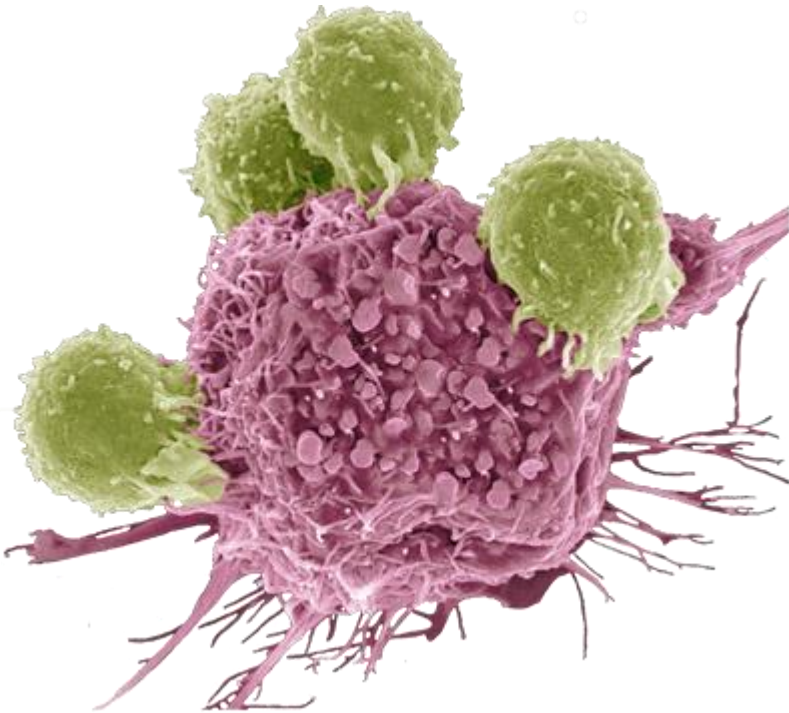


Citokine, chemokine și sistemul imun

Curs 5



Objective

- Descrierea caracteristicilor citokinelor
- Înțelegerea clasificării generale a chemokinelor și a subclaselor
- Înțelegerea diferitelor roluri ale moleculelor de interleukine
- Descrierea interacțiunii dintre citokine și receptori acestora
- Înțelegerea rolului pro- și anti-inflamator al citokinelor
- Explicarea contribuției citokinelor în imunitatea înăscută și dobândită
- Înțelegerea mecanismelor intrinseci și extrinseci ale apoptozei
- Explicarea diferențelor între chemokine și citokine
- Înțelegerea semnalizării citokinice prin calea JAK/STAT
- Înțelegerea noțiunii de factor de creștere și rolul acestora în dezvoltarea normală și tumorală

Cuprins

1. Clasificarea citokinelor
2. Citokinele și imunitatea celulară
3. Clasele și subclasele de receptori citokinici
4. Relevanța clinică a TNF și receptorii pentru TNF
5. Interleukinele
6. Interferonii
7. Apoptoza sau moartea celulară programată
8. Factorii de creștere
9. Chemokinele

1. Clasificarea citokinelor

Citokinele = grup de proteine și peptide care asigură comunicarea între celulele întregului organism; funcționează ca molecule de semnalizare pentru reglarea creșterii, diferențierii, activării și inhibării tuturor aspectelor celulare legate de răspunsul imun înnăscut sau dobândit

Chemokinele = un subset specializat de citokine, care induc mișcare celulară direcționată (chemotactic și citokine)

- Molecule asemănătoare hormonilor și neurotransmițătorilor
- Permit comunicarea intercelulară
- Sunt pleiomorfe (produse de o mare varietate de celule)
- Sunt localizate la nivel tisular
- Prezintă redundanță a funcției biologice
- Sinergism crescut

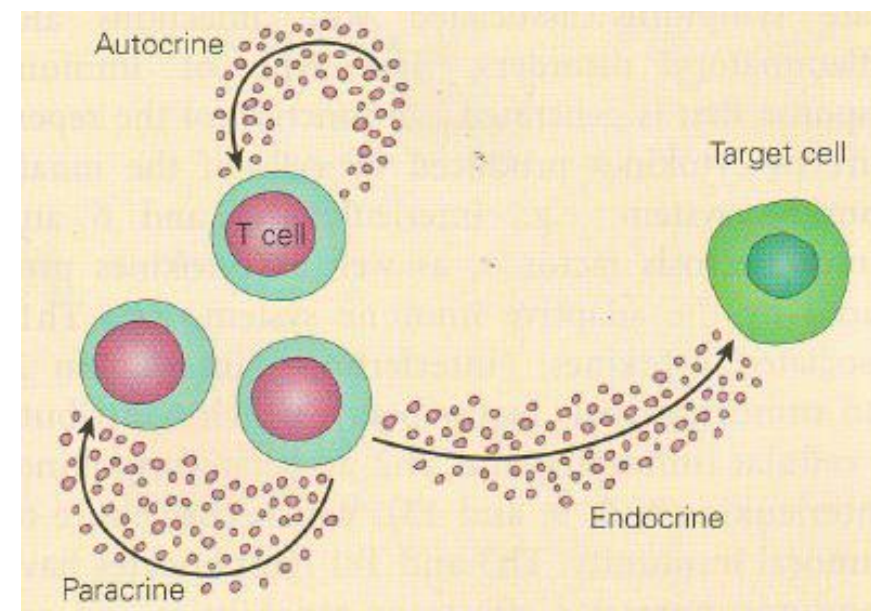
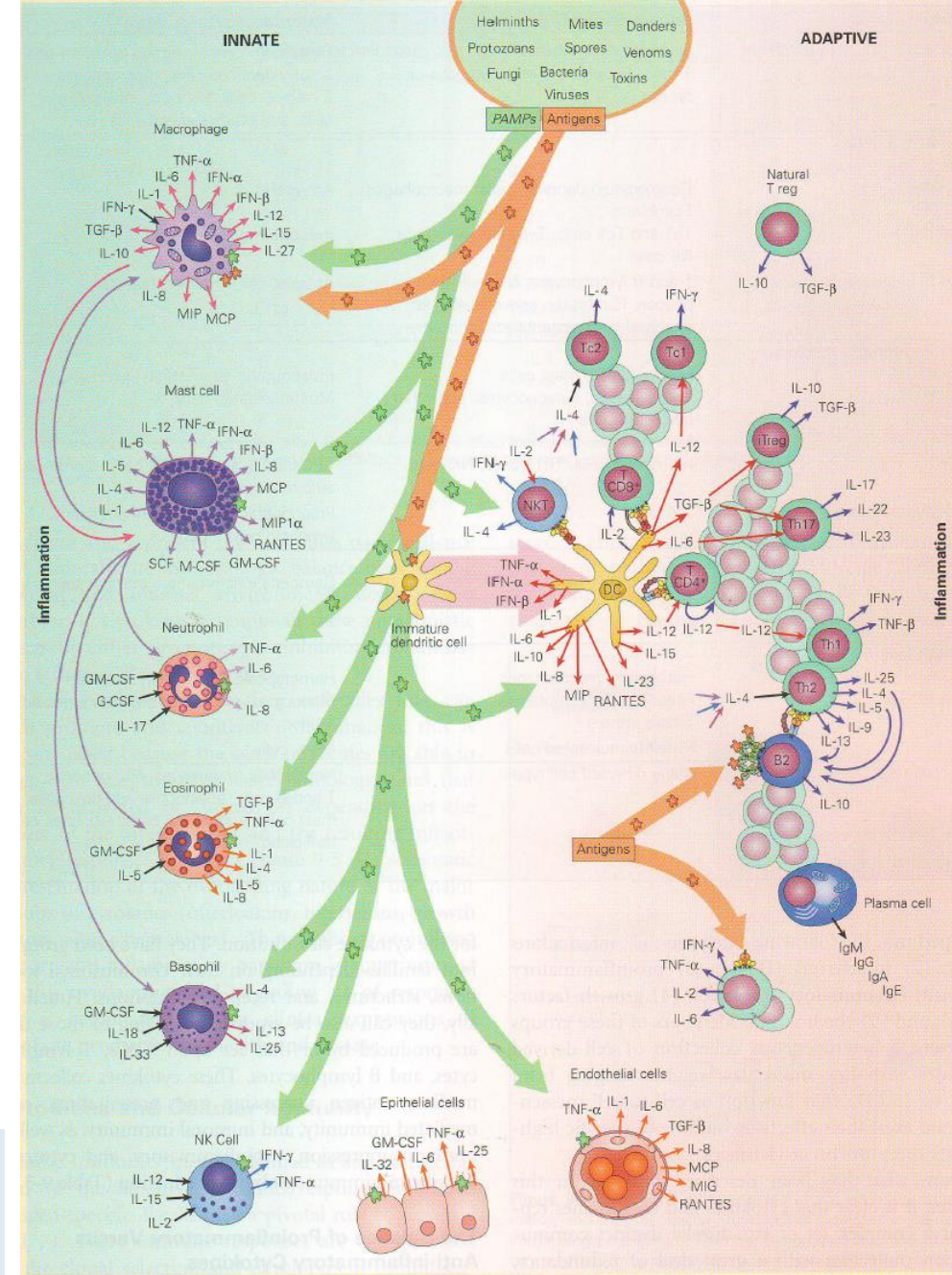


Fig.1. Reprezentarea schematică a efectelor citokinelor

1. Clasificarea citokinelor

- Inițial au fost clasificate în funcție de celula de origine și de funcția specifică
- Pe baza proprietăților funcționale:
 - Interleukine (IL)
 - Interferoni (IFN)
 - Citokine pro- și anti-inflamatorii
 - Factori de creștere (GF)
 - Chemokine

Fig.2. Reprezentarea schematică a producției și acțiunilor citokinelor și chemokinelor de către celulele sistemului imun înăscut și dobândit



1. Clasificarea citokinelor

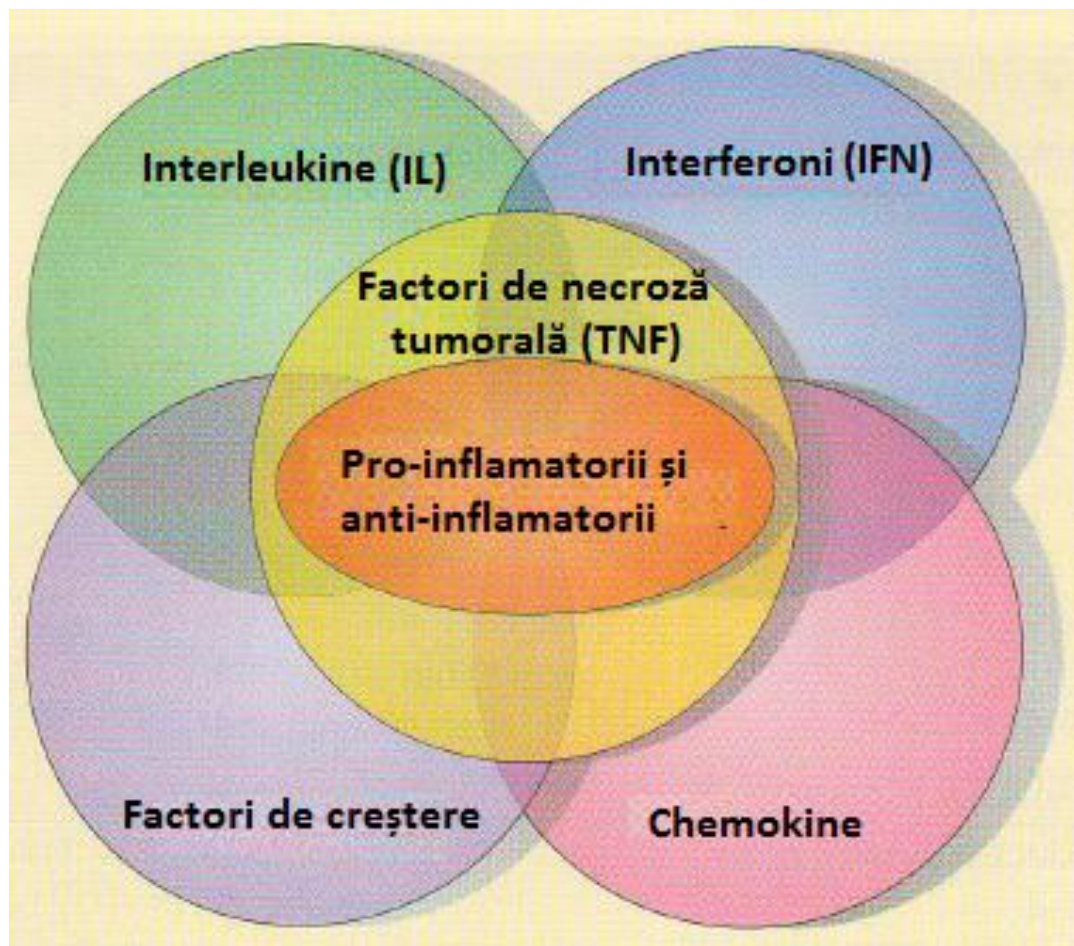


Fig.3. Reprezentarea schematică a răspunsului suprapus pro- și anti-inflamator indus de cele 5 tipuri majore de citokine

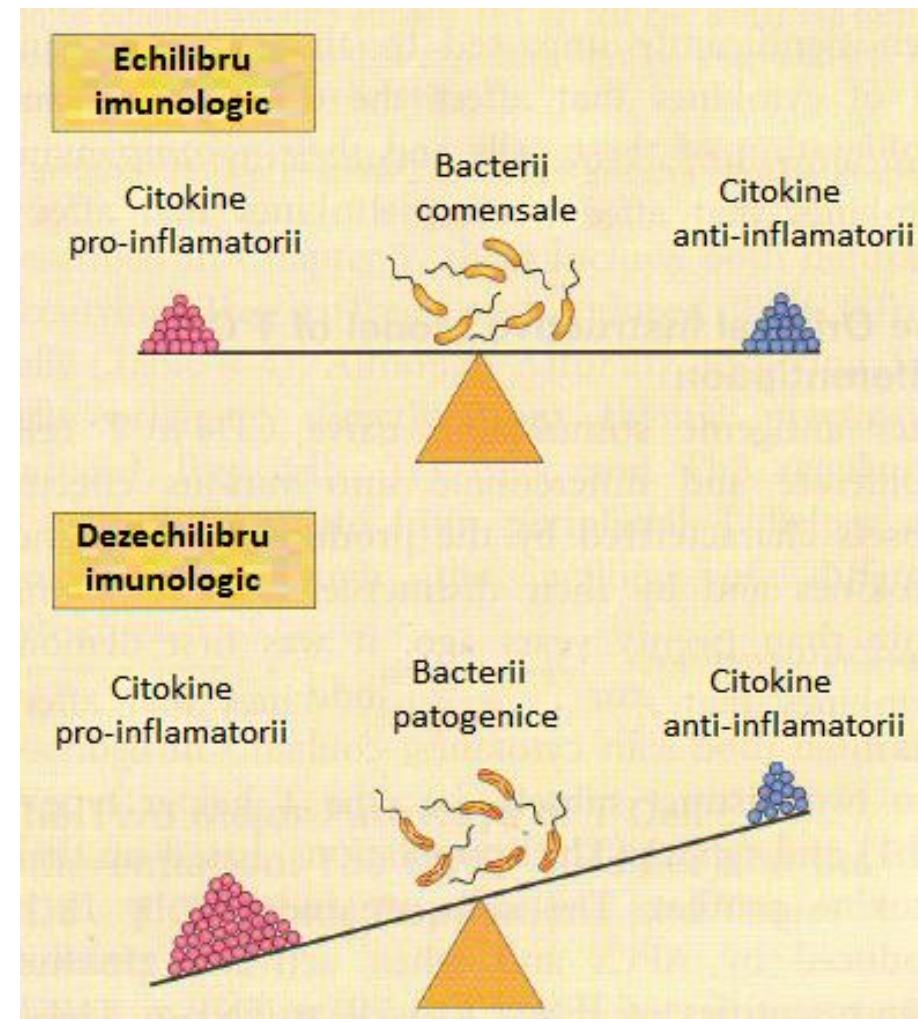


Fig.4. Reprezentarea schematică a funcțiilor citokinelor pro- și anti-inflamatorii în menținerea echilibrului imunologic

1. Clasificarea citokinelor

Grup	Produse în special de	Ținte principale/funcții
Interleukine (IL-1 la IL-37)	Celule dendritice, macrofage, NK, LT, LB și alte celule somatice	Reglează comunicarea între celulele dendritice, macrofage, LT, LB, NK, celule inflamatorii, alte celule somatice
Interferoni Tipul I (IFN- α , IFN- β) Tipul II (IFN- γ) Tipul III (IFN λ)	Celule dendritice, macrofage, fibroblaste, Th1, Th2, NKT, LT, LB, NK, celule endoteliale, epiteliale, osteoblaste	Antiviral Reglare imună Antiviral și imunomodulator
Citokine pro-inflamatorii TNF- α IL-1 IL-6 IL-17 TNF- β /limfotoxina	Macrofage, mastocite Macrofage, keratinocite Macrofage, celule limfoide T memorie, Th17, NK Th1	Pro-apoptotic, stimulează fenomene autoimune, inflamația, organogeneza limfoidă

1. Clasificarea citokinelor

Grup	Produse în special de	Ținte principale/funcții
Citokine anti-inflamatorii IL-10 TGF- β	Tr1 Th3	Reduc inflamația, imunosupresoare
Factori de creștere G-CSM, GM-CSF, M-CSF, TGF- β	Fibroblaste, macrofage, LT, celule nucleate, trombocitele	Celule hematopoietice, granulocite, monocite, celule dendritice
Chemokine CL CCL CXCL CX3CL	Diferite celule	Neutrofile, monocite, NK, dendritice, LT, LB, eozinofile, bazofile, mastocite, celule endoteliale,

2. Citokinele și imunitatea celulară

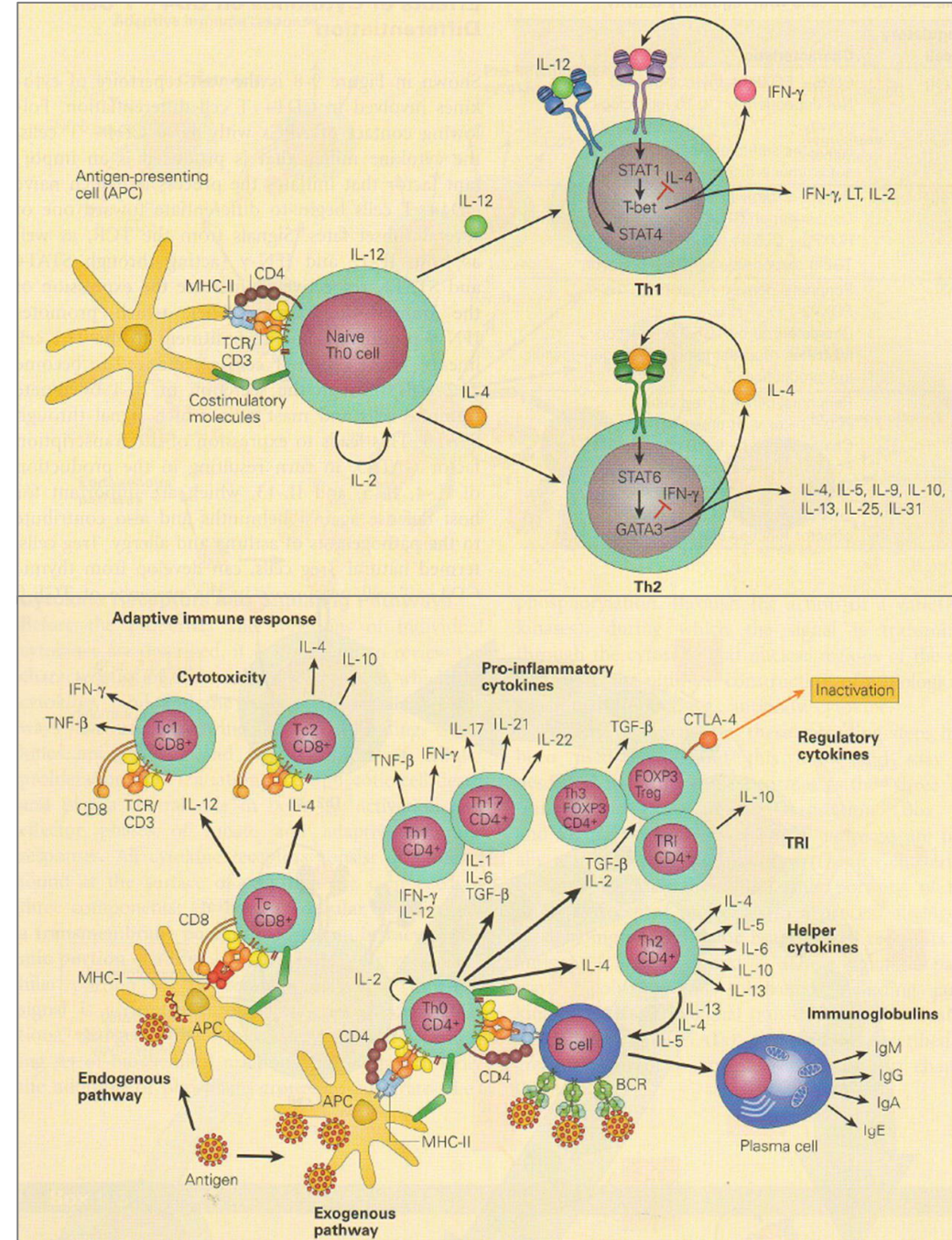
Th1

- induse de IL-12 produsă de APC
- Activează produc cantități crescute de IFN- γ , TNF- α , TNF- β , IL-10
- Induc inflamație autodistructivă
- Hipersensibilitate de tip întârziat
- Activează macrofagele
- Eficiente în eliminarea patogenilor intracelulari

Th2

- Induse de IL-4
- Activează produc IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13, IL-21, IL-31
- Important pentru producția de IgG și IgE – colaborare cu LB
- Rol important în apărarea anti-parazitară și în alergii

Redefinirea paradigmei Th1/Th2 prin descoperirea Th17, Treg, Tr1, Th3 – rol important în afecțiunile alergice, bolile infecțioase și autoimune, cancer



3. Clasele și subclasele de receptori citokinici

- Clasa I – hematopoietina (IL-2, IL-4, IL-21, GM-CSF)
- Clasa II – interferoni (IFN, IL-10)
- Receptori ai familiei TNF
- IL-1/TLR
- Receptori Th17
- Receptori TGF- β (TGFR1, TGFR2)
- Receptori tirozin-kinazici (CSF)
- Receptori chemokinici



Semnalizare prin calea JAK-STAT

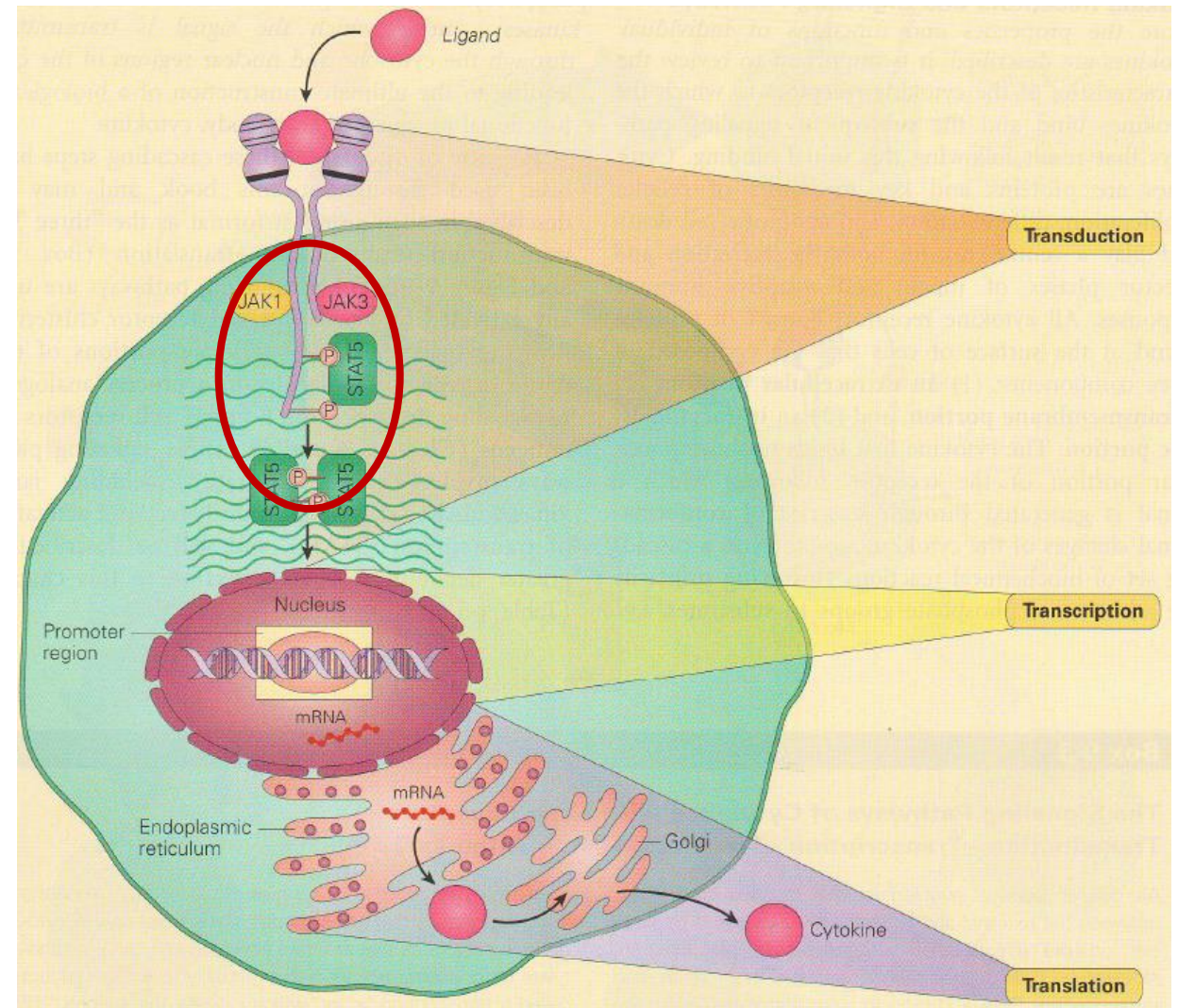
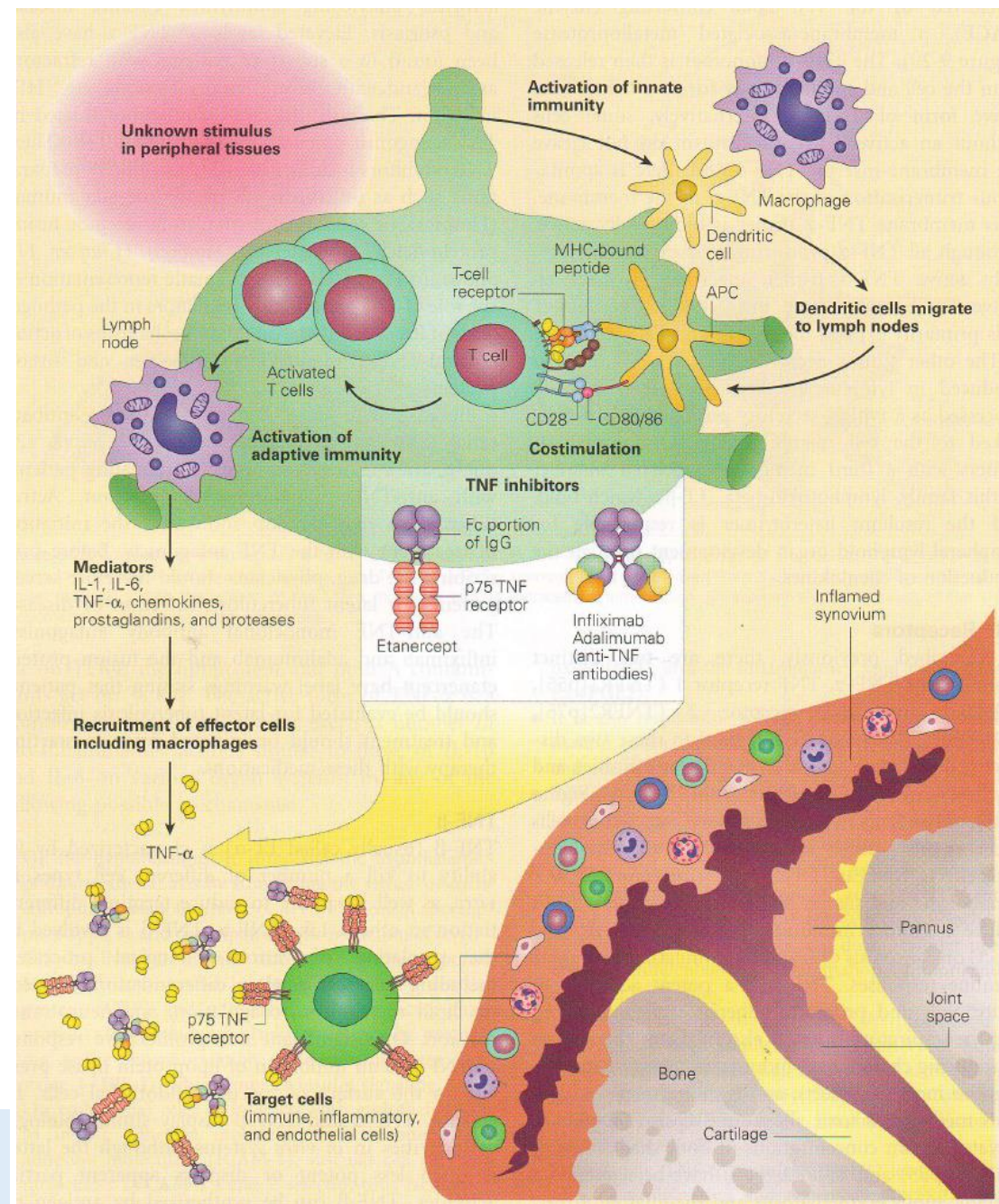


Fig.6. Transducere → Transcripție → Translație (cei 3 T)

4. Relevanța clinică a TNF și receptorii pentru TNF

- TNF- α = cașexină = Citokină pro-inflamatorie
- Producerea TNF este indusă de LPS
- Rolul TNF:
 - Stimulează axa hipotalamo-pituitară-adrenală → eliberare de CRH; scade apetitul și participă la inducerea febrei
 - Hepatic: induce sinteza de proteină C reactivă
 - Celule endoteliale: $\uparrow$ ICAM și VCAM
 - Responsabil de semnele inflamației: calor, dolor, rubor, edem
 - Induce apoptoza, diferențierea, inflamația, tumorigeneza, boli autoimune

Fig.7. Reprezentarea schematică a rolului TNF- α și a altor mediatori în patogeneza artritei reumatoide



4. Relevanța clinică a TNF și receptorii pentru TNF

- Rolul TNF:
 - TNF este implicat în patogeneza afecțiunilor inflamatorii cronice (**artrită reumatoidă** – ↑ în lichid sinovial; inhibă sinteza proteoglicanilor și formarea osoasă, stimulând resorbția osoasă → manifestările clinice osoase; **boala Crohn** – ↑ în mucoasa intestinală)
 - TNF **menține simptomele inflamatorii**

Aplicații clinice:

- Inhibitori ai TNF – anticorpi monoclonali anti-TNF (**infliximab, adalimumab**) și proteine de fuziune care blochează fragmentul Fc al TNFRII (**etanercept, lenercept**)
- Efecte secundare ale inhibării TNF: incidență crescută a infecțiilor (TB) și a cancerului
- Mutații ale TNFRI sunt asociate cu sindromul de febră periodică (autozomal dominantă)

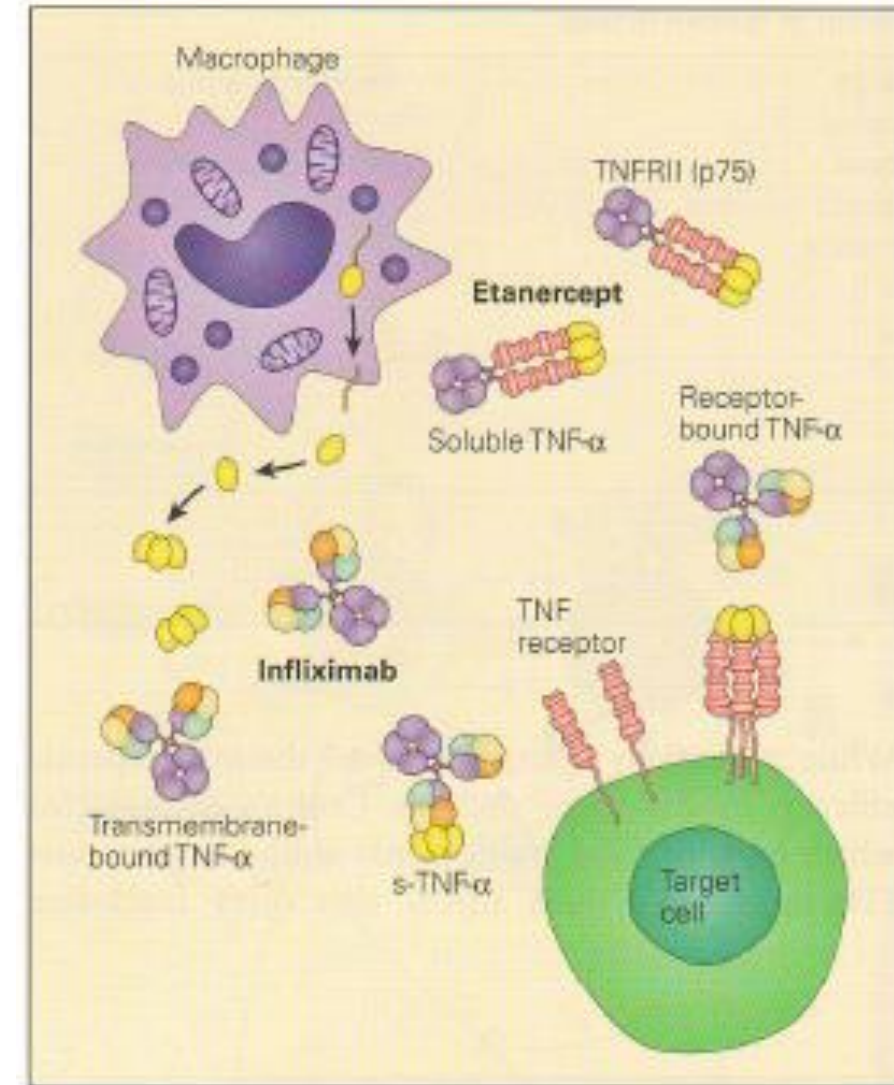


Fig.8. Diferențele dintre proteinele de fuziune și anticorpii monoclonali anti-TNF

4. Relevanța clinică a TNF și receptorii pentru TNF

Produs	Denumire comercială	Ținta	Indicații terapeutice
Proteină de fuziune			
Etanercept	Enbrel	TNF- α și TNF- β	Artrita reumatoidă, artrita juvenilă idiopatică, artrita psoriazică, spondilita ankilopoietică, plăci psoriazice
Anticorpi monoclonali			
Infliximab	Remicade	TNF- α	Artrita reumatoidă, spondilita ankilopoietică, artrita psoriazică, plăci cronice severe psoriazice, boala Crohn, colita ulcerativă
Adalimumab	Humira, Trudexa	TNF- α	Artrita reumatoidă, artrita juvenilă idiopatică, artrita psoriazică, spondilita ankilopoietică, boala Crohn, plăci psoriazice
Certolizumab	Cimzia	TNF- α	Boala Crohn

5. Interleukinele

IL-1

- IL-1 este implicată în patogeneza febrei
- Implicată în afecțiuni autoinflamatorii cu origine complexă: silicoza, azbestoza, guta; boli rare monogenice și poligenice cu defecte ale sintezei de IL-1 → supraproducerea de IL-1 β și atacuri inflamatorii cronice sau periodice
- IL-1 are 2 receptori pe suprafața celulelor țintă: IL-1RI și IL-1RII, dar doar IL-1RI transduce semnalul

- IL-1Ra (antagonist produs natural) sau **anakinra**; antagonist sintetic - **rinolacept**

Aplicații clinice ale inhibitorilor IL-1:

- Tratamentul artritei reumatoide, alte afecțiuni autoinflamatorii (Muckle-Wells – episoade de urticarie, febră, eritem, cefalee severă + vărsături și dureri articulare; boala Still; boala inflamatorie neonatală multisistemică)
- **Anticorpi monoclonali anti-IL-1 β (canakinumab)** – recent aprobați de FDA în tratamentul sindromului periodic asociat criopirinei – CAPS: Chronic inflammatory neurological cutaneous articular syndrome, Muckle-Wells și sindromul gripei specifice autoinflamatorii familiale

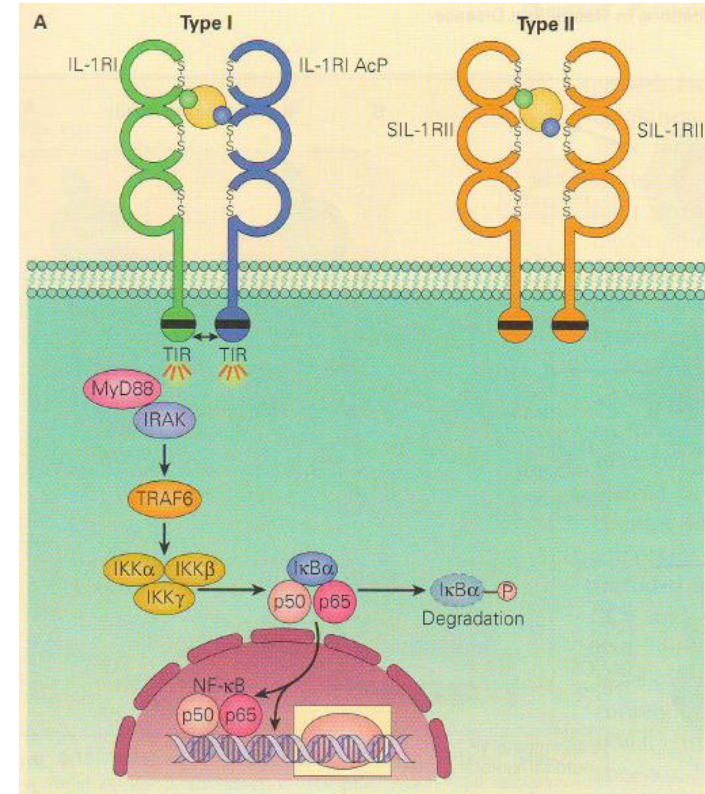
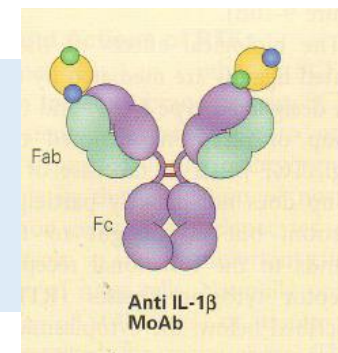


Fig.9. Transducerea semnalului de către IL-1R

Fig.10. Structura anticorpului monoclonal care leagă și neutralizează 2 molecule de IL-1 (canakinumab)



5. Interleukinele

IL-2

- Factor mitogenic al limfocitelor T
- Factor de creștere limfocitar (TCGF)
- Induce proliferarea pe termen lung a limfocitelor T în cultură → descoperirea HIV (Robert Gallo, NIH; 1979 - HTLV-1; 1983 - HIV)
- 2 receptori: IL-2R α și IL-2R β
- **Aplicații clinice:**
 - Administrăm IL-2 în: SCID X-lincat (defecte ale IL2-R), afecțiuni autoimune și procese maligne, infecții virale cronice, adjuvant în componența vaccinurilor
 - forma recombinată a IL-2 – **aldesleukin** pentru tratamentul melanomului, cancer renal
 - multe dintre medicamentele imunosupresoare (corticosteroizi - afecțiuni autoimune; rejetul de organ – ciclosporina, tacrolimus) inhibă producerea de IL-2 de către LT activate de antigen; sirolimus – blochează semnalizarea prin IL-2R α și induce expandarea LTregs
 - **anticorpi anti-receptori IL-2:** anti-IL-2R α (anti-CD25, anti-Tac) – basiliximab (Simulect) și daclizumab (Zenapax)
 - profilaxia rejetului acut de organ (transplant renal)

5. Interleukinele

IL-3

- Stimulează proliferarea celulelor stem hematopoietice pluripotente
- Secretată de limfocitele T activate
- Stimulează creșterea și diferențierea celulelor mieloide precursorare de la nivelul măduvei osoase hematogene
- Funcție similară GM-CSF

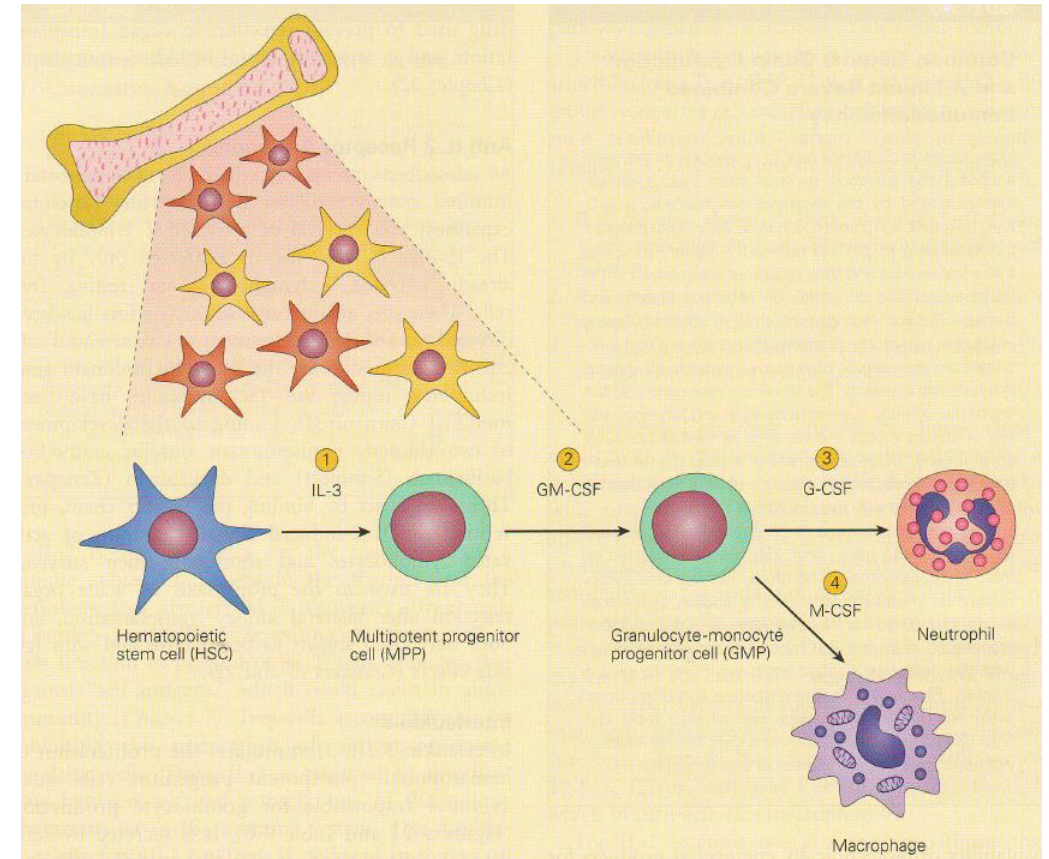


Fig.11. Reprezentarea schematică a efectelor IL-3 și a altor factori de creștere asupra producției de granulocite și macrofage din HSC

5. Interleukinele

IL-4

- Secretată în principal de celulele Th2, mastocite, eozinofile
- Stimulează proliferarea LB și LT, precum și diferențierea LT CD4+ în celule Th2
- Induce producție de IgE și reglează producția de MHC-II
- Implicată în **inflamația alergică, astm bronșic, anafilaxie**

IL-5

- Produsă de celulele Th2
- Induce producția și supraviețuirea eozinofilelor și menține **hiperactivitatea bronșică**

Fig.12. Reprezentarea schematică a rolurilor IL-4 și a altor citokine asupra celulelor sistemului imun și celulelor epiteliale

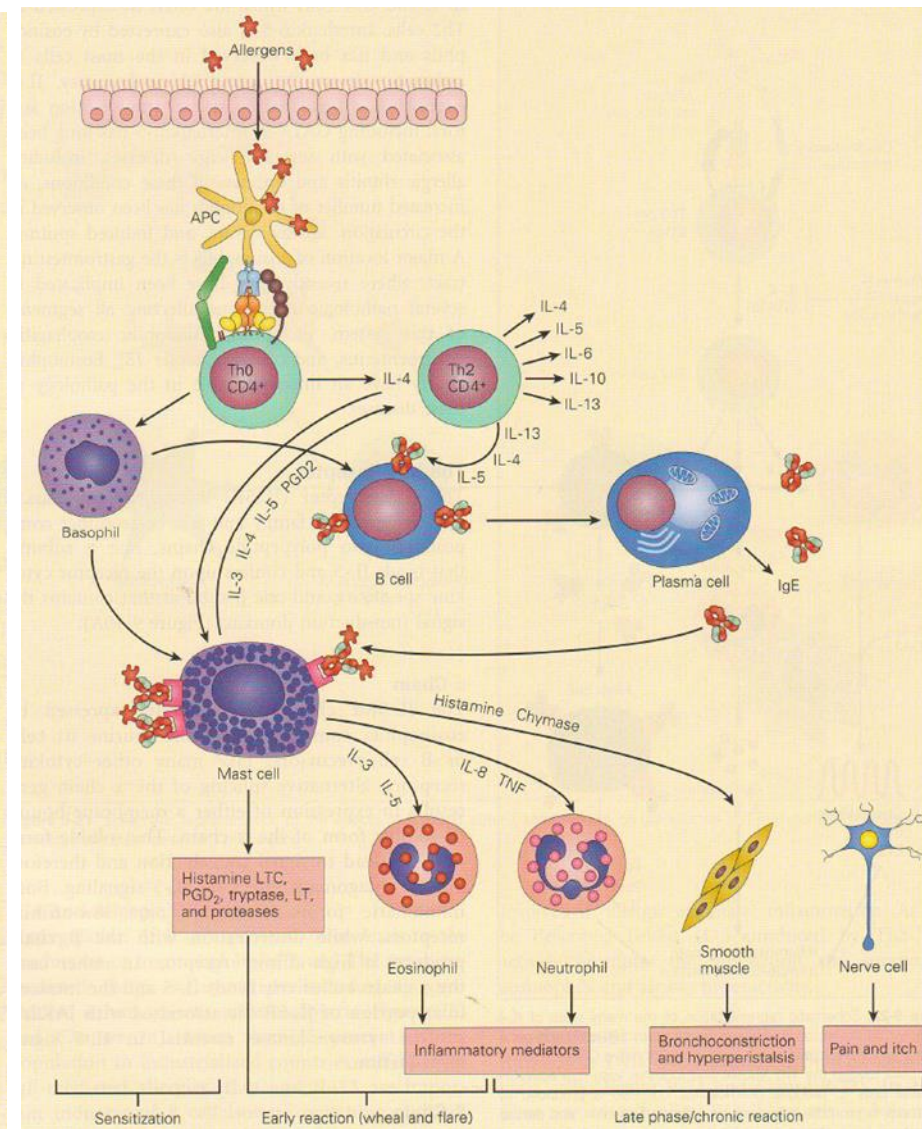
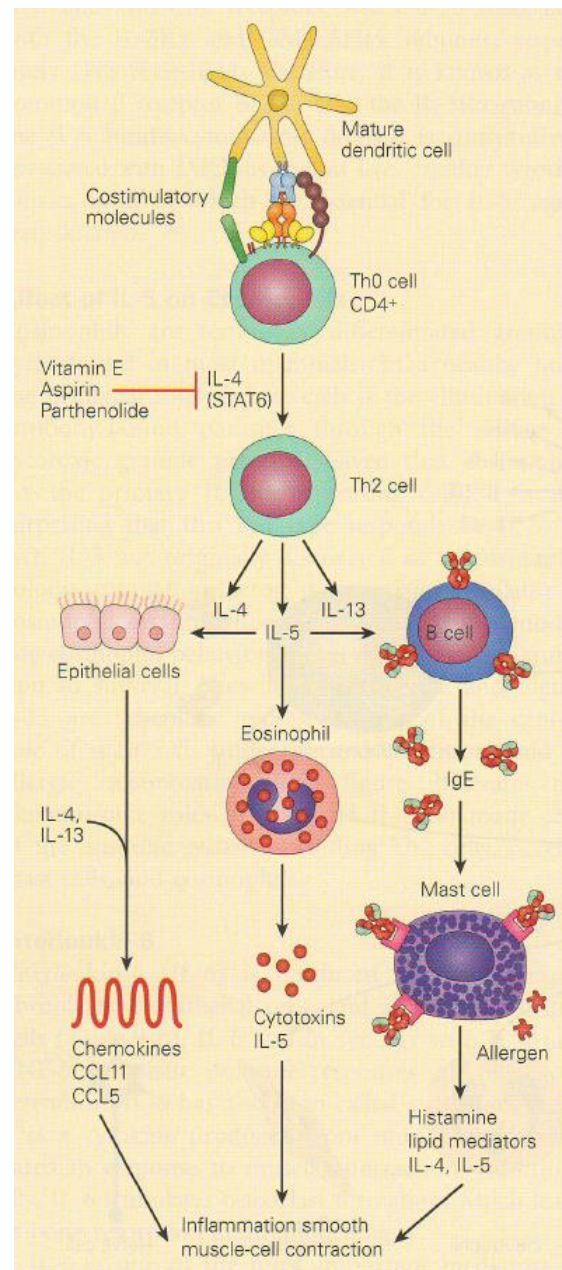


Fig.13. Căile imune în afecțiunile alergice

5. Interleukinele

IL-6

- Produsă de macrofage, fibroblaste, celule endoteliale, LT helper
- Acționează sinergic cu IL-1 și TNF- α
- Este unul dintre cei mai importanți mediatori ai febrei și fazei acute de răspuns la nivel hepatic
- Induce creșterea producției de LB $\rightarrow$ inflamația cronică cu IL-6 crescut persistent $\rightarrow$ limfom și mielom
- **Anticorpi neutralizanți pentru IL-6 (siltuximab)** sunt utilizați în tratamentul artritei juvenile idiopatice, artrita reumatoidă, boala Castleman (leucemie dependentă de IL-6)
- **Anticorpi anti IL-6R (tocilizumab - Acterma)** sunt utilizați în tratamentul artritei reumatoide neresponsive la inhibitori ai TNF

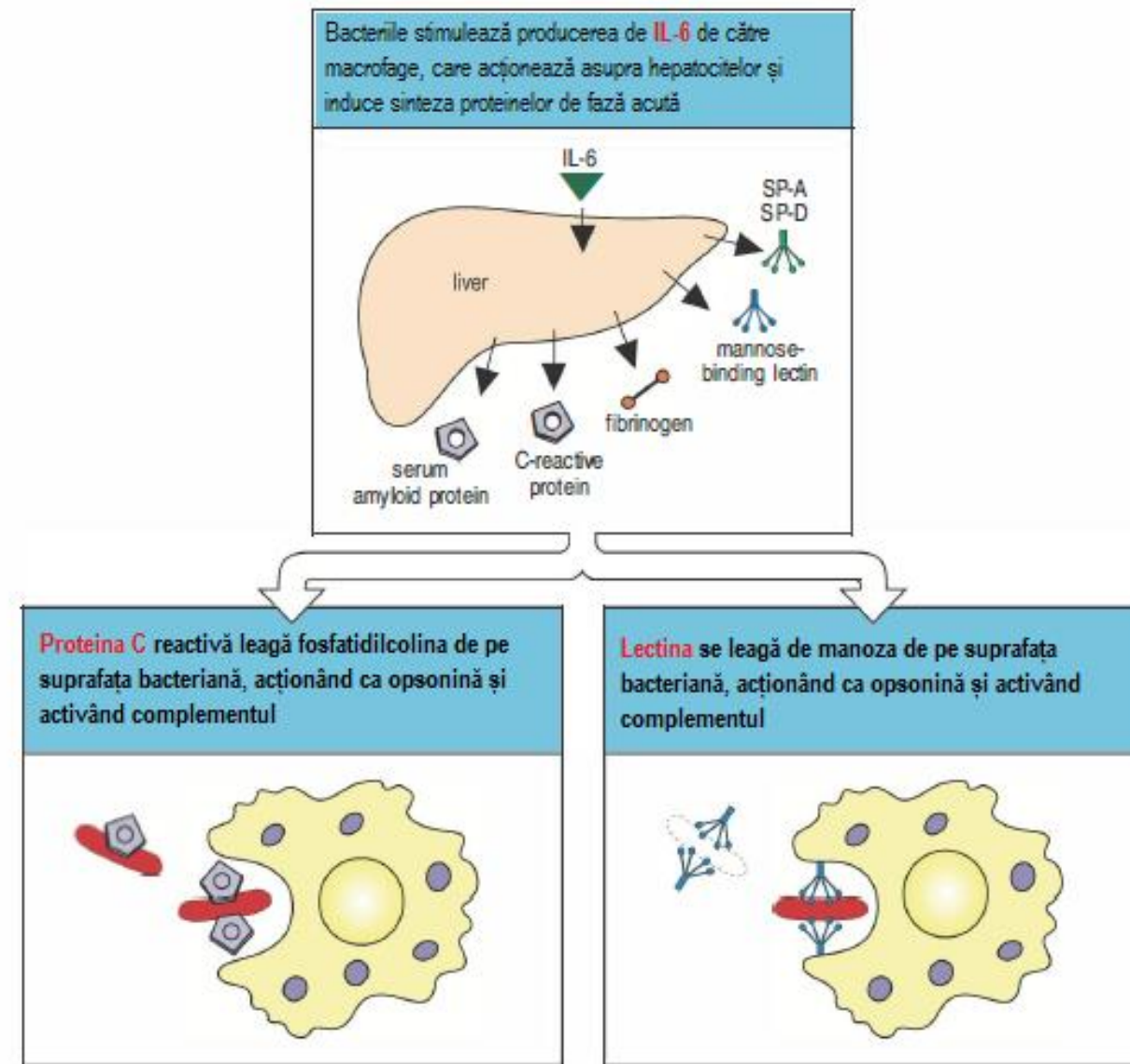
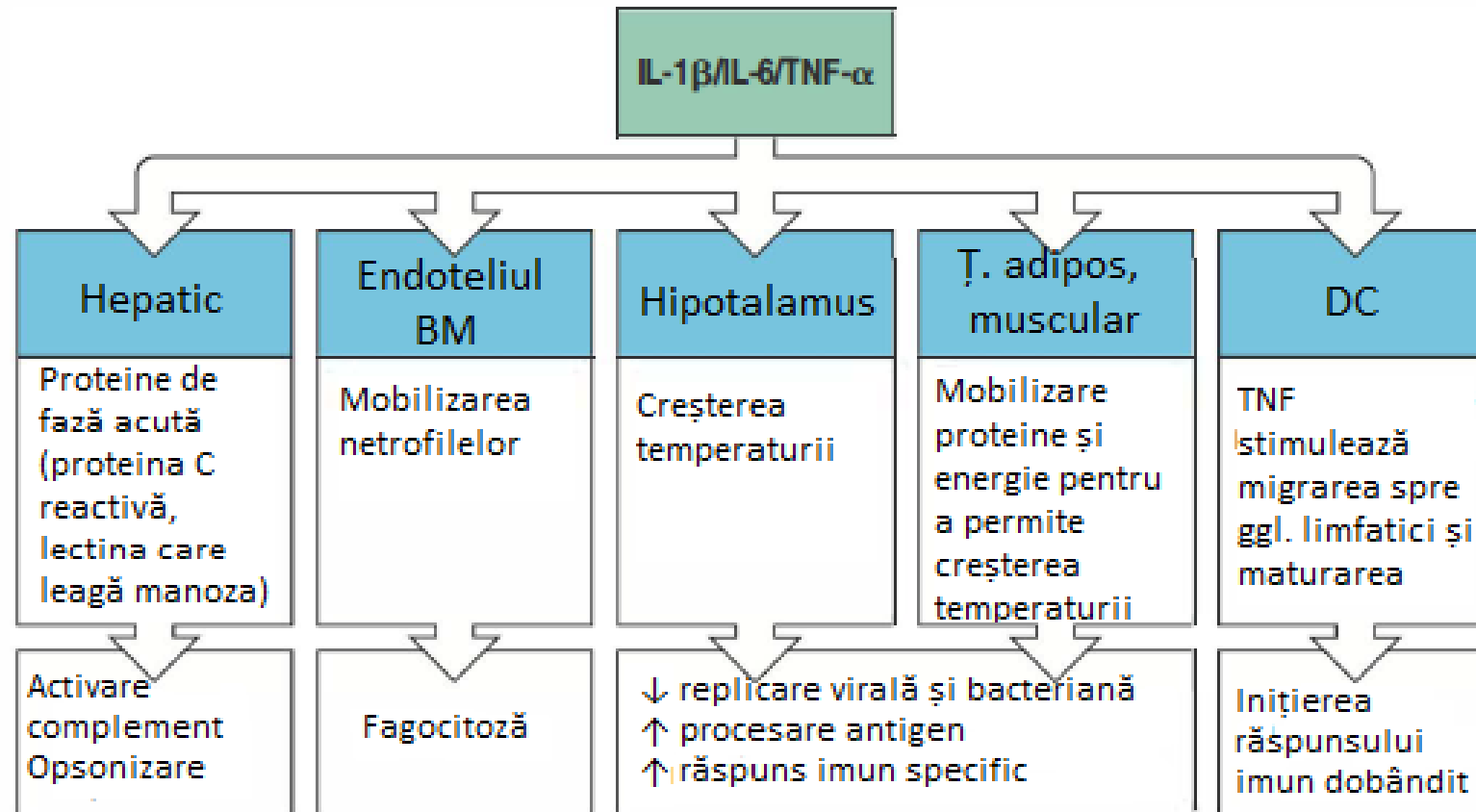


Fig.14. Efectele hepatice ale IL-6

5. Interleukinele



5. Interleukinele

IL-10

- Citokină anti-inflamatoare produsă de limfocitele Th1, Th2, LT citotoxice, LB, mastocite, celule dendritice
- **Inhibă sinteza de citokine pro-inflamatorii:**
 - Inhibă producerea de IFN- γ și IL-2 de către limfocitele Th1
 - Inhibă producerea de IL-4 și IL-5 de către limfocitele Th2
 - Inhibă producerea de IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 și TNF- α de către macrofage
 - Inhibă producerea de IFN- γ și TNF- α de către celulele NK
- Inhibă expresia MHC-II, CD23, ICAM-1 (moleculă de adeziune), CD80/CD86 (B7.1/B7.2, ↓ capacitatea APC de a prezenta antigenele)
- Alte citokine similare structural și funcțional: IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26 (posibil și IL-28, IL-29) – aparțin aceleiași clase funcționale (clasa II) și utilizează receptori din familia IFN

5. Interleukinele

IL-12

- face parte din familia IL-12, care cuprinde: IL-12, IL-23 și IL-27
- produsă de DC și macrofage ca răspuns la stimularea antigenică
- induce diferențierea limfocitelor T naive spre limfocite Th1
- stimulează producerea de IFN- γ și TNF- α la nivelul limfocitelor T și a celulelor NK ($\uparrow$ activitatea)
- inhibă producerea de IL-4

Aplicații clinice:

- pacienții cu mutații ale IL-12 prezintă defecte ale axei IL-12/IFN- γ $\rightarrow$ susceptibilitate extremă la vaccinarea BCG și la specii de mycobacterii non-tuberculoase (*Mycobacterium bovis*)
- implicată în afecțiunile autoimune ($\uparrow$ IL-12 amplifică simptomatologia) $\rightarrow$ blocarea IL-12 cu anticorpi anti-IL-12 (**Ustekinumab**) în psoriazis și boli inflamatorii intestinale
- efecte anti-angiogenice ($\uparrow$ IFN- γ $\rightarrow$ $\uparrow$ CXCL10, responsabilă direct de efectele anti-angiogenice) $\rightarrow$ posibilă terapie anti-tumorală

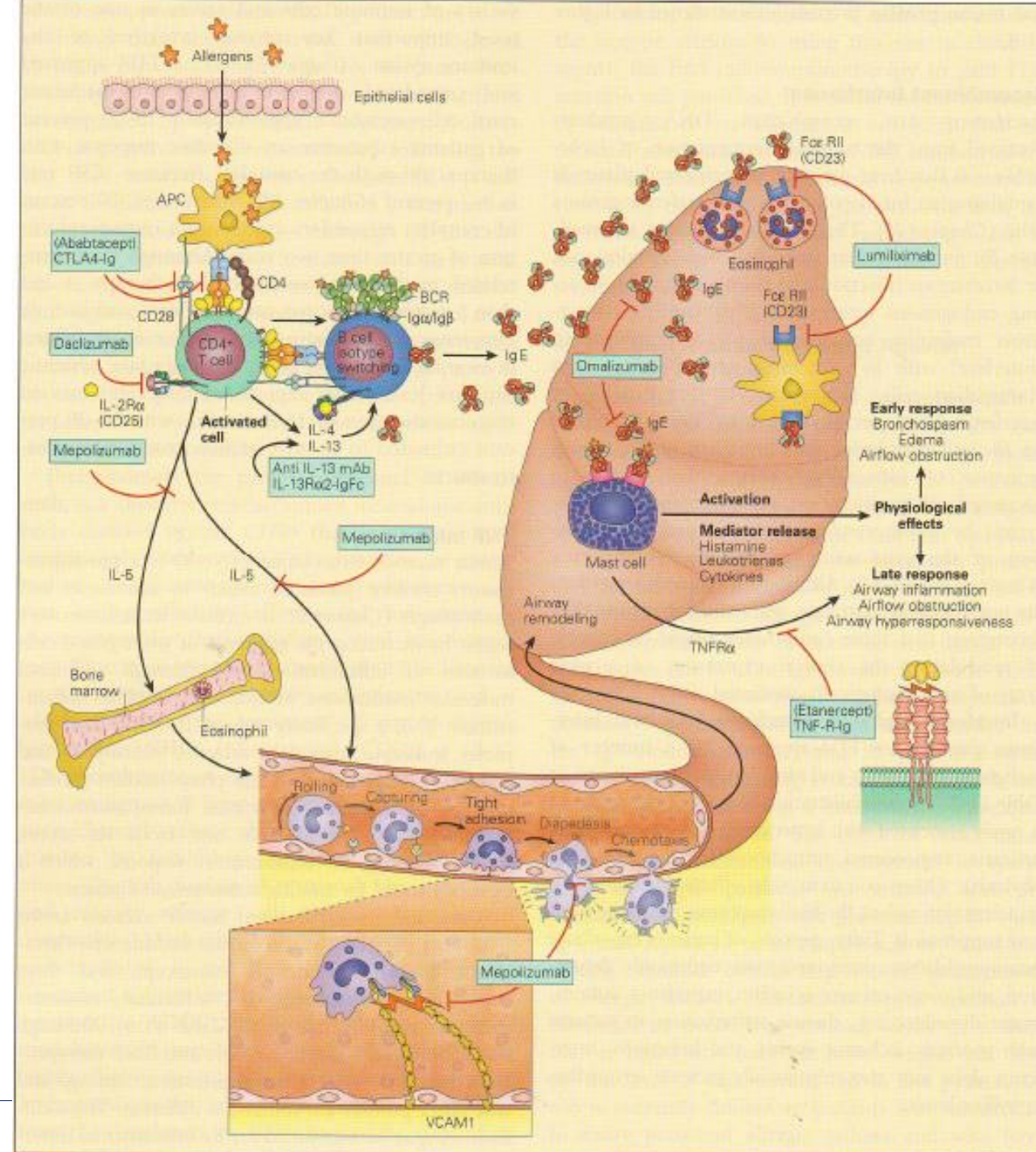
5. Interleukinele

IL-17

- Produsă de CD4+ Th17
- Acționează asupra LT, fibroblastelor, APC
- Induce răspuns imun pro-inflamator, asociat cu artrita reumatoidă, astm bronșic, lupus, reacții de rejet, tumori solide;
- Implicată în boli autoimune și inflamație tisulară; reglatoare a imunității împotriva bacteriilor, fungilor și virusurilor; asociată cu răspuns imun alergic, prin acțiune supresoare asupra IFN-gamma și a LTh1.

- Mepolizumab – **anti-IL-5 mAb**
- Lumiliximab – **anti-CD23 mAb** (Fcε RII – low affinity receptor pentru IgE, pe suprafața Eo)

Fig.15. Reprezentarea schematică și modul de acțiune al anticorpilor monoclonali și proteinelor de fuziune



6. Interferonii

- Familie de proteine citokinice pleiotrope (funcții multiple), produse de celulele sistemului imun și alte tipuri de celule ca răspuns la agenții străini cum ar fi virusuri, bacterii, fungi, paraziți și celule tumorale
- Au fost descrise inițial ca proteine anti-virale majore, însă au și efecte de scădere a creșterii celulelor normale și maligne hematopoietice
- Prezintă specificitate de specie și nu specificitate condiționată de virusuri
- După eliberare, IFN se leagă de receptori specifici de pe alte celule și induce sinteza proteinelor anti-virale care inhibă replicarea virală
- Interferonii sunt eliberați imediat după infecție, dar dispar rapid, metabolizarea și excreția acestora având loc la nivel hepatic și renal
- Sunt divizați în 3 clase:
 - **Tip I:** alfa și beta (IFN- α , IFN- β)
 - **Tip II:** gama (IFN- γ)
 - **Tip III:** lambda (IFN- λ)
- Tipul I – produs în abundență de celulele dendritice plasmacitoide (pDC)
- Tipul II – activitate anti-virală relativ scăzută; este mai eficient ca moleculă imunostimulatoare care induce răspunsul Th1
- Tipul III – produs de multe tipuri celulare

6. Interferonii

Clasa	Tipul de interferon	Celule de origine	Activitate biologică
Tip I	IFN- α IFN- β	Toate celulele somatice nucleate; celulele dendritice plasmacitoide sunt producătoare majore Produs de multe tipuri celulare, fibroblastele fiind producătoare majore	Efecte anti-virale; inducerea MHC-I în toate celulele somatice; activarea celulelor NK și a macrofagelor
Tip II	IFN- γ	NK, NKT, T $\gamma\delta$, limfocite Th1 CD4+ și Tc1 CD8+	Inducerea MHC-I în toate celulele somatice și MHC-II în APC și celule somatice; activarea macrofagelor, neutrofilelor, NK și APC; promovează imunitatea mediată de Th1; efecte anti-virale scăzute; suprimă celulele Th2; efecte anti-angiogenice
Tip III	IFN- λ	Toate celulele nucleate	Efecte anti-virale și imunomodulatoare

6. Interferonii – Utilizare clinică

Tip de interferon	Ținta	Utilizare clinică
IFN- α	Ficat Celule maligne	Infecție cronică cu HCV Cancer renal, melanom malign, mielom multiplu, tumori carcinoide, leucemie cu celule păroase
IFN- β	SNC	Scleroză multiplă
IFN- γ	Celule fagocitare	Boală cronică granulomatoasă

IFN- α

- Subtipul 2B este indicat pentru tratamentul hepatitei cronice cu virus C (HCV) la pacienții cu vârstă > 18 ani, cu boală hepatică compensată, care au anticorpi anti-HCV și/sau ARN HCV;
- Nu toate tipurile de HCV sunt sensibile la interferon;
- Înainte de începerea tratamentului trebuie excluse hepatita B sau hepatita autoimună
- Efectele administrării de IFN: normalizarea concentrațiilor de ALT, scăderea concentrației ARN HCV până la cantități nedetectabile (< 100 copii/ml), îmbunătățirea aspectului histologic hepatic;
- Poate fi utilizat și în anumite afecțiuni maligne (vezi Tabel), mecanismul de acțiune în acest caz nefiind pe deplin înțeles → acțiune anti-proliferativă directă împotriva celulelor tumorale, inhibarea replicării virale și modularea răspunsului imun al gazdei

6. Interferonii – Utilizare clinică

Tip de interferon	Ținta	Utilizare clinică
IFN- α	Ficat Celule maligne	Infecție cronică cu HCV Cancer renal, melanom malign, mielom multiplu, tumori carcinoide, leucemie cu celule păroase
IFN- β	SNC	Scleroză multiplă
IFN- γ	Celule fagocitare	Boală cronică granulomatoasă

IFN- β

- Subtipul IFN- β -1b prezintă activitate anti-virală și imunoreglatoare și este indicat la pacienții cu scleroză multiplă (MS) cu recăderi/remisiune, inducând o scădere a frecvenței exacerbarilor clinice;
- Administrarea IFN- γ duce la exacerbaria manifestărilor clinice în MS;
- Mecanismul de acțiune nu este pe deplin înțeles, efectele benefice datorându-se:

- modulării sintezei de IgG la nivelul plasmocitelor
- stimulării producerii de antagoniști ai receptorului pentru IL-1
- inhibării proliferării leucocitelor
- inhibarea IL-1 β și TNF- α ;

- creșterea nivelului IL-10,
- scăderea prezentării antigenice la nivelul microgliei
- scăderea migrării limfocitelor T la nivel cerebral prin inhibarea activității metaloproteinazelor citoplasmatiche și scăderea expresiei moleculelor de adeziune

6. Interferonii – Utilizare clinică

Tip de interferon	Ținta	Utilizare clinică
IFN- α	Ficat Celule maligne	Infecție cronică cu HCV Cancer renal, melanom malign, mielom multiplu, tumori carcinoide, leucemie cu celule păroase
IFN- β	SNC	Scleroză multiplă
IFN- γ	Celule fagocitare	Boală cronică granulomatoasă

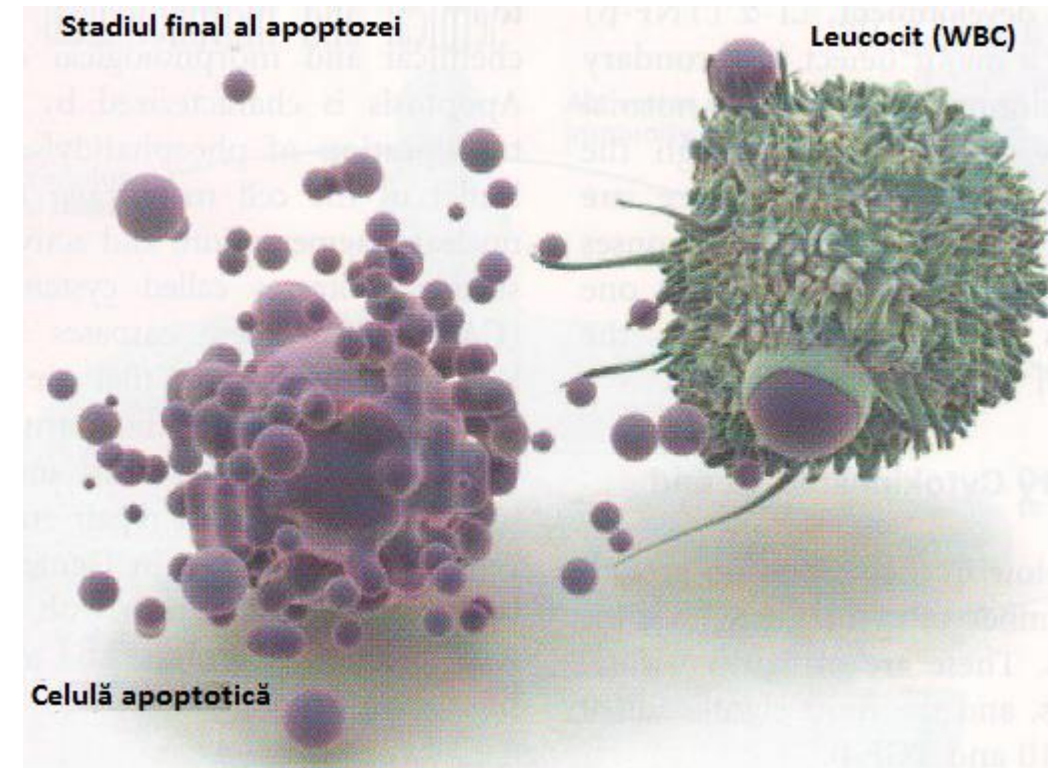
IFN- γ

- Este folosit pentru scăderea frecvenței și severității infecțiilor bacteriene severe la pacienții cu disfuncții genetice ale celulelor fagocitare sau boală cronică granulomatoasă;
- Este utilizat împreună cu tratamentul antibiotic;
- Este folosit și pentru încetinirea progresiei osteopetrozei (boală genetică malignă osoasă).

7. Apoptoza sau moartea celulară programată

- **Calea extrinsecă:** TNFR, TRAIL → DISC (Death Inducing signaling Complex) → caspaze
- **Calea intrinsecă:** stress celular (radiații, substanțe chimice, virusuri) → citocrom C

Fig.15. Ilustrarea modificărilor celulare induse în timpul apoptozei: celula își reduce dimensiunile, se formează vezicule membranare și corpi apoptotici, care vor fi fagocitați de macrofage



8. Factorii de creștere

1. **G-CSF/CSF3** = Factorul de stimulare al coloniilor granulocitare: promovează proliferarea precursorilor granulocitari
2. **GM-CSF** = CSF granulocito-monocitare: promovează proliferarea precursorilor granulocitari, macrofagelor și celulelor dendritice
3. **M-CSF/CSF1** = Factorul de stimulare al coloniilor macrofagice: promovează proliferarea precursorilor monocitari/macrofagici
4. **PDGF** = Factorul de creștere derivat din trombocite: promovează proliferarea fibroblastelor, celulelor gliale și a celulelor musculare netede
5. **EGF** = Factorul de creștere epidermal: promovează proliferarea celulelor mezenchimale, gliale și epiteliale
6. **TGF- α** = factorul de creștere și transformare α : stimulează proliferarea celulelor neurale la adulții cu injurii cerebrale și vindecă rănille
7. **TGF- β** = Factorul de creștere și transformare β : efecte anti-proliferative asupra celulelor endoteliale, macrofagelor, limfocitelor T și B; suprimă hematopoieza, miogeneza, adipogeneza și steroidogeneza adrenală; induce răspuns de tip IgA la nivelul MALT din tubul digestiv
8. **NGF** = Factorul de creștere nervoasă: esențial pentru supraviețuirea și diferențierea neuronală

8. Factorii de creștere

9. **EPO** = Eritropoietină: promovează proliferarea și diferențierea precursorilor eritrocitari
10. **IGF-I** = Factorul de creștere insulin-like I: promovează proliferarea multor tipuri celulare
11. **IGF-II** = Factorul de creștere insulin-like II: promovează proliferarea multor tipuri celulare, în special a celor de origine fetală
12. **VEGF** = Factorul de creștere al endoteliului vascular: stimulează celulele endoteliale, hematopoieza și formarea osoasă

Semnificația clinică a VEGF

- este implicat în cancerul mamar cu prognostic rezervat, artrita reumatoidă, retinopatia diabetică, degenerarea maculară a vârstnicilor
- sunt disponibile terapii anti-VEGF de tipul:
 - **Anticorpi monoclonali**: bevacizumab (Avastin)
 - **Derivați de anticorpi**: ranibizumab (Lucentis)
 - **Inhibitori tirozin-kinazici** (molecule mici cu administrare orală care inhibă tirozin-kinazele stimulate de VEGF): lapatinib (Tykerb), sunitinib (Sutent), sorafenib (Nexavar), axitinib, pazopanib

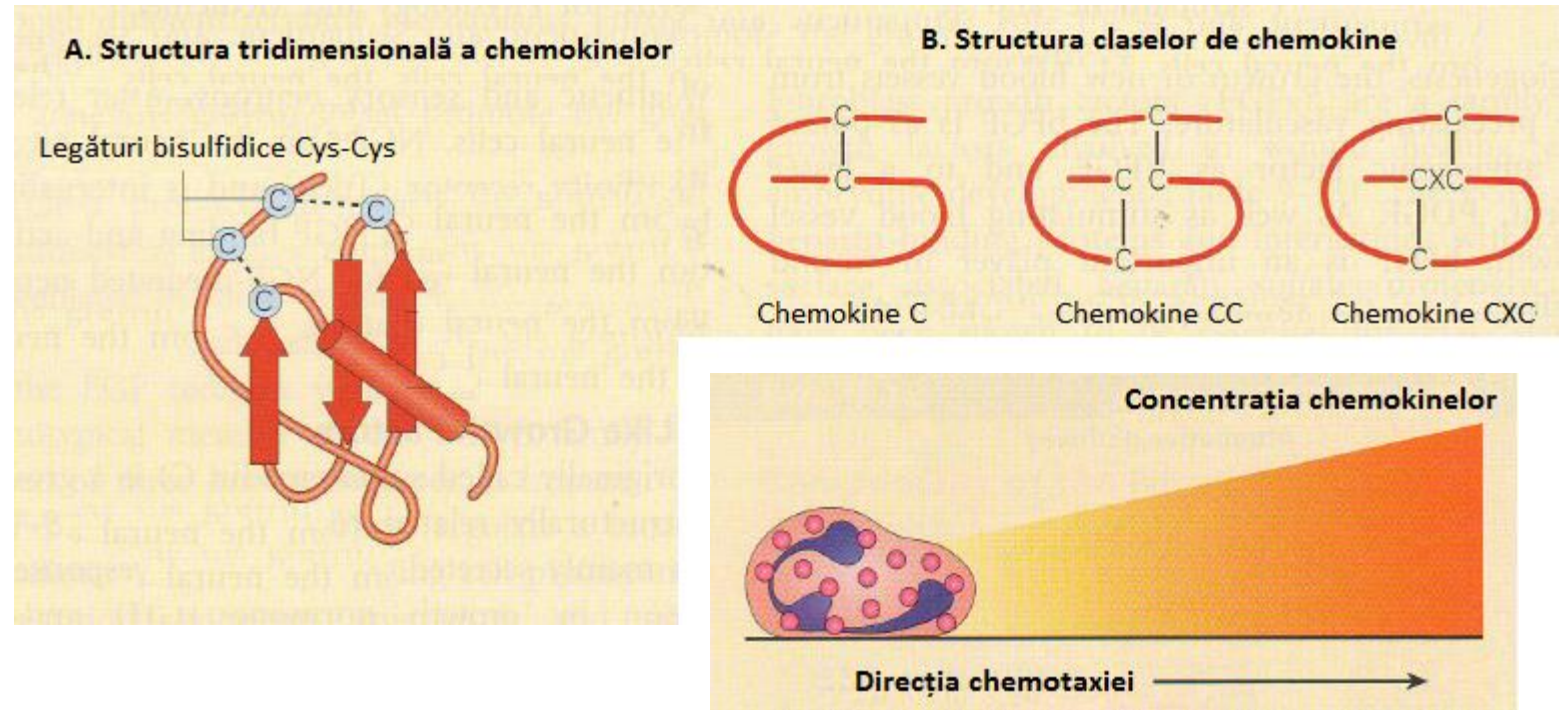
8. Factorii de creștere – Utilizare clinică

Afecțiuni	Factor de creștere	Efecte
Anemie aplastică	EPO	Crește numărul de eritrocite
Sindrom mielodisplazic	G-CSF	Crește numărul de neutrofile în situații clinice care implică o producție scăzută a acestora (post-chemoterapie)
Transplantul de măduvă osoasă hematogenă	G-CSF, GM-CSF	Creșterea numărului de leucocite
Leucemii (leucemie acută mieloidă - LAM)	G-CSF, GM-CSF	Se administrează înaintea începerii terapiei de inducție
Creșterea imunității anti-tumorale	GM-CSF	Crește funcția celulelor dendritice

9. Chemokinele

- Sunt o familie de **citokine polipeptidice de dimensiuni mici** (8-14 kDa), care funcționează ca chemoattractanți, inducând migrarea celulară direcționată
- Sunt produse de un număr mare de celule – monocite, macrofage, limfocite T și B, celule NK, bazofile, eozinofile
- Mobilizează celulele implicate în răspunsul imun înăscut și dobândit
- Se leagă de receptori specifici situați la nivel membranar, care sunt formați din 7 regiuni transmembranare legate de proteina G (receptori cuplați cu proteina G = GPCR)
- Inițial au fost denumite specific: proteina inflamatorie macrofagică (**MIP**), chemokina derivată din macrofage (**MDC**), chemokina exprimată de timus (**TECK**), regulated upon activation normal T cell expressed and secreted (**RANTES**), limfotactin, eotaxin, etc.
- Nomenclatura recentă oficială se bazează pe caracteristicile structurale – moleculele de cisteină (C) urmate de L (ligand) și se împart în 4 clase
 - **CL** → receptori pentru chemokine C (1 membru - XCR1)
 - **CCL** → receptori pentru chemokine CC (10/11 membri - CCR)
 - **CXCL** → receptori pentru chemokine CXC (7 membri - CXCR)
 - **CX3CL** → receptori pentru chemokine CX3C (1 membru – CX3CR)

9. Chemokinele



Clasele de chemokine

- **CL** → receptori pentru chemokine C (1 membru - XCR1)
- **CCL** → receptori pentru chemokine CC (10/11 membri - CCR)
- **CXCL** → receptori pentru chemokine CXC (7 membri - CXCR)
- **CX3CL** → receptori pentru chemokine CX3C (1 membru – CX3CR)

7. Chemokinele

Componente	Funcția chemokinelor CC	Componente	Funcția chemokinelor CXC
CCL1 (I-309)	Monocyte, LTregs, limfocite Th2> Th1 Induc migrarea monocitelor și a altor tipuri celulare: celule NK, DC, LT, LB, eozinofile, bazofile; RANTES, MIP-1α și MIP-1β pot reduce infecția HIV	CXCL1 (Groα)	Efecte principale asupra neutrofilelor; efecte ↓ asupra monocitelor, limfocitelor, celulelor endoteliale, bazofilelor și melanocitelor; angiogenice
CCL2 (MCP-1)		CXCL2 (Groβ)	
CCL3 (MIP-1α)		CXCL3 (Groγ)	
CCL4 (MIP-1β)		CXCL4 (PF4)	Inhibă aderarea PMN la celulele endoteliale; anti-angiogenic
CCL5 (RANTES)		CXCL5 (ENA78)	PMN, EC; angiogenic
CCL6 (MRP-1)	LT, LB, macrofage, celule NK	CXCL6 (GCP2)	PMN, EC; angiogenic
CCL7 (MCP-3)	Monocyte, LT, celule NK, eozinofile, bazofile, celule DC	CXCL7 (NAP2)	PMN, EC, mastocite; angiogenic
CCL8 (MCP-2)		CXCL8 (IL-8)	PMN, bazofile, LT citotoxice, EC (adeziunea macrofagică); angiogenic
CCL9/CCL10 (MRP-2)	Monocyte, PMN, LT	CXCL9 (MIG)	Anti-angiogenice LT, celule NK (inhibă EC)
CCL11 (Eotaxin)	Limfocite Th2, eozinofile, bazofile	CXCL10 (IP10)	
...		CXCL11 (I-TAC)	
...			
CCL21(SLC)	LT, LB, celule NK și DC mature		

Studiu de caz

- femeie, 33 ani, anterior sănătoasă, prezintă în ultimele 3 zile vărsături, diaree și simptome de răceală
- în ultimele 24h – durere continuă a brațului drept care nu cedează la acetaminofen; edeme orale – limbă și buze; dispnee
- în urgență i se administrează epinefrină intramuscular
- la internare - agitație, stare de curbatură, febră (38,9 °C);
- la 3 ore de la internare – edem lingual, faringian și al mucoasei bucale, fără limfadenopatii detectabile
- pulmonar: roncusuri difuze; cardiac: normal; abdominal: durere la nivelul hipocodrului stâng
- FC = 110 bpm, Fresp = 22 resp/min, TA = 60/40 mm Hg
- WBC = 21.000/ mm³, 70% Ne
- **Dg. → septicemie meningococică**; tratament → cefalosporine de generația 3, fluide intravenos, oxigenoterapie
- ↑ proteina C reactivă, uree, creatinină
- **Hemocultură: Streptococ alfa hemolitic**

Tratament:

- Imipenem, clindamicină
- Amputație



Șoc toxic



Fig.1. Fotografie a brațului drept care prezintă edem cutanat și subcutanat difuz și semne timpurii de descuamare

Studiu de caz

Sindromul de șoc toxic stafilococic

1. Febră

2. Hipotensiune

3. Implicarea a 3 dintre următoarele organe/sisteme:

- Ficat
- Sânge
- Rinichi
- Membrane mucoase
- Sistem gastrointestinal
- Mușchi
- Sistem nervos central

4. Erupecie maculară difuză cu descuamare

5. Serologie negativă pentru rujeolă, leptospiroză, febra Munților Stâcoși, precum și hemoculturi negative și culturi din LCR negative pentru alte microorganisme decât S. aureus

Sindromul de șoc toxic streptococic

1. Izolarea Streptococilor de grup A din:

- Loc steril pentru un caz definit
- Loc nesteril pentru un caz probabil

2. Hipotensiune

3. Cel puțin 2 dintre următoarele simptome:

- Disfuncție renală
- Implicare hepatică
- Erupecie eritematoasă maculară
- Coagulopatie
- Necroza țesuturilor moi
- Sindrom de disfuncție respiratorie a adultului

Studiu de caz: Relevanța clinică

- **Sindromul de șoc toxic** este o afecțiune cu debut acut, caracterizat prin febră, erupție cutanată și hipotensiune, care pot duce la insuficiență multiplă de organ și șoc letal, dar și la descuamare cutanată la pacienții care se recuperează;
- Boala este cauzată de **superantigene (SAg)** bacteriene secretate de **Stafilococcus aureus** sau **Streptococcus grup A**, care nu sunt recunoscute de celulele prezentatoare de antigen și se leagă direct de moleculele MHC clasa II de pe APC și de regiunile variabile ale lanțului β ale TCR
- Prin aceste interacțiuni, SAg activează limfocitele T cu o magnitudine crescută, mult mai mare decât activarea antigen-specifică, rezultând o eliberare masivă de citokine, care se crede că este responsabilă pentru cele mai multe dintre simptomele severe ale șocului toxic – **furtuna citokinică ("cytokine storm")**
- Consecințele clinice ale șocului toxic indus de bacteriile Gram-pozitive, asociate cu furtuna citokinică, se presupune că rezultă din activarea excesivă a răspunsului imun de tip Th1 la SAg, cu eliberarea sistemică a citokinelor pro-inflamatorii de tipul IL-1, TNF- α și IFN- γ
- **Exemple de SAg:** enterotoxina stafilococică; toxina stafilococică a șocului toxic (TSST-1); exotoxina streptococică pirogenică (exotoxina A și exotoxina B)

Studiu de caz: Relevanța clinică

- Citokinele derivate din limfocitele T joacă un **rol cheie în patogeneza șocului toxic**; rolul patogenetic al **IFN- γ** , citokina caracteristică activării Th1, a fost validat pe șoarecii knockout pentru IFN- γ R, care sunt rezistenți la șocul toxic indus de endotoxină sau de enterotoxina stafilococică B; cu toate acestea, tratamentul cu anticorpi anti-IFN- γ oferă doar protecție parțială;
- Studii recente pe modele animale murine cu șoc toxic au sugerat că **eliberarea citokinelor, inclusiv TNF- α , are loc bifazic**: eliberarea "timpurie" de citokine la interval de 2 ore și eliberarea "tardivă" la 7 ore înainte de deces. Mortalitatea și eliberarea citokinelor la ambele intervale de timp sunt dependente de limfocitele T TCR $\alpha\beta$. Tratamentul preventiv anti-TNF- α poate inhiba răspunsul timpuriu și poate împiedica apariția șocului, dar tratamentele tardive anti-TNF- α nu au efect. Aceste rezultate demonstrează că limfocitele T TCR $\alpha\beta$ sunt critice pentru survenirea decesului în șocul toxic.

Critical Thinking

Într-un model experimental de șoc septic, șoarecii sunt infectați sistemic cu bacilul Calmette-Guerin (BCG), un strain vaccinal non-letal de micobacterii. După 12 zile, șoarecii sunt provocați intra-peritoneal cu doze progresive de lipopolizaharid (LPS). Probele de sânge au fost recoltate la fiecare 2 ore, iar condiția clinică a șoarecilor a fost monitorizată 24 de ore. Experimentele au fost terminate mai devreme în cazul șoarecilor care prezentau discomfort.

1. Care sunt citokinele pe care le-ați măsura în probele de ser la 2 ore?

TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10

2. Care semne clinice ar indica apariția șocului septic?

Lipsa activității fizice, zbârlirea părului, dispnee

3. Care mecanisme contribuie la apariția șocului septic?

BCG activează macrofagele prin infectarea APC și inducerea secreției de IFN γ de către celulele NK și limfocitele T CD4+, care activează macrofagele. LPS stimulează macrofagele prin TLR, astfel încât $\uparrow$ eliberarea de TNF- α și IL-1, care acționează local și sistemic asupra endoteliului vascular, Ne și centrii SNC, inducând hipotensiune și colaps circulator.

MCQs

1. Citokinele nu sunt:

- a. Antigen-specifice
- b. Capabile să activeze mai mult de un singur tip celular
- c. Produse de limfocite
- d. Molecule proteice cu dimensiune mică
- e. Sintetizate *de novo* ca răspuns la antigen sau alte citokine

2. Mai multe citokine pot avea același efect asupra celulelor de care se leagă. Acesta este un exemplu de:

- a. Cascadă
- b. Antagonism
- c. Pleiotropism
- d. Redundanță
- e. Sinergism

MCQs

3. Interferonii:

- a. Activează limfocitele B pentru a produce anticorpi specifici anti-virali
- b. Sunt citokine Th2
- c. Sunt proteine virale care interferează cu activarea limfocitelor T citotoxice
- d. Blochează infecția virală a celulelor gazdei
- ☒ e. Inhibă replicarea virală în celulele infectate

4. O citokină poate avea următoarele roluri, cu excepția:

- ☒ a. Se leagă de receptori care nu au subunități de legare similare
- b. Se leagă de receptori specifici pe aceeași celulă care o produce
- c. Se leagă de receptori antagoniști produși de virusurile patogenice
- d. Competiționează cu alte citokine ale căror receptori prezintă subunități similare de transducere a semnalului
- e. Crește sinteza subunităților de mare afinitate a receptorilor pentru aceeași citokină