



ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ

ΙΔΡΥΜΑ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

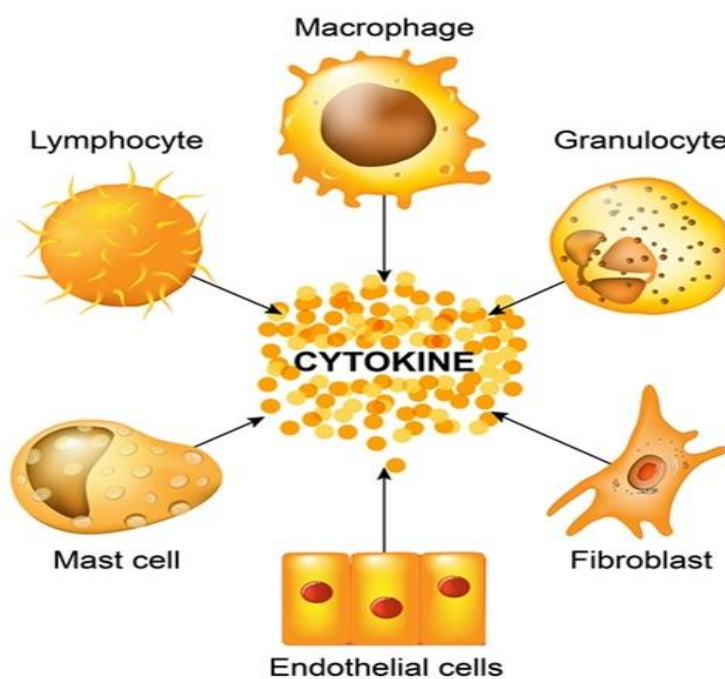
ΣΧΟΛΗ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

**ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ: ΟΙ ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΕΣ ΤΗΣ ΑΝΟΣΙΑΚΗΣ
ΑΠΑΝΤΗΣΗΣ, ΣΥΧΡΟΝΕΣ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ
ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΡΑΞΗ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ**

Πτυχιακή εργασία της

Παπαδοπούλου Ευαγγελίας



Επιβλέπουσα: Χατζηδημητρίου Μαρία, Αναπληρώτρια καθηγήτρια Ιατρικής
Μικροβιολογίας-Ανοσολογίας

2018

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	5
ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΛΙΣΜΟΙ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ	6
ΓΕΝΙΚΟΣ ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ.....	7
ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ (CYTOKINE RECEPTORS).....	8
ΥΠΟΟΙΚΟΓΕΝΕΙΕΣ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΤΑΞΗΣ I.....	10
ΓΕΝΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΜΕΤΑΓΩΓΗΣ ΜΗΝΥΜΑΤΩΝ ΠΟΥ ΑΚΟΛΟΥΘΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟΥΣ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟΥΣ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΑΞΕΩΝ I ΚΑΙ II.....	13
ΓΕΝΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ - ΚΟΙΝΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ	15
ΔΡΑΣΕΙΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΕΠΙ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟΧΩΝ.....	16
ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ	17
ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ	19
ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΕΠΙΚΤΗΤΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ.....	26
ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ- ΔΙΕΓΕΡΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΗΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ (colony stimulating factors CSFs, growth factors GFs)	28
ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΤΗΣ ΑΝΟΣΙΑΚΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ.....	28
ΔΙΑΛΥΤΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ, ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ-ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ.....	29
ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ	31
ΣΥΓΧΡΟΝΕΣ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ	36
ΝΕΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ	42
SUMMARY	45
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	46

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ως κυτταροκίνες ή κυτοκίνες ορίζονται πρωτεϊνικά μόρια χαμηλού μοριακού βάρους που παίρνουν μέρος κυρίως στις ανοσολογικές αντιδράσεις του οργανισμού. Διακρίνονται σε έξι ομάδες: ιντερλευκίνες, ιντερφερόνες, παράγοντες νέκρωσης όγκων, αυξητικοί παράγοντες, παράγοντες διέγερσης αποικιών, χημειοκίνες. Οι κυτταροκίνες παράγονται από πολυάριθμους κυτταρικούς τύπους, κυριότεροι εκ των οποίων είναι τα μονοπύρηνα-μακροφάγα, τα λεμφοκύτταρα, τα κύτταρα NK, τα σιτευτικά και τα ενδοθηλιακά κύτταρα καθώς και οι ινοβλάστες. Η δράση τους στοχεύει σε ποικίλους κυτταρικούς πληθυσμούς, αφού οι κυτταροκίνες αποτελούν ρυθμιστικούς μεσολαβητές της φυσικής και ειδικής ανοσίας και της φλεγμονής στο σύνολό τους. Η επίδραση των κυτταροκινών στα κύτταρα-στόχους προϋποθέτει τη σύνδεση αυτών με ειδικούς μεμβρανικούς υποδοχείς πάνω στα κύτταρα. Το σήμα φτάνει τελικώς στους πυρήνες των κυττάρων μετά από πολύπλοκες χημικές αντιδράσεις με τη συμμετοχή κινασών τυροσίνης και μεταγραφικών παραγόντων. Με τη διαφοροποίηση, τον πολλαπλασιασμό και, γενικότερα, τις λειτουργικές μεταβολές που υφίστανται τα κύτταρα-στόχοι έπειτα από τη δράση των κυτταροκινών, η ανοσιακή απάντηση προσαρμόζεται στις ανάγκες του οργανισμού έναντι του αιτιοπαθογενετικού παράγοντα προς την εξάλειψή του. Ωστόσο, υποέκκριση ή υπερέκκριση κάποιων κυτταροκινών οδηγεί σε παθολογικές καταστάσεις για τον οργανισμό. Έτσι, οι κυτταροκίνες διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο τόσο στην πορεία όσο και στην έκβαση της ανοσιακής αντίδρασης. Βάσει της ιδιότητας αυτής, οι κυτταροκίνες βρίσκουν εφαρμογή τα τελευταία χρόνια στις ανοσοθεραπείες διάφορων ασθενειών. Μέσα από αρκετές μελέτες οι οποίες χρήζουν βέβαια περαιτέρω έρευνας, οι κυτταροκίνες έχουν αναδειχθεί πολύτιμα μόρια-εργαλεία στον χειρισμό της ανοσιακής απάντησης. Ως εκ τούτου, αξιοποιούνται ως βιολογικοί δείκτες της πρόγνωσης και της διάγνωσης ασθενειών καθώς και ως θεραπευτικά μέσα. Ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) έχει εγκρίνει την ανοσοθεραπεία για διάφορες ασθένειες, όπως το AIDS, σκλήρυνση κατά πλάκας, ρευματοειδή αρθρίτιδα, ηπατίτιδα Β-С, T κυτταρική λευχαιμία, σηπτικό σοκ, σάρκωμα Kaposi, μελάνωμα. Η χρήση των κυτταροκινών διευρύνεται και στην επέκταση του προσδόκιμου ζωής μοσχευμάτων σε πειραματικά μοντέλα. Παρά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα της χρήσης κυτταροκινών στην κλινική πράξη, δεν παύουν να υπάρχουν προκλήσεις σχετικά με τις παρενέργειες και τις δόσεις χορήγησης των φαρμάκων στον εκάστοτε ασθενή. Οι νέες μέθοδοι ποσοτικού

προσδιορισμού ανιχνεύουν τα επίπεδα των κυτταροκινών προλαμβάνοντας παθολογικές καταστάσεις με κύριο πρόβλημα την ευαισθησία των μεθόδων. Συνεπώς, οι σύγχρονες μελέτες απαιτούν επιπλέον έρευνα με μελλοντικό στόχο την κατασκευή ασφαλέστερων μεθόδων ανοσοθεραπείας με βασικό μέσο τις κυτταροκίνες και την ανεύρεση αποδοτικότερων μεθόδων μέτρησής τους.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι κυτταροκίνες ή κυτοκίνες (cytokines) αποτελούν διαλυτά πρωτεϊνικά ή γλυκοπρωτεϊνικά, σηματοδοτικά μόρια χαμηλού μοριακού βάρους, περίπου 8- 80 kDa. Η παραγωγή τους πραγματοποιείται από ποικιλία κυττάρων του οργανισμού ως απόκριση σε ένα πλήθος ερεθισμάτων.

Ειδικότερα, παράγονται από μονοκύτταρα- μακροφάγα, Β- και Τ- λεμφοκύτταρα, φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα ΝΚ, ινοβλάστες, ενδοθηλιακά και σιτευτικά κύτταρα. Λειτουργούν ως ρυθμιστικά μόρια, με κύρια αποστολή τη διέγερση είτε την αναστολή κυτταρικών λειτουργιών, μεταξύ ανοσολογικών και μη κυττάρων. Η δράση τους είναι χαρακτηριστική επί των διαφόρων κυττάρων στόχων, συμπεριλαμβανομένου του πολλαπλασιασμού, της κινητικότητας, της διαφοροποίησης και, γενικότερα, της λειτουργίας των κυττάρων αυτών. Οι κυτταροκίνες παράγονται κατά τη φυσική ανοσία, αλλά και κατά την ειδική ανοσιακή απάντηση διαδραματίζοντας με αυτόν τον τρόπο σπουδαίο ρόλο στην ανοσιακή και φλεγμονώδη απάντηση του οργανισμού.

Αρχικά, ο όρος *κυτταροκίνη* αναφερόταν μόνο στις ιντερλευκίνες, καθώς υπήρχαν ενδείξεις ότι παράγονται μόνο από λευκοκύτταρα. Ωστόσο, με την ανάπτυξη των νεώτερων βιοτεχνολογικών μεθόδων αποδείχθηκε πως η ίδια κυτταροκίνη δύναται να παράγεται και από άλλους κυτταρικούς πληθυσμούς, γι' αυτό προτιμήθηκε ο όρος *κυτταροκίνη*. Γενικότερα, η ονομασία των κυτταροκινών βασίζεται κυρίως στην προέλευσή τους. Έτσι, ως *μονοκίνες* χαρακτηρίζονται αυτές που προέρχονται από τα μακροφάγα- μονοκύτταρα, ως *λεμφοκίνες* αυτές που παράγονται από λεμφοκύτταρα και ως *χημειοκίνες* εκείνες που εμπλέκονται στις διεργασίες έναρξης της φλεγμονής. Ο όρος *ιντερλευκίνες* χρησιμοποιείται για την αριθμητική περιγραφή των κυτταροκινών οι οποίες παράγονται από διάφορους τύπους κυττάρων και δρουν πάνω σε λευκοκύτταρα.

Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωρισθεί πάνω από διακόσια είδη κυτταροκινών που υπάγονται σε διάφορες ομάδες οι οποίες δεν φέρουν σχεδόν κανένα κοινό γενετικό και δομικό υπόβαθρο.

ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΛΙΣΜΟΙ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ

Το σύνολο των κυτταροκινών μπορεί να διακριθεί στις παρακάτω κατηγορίες με βάση τις λειτουργίες που επιστρατεύουν, τα κύτταρα στόχους όπου ασκούν τη δράση τους, καθώς και τη σειρά ανακάλυψής τους:

- Ιντερλευκίνες ILs (IL-1, IL-2 κλπ.)
- Ιντερφερόνες IFNs (IFN- α , IFN- β , IFN- γ)
- Παράγοντες νέκρωσης όγκων TNFs (TNF- α , TNF- β)
- Αυξητικοί παράγοντες GFs (NGF, EGF)
- Παράγοντες διέγερσης αποικιών CSFs (M-CSG, G-CSF, GM-CSF)
- Χημειοκίνες CC (RANTES, MCP-1, MIP-1 α)

Table 1 Οι κατηγορίες των κυτταροκινών και η κύρια προέλευσή τους.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ	ΚΥΡΙΑ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ
<u>ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΕΣ</u>	Μονοκύτταρα-μακροφάγα, T και B λεμφοκύτταρα, ινοβλάστες, ενδοθηλιακά-σιτευτικά-NK κύτταρα
<u>ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΕΣ</u>	NK κύτταρα, ενεργοποιημένα T _{H1} κύτταρα, μακροφάγα, ουδετερόφιλα
<u>ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΝΕΚΡΩΣΗΣ ΟΓΚΩΝ</u>	Ενεργοποιημένα μακροφάγα, T και B λεμφοκύτταρα, σιτευτικά
<u>ΑΥΞΗΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ</u>	Ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα, αιμοπετάλια, μακροφάγα
<u>ΔΙΕΓΕΡΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΑΠΟΙΚΙΩΝ</u>	Μονοκύτταρα-μακροφάγα, T λεμφοκύτταρα, ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα
<u>ΧΗΜΕΙΟΚΙΝΕΣ</u>	Μακροφάγα, ινοβλάστες

ΓΕΝΙΚΟΣ ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ

Προκειμένου να δράσει η εκάστοτε κυτταροκίνη πρέπει αυτή πρώτα να συνδεθεί με τον υψηλής συγγένειας κατάλληλο υποδοχέα επί της κυτταρικής μεμβράνης του κυττάρου στόχου, ώστε να επιτευχθεί η μεταφορά του μηνύματός της. Έτσι, οι βιολογικές δράσεις των κυτταροκινών μπορεί να είναι αυτοκρινείς, παρακρινείς ή ενδοκρινείς.

Κατά την αυτοκρινή (autocrine) δράση, που είναι και η πιο συχνή, οι κυτταροκίνες δρουν στα ίδια τα κύτταρα από τα οποία εκκρίνονται. Στην παρακρινή (paracrine) δρουν σε γειτονικά κύτταρα δηλαδή κύτταρα του άμεσου περιβάλλοντός τους, ενώ με την ενδοκρινή ή συστηματική (endocrine) δράση γίνεται εφικτή η επίδραση σε απομακρυσμένα κύτταρα του οργανισμού μέσω της κυκλοφορίας, όπως και στην περίπτωση των ορμονών.

Γενικά, εξαιτίας της υψηλής συγγένειας των υποδοχέων των κυτταροκινών με τους αντίστοιχους συνδέτες τους, για την εκδήλωση της βιολογικής τους δράσης απαιτούνται εξαιρετικά μικρές ποσότητες της τάξεως του picomol, ακόμη και σε επίπεδο φεμτομορίου. Η ρύθμιση της έκφρασης των παραπάνω υποδοχέων πραγματοποιείται από μόρια άλλων κυτταροκινών και αυξάνεται μετά τη σύνδεση μίας συγκεκριμένης κυτταροκίνης στα κατάλληλα κύτταρα.

Figure 1 Οι δράσεις των κυτταροκινών.

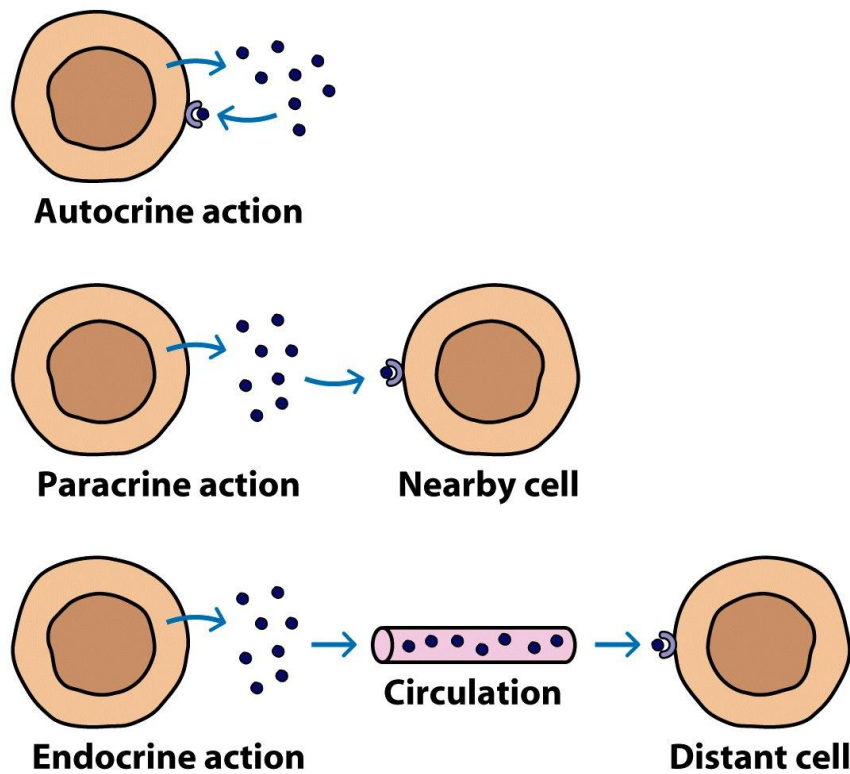


Figure 12-1b
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ (CYTOKINE RECEPTORS)

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι κυτταροκίνες ασκούν τη δράση τους στα κύτταρα στόχους μόνο εάν έχουν προηγουμένως συνδεθεί με τους κατάλληλους μεμβρανικούς υποδοχείς πάνω σε αυτά. Έτσι, γίνεται κατανοητό πως ο κύριος σκοπός της ύπαρξής τους είναι η μεταβίβαση του εξωκυττάριου μηνύματος που φέρει η αντίστοιχη κυτταροκίνη στον ενδοκυττάριο χώρο.

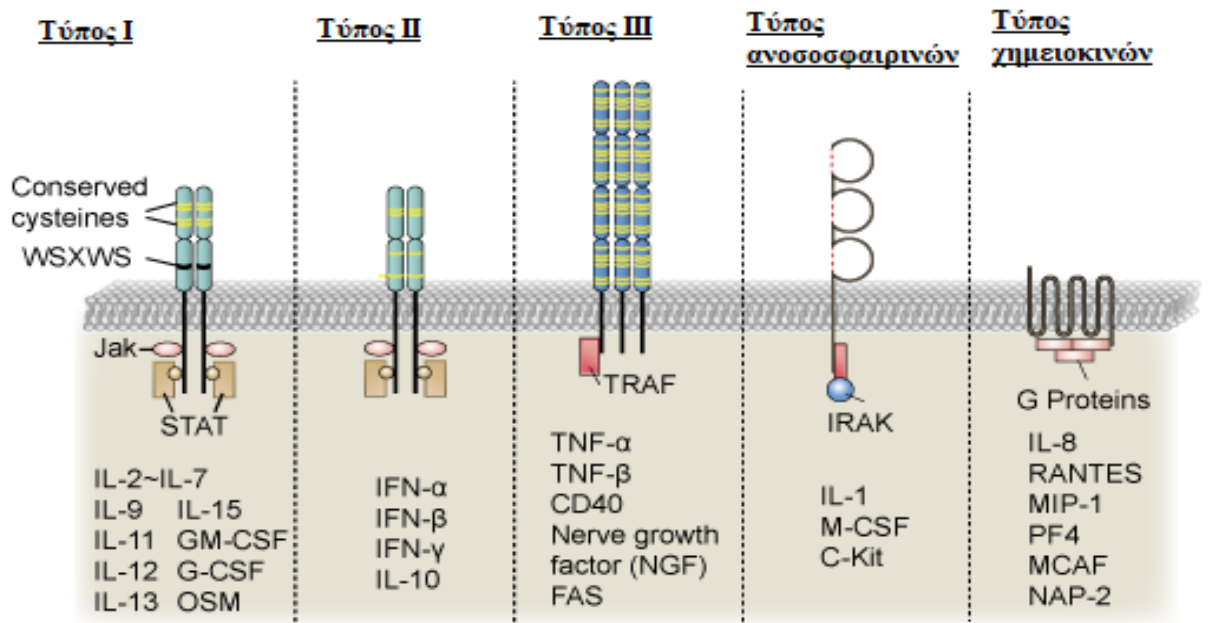
Οι υποδοχείς των κυτταροκινών είναι διαμεμβρανικά, διμερή ή τριμερή πρωτεϊνικά μόρια και αποτελούνται από τις πολυπεπτιδικές αλυσίδες α , β και κάποιες φορές γ . Η α αλυσίδα είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα για κάθε κυτταροκίνη, ενώ οι β και γ απαιτούνται για προσδέσεις μεγάλης χημικής συγγένειας και τη μεταφορά μηνυμάτων. Παράλληλα, οι υποδοχείς αποτελούνται από τρία τμήματα: το εξωκυττάριο που χρησιμεύει για τη σύνδεση της κυτταροκίνης, το διαμεμβρανικό και το ενδοκυττάριο που συμμετέχουν στη μεταβίβαση του μηνύματος προς το εσωτερικό του κυττάρου στόχου.

Βάσει των ομόλογων αμινοξικών αλληλουχιών των μορίων τους και, πιο συγκεκριμένα, του εξωκυττάριου τμήματος, οι υποδοχείς των κυτταροκινών διακρίνονται σε πέντε ομάδες:

- 1. Υποδοχείς της υπεροικογένειας των ανοσοσφαιρινών (Igs)**, οι οποίοι ονομάστηκαν έτσι από το γεγονός ότι φέρουν στο εξωκυττάριο τμήμα τους αριθμό πεδίων που είναι ομόλογα με τα πεδία των ανοσοσφαιρινών. Σε αυτούς τους υποδοχείς υπάγονται οι τύπου I και τύπου II υποδοχείς της IL-1, της IL-18 και του M-CSF.
- 2. Οικογένεια υποδοχέων κυτταροκινών τάξης I**, γνωστή και ως οικογένεια υποδοχέων αιμοποιητινών. Σε αυτήν την τάξη ανήκουν η πλειοψηφία των υποδοχέων που, δεσμεύοντας κυτταροκίνες, λειτουργούν στα πλαίσια του ανοσοποιητικού και του αιμοποιητικού συστήματος. Οι υποδοχείς αυτοί διαθέτουν στην εξωκυτταρική περιοχή τους συντηρητικές αμινοξικές αλληλουχίες μήκους 200 αμινοξέων που αποτελούνται από τέσσερα συντηρητικά κατάλοιπα κυστεΐνης (CCCC) και μία συντηρητική αλληλουχία τρυπτοφάνη-σερίνη-X-τρυπτοφάνη-σερίνη (WSXWS), όπου με X συμβολίζεται οποιοδήποτε αμινοξύ που δεν χαρακτηρίζεται από συντηρητικότητα. Σε αυτούς τους υποδοχείς συνδέονται κυτταροκίνες που έχουν δομή τεσσάρων α-ελίκων, όπως η IL-2 και περίπου 13 ακόμα ιντερλευκίνες, καθώς και μερικοί παράγοντες διεγερτικοί αποικιών (GM-CSF, G-CSF).
- 3. Οικογένεια υποδοχέων κυτταροκινών τάξης II**, γνωστή και ως οικογένεια υποδοχέων ιντερφερονών. Αυτοί οι υποδοχείς αφενός φέρουν συντηρητικές αλληλουχίες κυστεΐνης (CCCC) όπως και οι υποδοχείς της τάξης I, αφετέρου δεν παρουσιάζουν αλληλουχίες WSXWS. Σε αυτούς δεσμεύονται τουλάχιστον 27 διαφορετικές κυτταροκίνες, μεταξύ των οποίων έξι μέλη της οικογένειας της IL-10, 17 ιντερφερόνες τύπου I, μία ιντερφερόνη τύπου II και τρία μέλη της λ ιντερφερόνης που πρόσφατα ανακαλύφθηκε.
- 4. Οικογένεια υποδοχέων κυτταροκινών τάξης III** ή οικογένεια υποδοχέων TNF. Χαρακτηρίζονται από εξωκυττάρια πεδία πλούσια σε κυστεΐνη. Πρόκειται για τους δύο υποδοχείς του TNF που διαθέτουν τις ομόλογες περιοχές p55 και p75. Ο τύπος αυτός δεσμεύει επίσης μόρια, όπως το CD4+, το Fas και τον νευρικό αυξητικό παράγοντα NGF.

5. **Οικογένεια υποδοχέων χημειοκινών** ή υποδοχείς επτά διαμεμβρανικών ελίκων ή οφιοειδείς (serpentine) υποδοχείς που ονομάζονται έτσι λόγω της μορφολογίας τους. Η συγκεκριμένη δομή είναι κοινή στους υποδοχείς που συνδέονται με ετεροτριμερείς GTP-συνδεόμενες πρωτεΐνες, όπως η χημειοκίνη IL-8.

Figure 2 Δομές υποδοχέων κυτταροκινών.



ΥΠΟΟΙΚΟΓΕΝΕΙΕΣ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΤΑΞΗΣ I

Υπάρχουν αρκετές υποοικογένειες υποδοχέων κυτταροκινών τάξης I. Τα μέλη κάθε μιας παρουσιάζουν πανομοιότυπες (κοινές) υπομονάδες που συμμετέχουν στη μεταβίβαση μηνύματος, γεγονός που αιτιολογεί τον πλεονασμό και την ανταγωνιστική δράση κάποιων κυτταροκινών. Ενδεικτικά, παρατίθενται τα μέλη τριών υποοικογένειων υποδοχέων:

- **Υποοικογένεια υποδοχέων GM-CSF** (κοινή β υπομονάδα). Σε αυτήν περιλαμβάνονται οι υποδοχείς των κυτταροκινών IL-3, IL-5 και GM-CSF. Αποτελούνται από μία πρωτεΐνη, την α υπομονάδα που είναι μοναδική και ειδική για κάθε κυτταροκίνη και μια β υπομονάδα που είναι κοινή για όλες τις κυτταροκίνες. Οι δύο αυτές υπομονάδες συνδέονται μη ομοιοπολικά. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργείται ένας διμερής υποδοχέας που παρουσιάζει αυξημένη

συγγένεια για την κάθε κυτταροκίνη η οποία θα συνδεθεί με αυτόν και θα μεταβιβάσει το μήνυμα διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης.

Και οι τρεις προαναφερθείσες κυτταροκίνες εμφανίζουν το φαινόμενο του πλεονασμού (δηλαδή μεταφέρεται το ίδιο μήνυμα ενεργοποίησης και από τις τρεις), εφόσον διαθέτουν κοινές β υπομονάδες και ακολουθούν το ίδιο πρότυπο φωσφορυλίωσης πρωτεϊνών. Επίσης, ανάμεσά τους παρατηρούνται και ανταγωνιστικές σχέσεις, πράγμα που οφείλεται στη διεκδίκηση ενός περιορισμένου αριθμού διαθέσιμων β υπομονάδων, από τις ειδικές α υπομονάδες, για το σχηματισμό των διμερών υποδοχέων.

- **Υποικογένεια υποδοχέων IL-6** (κοινή υπομονάδα gp130). Περιλαμβάνει τους υποδοχείς για τις εξής κυτταροκίνες: IL-6, IL-11, ανασταλτικό παράγοντα της λευχαιμίας (Leukemia Inhibitory Factor, LIF), ογκοστατίνη M (Oncostatin m, OSM), νευροτροφικό παράγοντα των βλεφαριδωτών κυττάρων (Ciliary NeuroTrophic Factor, CNTF). Σε αυτήν την υποικογένεια η κοινή υπομονάδα gp130 συνδέεται με μία ή δύο διαφορετικές υπομονάδες, ειδικές για την εκάστοτε κυτταροκίνη. Παράγοντες με κοινά δομικά χαρακτηριστικά συνδέονται με την ίδια α υπομονάδα και, ως εκ τούτου, θα εμφανίζουν επικαλυπτόμενες βιολογικές δράσεις. Τέλος, λόγω της παρουσίας μορίων gp130 σε όλους τους υποδοχείς της υποικογένειας IL-6 παρατηρείται το ίδιο πρότυπο μεταγωγής μηνύματος, ενώ λόγω περιορισμένου αριθμού αυτών εμφανίζονται ανταγωνιστικές σχέσεις μεταξύ των κυτταροκινών για τη σύνδεσή τους με τα μόρια gp130.
- **Υποικογένεια υποδοχέων IL-2** (κοινή γ υπομονάδα). Περιλαμβάνει τους υποδοχείς των κυτταροκινών IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 και IL-21. Είναι ετεροδιμερή ή ετεροτριμερή μόρια που αποτελούνται από μία κοινή γ υπομονάδα και από άλλη μία ή άλλες δύο αλυσίδες αντιστοίχως, ειδικές για κάθε κυτταροκίνη. Γενετική βλάβη στο γονίδιο της γ υπομονάδας προκαλεί μια εκ γενετής ανωμαλία, την φυλοσύνδετη βαριά συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια η οποία περιγράφεται εκτενέστερα παρακάτω.

ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ ΤΗΣ IL-2 (IL-2R)

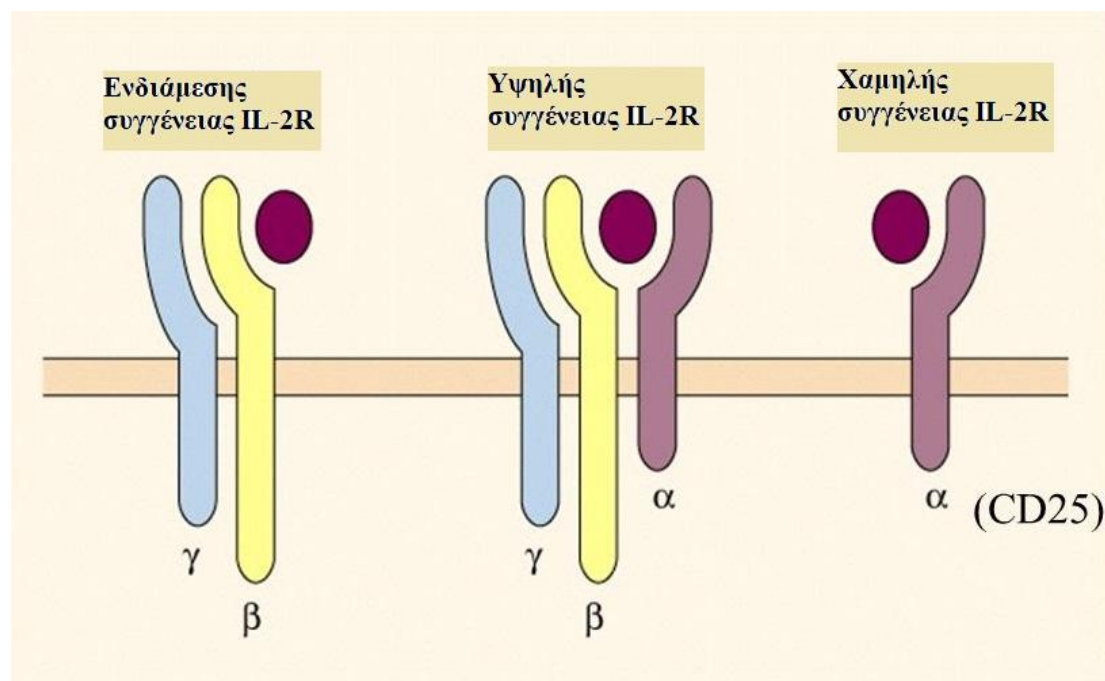
Ο υποδοχέας της IL-2 είναι από τους καλύτερα μελετημένους υποδοχείς και συνεχίζει να μελετάται σχολαστικά, εφόσον κατέχει κεντρικό ρόλο στον κλωνικό πολλαπλασιασμό των T κυττάρων σε συνεργασία, φυσικά, με την ίδια την IL-2.

Ο πλήρης υποδοχέας της IL-2 αποτελείται συγκεκριμένα από τις τρεις υπομονάδες α, β και γ από τις οποίες οι αλυσίδες β και γ ανήκουν, όπως προαναφέρθηκε, στην οικογένεια υποδοχέων κυτταροκινών τάξης I, ενώ η α διαθέτει τελείως διαφορετική δομή. Ανάλογα με τον αριθμό των αλυσίδων που απαντώνται στον υποδοχέα είναι δυνατόν να εμφανίζονται τρεις μορφές αυτού: η μονομερής μορφή IL-2R α με χαμηλή συγγένεια για την IL-2, η διμερής μορφή IL-2R $\beta\gamma$ με ενδιάμεση συγγένεια και η τριμερής μορφή IL-2R $\alpha\beta\gamma$ με υψηλή συγγένεια. Η IL-2 δεσμεύεται σε μία θήκη που σχηματίζεται από τις β και γ αλυσίδες, ενώ επιπλέον αλληλεπιδράσεις συμβαίνουν παρουσία και της α αλυσίδας, γεγονός που αιτιολογεί και την υψηλή συγγένεια της τριμερούς μορφής του υποδοχέα. Ωστόσο, και η διμερής μορφή δύναται να μεταβιβάσει μηνύματα μέσω της κυτταρικής μεμβράνης.

Η αλυσίδα IL-2R α ονομάζεται συχνά και αντιγόνο ενεργοποίησης των T κυττάρων (T-cell activation, TAC) ή CD25 (επιφανειακός δείκτης της ωρίμανσης των T κυττάρων), διότι εκφράζεται μόνο στα ενεργοποιημένα T κύτταρα. Κατ' επέκταση η αυξημένη έκφρασή της μαρτυρά ότι τα T κύτταρα βρίσκονται σε κατάσταση ενεργοποίησης ή μπορεί να υποδηλώνει την παρουσία κυττάρων του υποπληθυσμού T_{reg} (CD4⁺ κύτταρα με υψηλά επίπεδα CD25). Για τον προσδιορισμό της IL-2R α αξιοποιείται ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που ονομάζεται αντι-TAC ή αντι-CD25 και συνδέεται με την α αλυσίδα των 55 kDa.

Όσον αφορά στη τριμερή μορφή του υποδοχέα, η έκφραση κάθε αλυσίδας δεν είναι η ίδια σε κάθε κυτταρικό τύπο. Για παράδειγμα, παρατηρείται σταθερή έκφραση της γ αλυσίδας σε όλα σχεδόν τα λεμφοειδή κύτταρα. Αντιθέτως, η έκφραση των α και β αλυσίδων είναι περιορισμένη και αυξάνεται σημαντικά μετά την ενεργοποίηση των ήρεμων λεμφοκυττάρων από κάποιο αντιγόνο. Με αυτόν τον τρόπο μόνο τα ενεργοποιημένα από το αντιγόνο CD4⁺ και CD8⁺ T κύτταρα θα εκφράσουν τον υψηλής συγγένειας υποδοχέα και θα πολλαπλασιαστούν. Τέλος, τα NK κύτταρα εκφράζουν σε σταθερά επίπεδα τις β και γ αλυσίδες και έτσι η IL-2 μπορεί να συνδέεται με αυτά μέσω των ενδιάμεσης συγγένειας υποδοχέων.

Figure 3 Οι τρεις τύποι του υποδοχέα της IL-2



ΓΕΝΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΜΕΤΑΓΩΓΗΣ ΜΗΝΥΜΑΤΩΝ ΠΟΥ ΑΚΟΛΟΥΘΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟΥΣ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟΥΣ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΑΞΕΩΝ I ΚΑΙ II

Σε αυτό το πρότυπο σηματοδότησης των κυτταροκινών κατέληξαν οι ερευνητές μετά από διεξοδικές μελέτες πάνω στην ιντερφερόνη γ (IFN-γ). Όπως έχει γίνει ήδη κατανοητό, η μεταγωγή του μηνύματος των κυτταροκινών ξεκινά μετά την πρόσδεση της κυτταροκίνης στον κατάλληλο υποδοχέα. Αυτό πυροδοτεί, στη συνέχεια, πλήθος ενδοκυττάρων αντιδράσεων με τελικό στόχο την μεταγραφή ενός νέου μορίου mRNA.

Η διαδικασία μεταφοράς μηνύματος των κυτταροκινών μέσω των περισσότερων υποδοχέων τάξεων I και II περιλαμβάνει τα παρακάτω στάδια:

1^ο στάδιο: η κυτταροκίνη συνδέεται με το εξωκυττάριο τμήμα του υποδοχέα ο οποίος, όπως προαναφέρθηκε, αποτελείται από δύο ξεχωριστές υπομονάδες. Η πρόσδεση, έτσι, της κυτταροκίνης επάγει τον διμερισμό αυτών των υπομονάδων

2^ο στάδιο: ο διμερισμός του υποδοχέα επάγει την ενεργοποίηση κινασών τυροσίνης, που ονομάζονται Janus κινάσες (JAKs) από το όνομα του μυθικού θεού των Ρωμαίων Janus που διέθετε δύο πρόσωπα. Οι κινάσες είναι ένζυμα που μεταφέρουν μία φωσφορική ομάδα στο υπόστρωμά τους από ένα τριφωσφορικό νουκλεοτίδιο,

συνήθως το ATP ή το GTP. Διαθέτουν δύο καταλυτικές επικράτειες και εμπλέκονται στη σηματοδότηση από αμφοτέρους τους τύπου I και τύπου II κυτταροκινικούς υποδοχείς.

Αρχικά, αυτές (δύο στον αριθμό) υπάρχουν στην ανενεργή τους μορφή πάνω σε κάθε υπομονάδα του υποδοχέα, χωρίς αυτό να προϋποθέτει σύνδεση του υποδοχέα με την κυτταροκίνη. Ωστόσο, όταν απουσιάζει η κυτταροκίνη οι κινάσες χάνουν την ιδιότητα της κινάσης τυροσίνης. Τελικά, οι JAKs συνδέονται με τον υποδοχέα με αμοιβαία φωσφορυλίωση και ενεργοποιούνται.

3^ο στάδιο: οι ενεργοποιημένες JAKs φωσφορυλιώνουν διάφορα κατάλοιπα τυροσίνης πάνω στις υπομονάδες του υποδοχέα. Με αυτόν τον τρόπο, δημιουργούνται πάνω στον υποδοχέα συγκεκριμένα σημεία πρόσδεσης.

4^ο στάδιο: Στη συνέχεια, μέλη της οικογένειας μεταγραφικών παραγόντων STAT (μεταγωγείς μηνύματος και ενεργοποιητές της μεταγραφής, Signal Transducers and Activators of Transcription) προσδένονται σε αυτά τα σημεία και, ειδικότερα, πάνω στα φωσφορυλιωμένα κατάλοιπα τυροσίνης. Η πρόσδεση των STATs στις υπομονάδες μεσολαβείται από σύνδεση της υπομονάδας SH₂ των STATs με το σημείο πρόσδεσης που δημιουργήθηκε από τη φωσφορυλίωση μίας τυροσίνης από τις JAKs. Κατά τη διάρκεια της παραμονής τους στα σημεία πρόσδεσης οι STATs υφίστανται επίσης φωσφορυλίωση ενός κομβικού καταλοίπου τυροσίνης από τις JAKs.

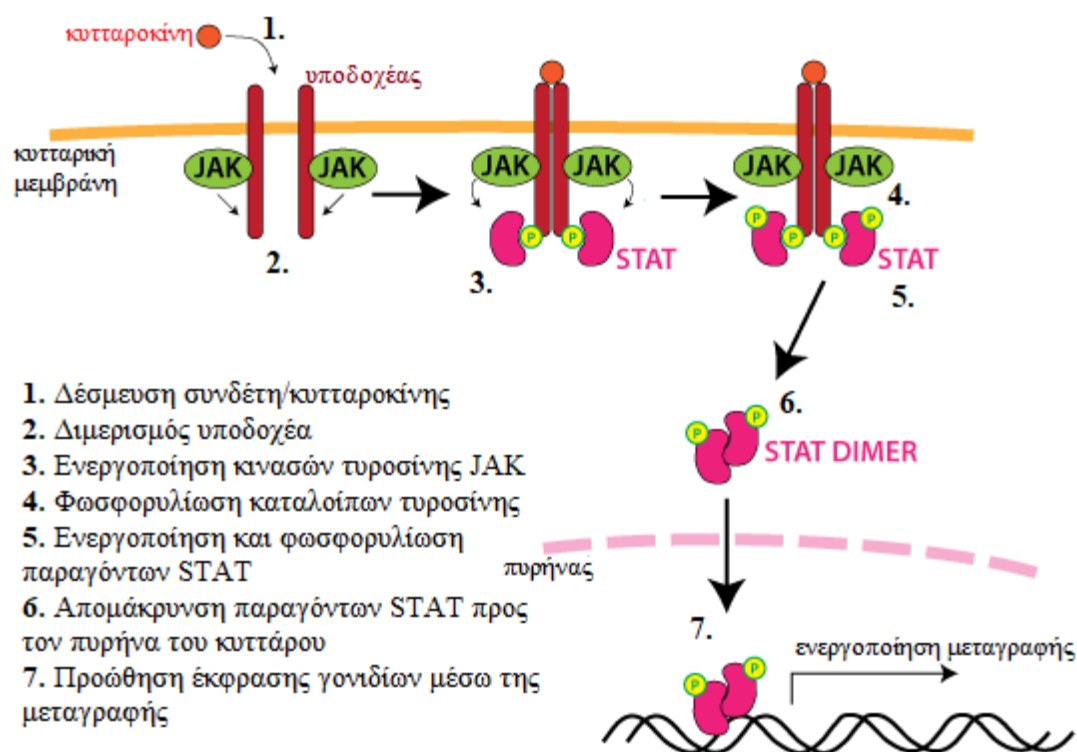
5^ο στάδιο: μετά την υφιστάμενη φωσφορυλίωση, οι μεταγραφικοί παράγοντες STAT απομακρύνονται από τα σημεία πρόσδεσης του μεμβρανικού υποδοχέα και μετατοπίζονται προς τον πυρήνα όπου συνδέονται με τις γονιδιακές περιοχές του ενισχυτή, συγκεκριμένα στο 5'-πέρασ του γονιδίου.

6^ο στάδιο: τέλος, οι STATs προωθούν την έκφραση γονιδίων που διαθέτουν τις κατάλληλες ρυθμιστικές αλληλουχίες στις περιοχές των υποκινητών τους. Έτσι, μεταγράφεται ένα νέο αγγελιαφόρο mRNA και ολοκληρώνεται η αντίδραση του κυττάρου στόχου στην επίδραση της κυτταροκίνης.

Το παραπάνω μοντέλο ενδοκυττάριας σηματοδότησης προσαρμόζεται στην ειδικότητα της δράσης της εκάστοτε κυτταροκίνης. Έτσι, συγκεκριμένες κυτταροκίνες ενεργοποιούν συγκεκριμένα JAK-STAT μονοπάτια σηματοδότησης και

διαφορετικοί μεταγραφικοί παράγοντες STAT μεταγράφουν κάθε φορά συγκεκριμένες αλληλουχίες πάνω σε υποκινητές συγκεκριμένων γονιδίων. Παράλληλα, ενεργοποιούνται μόνο τα γονίδια στόχοι των οποίων η έκφραση επιτρέπεται σε ένα συγκεκριμένο τύπο κυττάρων.

Figure 4 Γενικό μοντέλο σηματοδότησης κυτταροκινών



Παρέκκλιση από το γενικό μοντέλο μεταγωγής μηνυμάτων αποτελεί η IL-1, η οποία δεν ακολουθεί την οδό JAK- STAT αλλά κινητοποιεί μια κινάση που σχετίζεται με τον υποδοχέα της (IL-1 Receptor Associated Kinase, IRAK) και ενεργοποιείται από τους TLRs.

ΓΕΝΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ - ΚΟΙΝΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ

Τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα των κυτταροκινών τις καθιστούν σπουδαία μόρια με κεντρικό ρόλο στην ανοσιακή απάντηση, παρ'όλο που δεν διαθέτουν ιδιότητες όπως αυτές των αντισωμάτων, αφού δεν αναγνωρίζουν ούτε αντιδρούν με το αντιγόνο που προκάλεσε την παραγωγή τους. Τα κοινά χαρακτηριστικά των κυτταροκινών που τις διαφοροποιούν από τα άλλα μόρια συνοψίζονται ως ακολούθως:

- Η παραγωγή και η έκκρισή τους είναι ταχεία και βραχείας χρονικής διάρκειας, ενώ χαρακτηρίζεται από τη δυνατότητα αυτοπεριορισμού.
- Χαρακτηρίζονται από την ιδιότητα του πλειοτροπισμού, δηλαδή πολλές κυτταροκίνες ασκούν τη δράση τους όχι μόνο σε έναν, αλλά σε πολλαπλούς τύπους κυττάρων στόχων.
- Εμφανίζουν την ιδιότητα του πλεονασμού: πολλές κυτταροκίνες που ρυθμίζουν παρόμοιες λειτουργίες μπορούν να δράσουν πάνω στους ίδιους κυτταρικούς στόχους.
- Συχνά οι κυτταροκίνες συνεργάζονται μεταξύ τους (συνέργεια) με σκοπό την ισχυρότερη βιολογική επίδραση πάνω στο κύτταρο στόχο απ'ότι θα είχε κάθε μία ξεχωριστά.
- Σε μερικές περιπτώσεις εκδηλώνουν ανταγωνιστικές σχέσεις. Έτσι, η δράση μίας κυτταροκίνης μπορεί να παρεμποδίζει ή να αντισταθμίζει τη δράση μιας άλλης.
- Επάγουν φαινόμενα ενίσχυσης τύπου καταρράκτη, καθώς η παραγωγή μίας κυτταροκίνης δύναται να ενθαρρύνει την παραγωγή μιας άλλης ή πολλών άλλων κυτταροκινών οι οποίες με τη σειρά τους θα επάγουν άλλα κύτταρα στόχους για να παράγουν άλλες κυτταροκίνες.
- Πολλές φορές οι βιολογικές δράσεις των κυτταροκινών είναι αλληλοεπικαλυπτόμενες.
- Η διαδικασία μεταβίβασης του μηνύματος της κυτταροκίνης μέχρι και τη σύνθεση νέου mRNA είναι βραδεία και εκδηλώνεται σε περίοδο ωρών.

ΔΡΑΣΕΙΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΕΠΙ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟΧΩΝ

Η κυτταρική απάντηση στην δράση κάθε κυτταροκίνης προϋποθέτει το σχηματισμό νέου mRNA. Οι πρωτεΐνες που προκύπτουν μετά το πέρας της μεταγραφής είναι ικανές να επέμβουν στην λειτουργία του κυττάρου στόχου κατά τρόπο επαγωγικό ή ανασταλτικό με διάφορες μορφές. Τέτοιου είδους πρωτεΐνες αποτελούν άλλες κυτταροκίνες (αντίδραση καταρράκτης), μόρια προσκόλλησης, πρωτεΐνες οξειδίας φάσης, MHC μόρια, υποδοχείς κυτταροκινών, εξωκυττάρια πρωτεάσες ακόμη και συνθετάσες ριζών NO. Ειδικότερα, οι δράσεις των κυτταροκινών πάνω στα κύτταρα στόχους παρουσιάζονται εν συντομία ως εξής:

1. Ενεργοποίηση, πολλαπλασιασμός, διαφοροποίηση
2. Αναστολή ανάπτυξης

3. Απόπτωση
4. Ενεργοποίηση ειδικών γονιδίων
5. Χημειοταξία, χημειοκίνηση
6. Προαγωγή προσκόλλησης (π.χ. οψονινοποίηση)
7. Αντίσταση σε ιϊκή μόλυνση
8. Επαγωγή κυτταροτοξικού, φαγοκυτταρικού φαινοτύπου

Figure 5 Ενεργοποίηση ειδικών γονιδίων με τη δράση των κυτταροκινών

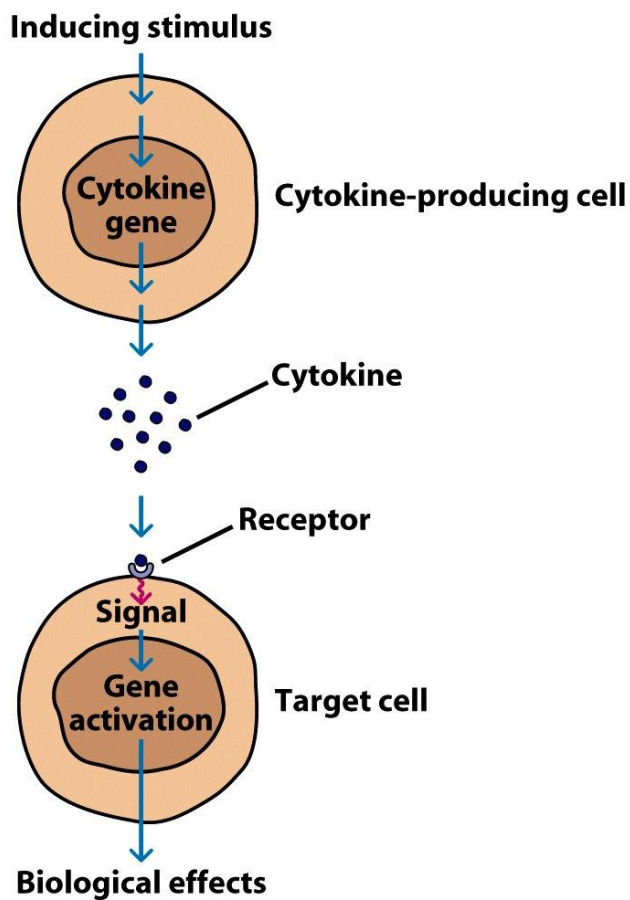


Figure 12-1a
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
 © 2007 W.H. Freeman and Company

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ

Ανάλογα με τις κύριες βιολογικές λειτουργίες που κατέχουν στην ανοσιακή απάντηση, οι κυτταροκίνες μπορούν να διακριθούν σε τέσσερις ομάδες βιολογικών δράσεων. Σε κάθε μία από αυτές λαμβάνουν μέρος διαφορετικά κύτταρα που σκοπό έχουν με την έκκριση των κατάλληλων κυτταροκινών, όταν και εφόσον απαιτείται, να προκαλέσουν την αντίστοιχη επίδρασή τους πάνω σε άλλα κύτταρα στόχους (άλλους κυτταρικούς τύπους) ή ακόμη και στον εαυτό τους.

- i. Η πρώτη ομάδα κυτταροκινών ασχολείται με τη μεσολάβησή τους στη φυσική (μη ειδική) ανοσία. Οι προκείμενες κυτταροκίνες παράγονται από τα μονοπύρηννα φαγοκύτταρα υπό την επίδραση λοιμογόνων παραγόντων (λιποπολυσακχαριδικό περίβλημα LPS, ιοί, μύκητες κ.λπ.) και στόχος τους είναι να επάγουν την φυσική ανοσία. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων TNF- α (Tumor Necrosis Factor), οι ιντερφερόνες τύπου I (IFN- α και IFN- β), οι ιντερλευκίνες 1, 6, 10, 12, 15, 18 και οι χημειοκίνες ή ιντεγκρίνες.
- ii. Στη δεύτερη ομάδα ανήκουν οι κυτταροκίνες οι οποίες, εκκρινόμενες έπειτα από την ειδική αναγνώριση του αντιγόνου από τα T λεμφοκύτταρα, ρυθμίζουν την ενεργοποίηση, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των λεμφοκυττάρων. Με λίγα λόγια, οι κυτταροκίνες αυτές συμμετέχουν στην ειδική ανοσιακή απάντηση του οργανισμού. Εδώ εντάσσονται η λεμφοτοξίνη (LT) ή αλλιώς TNF- β , οι ιντερλευκίνες 2, 4, 5, 13 και ο αυξητικός παράγοντας της βλαστικής μεταμόρφωσης- β (T cell growth factor- β , TGF- β).
- iii. Η τρίτη ομάδα αποτελείται από κυτταροκίνες που λειτουργούν ως διεγερτικοί παράγοντες της αιμοποίησης. Ειδικότερα, παράγονται από διεγερμένα λεμφοκύτταρα, από κύτταρα του στρώματος του μυελού των οστών και από λευκοκύτταρα. Στόχος τους είναι να διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των άωρων λευκοκυττάρων. Γι' αυτό το λόγο, την ομάδα αυτή εκπροσωπούν κυρίως πέντε αυξητικοί παράγοντες της αιμοποίησης όπως: αυξητικός παράγων των κοκκιοκυττάρων- λεμφοκυττάρων (GM-CSF), αυξητικός παράγων των κοκκιοκυττάρων (G-CSF), αυξητικός παράγων των μακροφάγων (M-CSF), ιντερλευκίνη 3 και ιντερλευκίνη 7.
- iv. Στην τέταρτη και τελευταία ομάδα κατατάσσονται οι ρυθμιστικοί παράγοντες της ανοσιακής φλεγμονής που ενεργοποιούν τα μη ειδικά δραστικά κύτταρα. Αυτοί είναι η ιντερφερόνη γ (IFN- γ), οι ιντερλευκίνες 5, 10, 12 και η λεμφοτοξίνη.

Figure 6 Παραγόμενες κυτταροκίνες και κύριες δράσεις τους βάσει της λειτουργίας τους.

ΟΜΑΔΑ	ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΕΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ	ΚΥΡΙΑ ΔΡΑΣΗ
1η	Συμμετοχή στην φυσική ανοσία	TNF-α, IFN-α και IFN-β, IL- 1, 6, 10, 12, 15, 18, χημειοκίνες	Επαγωγή φυσικής ανοσίας μέσω ενεργοποίησης μονοπυρήνων-μακροφάγων
2η	Συμμετοχή στην επίκτητη ανοσία	TNF-β, IL- 2, 4, 5, 13, TGF-β	Ενεργοποίηση, πολλαπλασιασμός και διαφοροποίηση των λεμφοκυττάρων
3η	Διεγερτικοί-αιμοποιητικοί παράγοντες	GM-CSF, G-CSF, M-CSF, IL-3 και IL-7	Πολλαπλασιασμός και διαφοροποίηση άωρων λευκοκυττάρων
4η	Συμμετοχή στην ανοσιακή φλεγμονή	IFN-γ, IL-5, 10, 12, λεμφοτοξίνη	Ενεργοποίηση των μη ειδικών δραστικών κυττάρων/ ρύθμιση του μηχανισμού φλεγμονής

ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ

Η ενεργοποίηση της φυσικής (έμφυτης) ανοσίας επέρχεται μετά την εμφάνιση και αναγνώριση διαφόρων ομάδων μικροοργανισμών. Οι κύριοι εκπρόσωποι της φυσικής ανοσίας είναι τα πολυμορφοπύρηνα ουδετερόφιλα, τα μονοπύρηνα- μακροφάγα και τα φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα (NK). Ωστόσο, μόνο τα δύο τελευταία εκκρίνουν τις περισσότερες κυτταροκίνες μετέχοντας έτσι στην έκβαση της ανοσιακής αντίδρασης στα κύτταρα του ξενιστή.

i. TNF (Tumor Necrosis Factor) - Παράγοντας νέκρωσης των όγκων

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων TNF-α και η λεμφοτοξίνη TNF-β. Είναι πολυπεπίδια με αντίστοιχα μοριακά βάρη 17 kD και 25 kD τα οποία αποτελούν προϊόντα γονιδίων που εντοπίζονται πολύ στενά το ένα με το άλλο, εντός του γενετικού τόπου του MCH της τάξης III (μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας) πάνω στο 6^ο χρωμόσωμα.

Ο TNF-α είναι το κύριο αντιδρόν μόριο έναντι κυρίως στο LPS των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων. Κύρια πηγή παραγωγής του TNF-α είναι τα ενεργοποιημένα από τον λοιμογόνο παράγοντα μακροφάγα, T- λεμφοκύτταρα, NK κύτταρα και σιτευτικά, ενώ η λεμφοτοξίνη παράγεται αποκλειστικά από ενεργοποιημένα T- λεμφοκύτταρα. Οι TNF-α και TNF-β εμφανίζουν ομολογία 35% και έχουν αρκετές κοινές βιολογικές δράσεις, ενώ εμφανίζουν δομικές διαφορές ως προς την ύπαρξη δισουλφιδικού δεσμού στο μόριο του TNF-α που δεν υφίσταται στο μόριο της λεμφοτοξίνης και ως προς τη γλυκοζυλίωση της λεμφοτοξίνης που δεν παρατηρείται στο μόριο του TNF-α.

Έχουν εντοπισθεί δύο υποδοχείς του TNF-α, ο TNF-RI και ο TNF-RII με μοριακά βάρη 55 kD και 75 kD αντιστοίχως. Και οι δύο υπάρχουν σε όλους τους τύπους κυττάρων που έχουν εξετασθεί και, ειδικά, ο πρώτος παίρνει μέρος στις περισσότερες βιολογικές ιδιότητες και ο δεύτερος έχει υποστηρικτικό ρόλο.

Οι βιολογικές δράσεις του TNF-α εξαρτώνται συναρτήσει της ποσότητας στην οποία εκκρίνεται. Συγκεκριμένα, σε μικρές συγκεντρώσεις ρυθμίζει τη λειτουργία των λευκοκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων με παρακρινή ή αυτοκρινή τρόπο. Διεγείρει την παραγωγή άλλων κυτταροκινών, όπως οι ιντερλευκίνες 1 και 6, χημειοκίνες ακόμη και του ίδιου του TNF-α από τα μονοκύτταρα. Παράλληλα, επάγει την έκφραση μορίων προσκόλλησης στο ενδοθήλιο, ενεργοποιεί τα πολυμορφοκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα με στόχο την καταστροφή των μικροβίων και τέλος, προωθεί την απόπτωση μερικών κυτταρικών τύπων.

Παραγόμενος σε μεγάλες δόσεις, που σημαίνει ισχυρότερο ερέθισμα, ο TNF-α εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος με αποτέλεσμα την πρόκληση συστηματικών εκδηλώσεων. Σημαντικό παράδειγμα αυτών αποτελεί ο πυρετός, λόγω της επίδρασης του TNF-α στις υποθαλαμικές θερμορρυθμιστικές περιοχές του εγκεφάλου. Κατ'επέκταση, παρατηρείται αυξημένη σύνθεση προσταγλανδινών από τον διεγερμένο υποθάλαμο η οποία διακόπτεται με τη χορήγηση αναστολέων της

προσταγλανδίνης, όπως το ακετυλοσαλικυλικό οξύ. Επίσης, σε μεγάλες δόσεις επιδρά στα ηπατοκύτταρα αυξάνοντας τη συγκέντρωση των πρωτεϊνών οξείας φάσης (Α αμυλοειδές- SAA, ινωδογόνο, C αντιδρώσα πρωτεΐνη- CRP).

Τέλος, παρατεταμένη παραγωγή οδηγεί σε τοξικές καταστάσεις: ελάττωση της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου, ελάττωση της αιμάτωσης των ιστών και του τόνου των λείων μυϊκών ινών των αγγείων. Αναστέλλεται, ακόμη, η σύνθεση της λιπάσης της λιποπρωτεΐνης που απαιτείται για την απελευθέρωση των λιπαρών οξέων ούτως ώστε να αξιοποιηθούν από τους ιστούς, με αποτέλεσμα την καχεξία. Όλα τα παραπάνω συνεπάγονται πτώση της αρτηριακής πίεσης, ενδαγγειακή θρόμβωση αφού το ενδοθήλιο χάνει την αντιπηκτική του ιδιότητα και σοβαρές μεταβολικές διαταραχές π.χ. υπογλυκαιμία.

ii. **Ιντερφερόνες τύπου I (Interferons type I) -IFN- α , IFN- β**

Σε αυτές οφείλεται η εξάλειψη των ιών κατά τη φυσική ανοσία. Διακρίνονται δύο ομάδες ιντερφερονών τύπου I ορολογικά διαφορετικές, η IFN- α και η IFN- β , εκ των οποίων η IFN- α αποτελείται από 20 πολυπεπτίδια τα οποία κωδικοποιούνται από διαφορετικά γονίδια. Κύρια πηγή IFN- α αποτελούν τα μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα, ενώ για την IFN- β όλα σχεδόν τα μολυσμένα με τον ιό κύτταρα ή κύτταρα που έχουν διεγερθεί από άλλα ειδικά ερεθίσματα (π.χ. LPS).

Μετά τη σύνδεσής τους με τον υποδοχέα επί του κυττάρου στόχου, οι ιντερφερόνες τύπου I ασκούν τέσσερις κύριες και χαρακτηριστικές δράσεις. Αρχικά, αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των ιών παρακρινικά, παρεμποδίζοντας τη μετάφραση του mRNA του ιού, καθώς επάγουν τη σύνθεση ειδικών ενζύμων που παρεμβαίνουν στο ιικό RNA και DNA. Με αυτό τον τρόπο, οι ιντερφερόνες κατέχουν και προστατευτικό ρόλο έναντι των γειτονικών κυττάρων από επικείμενη ιϊκή μόλυνση.

Επίσης, διεγείρουν τα NK κύτταρα αυξάνοντας τη λυτική τους δράση έτσι ώστε, στη συνέχεια, να εκκρίνουν τα ίδια IFN- γ . Παρατηρείται αύξηση της έκφρασης των MHC μορίων τάξης I με στόχο την ενεργοποίηση των CD8 T-κυτταρολυτικών κυττάρων και, αντιθέτως, μείωση της έκφρασης των HLA-αντιγόνων τάξης II. Τέλος, οι ιντερφερόνες τύπου I αναστέλλουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, προλαμβάνοντας έτσι τη διάδοση του ιού.

iii. **Ιντερλευκίνη 1 (IL-1)**

Υπάρχουν δύο διαφορετικά γονίδια πάνω στο χρωμόσωμα 2 που κωδικοποιούν δύο υποτύπους της IL-1: την IL-1α και την IL-1β.³ Και οι δύο μορφές έχουν το ίδιο μοριακό βάρος, περίπου 17 kDa, ενώ τα πρόδρομα μόριά τους πριν την πρωτεολυτική διάσπαση έχουν 33 kDa. Παρ'όλο που τα δύο μόρια εμφανίζουν ομολογία κάτω από το 30%, συνδέονται με τους ίδιους υποδοχείς και έχουν τις ίδιες βιολογικές ιδιότητες.

Η ιντερλευκίνη 1 παράγεται κυρίως από τα ενεργοποιημένα μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα, αλλά και από τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα, τα ενδοθηλιακά, τα κερατινοκύτταρα του δέρματος, τα μεσαγγειακά κύτταρα του νεφρού, τη μικρογλοία, τα αστροκύτταρα κ.ά.

Οι βιολογικές ιδιότητες της IL-1 εξαρτώνται, όπως και του TNF, εκ της παραγόμενης ποσότητας. Όταν εκκρίνεται τοπικά και σε μικρές συγκεντρώσεις διεγείρει τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των Β-λεμφοκυττάρων, ενεργοποιεί τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα. Συμμετέχει, παράλληλα, στην επαγωγή της αιμοποίησης και σηματοδοτεί τα ειδικά δραστικά κύτταρα της ανοσιακής φλεγμονής σε συνεργασία με άλλες κυτταροκίνες (προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες), με αποτέλεσμα την αυξημένη έκφραση μορίων προσκόλλησης στο ενδοθήλιο. Τέλος, ενισχύει και τον πολλαπλασιασμό των CD4+ T-λεμφοκυττάρων μέσω των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (APCs) και ερεθίζει τα ηπατοκύτταρα προς παραγωγή πρωτεϊνών οξείας φάσης, κυρίως C- αντιδρώσα πρωτεΐνη.

Παραγόμενη σε μεγαλύτερες δόσεις εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος (ενδοκρινική δράση) και, σε συνεργασία με τον TNF, συμμετέχει στην πρόκληση του πυρετού, στην αύξηση των πρωτεϊνών οξείας φάσης και στην επαγωγή καχεξίας. Σύγχρονες μελέτες, μάλιστα, ενοχοποιούν την IL-1 στην παθοφυσιολογία του ιδιοπαθούς νεφρωσικού συνδρόμου σε συνεργασία με άλλες δύο προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, τις ιντερλευκίνες 6 και 8.

Σχετικά με τον πυρετό, η IL-1 αναφέρεται και ως «ενδογενής πυρετογόνος ουσία» και η δράση της είναι είτε άμεση είτε μετά πρόκληση παραγωγής προσταγλανδινών στο κέντρο ρύθμισης της θερμοκρασίας του σώματος στον υποθάλαμο.

Πέρα από τις κοινές βιολογικές λειτουργίες, η IL-1 και ο TNF παρουσιάζουν μερικές σημαντικές διαφορές. Πρώτον, ακόμα και σε υψηλές δόσεις η IL-1 δεν είναι

θανατηφόρος ούτε προκαλεί ιστική βλάβη ή απόπτωση κυττάρων και δεν προκαλεί αιμορραγική νέκρωση των όγκων όπως ο TNF. Ενέχεται ωστόσο στην πρόκληση σηπτικού shock και στην παθογένεια πολλών οξέων ή χρόνιων φλεγμονωδών και αυτοάνοσων νοσημάτων. Ειδικότερα, η IL-1β είναι αυτή που εμπλέκεται στην παθογένεια της σήψης και ενεργοποιείται από φλεγμονοσώματα τα οποία σχηματίζονται μετά από τα σήματα «κινδύνου» που αναγνωρίζει το ανοσοποιητικό σύστημα. Γι' αυτόν τον λόγο έρευνες εστιάζουν στην ανάπτυξη ενός μορίου το οποίο θα μπλοκάρει την IL-1β, αξιοποιώντας αντι-IL-1β αντισώματα ή ανταγωνιστές των υποδοχέων της IL-1 όπως τα sIL-1Ra, icIL-1Ra και IL1 trap.

Σχετικά με τους υποδοχείς της IL-1 υπάρχουν δύο τύποι οι οποίοι έχουν ανευρεθεί επάνω σε όλους τους τύπους κυττάρων. Ο πρώτος τύπος ή IL-1RI έχει την ικανότητα μεταβίβασης μηνυμάτων λόγω της μεγάλης κυτταροπλασματικής του περιοχής σε πολλούς τύπους κυττάρων. Από την άλλη, ο υποδοχέας τύπου II ή IL-1RII δεν μεταφέρει μηνύματα, αφού διαθέτει μικρή ενδοκυττάρια περιοχή και εκφράζεται μόνο στα B κύτταρα. Ο IL-1RII δύναται να δράσει ως φυσικός ενδοκυττάριος αναστολέας της IL-1, αφού συνδέεται με την IL-1 με στόχο τη δέσμευση και απομάκρυνσή της. Γι' αυτό καλείται και υποδοχέας «δόλωμα» («decoy» receptor). Εκκρίνεται σε διαλυτή μορφή όταν λαμβάνει χώρα στον ξενιστή ανοσιακή φλεγμονή και συνδέεται ισχυρά κυρίως με την IL-1β. Οι αναστολείς των κυτταροκινών περιγράφονται εκτενέστερα παρακάτω.

iv. Ιντερλευκίνη 6 (IL-6)

Είναι μια κυτταροκίνη με μοριακό βάρος 26 kDa που η δράση της συνοψίζεται κυρίως στις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές της. Ειδικότερα, παράγεται από τα μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά, τους ινοβλάστες πάντα μετά την επίδραση της IL-1 και του TNF. Λειτουργεί και ως αυξητικός παράγοντας των B- και T- λεμφοκυττάρων, εφόσον διεγείρει τη διαφοροποίηση των B και τον πολλαπλασιασμό των T κυττάρων. Αναγκάζει τα ηπατοκύτταρα προς παραγωγή πρωτεϊνών οξείας φάσης, γεγονός που την ενοχοποιεί στην παθογένεια της σήψης.

Η κατασταλτική και αντιφλεγμονώδης δράση που διαθέτει η ιντερλευκίνη 6 οφείλεται κατά κόρον στην επίδρασή της στη λειτουργία του υποθαλαμοϋποφυσιακού άξονα, καθώς και στην αναστολή της παραγωγής άλλων φλεγμονωδών κυτταροκινών όπως ο TNF.

Μεγάλα ποσά της IL-6 ανευρίσκονται σε ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα, την πιο κοινή εκφυλιστική νόσο των αρθρώσεων. Βάσει διαφόρων μελετών οι ερευνητές στοχεύουν στην καταστολή της υπερέκφρασης της IL-6 με επιγενετικές τροποποιήσεις των αρθρικών ινοβλαστών.

Παρ' όλα αυτά, η εκτεταμένη παραγωγή της είναι τοξική για τον οργανισμό και οδηγεί σε συνεργασία με άλλες προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες στην εμφάνιση του συνδρόμου απελευθέρωσης κυτταροκινών. Πρόκειται για ένα σύνδρομο που εκδηλώνεται κλινικά με πυρετό, ρίγος, ταχυκαρδία, δύσπνοια και παθολογικές αιματολογικές εξετάσεις ως επιπλοκή, μετά από ανοσοθεραπείες που στοχεύουν σε όγκους. Το σύνδρομο αυτό μπορεί να αποβεί θανατηφόρο προκαλώντας υποξία και υπόταση. Μετά την έκθεση στο νέο φάρμακο μπορεί να παρατηρηθούν και αλλεργικά συμπτώματα, όπως κνίδωση και οίδημα της γλωττίδας. Το σύνδρομο οφείλεται στην υπερβολική αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος μετά από ανοσοθεραπείες που στόχο έχουν την τροποποίηση των T κυττάρων για την αντιμετώπιση της οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας. Γενικότερα, αυτού του τύπου οι ανοσοθεραπείες καταστέλλουν αποτελεσματικά τα καρκινικά κύτταρα των όγκων που εκφράζουν σε υψηλά ποσοστά το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA), αλλά διεγείρουν ταυτόχρονα την υπερέκκριση τοξικών κυτταροκινών. Η ανεύρεση νέων μη βλαβερών αντικαρκινικών μορίων είναι αντικείμενο εντατικών ερευνών.

v. Ιντερλευκίνη 10 (IL-10)

Κατατάσσεται στις ανασταλτικές κυτταροκίνες. Κύρια κυτταρική πηγή της IL-10 είναι τα ενεργοποιημένα μακροφάγα, αλλά παράγεται και από τον T_{H2} υποπληθυσμό των CD4+ T κυττάρων και τα B- λεμφοκύτταρα. Αναστέλλει την παραγωγή άλλων κυτταροκινών (TNF, IL-1, IL-12, χημειοκίνες), την έκφραση μορίων MHC της τάξης II και άλλων συνδιεγερτικών μορίων από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Λόγω και της καταστολής των μακροφάγων, από τα οποία παράγεται, η IL-10 αναφέρεται ως «ανάστροφος αλληλορυθμιστής» (negative feedback). Κατ' επέκταση, οι ανασταλτικές δράσεις της επηρεάζουν και την κυτταρική ανοσιακή αντίδραση.

vi. Ιντερλευκίνη 12 (IL-12)

Το μόριό της αποτελείται από δύο διαφορετικές υπομονάδες με μοριακά βάρη αντίστοιχα 35 kDa και 40 kDa. Κύριοι παραγωγείς είναι τα μονοπύρηνια φαγοκύτταρα και άλλα κατ'επάγγελμα APCs (δενδριτικά, B κύτταρα). Είναι η κύρια

ιντερλευκίνη της φυσικής ανοσίας έναντι ενδοκυττάρων παθογόνων (*Mycobacteria*, *Salmonella*, *Brucella*, *Legionella*, *Listeria*, *Chlamydia*, *Rickettsia*, κά.). Αποτελεί τον σύνδεσμο μεταξύ φυσικής και επίκτητης ανοσίας.

vii. Ιντερλευκίνη 15 (IL-15)

Παράγεται από μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα αλλά και κύτταρα του μυελού ή επιθηλιακά. Η επαγωγή του πολλαπλασιασμού των NK κυττάρων κατά τις πρώτες μέρες της λοίμωξης και των T κυττάρων είναι ο κύριος ρόλος της.

viii. Ιντερλευκίνη 18 (IL-18)

Παράγεται από μακροφάγα και κερατινοκύτταρα. Δρα σε συνεργασία με την IL-12 αυξάνοντας την παραγωγή ιντερφερόνης γ από τα NK κύτταρα και T κύτταρα και επάγοντας τη διαφοροποίηση του T_{H1} υποπληθυσμού. Δομικά μοιάζει με την IL-1.

ix. Χημειοκίνες (chemotactic cytokines) ή ιντερκρίνες (intercrines)

Αποτελούν μεγάλη οικογένεια δομικώς ομόλογων κυτταροκινών χαμηλού μοριακού βάρους (8-14 kDa). Χωρίζονται σε δύο ομάδες βάσει τοποθέτησης των αμινοτελικών καταλοίπων κυστεΐνης: οι CC (προφλεγμονώδεις) χημειοκίνες που κωδικοποιούνται στο 17^ο χρωμόσωμα και οι CXC που κωδικοποιούνται στο 4^ο.

Παράγονται από πλήθος κυττάρων όπως: ενεργοποιημένα T κύτταρα, μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα, ενδοθηλιακά- επιθηλιακά, ινοβλάστες, κερατινοκύτταρα και λείες μυϊκές ίνες υπό την επίδραση LPS ή άλλων κυτταροκινών ή από παράγοντες που προκαλούν φυσική βλάβη (π.χ. κρύσταλλοι ουρικού οξέος). Ακόμη παράγονται και από αιμοπετάλια.

Σε γενικό πλαίσιο, οι χημειοκίνες έχουν χημειοτακτική και κυτταροκινητική δράση. Επιστρατεύουν λευκά αιμοσφαίρια στο σημείο της φλεγμονής και ρυθμίζουν τη μετανάστευσή τους από το αίμα στους ιστούς. Συγκεκριμένα, καθορίζουν ποια ανοσοκύτταρα θα εξαγγειωθούν για να συμμετάσχουν στην ανοσιακή απάντηση και προς ποιον ιστό θα μετακινηθούν. Παραδείγματος χάριν, οι CXC επιστρατεύουν αποκλειστικά ουδετερόφιλα, ενώ οι CC χημειοκίνες μόνο μονοπύρρηνα. Κατά δεύτερο λόγο, συμμετέχουν και στην ενεργοποίηση των ηωσινοφίλων και βασεοφίλων. Άλλη σημαντική δράση των χημειοκινών αποτελεί η συμμετοχή τους στην αγγειογένεση. Επομένως, πέρα από τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες διακρίνονται και κάποιες

ομοιοστατικές οι οποίες παράγονται αδιάκοπα και βοηθούν στη διατήρηση της ομοιόστασης. Οι χημειοκίνες σχετίζονται με τον προσανατολισμό των λεμφοκυττάρων προς T_{H1} ή T_{H2} τύπου λειτουργία. Δίνουν το σήμα κινδύνου ώστε η επίκτητη ανοσία να ακολουθηθεί από ειδική απάντηση προσαρμοσμένη στο ειδικό κατά περίπτωση «ξένο» χτύπημα.

Η πιο αντιπροσωπευτική και εκτενέστερα μελετημένη χημειοκίνη είναι η IL-8 ή NAP-1 (neutrophil activating protein) και αποτελείται από 99 αμινοξέα. Μόρια όπως ο TNF- α , η IL-1 β , η IL-17 και η ισταμίνη διεγείρουν την παραγωγή της στα σημεία της φλεγμονής. Έρευνες σε πειραματόζωα έδειξαν πως μετά από ενδοφλέβια ένεση IL-8 προκλήθηκε κοκκιοκυττάρωση και συνακόλουθη ουδετεροπενία λόγω της κινητοποίησης των ουδετεροφίλων. Τελικά, μετά την είσοδό της στην κυκλοφορία φαίνεται να προκαλεί αποκόλληση των κοκκιοκυττάρων από το ενδοθήλιο.

ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΕΠΙΚΤΗΤΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ

Περιγράφονται συνοπτικά οι έξι σημαντικότερες κυτταροκίνες που πρωταγωνιστούν στη ρύθμιση της ειδικής ανοσιακής απάντησης.

i. Ιντερλευκίνη 2 (IL-2)

Είναι γλυκοπεπτίδιο με MW 14-17 kDa και κωδικοποιείται στο χρωμόσωμα 4. Παράγεται κυρίως από τα ενεργοποιημένα T κύτταρα και λιγότερο από τα B-λεμφοκύτταρα. Ο σπουδαίος ρόλος της έγκειται στη μετάπτωση που προκαλεί από τη φάση G_1 στη φάση S του κυτταρικού κύκλου των T-λεμφοκυττάρων. Έτσι, προάγει τον πολλαπλασιασμό των T κυττάρων αλλά και των B. Προκαλεί την παραγωγή IFN- γ , IL-1 και IL-4, αυξάνει την κυτταροτοξική ιδιότητα και τον αριθμό των NK κυττάρων και των μακροφάγων και, τέλος, οδηγεί προς απόπτωση τα γεγηρασμένα T κύτταρα.

Μελέτες σε ποντίκια έχουν αποδείξει πως ένας πολυμορφισμός στο γονίδιο της IL-2 που την κωδικοποιεί ενοχοποιείται για την εκδήλωση ινσουλινοεξαρτώμενου διαβήτη (ανάλογο με τον ανθρώπινο), αγνώστου αιτιολογίας.

ii. Ιντερλευκίνη 4 (IL-4)

Πηγή της είναι κυρίως ο υποπληθυσμός T_{H2} των CD4+ T κυττάρων, καθώς επίσης και τα σιτευτικά και τα βασεόφιλα. Βασική λειτουργία της IL-4 είναι η συμμετοχή της στις αλλεργικές αντιδράσεις, δεδομένου ότι προωθεί την παραγωγή των IgE

ανοσοσφαιρινών. Παράλληλα, αυξάνει την έκφραση των MHC τάξης II μορίων, ενεργοποιεί τα B κύτταρα και αναστέλλει τον σχηματισμό προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Λειτουργεί ως αυτοκρινής αυξητικός παράγοντας των T_{H2} κυττάρων.

Το γεγονός ότι μερικά T κύτταρα παράγουν IL-4 αποτελεί προϋπόθεση για να καταταγούν αυτά στον υποπληθυσμό των T_{H2} κυττάρων. Αντίθετα, η παραγωγή IFN- γ αποτελεί κριτήριο κατάταξης των T κυττάρων στον υποπληθυσμό T_{H1} .

iii. Ιντερλευκίνη 5 (IL-5)

Παράγεται από τον T_{H2} υποπληθυσμό και τα σιτευτικά κύτταρα. Έχει συνεργειακή δράση με την IL-4. Κύριος κυτταρικός στόχος της είναι τα ηωσινόφιλα των οποίων επάγει την ενεργοποίηση σε περιπτώσεις αλλεργικών καταστάσεων και ελμινθιάσεων. Κατ'αυτόν τον τρόπο, η IL-4 όπως προαναφέρθηκε προάγει την παραγωγή IgE προς οψονινοποίηση των ελμίνθων και στη συνέχεια η IL-5 ενεργοποιεί τα ηωσινόφιλα προς εξουδετέρωσή τους.

iv. Ιντερλευκίνη 13 (IL-13)

Παράγεται από τα T_{H2} κύτταρα και μερικά επιθηλιακά. Η κύρια βιολογική της δράση είναι η αναστολή της ενεργοποίησης των μακροφάγων και ο ανταγωνισμός της έναντι της IFN- γ . Έχει κοινή δομή και κοινό υποδοχέα με την IL-4.

v. Αυξητικός παράγοντας της βλαστικής μεταμόρφωσης (TGF- β)

Ο TGF- β λειτουργεί ως αρνητικός (ανασταλτικός) παράγοντας της ειδικής ανοσιακής απάντησης. Ειδικότερα, κύρια κυτταρική πηγή του είναι τα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα, τα μακροφάγα και άλλα κύτταρα. Ο ρόλος του είναι να απενεργοποιεί τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των T κυττάρων, να αναστέλλει τη δράση των μακροφάγων και να εμποδίζει τη δράση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Τα Treg που παράγουν TGF- β υπάγονται στα T_{H3} κύτταρα. Έλλειψη του TGF- β σε συνδυασμό με την έλλειψη IL-4 και IL-10 έχει δειχθεί πως συνδέεται με περιπτώσεις αυτοανοσίας.

vi. Λεμφοτοξίνη (LT ή TNF- β)

Παράγεται αποκλειστικά από τα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα με MB 25 kDa και έχει παρόμοια δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά με τον TNF- α . Η κύρια

διαφορά τους είναι ότι η λεμφοτοξίνη δρα τοπικά σε μικρές συγκεντρώσεις και όχι συστηματικά.

ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ- ΔΙΕΓΕΡΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΗΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ (colony stimulating factors CSFs, growth factors GFs)

Παράγονται κατά τη διάρκεια της φυσικής και της ειδικής ανοσιακής απάντησης και στόχο έχουν να διεγείρουν τα προγονικά κύτταρα του στρώματος του μυελού προς διαφοροποίηση και πολλαπλασιασμό τους. Αυτό οφείλεται στο ότι οι ανοσιακές και φλεγμονώδεις αντιδράσεις συνεπάγονται την καταστροφή λευκοκυττάρων, οπότε προκαλούν συγχρόνως και την παραγωγή των CSFs με σκοπό την αντικατάστασή τους. Έχουν απομονωθεί μέχρι σήμερα πέντε CSFs (αναφέρονται ανωτέρω). Οι κυτταροκίνες αυτές παράγονται από κύτταρα του μυελού των οστών, ενδοθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες, μακροφάγα και λεμφοκύτταρα.

Δύο ακόμα κυτταροκίνες που αποτελούν μεσολαβητές της αιμοποίησης αποτελούν οι IL-9 και IL-11. Η πρώτη προάγει την ωρίμανση των T κυττάρων και των σιτευτικών, ενώ η άλλη ενεργοποιεί τα μεγακαρυοκύτταρα προς απελευθέρωση αιμοπεταλίων.

ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΤΗΣ ΑΝΟΣΙΑΚΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

Λόγω της λειτουργίας των κυτταροκινών ως ρυθμιστές της μη ειδικής και ειδικής ανοσίας και της συμμετοχής τους στην αναδόμηση της ιστικής βλάβης, κάποιες κυτταροκίνες της φλεγμονής έχουν ήδη περιγραφεί στο σχετικό κομμάτι παραπάνω.

Αρχικά, αξίζει να τονιστεί πως οι κυτταροκίνες της φλεγμονής διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, τις προφλεγμονώδεις και τις αντιφλεγμονώδεις. Στη συνέχεια, περιγράφεται η ιντερφερόνη γ ως ο κύριος προφλεγμονώδης συμμετέχων στην ανοσιακή φλεγμονή.

Ιντερφερόνη γ (IFN- γ) ή τύπου II

Η IFN- γ είναι διμερής γλυκοπρωτεΐνη με μοριακό βάρος 20-25 kDa, οι δύο υπομονάδες της οποίας είναι όμοιες μεταξύ τους και κωδικοποιούνται από το ίδιο γονίδιο πάνω στο χρωμόσωμα 12.

Αρχικά, η IFN- γ ανακαλύφθηκε βάσει της ιδιότητάς της να αναστέλει την αναπαραγωγή μεγάλης ποικιλίας ιών, όπως και οι ιντερφερόνες τύπου I. Παρ'όλα

αυτά, σήμερα γνωρίζουμε πως κατέχει κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση της ανοσιακής φλεγμονής και, γενικότερα, της ανοσιακής αντίδρασης. Έτσι, αναφέρεται και ως άνοση ιντερφερόνη. Διαφέρει εξ ολοκλήρου δομικά από τις ιντερφερόνες τύπου I, ενώ διαθέτει και αυτή μια ελάχιστη αντική δράση. Οροί ασθενών με διαταραχές του ανοσιακού συστήματος παρουσιάζουν μικρή αντική, παροδική δράση γεγονός που οφείλεται πιθανόν στην IFN- γ . Η βασική παραγωγή της IFN- γ in vivo γίνεται σε εξαιρετικά μικρές ποσότητες, όμως ικανές να ενεργοποιήσουν τα κατάλληλα κύτταρα.

Η παραγωγή της ιντερφερόνης γ πραγματοποιείται από τον T_{H1} υποπληθυσμό των $CD4+$ T κυττάρων, από όλα σχεδόν τα $CD8+$ και από τα NK κύτταρα όταν διεγείρονται, κυρίως από τη δράση δίκλωνου RNA.

Η IFN- γ αποτελεί το κύριο ερέθισμα των μακροφάγων, αφού ενισχύει τη μικροβιοκτόνο δράση τους για καταστροφή ενδοκυττάρων παθογόνων μικροβίων (π.χ. *Listeria*, *Salmonella*, μυκοβακτηρίδια, πρωτόζωα, ερπητοϊοί) ενεργοποιώντας τα ειδικά ένζυμα για το σχηματισμό ριζών O_2 και NO. Παράλληλα, μετά την επίδραση της IFN- γ επί των μακροφάγων παρατηρείται αύξηση των TNF και IL-1, του PAF (Platelet Activating Factor), διαφόρων πρωτεασών, παραγόντων του συμπληρώματος, της σεροτονίνης και της μελατονίνης.

Επίσης, ενεργοποιεί και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, διότι αυξάνει την προσκόλληση των $CD4+$ T κυττάρων πάνω σε αυτά με αποτέλεσμα την εξαγγείωση των λεμφοκυττάρων και την επαγωγή της σύνθεσης παραγόντων της εναλλακτικής οδού του συμπληρώματος και πιο ειδικά της εμφάνισης Fc υποδοχέων.

Άλλες σημαντικές δραστηριότητες της IFN- γ συνοψίζονται στις εξής: διέγερση της παραγωγής των HLA αντιγόνων των τάξεων I και II, διαφοροποίηση των B-λεμφοκυττάρων προς πλασματοκύτταρα, ανάπτυξη των παρθένων T προς T_{H1} , αναστολή στην παραγωγή IgE ανοσοσφαιρίνης, ενεργοποίηση των ουδετεροφίλων και, τέλος, ενίσχυση της δράσης των NK κυττάρων.

ΔΙΑΛΥΤΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ, ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ-ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ

Πολλοί από τους υποδοχείς των κυτταροκινών έχουν αναγνωρισθεί και απομονωθεί και σε διαλυτή μορφή (sRs), οι λεγόμενοι διαλυτοί υποδοχείς. Μπορούν να

προκύπτουν με δύο τρόπους. Αρχικά, προέρχονται από ενζυμικές πρωτεολυτικές θραύσεις του εξωκυττάριου τμήματος των αντίστοιχων μεμβρανικών υποδοχέων ή αποτελούν προϊόντα διαφορετικών μορίων mRNA, τα οποία προκύπτουν από την απομάκρυνση των ιντρονίων και τη συρραφή των εξωνίων κατά την ωρίμανση του mRNA στο στάδιο της μεταγραφής. Ο κεντρικός ρόλος των μορίων αυτών συνοψίζεται στη ρύθμιση της παραγωγής και της δράσης των κυτταροκινών.

Οι διαλυτοί υποδοχείς δρουν είτε μετά τη σύνδεσής τους με τους αντίστοιχους κυτταροκινικούς μεμβρανικούς υποδοχείς, είτε συνδεόμενοι με τις ίδιες τις κυτταροκίνες.

Στην πρώτη περίπτωση, οι διαλυτοί υποδοχείς ανταγωνίζονται τις κυτταροκίνες και, έτσι, παρεμποδίζουν τη δράση τους. Στη δεύτερη περίπτωση, οι sRs έχουν προστατευτικό και μεταφορικό ρόλο, καθώς προστατεύουν τις κυτταροκίνες με τις οποίες συνδέονται από την πρωτεόλυσή τους που γίνεται στον ορό και τις μεταφέρουν σε απομακρυσμένα σημεία για να δράσουν (ενδοκρινής δράση). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το σύμπλεγμα IL-6/IL-6R.

Πέρα όμως από τον παραπάνω προστατευτικό- μεταφορικό ρόλο, μερικοί sRs δύνανται να αναστέλουν τη δράση των κυτταροκινών συνδεόμενοι με αυτές. Αυτό έχει αναγνωρισθεί για την περίπτωση του διαλυτού υποδοχέα του IL-2RII (sIL-2R), όπου δημιουργείται πρωτεολυτικά ένα θραύσμα με 192 αμινοξικά κατάλοιπα του αμινοτελικού άκρου της α αλυσίδας του μεμβρανικού υποδοχέα και από το οποίο, έπειτα, συντίθεται ένα διαλυτό μόριο του υποδοχέα της IL-2 45 kDa. Ο sIL-2R αξιοποιείται ως κλινικός δείκτης της χρόνιας T κυτταρικής ενεργοποίησης, αυτοάνοσων νοσημάτων, απόρριψης μοσχεύματος και του AIDS. Τέτοιοι διαλυτοί υποδοχείς έχουν αναγνωρισθεί και για τα μόρια των IL-4, IL-7, IFN-α, IFN-γ, TNF-β και LIF.

Κατά παρόμοιο τρόπο, δρουν και άλλα πρωτεϊνικά μόρια που ανευρίσκονται στα ούρα και στον ορό. Όπως η ουρομοδουλίνη που ανιχνεύεται στα ούρα των εγκύων και συνδέεται με την IL-1 με ανασταλτικό σκοπό. Παράδειγμα αποτελεί και η α₂-μακροσφαιρίνη του ορού που συνδέεται με αρκετές κυτταροκίνες (IL-1, IL-2, PDGF, FGF) και που έχει είτε κατασταλτικές είτε επαγωγικές δράσεις.

Ακόμη, τα μονοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα, τα μακροφάγα και οι ινοβλάστες παράγουν ένα μόριο ανταγωνιστή της IL-1, γλυκοπεπτίδιο γνωστό ως *εκκρινόμενος*

ανταγωνιστής του *IL-1R* (secreted *IL-1* receptor antagonist, s*IL-1ra*). Αυτό συνδέεται με τον υποδοχέα της *IL-1* και, ως εκ τούτου, παρεμποδίζει την πρόσδεση και της *IL-1α* και της *IL-1β* και φαίνεται να έχει ανασταλτικές ιδιότητες στην πρόκληση της φλεγμονώδους αντίδρασης.

Πιο συγκεκριμένα, όταν το 1981 απομονώθηκε ο *IL-1Ra* υποδοχέας, αποδείχθηκε πως έχει ρυθμιστικές δυνατότητες πάνω στην φλεγμονώδη απάντηση. Ο υποδοχέας *IL-1Ra* είναι πρωτεΐνη μοριακού βάρους 25 kDa που φυσιολογικά απαντάται στο πλάσμα. Δεσμεύεται στον τύπου I υποδοχέα της *IL-1* (*IL-1RI*), αναστέλλοντας τη μεταβίβαση του σήματος και της *IL-1α* και της *IL-1β*. Οι ερευνητές κατάφεραν να παρασκευάσουν ένα ανασυνδυασμένο, μη γλυκοζυλιωμένο μόριο 17 kDa αντίστοιχο του ανθρώπινου *IL-1Ra*, με όνομα «Anakinra». Τα έως τώρα ευρήματα μετά την εφαρμογή του Anakinra σε κλινικές δοκιμές υποστηρίζουν την πιθανότητα ελάττωσης των σηπτικών φαινομένων σε ασθενείς που παρουσιάζουν χαρακτηριστικά του συνδρόμου ενεργοποίησης των μακροφάγων (Macrophage activation syndrome, MAS). Το σύνδρομο αυτό είναι μια σοβαρή και δυνητικά θανατηφόρα επιπλοκή των ρευματικών παθήσεων που προκαλείται από εκτεταμένη ενεργοποίηση και εξάπλωση των T λεμφοκυττάρων και των μακροφάγων, γεγονός που οδηγεί σε υπερφλεγμονώδεις καταστάσεις. Η εφαρμογή της θεραπείας στην κλινική πράξη, ωστόσο, χρήζει περαιτέρω έρευνας για να εγκριθεί.

Τέλος, έχει βρεθεί πως μερικοί ιοί έχουν αναπτύξει στρατηγικές για να αντεπιτίθενται στη δράση των κυτταροκινών με ποικίλους τρόπους. Κάτι τέτοιο συμβαίνει και με τον ιό Epstein-Barr (EBV) που προκαλεί τη λοιμώδη μονοπυρήνωση. Ο EBV παράγει συγκεκριμένα ένα μόριο που είναι ομόλογο με την *IL-10* (ικκή *IL-10* ή *vIL-10*). Όπως θα έκανε και η ίδια η *IL-10*, έτσι και αυτό συνδέεται με τον υποδοχέα της και απενεργοποιεί τον T_{HI} κυτταρικό υποπληθυσμό με στόχο την επιβίωση του ιού μέσα στα κύτταρα του ξενιστή.

ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ

Πολλές γενετικές ανωμαλίες ενοχοποιούνται για την πρόκληση πολυάριθμων ανοσοανεπαρκειών οι οποίες ευθύνονται για διαταραχές στην ανάπτυξη των T-λεμφοκυττάρων, των B-λεμφοκυττάρων ή και των δύο και γενικότερα, γεννούν βλάβες στην προσπάθεια του οργανισμού να αμυνθεί έναντι των αντιγονικών παραγόντων. Όσον αφορά στις κυτταροκίνες, μερικές ανοσοανεπάρκειες πηγάζουν

τόσο από τις ίδιες, όσο και από ελαττωματικούς υποδοχείς και ελαττωματικά μόρια που συμμετέχουν στην οδό μεταγωγής μηνύματος. Ακόμη και υποέκκριση ή υπερέκκριση μιας κυτταροκίνης δύναται να οδηγήσει σε σοβαρές καταστάσεις της υγείας του ξενιστή. Παρακάτω παρουσιάζονται οι πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες που σχετίζονται με τις κυτταροκίνες.

1. Βαριά συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια (Severe Combined Immunodeficiency, SCID)

Υπάρχουν δύο μορφές της SCID, η αυτοσωμική (autosomal SCID) και η φυλοσύνδετη SCID (X-Linked SCID). Εκ των δύο, η φυλοσύνδετη SCID είναι αυτή που σχετίζεται περισσότερο με τις κυτταροκίνες και που εμφανίζεται συχνότερα σε ποσοστό 52,4 % στο σύνολο των περιστατικών SCID.

Η γενετική βλάβη εντοπίζεται στο χρωμόσωμα Xq13 και ως αποτέλεσμα παρατηρείται ανεπάρκεια του υποδοχέα της IL-2, λόγω της ελαττωματικής γ κοινής αλυσίδας (γ_c) του υποδοχέα ο οποίος, εν τέλει, δεν μπορεί να μεταφέρει το μήνυμα της κυτταροκίνης. Η αλυσίδα γ_c είναι κοινή στους υποδοχείς πολλών κυτταροκινών (βλ. υποοικογένεια των υποδοχέων IL-2). Έτσι, βλάβες σε αυτή την αλυσίδα παρεμποδίζουν τη σηματοδότηση μέσω των υποδοχέων των IL-2, -4, -7, -9 και -15. Παραδείγματος χάριν, ελαττωματικό σήμα από την IL-7 οδηγεί σε αναστολή της ωρίμανσης των T-λεμφοκυττάρων γεγονός που συνεπάγεται μείωση του αριθμού των T κυττάρων, προβληματική κυτταρική ανοσία καθώς και διατάραξη της χυμικής ανοσίας.

Παρόμοια νόσος αναπτύσσεται και σε ποντίκια τα οποία παρουσιάζουν, είτε έλλειψη IL-2 ή έλλειψη της α ή β αλυσίδας του υποδοχέα της. Στη νόσο ανιχνεύονται αντι-DNA αντισώματα περιστασιακά, καθώς και οξεία σπληνομεγαλία, λεμφαδενοπάθεια και μια αυτοάνοση κατάσταση που φέρει τα χαρακτηριστικά της αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας.

Στην περίπτωση των ποντικών δοκιμάστηκε η μέθοδος της θεραπείας με μεταφορά κυττάρων, γνωστή ως «Adoptive cell transfer» (ACT) ή «Adoptive cell therapy». Η στρατηγική αυτή βασίζεται σε ανοσολογικούς κυτταρικούς πληθυσμούς οι οποίοι μεσολαβούν σε άμεσες ογκοκατασταλτικές δράσεις, συμπεριλαμβάνοντας τυπικά κυτταρολυτικά CD8+ T λεμφοκύτταρα μόνα τους ή σε συνδυασμό με βοηθητικά CD4+ T λεμφοκύτταρα, φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα (NK) και παρακινούμενα από

κυτταροκίνες κυτταροκτόνα κύτταρα, γνωστά ως «cytokine-induced killer cells» (CIK cells). Γενικός στόχος της θεραπείας είναι η εξάλειψη των εγκατεστημένων κακοήθων βλαβών με ενδοφλέβια χορήγηση αυτόλογων ή αλλογενών ανοσοενισχυτικών κυττάρων, τα οποία έχουν εμπλουτισθεί φυσικώς ή τεχνητώς με ογκοκτόνο δράση και αναπτύσσονται/ενεργοποιούνται *ex vivo*. Έτσι λοιπόν σύμφωνα με την παραπάνω θεραπεία, οι ερευνητές στην προσπάθειά τους να βελτιώσουν και να διευρύνουν την εφαρμογή της θεραπείας κατασκεύασαν ογκολυτικούς αδενοϊούς που κωδικοποιούν την ανθρώπινη IL-2, τον TNF-α ή και τα δύο. Οι ιοί ανέπτυξαν ικανή αντινεοπλασματική δράση έναντι ανθρώπινων όγκων σε ανοσοκατασταλμένα ποντίκια που έπασχαν από SCID. Επίσης, σε υγιή χάμστερ μετέφεραν ιούς συνδυασμένους με λεμφοκύτταρα τα οποία είχαν ογκοδιηθητική ικανότητα (Tumor-infiltrating lymphocyte, TIL transfer) και απέδειξαν πως αφενός το 100% των πειραματοζώων εμφάνισαν ίαση, αφετέρου ανέπτυξαν και κύτταρα μνήμης έναντι επικείμενης επανεμφάνισης όγκων. Ο εφοδιασμός με IL-2 και TNF-α αύξησε τη συχνότητα και των δύο CD4+ και CD8+ TIL λεμφοκυττάρων *in vivo* και ενίσχυσε τον πολλαπλασιασμό των σπληνοκυττάρων *ex vivo*, καταδεικνύοντας ότι οι κυτταροκίνες παίζουν σημαντικό ρόλο στην αντοχή και τον πολλαπλασιασμό των T λεμφοκυττάρων. Τέλος, δεν σημειώθηκαν καθόλου σημάδια συστηματικής τοξικότητας πράγμα που καθιστά τη θεραπεία ασφαλή. Κλινικές δοκιμές βρίσκονται πλέον σε εξέλιξη μελετώντας τη χρησιμότητα παρόμοιας θεραπείας σε ασθενείς με καρκίνο.

Παρόμοιες καταστάσεις στον άνθρωπο σημειώνονται και στην περίπτωση της ανεπάρκειας της JAK-3, κινάση η οποία μεταφέρει το μήνυμά της μέσω των παραπάνω υποδοχέων. Η ανεπάρκεια JAK-3 κωδικοποιείται στο γονίδιο 19p13 και οδηγεί σε αυτοσωμική SCID. Άλλη βλάβη που οδηγεί σε SCID οφείλεται μόνο σε διαταραχή του υποδοχέα της IL-7, όπου τα T κύτταρα είναι ελαττωματικά ενώ τα NK φυσιολογικά.

Γενικά, τα κλινικά χαρακτηριστικά της SCID περιλαμβάνουν πολύ χαμηλό αριθμό λεμφοκυττάρων, ενώ τα άωρα προγονικά κύτταρα των ερυθρών και των λευκών αιμοσφαιρίων παραμένουν σε φυσιολογικά επίπεδα. Παρατηρείται, επίσης, αδρανοποίηση της ανάπτυξης του θύμου αδένος και αδυναμία ελέγχου των ανοσολογικών αποκρίσεων της κυτταρικής ανοσίας.

Ως κλινικά συμπτώματα στους ασθενείς με SCID εμφανίζονται σοβαρές υποτροπιάζουσες λοιμώξεις που είναι θανατηφόρες κατά τα πρώτα χρόνια της ζωής (δηλαδή σε βρέφη και νήπια) και οφείλονται συνήθως σε μύκητες ή ιούς. Ωστόσο, σε αυτή τη φάση η διαταραχή των Β κυττάρων δεν είναι εμφανής, διότι το βρέφος λαμβάνει παθητικά έτοιμα αντισώματα από τον πλακούντα και το μητρικό γάλα. Με την πάροδο των ετών τα νήπια εμφανίζουν χρόνια διάρροια, δερματικές-στοματολαρυγγικές βλάβες, πνευμονία, καθώς και λοιμώξεις που οφείλονται ακόμα και σε δόσεις ήπιων εμβολίων.

2. Ανεπάρκεια του υποδοχέα της IFN- γ

Αρχικά, η χρωμοσωμική διαταραχή εντοπίζεται στο γενετικό τόπο 6q23 και μεταβιβάζεται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομησης. Πρόκειται για μία μικτή ανοσοανεπάρκεια κατά την οποία οι περισσότεροι ασθενείς προέρχονται από οικογένειες με ιστορικό αιμομιξίας. Τα άτομα αυτά είναι ευάλωτα σε άτυπες μυκοβακτηριακές λοιμώξεις, οι οποίες δεν προσβάλλουν τον φυσιολογικό πληθυσμό. Πέρα από την ανεπάρκεια του υποδοχέα, σε λοίμωξη από μυκοβακτήρια μπορεί να οδηγήσει και βλάβη στην οδό του NF- κ B (πρωτεϊνικό σύμπλεγμα που ελέγχει τη μεταγραφή του DNA), η οποία εμποδίζει τη μεταγραφή των γονιδίων της IFN- γ . Διαπιστώνουμε, λοιπόν, πως η IFN- γ και ο υποδοχέας της συμβάλλουν δραματικά στην προστασία έναντι των άτυπων μυκοβακτηρίων.

3. Φυλοσύνδετη αγαμμασφαιριναιμία (X-linked agammaglobulinemia) ή αγαμμασφαιριναιμία του Bruton

Σε αυτή τη διαταραχή παρατηρείται διακοπή της ωρίμανσης των Β-λεμφοκυττάρων. Συγκεκριμένα, παρατηρείται μετάλλαξη στο χρωμοσωμικό τμήμα Xq21 που κωδικοποιεί την κινάση τυροσίνης των Β κυττάρων ή κινάση του Bruton (Btk) με αποτέλεσμα μειωμένη παραγωγή ή λειτουργικότητα του ενζύμου. Το νόσημα χαρακτηρίζεται από διακοπή της ωρίμανσης των Β κυττάρων πέρα από το στάδιο του προ-Β κυττάρου. Ως εκ τούτου, τα ώριμα Β κύτταρα κυκλοφορούν σε εξαιρετικά μειωμένη ποσότητα στον ορό ή απουσιάζουν εντελώς από αυτόν και τα επίπεδα IgG είναι πολύ χαμηλά. Οι ασθενείς πάσχουν από υποτροπιάζουσες βακτηριακές λοιμώξεις ήδη από το ξεκίνημα της ζωής (9^{ος} μήνας), ενώ το ένα τέταρτο των ασθενών με φυλοσύνδετη αγαμμασφαιριναιμία εμφανίζουν και αυτοάνοσα νοσήματα. Στους πάσχοντες μπορεί να προκληθεί πολιομυελίτιδα μετά τη χορήγηση

αντιπολιομυελιτικού εμβολίου καθώς και μηνιγγοεγκεφαλίτιδα λόγω των ιών Echo και Coxsackie. Θεραπεία έναντι του νοσήματος αποτελεί η περιοδική χορήγηση ανοσοσφαιρίνης. Ωστόσο, η αποτελεσματικότητα της θεραπείας δεν είναι μόνιμη και γι' αυτό οι ασθενείς δεν επιβιώνουν μετά την εφηβεία.

4. Ανεπάρκεια προσκόλλησης λευκοκυττάρων (Leukocyte Adhesion Deficiency, LAD)

Οφείλεται σε μία ελαττωματική οικογένεια ιντεγκρινών που χαρακτηρίζεται από τον επιφανειακό δείκτη CD11 και που κωδικοποιείται από το γονίδιο 21q22. Η βλάβη εντοπίζεται σε μία β αλυσίδα (CD18), η οποία αποτελεί συστατικό της δομής αυτών των μορίων κυτταρικής προσκόλλησης. Η β αλυσίδα, λοιπόν, είναι κοινή συγκεκριμένα σε τρία τέτοια μόρια: Mac-1, LFA-1, gp150/95. Άτομα που φέρουν την βλάβη αυτή είναι ευάλωτα σε βακτηριακές λοιμώξεις Gram-θετικών, Gram-αρνητικών βακτηρίων και μυκήτων. Η βάση της LAD στηρίζεται στο γεγονός ότι τα λευκοκύτταρα δεν δύνανται να στρατολογηθούν στο σημείο της φλεγμονής όπου είναι απαραίτητα, εφόσον οι ελαττωματικές ιντεγκρίνες είναι ανίκανες να προσδεθούν στο ενδοθήλιο των αγγείων. Η βαρύτητα της ανοσοανεπάρκειας διαφέρει από άτομο σε άτομο, γι' αυτό άλλοι πεθαίνουν σε λίγα χρόνια ενώ άλλοι επιβιώνουν μέχρι την ηλικία των σαράντα περίπου.

5. Σηπτικό σοκ- βακτηριακό τοξικό σοκ

Και στις δύο περιπτώσεις παρατηρούνται υψηλές συγκεντρώσεις κυτταροκινών, οι οποίες συνεπάγονται συστηματικές φλεγμονώδεις αντιδράσεις στον οργανισμό του ξενιστή μετά από βακτηριακή κυρίως μόλυνση.

Αρχικά, οι ερευνητές απέδειξαν μέσα από εντατικές μελέτες πως η υπερπαραγωγή TNF-α και IL-1 ευθύνεται για την πρόκληση σηπτικού σοκ μετά από μόλυνση με συγκεκριμένα στελέχη Gram- αρνητικών βακτηρίων όπως: *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Neisseria meningitidis*. Τα παραπάνω στελέχη μολύνουν παράγοντας ενδοτοξίνες (endotoxins) οι οποίες συνδέονται έπειτα με τους υποδοχείς των δενδριτικών κυττάρων και των μακροφάγων επάγοντας έτσι, την υπερπαραγωγή TNF-α και IL-1. Πολλές φορές μη έγκαιρη αντιμετώπιση του σοκ μπορεί να αποβεί θανατηφόρος. Στα συμπτώματα συγκαταλέγονται πυρετός, πτώση της αρτηριακής πίεσης, θρομβώσεις σε διάφορα όργανα και διάρροια. Παρ'όλα αυτά, ελπιδοφόρες μελέτες υπόσχονται να

περιορίσουν τα συμπτώματα αυτά μέσω αδρανοποίησης κυρίως του TNF-α και αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων ή ανταγωνιστών κυτταροκινών.

Το βακτηριακό τοξικό σοκ προκαλείται από τοξίνες μικροοργανισμών που δρουν ως υπεραντιγόνα (superantigens). Σε αυτές υπάγονται αποφολιδωτικές τοξίνες (exfoliating toxins), τοξίνες του συνδρόμου του τοξικού σοκ (toxic shock syndrome toxins, TSST1) και εντεροτοξίνες (enterotoxins) που προέρχονται από τον *Staphylococcus aureus*. Επίσης, πυρετογόνες εξωτοξίνες από τον *Streptococcus pyogenes* και από το *Mycoplasma athritidis*. Οι παραπάνω τοξίνες ενοχοποιούνται πέρα από το βακτηριακό τοξικό σοκ και για τροφικές δηλητηριάσεις.

Οι κυτταροκίνες σχετίζονται με το τοξικό σοκ, διότι και σε αυτή την περίπτωση παρατηρούνται υπερβολικά αυξημένες ποσότητες TNF-α και IL-1 που έχουν προκληθεί από τις τοξίνες-υπεραντιγόνα, λόγω του τεράστιου αριθμού T κυττάρων που έχουν ενεργοποιηθεί από αυτά, ανεξαρτήτως αντιγονικής ιδιότητας.

6. Αυτοάνοσα νοσήματα

Είναι πλέον σαφές πως τα αυτοάνοσα νοσήματα παρουσιάζουν μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης στο γυναικείο πληθυσμό, παρόλο που οι γυναίκες εμφανίζουν μεγαλύτερο απόλυτο αριθμό CD4+ T λεμφοκυττάρων συγκριτικά με τους άνδρες. Έρευνες έδειξαν ότι σε συνθήκες ανοσοποίησης οι γυναίκες παρουσιάζουν αυξημένη παραγωγή των T_{H1} κυτταροκινών (IFN-γ, IL-2). Είναι ενδιαφέρον ότι παρουσία οιστρογόνων αυξάνεται η έκκριση κυτταροκινών in vitro, κυρίως για τις IFN-γ, IL-1, IL-10, ενώ μειώνεται παρουσία ανδρογόνων για τις IFN-γ, IL-4 και IL-5.

ΣΥΓΧΡΟΝΕΣ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ

Η χρήση των κυτταροκινών ως θεραπευτικά μόρια στην κλινική πράξη υπόσχεται αφενός την ίαση από απειλητικές ασθένειες (καρκίνος, μολυσματικές νόσοι, αλλεργίες), αφετέρου τη ρύθμιση της ανοσολογικής αντίδρασης με στόχο τη βελτίωση ιατρικών πρωτοκόλλων, όπως αυτό των μεταμοσχεύσεων. Παράλληλα, οι κυτταροκίνες έχουν να επιδείξουν ισχυρή διαγνωστική και προγνωστική ικανότητα και η παραγωγή τους μπορεί να αντικατοπτρίζει την πορεία και έκβαση των ανοσοθεραπειών. Τα τελευταία χρόνια μελέτες ερευνούν σε βάθος τις δράσεις, τις

αλληλεπιδράσεις και τα αποτελέσματα των κυτταροκινών ενώ οι κλινικές έρευνες εστιάζουν στην εμπλοκή των κυτταροκινών στην αιτιοπαθογένεση συγκεκριμένων νοσημάτων. Έτσι, απαιτούνται εκτενέστερες μελέτες στο πεδίο των κυτταροκινών με στόχο τη βελτίωση της διάγνωσης των ασθενειών με τη βοήθεια φλεγμονώδων δεικτών. Μερικές από τις θεραπευτικές χρήσεις των κυτταροκινών έχουν ήδη τεθεί σε εφαρμογή σε ασθενείς που πάσχουν από ρευματοειδή αρθρίτιδα, αλλεργικό άσθμα, σηπτικό σοκ, AIDS, T κυτταρική λευχαιμία, ηπατίτιδα B και C, σκλήρυνση κατά πλάκας, φλεγμονώδη νόσο του εντέρου όπως η νόσος του Crohn, σάρκωμα Kaposi αλλά και σε πειραματόζωα με σκοπό την μη απόρριψη καρδιακών και νεφρικών μοσχευμάτων.

Οι παραπάνω χρήσεις τίθενται σε εφαρμογή αξιοποιώντας μόρια καθαρών κλωνοποιημένων κυτταροκινών, μονοκλωνικά αντισώματα, συζεύγματα κυτταροκινών με τοξίνες καθώς και διαλυτούς υποδοχείς και ομόλογα μόρια αυτών αποσκοπώντας στη δέσμευση των κυτταροκινικών υποδοχέων.

Αρχικά, σημειώθηκαν πολύ ικανοποιητικά και ελπιδοφόρα αποτελέσματα σε ασθενείς με AIDS στο πλαίσιο πολυεθνικής κλινικής μελέτης. Οι ερευνητές κατάφεραν να αποκαταστήσουν τα επίπεδα των CD4+ T κυττάρων χορηγώντας ανασυνδυασμένη IL-2 (Proleukin). Οι ασθενείς που έλαβαν IL-2 σε συνδυασμό με την αντι-ρετροϊκή θεραπεία τους σημείωσαν πρόοδο στη διατήρηση των επιπέδων CD4+ T κυττάρων για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, ενώ παράλληλα παρατηρήθηκε και αύξηση ενός υποπληθυσμού CD8+ T κυττάρων με αντική δραστηριότητα. Η χορήγηση πραγματοποιούνταν δύο φορές την ημέρα υποδερμικά, για πέντε ημέρες κάθε οκτώ εβδομάδες. Δεν σημειώθηκαν σοβαρές παρενέργειες παρά μόνο συμπτώματα γρίπης και άλγος στην περιοχή της χορήγησης.

Για τη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας έχει εγκριθεί και χρησιμοποιείται η διαλυτή μορφή του υποδοχέα του TNF-α ο οποίος δεσμεύει τον TNF-α και τον αδρανοποιεί εξουδετερώνοντας τη φλεγμονώδη δράση του (Πίνακας 3).

Πέρα από αναστολείς του TNF, θεραπείες που έχουν εγκριθεί από τον FDA για την ρευματοειδή αρθρίτιδα αξιοποιούν αναστολείς των κινασών τυροσίνης JAK (tofacitinib), συγκεκριμένα των υποτύπων JAK1 και JAK3. Σε κυτταρικό επίπεδο, εμποδίζουν τη σηματοδότηση μέσω της κοινής γ αλυσίδας των υποδοχέων που φέρουν κυρίως οι κυτταροκίνες IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 και IL-21 και έτσι

τροποποιούν τη λειτουργία των λεμφοκυττάρων. Άλλες θεραπευτικές προσεγγίσεις αλλά ακόμα υπό μελέτη, είναι ανθρωποποιημένα αντισώματα έναντι του διαλυτού GM-CSF καθώς και του υποδοχέα του. Ο GM-CSF έχει βρεθεί σε μεγάλα ποσά στο αρθρικό υγρό ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα.

Η χορήγηση IFN-β αποτελεί θεραπευτική στρατηγική για τη σκλήρυνση κατά πλάκας ήδη από τη δεκαετία του 90' και τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται μια πιο βελτιωμένη έκδοσή του, η πεγκυλιωμένη PEG- IFNβ-1α.

Η θεραπεία αυτή έχει ως στόχο την παρεμπόδιση των ανοσοποιητικών λειτουργιών στο κεντρικό νευρικό σύστημα μειώνοντας τη διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Επίσης, μειώνεται η παραγωγή TNF-α και IFN-γ, αναστέλλεται η ενεργοποίηση των T κυττάρων και παράλληλα επάγονται διάφοροι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί. Το μειονέκτημα της θεραπείας είναι πως απαιτεί συχνές δόσεις ενέσιμης μορφής του φαρμάκου το οποίο είναι μερικώς αποτελεσματικό, ωστόσο αρκετά ασφαλές.

Άλλο θεραπευτικό μονοπάτι περιλαμβάνει την αναστολή της προσκόλλησης και μετανάστευσης των T κυττάρων με μπλοκάρισμα των χημειοκινών IL-8 και MIP-1α και με χρήση ανταγωνιστών κυτταροπλασματικών μεταλλοπρωτεϊνών (MMPs).

Το 1986 η θεραπεία με IFN-α εγκρίθηκε για τη θεραπεία της λευχαιμίας των τριχωτών κυττάρων (T κυτταρική λευχαιμία ενηλίκων), αλλά τείνει να αντικατασταθεί πλέον από ομόλογα μόρια πουρινών όπως είναι η κλαδριβίνη και η πεντοστατίνη. Ακόμη, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που χρησιμοποιείται είναι το αντι-CD25 ή Daclizumab. Βρίσκει εφαρμογές στην επιμήκυνση του προσδόκιμου ζωής καρδιακών μοσχευμάτων σε αρουραίους και δρα κατά της T κυτταρικής λευχαιμίας των ενηλίκων, η οποία πιθανώς να προκαλείται από τον ρετροϊό HTLV-1. Η δράση του αντι-CD25 συνοψίζεται στην ιδιότητά του να συνδέεται με την α υπομονάδα του υψηλής συγγένειας υποδοχέα της IL-2 και, έτσι, να παρεμποδίζει τη δράση της που σχετίζεται με τον T_H πολλαπλασιασμό και την T_C ενεργοποίηση.

Επίσης, τα συζεύγματα κυτταροκινών με τοξίνες, όπως με την διφθεριτική τοξίνη συμβάλλουν στην επέκταση του προσδόκιμου ζωής νεφρικών και καρδιακών μοσχευμάτων σε πειραματόζωα.

Το 1995 η IFN-α επικυρώθηκε ως η πρώτη ανοσοθεραπεία για την επικουρική αντιμετώπιση του σταδίου ΙΙΒ/ΙΙΙ του μελανώματος. Σήμερα, καλύτερη θεραπευτική ανταπόκριση με χαμηλότερη επίπτωση παρενεργειών επιτυγχάνεται με συνδυασμό χρήσης κυτταροκινών μαζί με άλλα μόρια ή μεθόδους, όπως μονοκλωνικά αντισώματα, αναστολείς κινασών, ογκοδιηθητικά T λεμφοκύτταρα, χημειοθεραπευτικούς παράγοντες, στερεοτακτική ακτινοθεραπεία ή ανοσοπεπτίδια. Παρά την πρόοδο στη θεραπεία του μελανώματος μερικοί ασθενείς παρουσιάζουν τελικά αντίσταση στη θεραπεία, γι αυτό η αποτελεσματικότητα των παραπάνω θεραπειών παραμένει μη προβλέψιμη.

Η IL-1β είναι η κυτταροκίνη που εμπλέκεται στην παθογένεια της σήψης. Ενεργοποιείται από φλεγμονοσώματα τα οποία σχηματίζονται μετά από τα σήματα «κινδύνου» που αναγνωρίζει το ανοσοποιητικό σύστημα. Γι' αυτόν τον λόγο έρευνες εστιάζουν στην ανάπτυξη ενός μορίου το οποίο θα μπλοκάρει την IL-1β, αξιοποιώντας αντι-IL-1β αντισώματα ή ανταγωνιστές των υποδοχέων της IL-1 όπως τα sIL-1Ra, icIL-1Ra και IL1 trap. Τέτοια φάρμακα όπως το rilonacept και το canakinumab έχουν ήδη εγκριθεί από τον FDA.

Πιο συγκεκριμένα, όταν το 1981 απομονώθηκε ο IL-1Ra υποδοχέας, αποδείχθηκε πως έχει ρυθμιστικές δυνατότητες πάνω στην φλεγμονώδη απάντηση. Ο υποδοχέας IL-1Ra είναι πρωτεΐνη μοριακού βάρους 25 kDa που φυσιολογικά απαντάται στο πλάσμα. Δεσμεύεται στον τύπου I υποδοχέα της IL-1 (IL-1RI), αναστέλλοντας τη μεταβίβαση του σήματος και της IL-1α και της IL-1β. Οι ερευνητές κατάφεραν να παρασκευάσουν ένα ανασυνδυασμένο, μη γλυκοζυλιωμένο μόριο 17 kDa αντίστοιχο του ανθρώπινου IL-1Ra (ανακίνρα). Τα έως τώρα ευρήματα μετά την εφαρμογή του ανακίνρα σε κλινικές δοκιμές υποστηρίζουν την πιθανότητα ελάττωσης των σηπτικών φαινομένων σε ασθενείς που παρουσιάζουν χαρακτηριστικά του συνδρόμου ενεργοποίησης των μακροφάγων (Macrophage activation syndrome, MAS). Το σύνδρομο αυτό είναι μια σοβαρή και δυνητικά θανατηφόρα επιπλοκή των ρευματικών παθήσεων που προκαλείται από εκτεταμένη ενεργοποίηση και εξάπλωση των T λεμφοκυττάρων και των μακροφάγων, γεγονός που οδηγεί σε υπερφλεγμονώδεις καταστάσεις. Η εφαρμογή της θεραπείας στην κλινική πράξη, ωστόσο, χρήζει περαιτέρω έρευνας για να εγκριθεί.

Επιπρόσθετα, ερευνητές κατάφεραν να αποδείξουν σε πειραματικά μοντέλα ποντικών με αλλεργική ρινίτιδα ότι ένα αντίσωμα έναντι της IL-9, κυτταροκίνη που υποκινεί τις αλλεργικές αντιδράσεις του ανοσοποιητικού, μπορεί και ελαττώνει την αλλεργική φλεγμονή. Καταστέλλει τα T_{H2} κύτταρα και ενισχύει την ανοσογόνο δράση των ρυθμιστικών T κυττάρων. Συγχρόνως, βρέθηκε πως μειώνει τα επίπεδα των IgE ανοσοσφαιρινών και των ηωσινοφίλων. Αυτό το εύρημα αποτελεί ενδεχόμενη θεραπεία σε ασθενείς που πάσχουν από μη ελεγχόμενες αλλεργίες του αναπνευστικού στο μέλλον.

Μεγάλα ποσά της IL-6 ανευρίσκονται σε ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα, την πιο κοινή εκφυλιστική νόσο των αρθρώσεων, κυρίως σε ηλικιωμένα άτομα.

Η IL-6 ανιχνεύεται σε υψηλά ποσά και στην ρευματοειδή αρθρίτιδα. Βάσει διαφόρων μελετών οι ερευνητές στοχεύουν στην καταστολή της υπερέκφρασης της IL-6 με επιγενετικές τροποποιήσεις των αρθρικών ινοβλαστών.

Παρ' όλα αυτά, η εκτεταμένη παραγωγή της IL-6 είναι τοξική για τον οργανισμό και οδηγεί σε συνεργασία με άλλες προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες στην εμφάνιση του συνδρόμου απελευθέρωσης κυτταροκινών (Cytokine release syndrome). Πρόκειται για ένα σύνδρομο που εκδηλώνεται κλινικά με πυρετό, ρίγος, ταχυκαρδία, δύσπνοια και παθολογικές αιματολογικές εξετάσεις ως επιπλοκή, μετά από ανοσοθεραπείες που στοχεύουν σε όγκους. Το σύνδρομο αυτό μπορεί να αποβεί θανατηφόρο προκαλώντας υποξία και υπόταση. Μετά την έκθεση στο νέο φάρμακο μπορεί να παρατηρηθούν και αλλεργικά συμπτώματα, όπως κνίδωση και οίδημα της γλωττίδας. Το σύνδρομο οφείλεται στην υπερβολική αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος μετά από ανοσοθεραπείες που στόχο έχουν την τροποποίηση των T κυττάρων, όπως στην περίπτωση για την αντιμετώπιση της οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας. Γενικότερα, αυτού του τύπου οι ανοσοθεραπείες καταστέλλουν αποτελεσματικά τα καρκινικά κύτταρα των όγκων που εκφράζουν σε υψηλά ποσοστά το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA), αλλά διεγείρουν ταυτόχρονα την υπερέκκριση τοξικών κυτταροκινών. Η ανεύρεση νέων μη βλαβερών αντικαρκινικών μορίων είναι αντικείμενο εντατικών μελετών.

Πέρα από τη θεραπεία ασθενειών, κυτταροκινικά «εργαλεία» χρησιμοποιούνται στην πράξη και για την πρόγνωση διαφόρων νεοπλασιών του αίματος. Ένα τέτοιο «εργαλείο» είναι η πρωτεΐνη ZAP-70. Πρόκειται για μία κινάση τυροσίνης που

συμμετέχει στην οδό μεταγωγής μηνυμάτων πολλών κυτταροκινών, εκφράζεται στα T και NK λεμφοκύτταρα και επιδρά στα B λεμφοκύτταρα. Στην περίπτωση της χρόνιας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας, η μέτρηση της ZAP-70 υποδηλώνει τον βαθμό της υπερμετάλλαξης και αφορά στις μεταλλάξεις που εντοπίζονται στο V τμήμα των ανοσοσφαιρινών καθώς τα B λεμφοκύτταρα διασχίζουν τους λεμφαδένες, συμβάλλοντας στην παραγωγή αδύναμων λεμφοκυττάρων.

Table 3 Εγκεκριμένοι αναστολείς του TNF-α από τον FDA (Food and Drug Administration) και οι φαρμακευτικές τους ιδιότητες.

<u>TNF-α αναστολείς</u>	<u>Περιγραφή</u>	<u>Μηχανισμός</u>	<u>Σύσταση</u>	<u>Χρόνος ημιζωής (t ½) μέρες</u>	<u>Χορηγούμενη δόση</u>
<u>Infliximab (Remicade®)</u>	Χιμαιρικό αντίσωμα anti-TNF-α (ανθρώπου/ποντικού)	Anti-TNF-α μονοκλωνικό αντίσωμα (mAb)	Πρωτεΐνες ανθρώπου/ποντικού	8-10	<ul style="list-style-type: none"> • Πρώτες 3 δόσεις μέσα σε 10 μέρες • 1 φορά στις 8 εβδομάδες έπειτα Ενδοφλεβίως
<u>Adalimumab (Humira®)</u>	Ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα anti-TNF-α	Anti-TNF-α (mAb)	Ανθρώπινες πρωτεΐνες	14	Μία φορά/2 εβδομάδες Υποδορίως
<u>Etanercept (Enbrel®)</u>	Διαλυτό σύζευγμα πρωτεΐνης του υποδοχέα TNF-αR II (p75)	Διαλυτός υποδοχέας «δόλωμα» του TNF-α	Σύζευγμα ανθρώπινης πρωτεΐνης	4-6	1-2 φορές/εβδομάδα Υποδορίως
<u>Golimumab (Simponi®)</u>	Ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα anti-TNF-α	Anti-TNF-α (mAb)	Ανθρώπινη πρωτεΐνη	14	1 φορά/μήνα Υποδορίως
<u>Certolizumab pegol (Cimzia®)</u>	Πεγκυλιωμένο Fab κλάσμα ανθρωποποιημένου μονοκλωνικού TNF-α αντισώματος	Πεγκυλιωμένο anti-TNF-α (mAb)	Ανθρώπινη πρωτεΐνη	14	1 φορά/μήνα Υποδορίως

ΝΕΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ

Οι πρωτεϊνικοί δείκτες και ειδικά οι κυτταροκίνες, αποτελούν ζωτικής σημασίας μόρια για τη γρήγορη διάγνωση και τη θεραπεία αρκετών παθολογικών καταστάσεων τα τελευταία χρόνια, όπως μολυσματικές ασθένειες, καρκίνο, αυτοάνοσα νοσήματα και παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες για την ανακάλυψη νέων φαρμάκων. Έτσι, ο ποσοτικός προσδιορισμός των κυτταροκινών σε δείγματα ασθενών απαιτεί την ανάπτυξη άμεσων ποσοτικών κλινικών μεθόδων. Ήδη έχουν αναπτυχθεί μερικές, αλλά η ανάγκη για ανεύρεση νέων, πιο εξειδικευμένων, γρήγορων και ευαίσθητων τεχνικών συνεχίζει να υπάρχει.

Παρά τις προκλήσεις χρησιμοποιούνται τεχνικές για την ανίχνευση των κυτταροκινών που στηρίζονται στην αρχή των ανοσοενζυμικών δοκιμασιών. Παρακάτω παρουσιάζονται συνοπτικά οι μέθοδοι αυτές.

➤ Πρότυπες δοκιμασίες κυτταροκινών:

- i.** Εμπορικά διαθέσιμες δοκιμασίες, ELISA, ELISPOT/ FluoroSpot και PCR
- ii.** Multiplexed based immunoassays: protein arrays και bead- based

Οι παραπάνω μέθοδοι αποτελούν τις πιο συνηθισμένες για την ποσοτική μέτρηση των κυτταροκινών όχι μόνο στον άνθρωπο, αλλά και σε άλλα συστήματα θηλαστικών. Πλέον, αξιοποιώντας αυτές τις μεθόδους έχει κατανοηθεί ο τρόπος με τον οποίο πολλά συστατικά του δείγματος μπορούν να παρεμβαίνουν στις μετρήσεις και να οδηγούν σε ψευδή αποτελέσματα. Έτσι, γνωρίζοντας ποιοί παράγοντες επηρεάζουν τις μετρήσεις, αυξάνονται τα ποσοστά επιτυχίας των δοκιμασιών αυτών. Οι ELISA και ELISPOT επιτρέπουν την ανίχνευση κυτταροκινών από μεμονωμένα κύτταρα, ενώ με την PCR εξετάζεται η γονιδιακή έκφραση για την παραγωγή διάφορων κυτταροκινών. Οι bead based immunoassays και ειδικά αυτές που χρησιμοποιούν μικροσφαιρίδια, εκτελούνται με μεθόδους κυτταρομετρίας ροής και έχουν αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια. Επιτρέπουν πολλαπλές μετρήσεις υψηλής ευαισθησίας σε όγκους δειγμάτων μικρολίτρων. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει την ανίχνευση κυτταροκινών ακόμη και σε ποσότητες 1-15 pg/mL.

➤ Βελτίωση των immunoassays:

- i.** Bioluminescent proteins

ii. Immuno- PCR

Πέρα από τις κλασσικές immunoassays, προέκυψε η ανάγκη ανεύρεσης ενισχυμένων μεθόδων γνωρίζοντας πως τα επίπεδα των κυτταροκινών κυμαίνονται κοντά ή πιο κάτω από συγκεντρώσεις των pg/mL. Η βελτίωση των immunoassays λοιπόν διεύρυνε το όριο ακόμη πιο χαμηλά, σε συγκεντρώσεις fg/mL.

➤ **Antibody- based flow assays:**

- i. Immunochemistry-based liquid chromatographic separations
- ii. Capillary electrophoresis/ Immunochemistry-based separations
- iii. Antibody flow-based assays
- iv. Microfluidics and Lab on a chip

➤ **Aptamer assays**

➤ **Mass spectrometry (Φασματομετρία μάζας):**

- i. Mass cytometry

Παρά την ευρεία χρήση της φασματομετρίας μάζας στις ποιοτικές μελέτες της πρωτεωμικής, η ποσοτικοποίηση χαμηλής συγκέντρωσης πρωτεϊνών είναι ακόμη μια σημαντική πρόκληση. Ωστόσο, η χρήση τέτοιων μεθόδων έχει πολλά πλεονεκτήματα έναντι των immunoassays. Επειδή χρησιμοποιούνται και τμήματα πεπτιδίων αντί ολόκληρων πρωτεϊνών για την ταυτοποίηση, οι κύριες προκλήσεις είναι ότι υπάρχουν διαφορές στις διαδικασίες μεταβολισμού των μορίων αυτών, εφόσον είναι διαφορετική η αμινοξική αλληλουχία και η δομή τους σε συνδυασμό με την αποδοτικότητα των τεχνικών σήμανσης των πεπτιδίων. Καθώς είναι θεωρητικά δυνατόν να ανιχνευθούν κυτταροκίνες από δείγματα όγκου των 100 μ L με φασματομετρία μάζας, τυπικά η μέθοδος υστερεί σημαντικά λόγω διάφορων ουσιών που εμπεριέχονται στα δείγματα και παρεμβαίνουν στη δοκιμασία. Γι'αυτό προτιμώνται περισσότερο ανοσολογικές μέθοδοι. Επιπλέον, οι περισσότερες μελέτες πραγματοποιούνται σε κυτταροκαλλιέργειες όπου η συγκέντρωση των κυτταροκινών είναι σαφώς υψηλότερη απ'ότι σε ένα αυστηρώς ρυθμισμένο περιβάλλον *in vivo*. Παρ'όλα αυτά η φασματομετρία μάζας έχει χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση κυτταροκινών από ενεργά μονοκύτταρα και μακροφάγα, συγκεκριμένα για τις IL-2, IGF-1 (Insulin growth factor-1), IL-6, IL-11, CXCL1, CXCL5, TGF- β ₂.

➤ **Electrochemical based methods**

- i. Amperometric-based protein measurements

ii. Electrochemiluminescence (ηλεκτροχημειοφωταύγεια)

Οι ηλεκτροχημικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται ήδη για την ανίχνευση πρωτεϊνών σε διάφορες immunoassays. Το βασικό πλεονέκτημά τους είναι ο οικονομικός εξοπλισμός που απαιτείται για την υλοποίηση των τεχνικών, καθώς και η υψηλή ευαισθησία όσον αφορά ειδικά στις αμπερομετρικού τύπου μετρήσεις. Η χρήση τους έχει μελετηθεί σε συνδυασμό με την χρήση των aptamers, ενώ έχουν αποδειχθεί και ως βιοδιαγνωστικές μέθοδοι για τον καρκίνο. Χαρακτηριστικά, οι TNF- α , IL-6, IL-8, VEGF και VEGF-C έχουν μετρηθεί με τέτοιες μεθόδους.

➤ Οπτικές μέθοδοι:

- i.** Optically encoded beads
- ii.** Molecular imprints- with fluorescence sensors
- iii.** Surface plasmon resonance
- iv.** Nanoparticles και LSPR
- v.** Single molecule detection
- vi.** Microring resonators

Η πολύπλοκη και δυναμική φύση του ανοσοποιητικού συστήματος κατά τη διάρκεια οξείων φλεγμονωδών καταστάσεων καθιστά τις ανοσοθεραπείες με κυτταροκίνες άκρως απαιτητικές και με πολλές προκλήσεις. Μια επιτυχημένη θεραπεία προϋποθέτει τον καθορισμό του κατάλληλου φαρμάκου το οποίο θα πρέπει να χορηγηθεί στον ασθενή στη σωστή δόση και την κατάλληλη χρονική στιγμή. Βάσει αυτών, δημιουργείται ένας κύριος προβληματισμός-πρόκληση: δεδομένου ότι η ανοσιακή απάντηση ποικίλει από άτομο σε άτομο και ότι οι διαδικασίες των τυπικών τεχνικών προσδιορισμού κυτταροκινών (ELISA) απαιτούν τουλάχιστον 3-8 ώρες, δεν παρέχονται οι απαραίτητες πληροφορίες σχετικά με το ανοσολογικό «προφίλ» του εκάστοτε ασθενούς σε πραγματικό χρόνο. Πρόσφατες έρευνες κλίνουν περισσότερο στη χρήση μη σημασμένων μορίων που στηρίζονται στην τεχνολογία των νανοϋλικών (label free cytokine micro- and nano- biosensors) που θα επιτρέπουν όχι μόνο την ποιοτική αλλά και την ποσοτική, ευαίσθητη και κατά βάση γρήγορη ανίχνευση των κυτταροκινών σε συστημικές φλεγμονώδεις καταστάσεις. Η παραπάνω μέθοδος συγκαταλέγεται στις οπτικές μεθόδους.

SUMMARY

Cytokines are defined as low molecular weight protein molecules that take part mainly in the immune response. They are divided into six groups: interleukines, interferons, tumor necrosis factors, growth factors, colony stimulating factors, chemokines. Cytokines are produced by numerous cell types, basically by mononuclear-macrophages, lymphocytes, natural killer cells (NKs), mast cells and endothelial cells as well as fibroblasts. Their action aims at various cell populations, since cytokines are regulatory mediators of both natural and acquired immunity and inflammation overall/as a whole. Cytokines' impact on target cells requires their junction with specific membrane receptors on the cells. The signal eventually reaches the cells' nucleus after complex chemical reactions with the participation of tyrosine kinases and transcription factors. The differentiation, proliferation and generally the functional modifications that target cells undergo after the influence of cytokines, make the immune response to adjust to organism's needs to eradicate the pathogenic factor. However, hypersecretion or hyposecretion of cytokines may lead to pathological conditions. Thus, cytokines play a significant role in both the progress and the outcome of immune response. On the basis of this, cytokines are applied to immunotherapies for many diseases over the last few years. Although many trials require further research, cytokines are proven to be valuable molecules in the manipulation of the immune response. Taking this into consideration, they are used as biological markers for the prognosis and diagnosis of diseases and as therapeutic means as well. The US Food and Drug Administration has already approved of many immunotherapies such as for AIDS, multiple sclerosis, rheumatoid arthritis, hepatitis B-C, T cell leukemia, septic shock, Kaposi's sarcoma, melanoma. Their application broadens at the extension of transplant life expectancy on experimental models. Despite the encouraging results of cytokines on clinical practice, challenges still exist concerning the side effects and the administrated doses of medication for each patient. New quantitative methods for cytokines detect cytokine levels and prevent pathological disorders, although with low sensitivity. Modern trials demand additional research aiming at the construction of safer cytokine immunotherapy pathways and of more efficient measurement methods in the future.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Γερμενής ΑΕ. Κυτταροκίνες. In: Ιατρική Ανοσολογία. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα 2000: 125- 129, 134- 142.
2. Roitt, Brostoff, Male. Οι κυτταροκίνες και οι υποδοχείς τους. In: Ανοσολογία. Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνου. 2004. 6^η έκδοση. :119- 129.
3. Παυλάτου Μ. Κυτταροκίνες: Μεσολαβητές (mediators) της ανοσιακής απάντησης- Χημειοκίνες. In: Ανοσολογία. 4η έκδοση. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας. Αθήνα 2004: 113- 135.
4. Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. Κυτταροκίνες. In: Kuby Ανοσολογία. 2η έκδοση. Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης. Κύπρος 2013: 363- 378, 383- 386, 388- 390, 604- 607, 611
5. Μπούρα Π. Κυτταροκίνες. In: Κλινική Ανοσολογία. 2^η έκδοση. University Studio Press. Θεσσαλονίκη 2011
6. Πέτρου Χ., Ελευθερίου Φ. Ένζυμα. In: Βιοχημεία. 1^η έκδοση. University Studio Press. Θεσσαλονίκη 2007: 67
7. Πέτρος Λ. Καρκαλούσος, In: Ιστοσυμβατότητα: Το σύστημα HLA, Εργαστηριακές ασκήσεις ανοσολογίας, 3η έκδοση, Αθήνα 2003
8. Παπαπαναγιώτου ΚΙ.- Κυριαζοπούλου-Δαλαΐνα Β. Ανοσολογία. In: Εισαγωγή στην Ιατρική Μικροβιολογία Ιολογία και Ανοσολογία. 1^η έκδοση. University Studio Press. Θεσσαλονίκη 2005
9. Al-Eisa AA, Al Rushood M, Al-Attiyah RJ. Urinary excretion of IL-1β, IL-6 and IL-8 cytokines during relapse and remission of idiopathic nephrotic syndrome. *Journal of Inflammation Research*. 2017;10:1-5. doi:10.2147/JIR.S124947.
10. Zhang, H. (2011). Anti-IL-1 β Therapies. *Recent Patents on DNA & Gene Sequences*, 5(2), 126-135. doi:10.2174/187221511796392024
11. Mina, F., Comim, C.M., Dominguni, D. et al. Il1-β involvement in cognitive impairment after sepsis. *Mol Neurobiol* (2014) 49: 1069. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8581-9>
12. Yang, F. *et al.* Epigenetic modifications of interleukin-6 in synovial fibroblasts from osteoarthritis patients. *Sci. Rep.* 7, 43592; doi: 10.1038/srep43592 (2017).
13. Kroschinsky F, Stölzel F, von Bonin S, et al. New drugs, new toxicities: severe side effects of modern targeted and immunotherapy of cancer and their management. *Critical Care*. 2017;21:89. doi:10.1186/s13054-017-1678-1.

14. Frey, N. V., & Porter, D. L. (2016). Cytokine release syndrome with novel therapeutics for acute lymphoblastic leukemia. *Hematology*, 2016(1), 567-572. doi:10.1182/asheducation-2016.1.567
15. Wang L, Ma N, Okamoto S, et al. Efficient tumor regression by adoptively transferred CEA-specific CAR-T cells associated with symptoms of mild cytokine release syndrome. *Oncoimmunology*. 2016;5(9):e1211218. doi:10.1080/2162402X.2016.1211218.
16. Κοκώνα Π. Χατζαντώνη. T_{H1} και T_{H2} τύπου κυτταροκίνες σε αυτοάνοσα νοσήματα. Διδακτορική διατριβή. Πάτρα 2003. Πανεπιστήμιο Πατρών. Σχολή επιστημών υγείας. Τμήμα Ιατρικής
17. Shakoory B, Carcillo JA, Chatham WW, et al. Interleukin-1 receptor blockade is associated with reduced mortality in sepsis patients with features of the macrophage activation syndrome: Re-analysis of a prior Phase III trial. *Critical care medicine*. 2016;44(2):275-281. doi:10.1097/CCM.0000000000001402.
18. Schulert GS, Grom AA. MACROPHAGE ACTIVATION SYNDROME AND CYTOKINE DIRECTED THERAPIES. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 2014;28(2):277-292. doi:10.1016/j.berh.2014.03.002.
19. Aranda F, Buqué A, Bloy N, et al. Trial Watch: Adoptive cell transfer for oncological indications. *Oncoimmunology*. 2015;4(11):e1046673. doi:10.1080/2162402X.2015.1046673.
20. Havunen R, Siurala M, Sorsa S, et al. Oncolytic Adenoviruses Armed with Tumor Necrosis Factor Alpha and Interleukin-2 Enable Successful Adoptive Cell Therapy. *Molecular Therapy Oncolytics*. 2017;4:77-86. doi:10.1016/j.omto.2016.12.004.
21. Kupcova Skalnikova H, Cizkova J, Cervenka J, Vodicka P. Advances in Proteomic Techniques for Cytokine Analysis: Focus on Melanoma Research. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(12):2697. doi:10.3390/ijms18122697.
22. Monastero RN, Pentylala S. Cytokines as Biomarkers and Their Respective Clinical Cutoff Levels. *International Journal of Inflammation*. 2017;2017:4309485. doi:10.1155/2017/4309485.
23. Shilovskiy, I. P., Eroshkina, D. V., Babakhin, A. A., & Khaitov, M. R. (n.d.). Anticytokine therapy of allergic asthma. *Institute of Immunology, Federal*

- Biomedical Agency, Moscow.* 2017 Jan-Feb;51(1):3-17. doi: 10.7868/S0026898416060197
24. Jacob N, Targan SR, Shih DQ. Cytokine and anti-cytokine therapies in prevention or treatment of fibrosis in IBD. *United European Gastroenterology Journal.* 2016;4(4):531-540. doi:10.1177/2050640616649356.
 25. Mittal M, Raychaudhuri SP. Golimumab and certolizumab: The two new anti-tumor necrosis factor kids on the block. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2010;76:602-9
 26. Reynolds G, Cooles FA, Isaacs JD, Hilkens CM. Emerging immunotherapies for rheumatoid arthritis. *Human Vaccines & Immunotherapeutics.* 2014;10(4):822-837. doi:10.4161/hv.27910.
 27. Ortiz, M. A., Espino-Paisan, L., Nunez, C., Alvarez-Lafuente, R., & Urcelay, E. (n.d.). New life to an old treatment: pegylated Interferon beta 1a in the management of multiple sclerosis. *Current Medicinal Chemistry.* 2018 Feb 25. doi: 10.2174/0929867325666180226105612
 28. Jakimovski, D., Kolb, C., Ramanathan, M., Zivadinov, R., & Weinstock-Guttman, B. (n.d.). Interferon β for Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine.* 2018 Jan 8. pii: a032003. doi: 10.1101/cshperspect.a032003
 29. Levy I, Tadmor T. Time to Cure Hairy Cell Leukemia. *Turkish Journal of Hematology.* 2017;34(4):289-290. doi:10.4274/tjh.2017.0296.
 30. Hermine O, Ramos JC, Tobinai K. A Review of New Findings in Adult T-cell Leukemia–Lymphoma: A Focus on Current and Emerging Treatment Strategies. *Advances in Therapy.* 2018;35(2):135-152. doi:10.1007/s12325-018-0658-4.
 31. Marrugal Á, Ojeda L, Paz-Ares L, Molina-Pinelo S, Ferrer I. Proteomic-Based Approaches for the Study of Cytokines in Lung Cancer. *Disease Markers.* 2016;2016:2138627. doi:10.1155/2016/2138627.
 32. Kupcova Skalnikova H, Cizkova J, Cervenka J, Vodicka P. Advances in Proteomic Techniques for Cytokine Analysis: Focus on Melanoma Research. *International Journal of Molecular Sciences.* 2017;18(12):2697. doi:10.3390/ijms18122697.
 33. Zhang, H. (2011, August). Anti-IL-1 β therapies. *Recent Patents on DNA & Gene Sequences.* doi: 10.2174/187221511796392024

34. De Paepe B, Zschüntzsch J. Scanning for Therapeutic Targets within the Cytokine Network of Idiopathic Inflammatory Myopathies. Moudgil KD, ed. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015;16(8):18683-18713. doi:10.3390/ijms160818683.
35. Shakoory B, Carcillo JA, Chatham WW, et al. Interleukin-1 receptor blockade is associated with reduced mortality in sepsis patients with features of the macrophage activation syndrome: Re-analysis of a prior Phase III trial. *Critical care medicine*. 2016;44(2):275-281. doi:10.1097/CCM.0000000000001402.
36. Schulert GS, Grom AA. Macrophage activation syndrome and cytokine-directed therapies. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 2014;28(2):277-292. doi:10.1016/j.berh.2014.03.002.
37. Shin J-H, Kim DH, Kim B-Y, et al. Anti-Interleukin-9 Antibody Increases the Effect of Allergen-Specific Immunotherapy in Murine Allergic Rhinitis. *Allergy, Asthma & Immunology Research*. 2017;9(3):237-246. doi:10.4168/aair.2017.9.3.237.
38. Lee A, Ellman MB, Yan D, et al. A Current Review of Molecular Mechanisms Regarding Osteoarthritis and Pain. *Gene*. 2013;527(2):440-447. doi:10.1016/j.gene.2013.05.069.
39. Wada, T. T., Araki, Y., Sato, K., Aizaki, Y., Yokota, K., Kim, Y. T., . . . Mimura, T. (2014, February 21). Aberrant histone acetylation contributes to elevated interleukin-6 production in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2014 Feb 21;444(4):682-6. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.01.195
40. Yang, F. *et al.* Epigenetic modifications of interleukin-6 in synovial fibroblasts from osteoarthritis patients. *Sci. Rep.* **7**, 43592; doi: 10.1038/srep43592 (2017).
41. Kroschinsky F, Stölzel F, von Bonin S, et al. New drugs, new toxicities: severe side effects of modern targeted and immunotherapy of cancer and their management. *Critical Care*. 2017;21:89. doi:10.1186/s13054-017-1678-1.
42. Frey, N. V., & Porter, D. L. (2016, December 02). Cytokine release syndrome with novel therapeutics for acute lymphoblastic leukemia. *American society of Hematology*. doi: 10.1182/asheducation-2016.1.567
43. Wang L, Ma N, Okamoto S, et al. Efficient tumor regression by adoptively transferred CEA-specific CAR-T cells associated with symptoms of mild

cytokine release syndrome. *Oncoimmunology*. 2016;5(9):e1211218.

doi:10.1080/2162402X.2016.1211218.

44. Λουκόπουλος Δ. Μαθήματα αιματολογίας. In: Ποσοτικές μεταβολές λεμφοκυττάρων- Χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία. 2015. Αθήνα:Σύνδεσμος Ελληνικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών. κεφ 11. Διαθέσιμο στο: <http://hdl.handle.net/11419/3085>
45. Stenken JA, Poschenrieder AJ. Bioanalytical Chemistry of Cytokines-A Review. *Analytica chimica acta*. 2015;853:95-115. doi:10.1016/j.aca.2014.10.009.
46. Chen P, Huang N-T, Chung M-T, Cornell TT, Kurabayashi K. Label-free cytokine micro- and nano-biosensing towards personalized medicine of systemic inflammatory disorders. *Advanced drug delivery reviews*. 2015;95:90-103. doi:10.1016/j.addr.2015.09.005.
47. Singh M, Truong J, Reeves WB, Hahn J. Emerging Cytokine Biosensors with Optical Detection Modalities and Nanomaterial-Enabled Signal Enhancement. Zhou D, ed. *Sensors (Basel, Switzerland)*. 2017;17(2):428. doi:10.3390/s17020428.