aktivitelerini değerlendirmek için süspansiyon tipi deney sistemlerinden çok, yüzey fagositozu deneyleri tercih edilmiştir. Oysa Fb, bir matriks proteini olduğu kadar temel olarak bir plazma proteindir ve akut enfeksiyon sırasında plazmadaki yoğunluğu 2-3 kat artar⁽³⁾. Bu nedenle biz akut faz yanıtı sırasında plazmada yoğunluğu artan fibrinojenin fagositik öldürme üzerindeki etkisini araştırmak için fizyolojik bir fagositoz ortamı olarak normal insan plazmasını seçtik. Çalışmamızda fagosit olarak insan PMNL'leri mikroorganizma olarak ta *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* ve *Candida albicans* kullanıldı.

GEREÇLER ve YÖNTEMLER

Fb: Liyofize insan fibrinojeni steril serum fizyolojik içinde çözülerek 100 mg/ml yoğunluğunda stok çözelti hazırlandı. Kullanılmaya dek -20°C de saklandı.

Plazma: Tüm deneylerde sağlıklı 10 genç erişkinden elde edilen 0 grubu plazma havuzu kullanıldı. Heparinize kan örnekleri 1100 x g hızında 20 dakika santrifüj edildi, elde edilen plazma 4 ml'lik miktarlara bölünerek -20 °C de saklandı.

PMNL: Aynı zamanda plazma havuzu için de verici olan üç kişi lökosit verici olarak seçildi. Deney yapılacağı zaman plastik bir enjektöre 20 ml venöz kan alındı. PMNL'ler gravitasyonel sedimentasyon ile eritrositlerden ayrıldı. Stok plazma ile bir ml'de 4×10^6 PMNL içeren süspansiyon hazırlandı.

PMNL'lerin canlılığının test edilmesi: Trypan blue boya testi ile belirlenen canlılık deneyin başlangıcında >%99, 60 dakika sonunda >%96 idi.

Mikroorganizmalar: Uygun aralıklarla plaklara pasaj yapılarak 4 °C de saklandı. Deney yapılacağı zaman sıvı besi yerinde (Brain-Heart Infusion Broth) 37°C de bir gecelik inkübasyon süresinde üreyen mikroorganizmalar, 1500 x g hızında 10 dakika santrifüj edilerek çöktürüldü ve serum fizyolojik ile iki kez yıkandı. Spektrofotometrik yöntemle bir ml'de 4×10^9 mikroorganizma içeren süspansiyonlar hazırlandı.

Deneyin yapılışı: Fagositoz ve intrasellüler öldürme deneyi Leijh ve arkadaşları⁽¹²⁾ tarafından tanımlanan yöntem modifiye edilerek gerçekleştirildi.

I,II ve III rakamları ile işaretlenen steril, sikonize cam deney tüplerine $2 \times 10^6 / 0.5$ ml PMNL, $1 \times 10^8 - 4 \times 10^8$ CFU/0.1 ml mikroorganizma konuldu. Tüplere sırasıyla 0, 2 ve 8 mg/0.08 ml Fb eklendi. Herbir tüpün total

volümü plazma havuzu ile 1.0 ml'ye tamamlandı. Fagositler dışında karışım komponentleri tarafından öldürülen mikroorganizmalar olup olmadığını belirlemek için PMNL içermeyen kontroller kullanıldı.

Tüpler 37°C de 5 dakika inkübe edildi, sürenin bitiminde tüpler buzlu su içine daldırılarak fagositoz durduruldu. Süspansiyon 110 x g hızında 4 dakika santrifüj edildi. Süpernatant ayrıldıktan sonra çözeltide kalan hücreler buz soğukluğunda SF ile iki kez yıkanarak ekstraselüler mikroorganizmalar uzaklaştırıldı. Fagosit edilmiş mikroorganizmaları içeren PMNL'ler 0, 2, 8 mg fibrinojen içeren yeni deney tüpleri içinde plazma havuzu ile yeniden süspansiyon haline getirildi.

Deney karışımını içeren tüpler 37°C de yeniden inkübe edildi. 0, 30, 60 ve 120. dakikalarda herbir tüpten alınan 0.1 ml'lik örnekler buz soğukluğunda 2 ml SF eklenerek intraselüler öldürme durduruldu. Hücreler 110 x g hızında 4 dakika santrifüjle çöktürüldü, süpernatant ayrıldı ve fagosit edilmiş mikroorganizmaları içeren 0.1 ml PMNL solüsyonuna 9.9 ml distile su eklenerek hücrelerin parçalanmaları için 10 dakika bekletildi. Uygun dilüsyonlardan sonra dökme plak yöntemi ile plaklara ekim yapılarak canlı mikroorganizma sayısı belirlendi. Öldürme indeksi $[(N_0 - N_t) / N_0] \times 100$ formülü ile hesaplandı. (N_0 : 0. dakikadaki canlı mikroorganizma sayısı, N_t : istenilen zamandaki canlı mikroorganizma sayısı). Herbir mikroorganizma için en azından üç deneyin ortalaması hesaplandı. İstatistiksel analiz Student t testi ve ki kare testi ile yapıldı.

BULGULAR

Mikrobiyolojik yöntemlerle belirlenen mikroorganizma sayılarının gerçekten int-

rasellüler mikroorganizmaları temsil edip etmediğinden emin olmak için yapılan kontrol çalışmaları sonucunda 3 yıkamadan sonra hücre ile ilişkili mikroorganizmalardan %14.87±0.97'sinin ekstrasellüler olduğu görüldü.

Sitosantrifüj preparatlarının ışık mikroskopunda değerlendirilmesi, 5 dakikalık fagositozdan sonra PMNL'lerin %95'den fazlasının hücre tarafından yutulmuş ve/veya hücre yüzeyine yapışmış mikroorganizmalar içerdiğini, 30 dakika sonra ise neredeyse bütün mikroorganizmaların fagositlerle ilişkili olduğunu gösterdi. Serbest ekstrasellüler mikroorganizmaların hücre ile ilişkili mikroorganizmalara oranı sadece %1.42±0.57 idi.

Birlikte gözönüne alındığında bu kontrol deneylerinin sonuçları çalışmamızda kullandığımız yöntem ile PMNL'lerin lizisinden sonra belirlenen canlı mikroorganizmaların nerede ise tamamının hücre ile ilişkili olduğunu ve hücre dışı mikroorganizma sayısının ihmal edilebilir sınırlarda olduğunu göstermektedir.

Granülositler dışında plazma komponentlerine bağlı öldürmenin olup olmadığını belirlemek amacıyla her deneyde PMNL içermeyen kontroller kullanıldı. PMNL içermeyen plazma mikroorganizmalarının canlılığını etkilemedi, tersine inkübasyon süresi uzatıldığında mikroorganizma sayısında zamana bağlı olarak lineer bir artış görüldü.

Optimal inkübasyon zamanı *S. aureus*, *S. pneumoniae* ve *E. aerogenes* için 60 dakika olarak bulundu. PMNL varlığında inkübasyon süresi daha fazla uzatıldığında bu mikroorganizmalar çoğalmaya devam etti. *C. albicans* için 120. dakika sonunda bile intraselüler çoğalma gözlenmedi.

Mikroorganizma türü gözönüne alınmadan PMNL başına fagosit edilen mikroor-

ganizma sayısı, öldürme indeksleri ve bir PMNL tarafından öldürülen mikroorganizma sayıları Tablo I. de gösterildi. İki ve 8 mg/ml Fb eklenen II ve III no.'lu tüplerde inkübe edilen PMNL'ler, fibrinojen eklenmeyen I no.'lu tüplerdeki PMNL'lerden anlamlı derecede fazla ($p < 0,01$) mikrobisidal aktiviteye sahipti. I, II ve III no.'lu tüplerdeki PMNL'lerin öldürme indeksleri sırasıyla %48.69, %58.62 ve %57.69 idi.

Mikroorganizmalar arasında Fb yoğunluğu artışına bağlı olarak öldürme indeksindeki en büyük artış %16.23 ile III no.'lu tüpte *S. pneumoniae* için görüldü. Bunu sırasıyla %14.22 ile *C. albicans* ve %10.87 ile *E. aerogenes* izledi (Tablo II, III, IV).

S. aureus için öldürme indeksleri yönünden tüpler arasında istatistiksel fark yoktu. Ancak PMNL başına öldürülen mikroorganizma sayıları karşılaştırıldığında Fb eklenen II ve III no.'lu tüplerdeki PMNL başına öldürülen bakteri sayısı, Fb eklenmeyen I no.'lu tüptekinden niceliksel olarak daha fazla idi (Tablo V).

TARTIŞMA

Fagositoz, bütün hayvan türlerinde en önemli savunma mekanizmasıdır. Çeşitli immün yetmezlik hastalıkları yaşamı değişik derecelerde kısıltabilir. Fakat genellikle kısa ya da uzun ortalama bir ömüre izin verirler. Oysa dolaşan fagosit sayısında şiddetli bir azalma, inatçı bakteriyel enfeksiyonlarla günler ve haftalar içinde ölümlerle sonuçlanabilir⁽¹³⁾. Bu vazgeçilmez savunma sisteminin etkili şekilde işleyebilmesi için, fonksiyonel ve yeterli sayıda fagositler, opsoninler ve uygun ortam gereklidir.

Özgül antikorlar ve komplemandan başka diğer birçok plazma proteininin de çeşitli mikroorganizmaların ve kan hücrelerinin yüzeylerine bağlandığı bilinmekte-

dir⁽¹⁴⁻¹⁸⁾. Plazma proteinleri yalnızca mikroorganizmaların fagositozu için değil, aynı zamanda fagositozun asıl amacı olan fagosit içine alınan mikroorganizmaların öldürülmeleri için de gereklidir. Yutulmuş mikroorganizmaları içeren fagositler protein içermeyen yada protein olarak yalnızca albümin içeren ortamlarda içlerine aldıkları mikroorganizmaları öldürmekte veya çok azını öldürebilmektedir⁽¹⁹⁾.

Hem PMNL'ler, hem de pekçok mikroorganizma (Gram pozitif koklar, *C. albicans* gibi bazı funguslar) Fb için spesitif bağlanma bölgelerine sahiptirler^(14-18,20). Yakın zamanlarda PMNL'ler üzerindeki Fb reseptörlerinin integrin ailesinin bir üyesi oldukları gösterildi⁽²¹⁻²³⁾. Fb dışında diğer birçok ekstrasellüler matriks proteini ve plazma proteinleri, çeşitli integrinler için ligand görevi görürler. Fb, lökositlere özgü β_2 integrinler (CD11b/CD18, CD11c/CD18) ve bazı β_3 integrinler için çözünebilir bir ligand'dır⁽²¹⁻²³⁾. Hermann ve arkadaşları⁽⁹⁾ cam yüzeylere adsorbe edilmiş ekstrasellüler matriks proteinlerinin veya Arg-Gly-Asp-Ser (RGDS) aminoasit dizisinin yüzeye bağlı nötofillerin bakterisidal aktivitelerini artırdığını gösterdiler. Bu araştırmacılar bu etkiyi PMNL'ler üzerindeki integrinlere RGDS içeren ligandların bağlanması ile açıkladılar. Fb, fibronektin, trombospondin, tip I kollajen, vitronektin ve vWF gibi birçok proteinler RGDS aminoasit dizisini taşırlardı⁽²²⁻²⁴⁾. RGDS tetrapeptidi birçok integrin için hedef aminoasit dizisi olduğu halde, adeziv ligandlar tarafından kullanılan tek integrin tanıyıcı motif değildir. Fb molekülünde, ek olarak 3 ayrı integrin tanıma bölgesi daha tanımlanmıştır⁽²³⁾.

Akut enfeksiyon sırasında dolaşan Fb yoğunluğundaki artışın ve Fb'nin aktive integrin molekülleri ve mikroorganizmalar

Tablo-I : Mikroorganizma türü gözönüne alınmadan granülositlerin mikrobisidal etkinliği

Eklenen Fb (mg/ml)	2×10^6 PMNL'nin fagosite ettiği Mo. sayısı	2×10^6 PMNL tarafından öldürülen Mo. sayısı	Öldürme indeksi %	PMNL başına fagosite edilen Mo. sayısı	PMNL başına öldürülen Mo. sayısı
0	1.92×10^7	9.35×10^6	48.69	9.60	4.67
2	2.32×10^7	1.36×10^7	58.62	11.60	6.79
8	2.09×10^7	1.21×10^7	57.89	10.45	6.04

Tablo-II : *S. pneumoniae* için granülositlerin bakterisidal etkinliği

Eklenen Fb (mg/ml)	2×10^6 PMNL'nin fagosite ettiği Mo. sayısı	2×10^6 PMNL tarafından öldürülen Mo. sayısı	Öldürme indeksi %	PMNL başına fagosite edilen Mo. sayısı	PMNL başına öldürülen Mo. sayısı
0	1.74×10^7	1.12×10^7	64.36	8.70	5.59
2	2.96×10^7	1.57×10^7	80.10	9.80	7.84
8	2.01×10^7	1.62×10^7	80.59	10.05	8.09

Tablo-III : *C. albicans* için granülositlerin fungusidal etkinliği

Eklenen Fb (mg/ml)	2×10^6 PMNL'nin fagosite ettiği Mo. sayısı	2×10^6 PMNL tarafından öldürülen Mo. sayısı	Öldürme indeksi %	PMNL başına fagosite edilen Mo. sayısı	PMNL başına öldürülen Mo. sayısı
0	6.30×10^6	1.38×10^6	21.90	3.15	0.68
2	6.20×10^6	2.24×10^6	36.12	3.10	1.11
8	5.70×10^6	1.96×10^6	34.38	2.85	0.97

Tablo-IV : E. aerogenes için granülositlerin bakterisidal etkinliği

Eklenen Fb (mg/ml)	2x10 ⁶ PMNL'nin fagosite ettiği Mo. sayısı	2x10 ⁶ PMNL tarafından öldürülen Mo. sayısı	Öldürme indeksi %	PMNL başına fagosite edilen Mo. sayısı	PMNL başına öldürülen Mo. sayısı
0	1.19x10 ⁷	6.90x10 ⁶	57.98	5.95	3.44
2	1.33x10 ⁷	9.10x10 ⁶	68.42	6.65	4.54
8	1.31x10 ⁷	9.02x10 ⁶	68.85	6.55	4.50

Tablo-V: S. aureus için granülositlerin bakterisidal etkinliği

Eklenen Fb (mg/ml)	2x10 ⁶ PMNL'nin fagosite ettiği Mo. sayısı	2x10 ⁶ PMNL tarafından öldürülen Mo. sayısı	Öldürme indeksi %	PMNL başına fagosite edilen Mo. sayısı	PMNL başına öldürülen Mo. sayısı
0	4.15x10 ⁷	2.10x10 ⁷	50.60	20.75	10.49
2	5.39x10 ⁷	2.71x10 ⁷	50.27	26.95	13.54
8	4.47x10 ⁷	2.25x10 ⁷	50.33	22.35	11.24

üzerindeki özgül reseptörlere bağlanması fizyolojik önemi açık değildir. Fakat olasılıkla bu etkileşim enfeksiyonu sınırlamada rol oynayabilir. Nitekim kalıtsal olarak β_2 integrin eksikliğinde yaşamın ilk iki yılı içinde tekrarlayan ve sıklıkla ölümcül olan bakteriyel veya fungal enfeksiyonlar görülür⁽²²⁾.

İnsan PMNL'leri mikroorganizmaların fiziki durumlarına göre (bir yüzeye yapışmış olma yada süspaniyonda bulunma gibi) hümmoral faktörlerle (opsoninlerin varlığı veya yokluğu gibi) ilişkilerine bağlı olarak farklı yanıtlar verirler⁽²⁵⁾. Önceki çalışmalar yüzeye bağlı Fb, fibronektin ve laminin gibi proteinlerin PMNL'lerin fagositik ve bakterisidal aktivitelerini artırdığını gösterdi^(6,9,26). Buna karşın PMNL'lerin

mikrobisidal aktiviteleri süspaniyon tipi fagositoz sistemleri içinde değerlendirildiğinde bu proteinlerin fagositozu da, intrasellüler öldürmeyi de artırmadığı ileri sürüldü^(27,28). Öte yandan Hayashi ve arkadaşları⁽²⁵⁾ süspaniyon tipi deney sistemlerinde opsoninlerin PMNL'lerin kemiluminesansını artırdığını gösterdiler. Varılan bu farklı sonuçlar deney koşullarının farklılığı ile açıklanabilir. Bizim deney sistemimiz in vivo koşullara oldukça benzer olup, bütün deney süresince ortamda doğal opsoninler (kompleman ve antikorlar) bulunmaktadır. Daha önceki birçok yazar tarafından bildirilen matriks proteinlerinin süspaniyonda fagositozu ve fagositik öldürmeyi etkilemediği yolundaki görüş fagositozun fizyolojik tuz süspaniyonları

içinde gerçekleştirilmesine bağlı olabilir.

Sonuç olarak biz, akut fazdaki gibi plazmada Fb yoğunluğundaki artışın PMNLlerin mikrobisidal aktivitesini artırdığını gösterdik. Çalışmamızın amacı Fb'nin fagositik öldürme üzerindeki etki mekanizmasını açıklamak değildir. Fakat bu etkinin ligand-reseptör ilişkisi ile açıklanabileceğini düşünüyoruz. Çünkü :(1) Hem fagositler hem de çeşitli mikroorganizmalar Fb için spesifik bağlanma bölgelerine sahiptirler. (2) Fb gibi RGDS aminoasit dizisine sahip proteinler oksidatif burst'ü uyarırlar. (3) Fb, RGDS'den başka, lökosit integrinleri için üç ayrı tanıma bölgesine daha sahiptir. (4) Nötrofillerde oksidatif burst varlığını gösteren, dolaylı fakat duyarlı sonuç veren bir test olan kemiluminesansı en çok ve en uzun süreli artıran matriks proteini Fb'dir. (5) Plazma proteinleri optimal intrasellüler öldürme için gereklidirler.

Çalışmamızın sonuçları akut faz yanıtı sırasında plazmada yoğunluğu artan Fb'nin büyük olasılıkla patojenik mikroorganizmaların neden olduğu efeksiyonlarda konakçı savunmasına kalkıda bulunan bir faktör olduğunu göstermektedir. Sonuçlarımızın biyolojik sistemlerde geçerli olup olmadığını belirlemek için *in vivo* çalışmalara gereksinim vardır.

Geliş Tarihi: 18.09.1995

Yayına Kabul Tarihi: 03.10.1995

KAYNAKLAR

1. Saez-Llorens X, Lagrutta SF. The acute phase host reaction during bacterial infection and its clinical impact in children. *Pediatr Infect Dis J* 1993; 12:83-87.
2. Sthart J, Whicher JT. Tests for detecting and monitoring the acute-phase

response. *Arch Dis Child* 1988; 63:115-117.

3. Fuller GM, Bunzel RJ, Nesbitt JE. Fibrinogen. *Methods Enzymol* 1988; 163:474-485.
4. Scheriber G, Tskin A, Aldred AR, et al. The acute phase response in the rodent. *Ann NY Acad Sci* 1989; 557:61-86.
5. Kazura JW, Wenger JD, Salata RA, et al. Modulation of polymorphonuclear leukocyte microbicidal activity and oxidative metabolism by fibrinogen degradation products D and E. *J Clin Invest* 1989; 86:1916-1924.
6. Senior RM, Skogen WF, Griffin GL, et al. Effects of fibrinogen derivatives upon the inflammatory response. studies with human fibrinopeptide. *J Clin Invest* 1986; 77:1014-1019.
7. Traore MY, Valentin-Weigand P, Chhatwall GS, et al. Inhibitory effect of fibrinogen on phagocytic killing of streptococcal isolates from humans, cattle and horses. *Vet Microbiol* 1991; 28:295-302.
8. Whitnack E, Beachey EH. Antipsonic activity of fibrinogen bound to M protein on the surface of group A Streptococci. *J Clin Invest* 1982; 69:1042-1045.
9. Herrmann M, Jaconi MEE, Dahlgren C, et al. Neutrophil bactericidal activity against *Staphylococcus aureus* adherent on biological surfaces. Surface-bound extracellular matrix proteins activate killing by oxygen-dependent and independent mechanisms. *J Clin Invest* 1990; 86:942-951.
10. Dejana E, Vergara-Dauden M, Balconi G, et al. Specific binding of human fibrinogen to cultured human fibroblast. Evidence for the involvement of the E

- domain. *Eur J Biochem* 1984; 139:657-662.
11. Cheung al, Fischetti VA. The role of fibrinogen in mediating Staphylococcal adherence to fibers. *J Surg Res* 1991; 50:150-155.
 12. Leijh PCJ, van den Barslaar MT, Dubbeldeman-Rempt I, et al. Kinetics of intracellular killing of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by human granulocytes. *Eur J Immunol* 1980; 10:750-757.
 13. van Oss CJ. Phagocytosis: an overview. *Methods Enzymol* 1986; 132:3-15.
 14. Lammler C, Freitas JC, Chhatwal GS, et al. Interactions of immunoglobulin G, fibrinogen and fibronectin with *Staphylococcus hyicus* and *Staphylococcus intermedius*. *Zbl Bakt Hyg A* 1985; 260:232-237.
 15. Vercellotti GM, McCarthy JB, Lindholm P, et al. Extracellular matrix proteins (fibronectin, laminin and type IV collagen) bind and aggregate bacteria. *Am J Pathol* 1985; 120:13-21.
 16. Kuusela P, Vartio T, Vuento et al. Attachment of staphylococci and streptococci on fibronectin, fibronectin fragments, and fibrinogen bound to a solid phase. *Infect Immun* 1985; 50:77-81.
 17. Cheung AL, Krishman M, Jaffe EA, et al. Fibrinogen acts a bridging molecule in the adherence of *Staphylococcus aureus* to cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1991; 87:2236-2245.
 18. Altieri DC, Mannucci PM, Capittano AM. Binding of fibrinogen to human monocytes. *J Clin Invest* 1986; 78:968-976.
 19. Leijh PCJ, van Furth R. Extracellular stimulation of phagocytes by plasma proteins for optimal intracellular killing of microorganisms. *Scand J Rheumatol* 1981; 40:62-64(Suppl).
 20. Cutler JE. Putative virulence factors of *Candida albicans*. *Annu Rev Microbiol* 1991; 45:187-218.
 21. Hynes RO. Integrins: a family of cell surface receptors. *Cell* 1987; 48:549-554.
 22. Arnaout MA. Structure and function of the leukocyte adhesion molecules CD11/CD18. *Blood* 1990; 75:1037-1050.
 23. Smyth SS, Joneckis CC, Parise LV. Regulation of vascular integrins. *Blood* 1993; 81:2827-2843.
 24. Ruoslahti E, Pierschbacher MD. New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. *Science* 1987; 238:491-497.
 25. Hayashi K, Lee DA, Quie PG. Chemiluminescent response of polymorphonuclear leukocytes to *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* in suspension and adhered to glass. *Infect Immun* 1986; 52:397-400.
 26. Yang KD, Augutine NH, Gonzales LA, et al. Effects of fibrinogen on the interaction of polymorphonuclear leukocytes with unopsonized and antibody-opsonized bacteria. *J Infect Dis* 1988; 158:823-830.
 27. Van De Water L, Destree AT, Hynes RO. Fibronectin binds to some bacteria but does not promote their uptake by phagocytic cells. *Science* 1983;220:201-204
 28. Verbrugh HA, Peterson PK, Smith DE, et al. Human fibronectin binding to *Staphylococcal* surface protein and its relative inefficiency in promoting phagocytosis by human polymorphonuclear leukocytes, monocytes, and alveolar macrophages. *Infect Immun* 1981; 33:811-819.