57/C41

D. MIȘCALENCU, FLORICA MAILAT, G. SZEGLI,
LĂCRĂMIOARA IVANCIU, CRISTINA BORDEA

CHEMOKINELE BETA (CC)

Editura Universității din București
– 2000 –

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

D. MIȘCALENCU, FLORICA MAILAT,
G. SZEGLI, LĂCRĂMIOARA IVANCIU,
CRISTINA BORDEA

****

CHEMOKINELE BETA (CC)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Bd 228414

D. MIŞCALENCU, FLORICA MAILAT, G. SZEGLI,
LĂCRĂMIOARA IVANCIU, CRISTINA BORDEA

CHEMOKINELE BETA (CC)

EDITURA UNIVERSITĂŢII DIN BUCUREŞTI
2000

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

BIBLIOTECA CENTRALĂ UNIVERSITARĂ
BUCUREŞTI
COTA IV 516819

Referenţi ştiinţifici: Prof. dr. IRINA TEODORESCU
Prof. dr. VIORICA MANOLACHE

B.C.U. Bucureşti
C20013482

© Editura Universităţii din Bucureşti
Şos. Panduri, 90-92, Bucureşti – 76235; Telefon/Fax 410.23.84
E-mail: editura@unibuc.ro
Internet: www.editura.unibuc.ro

Tehnoredactare computerizată: FLORIAN MIHALCEA

Descrierea CIP a Bibliotecii Naţionale
Chemochinele Beta (CC) / D. Mişcalencu, Florica Mailat, G. Szegli ...
Bucureşti: Editura Universităţii din Bucureşti, 2000
Bibliogr.
ISBN: 973-575-472-X

I. Mişcalencu, Dumitru
II. Mailat, Florica
III. Szegli, Geiza Adalbert

578.24(075.8)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CUPRINS

PREFAŢĂ 7
CHEMOKINELE MIP (Macrophage Inflamatory Protein) 9
CHEMOKINA RANTES (Regulated on Activation Normal T cell Expressed and Secreted) 14
- Receptorii CC 14
- Activarea chhemokinei RANTES 16
- RANTES şi virusurile 18
- Chemokina RANTES în diferite afecţiuni 21

CHEMOKINA EOTAXIN 27
- Celulele în care se exprimă eotaxin 31
- Factorii care afectează eotaxin 31
- Eotaxin în diverse afecţiuni 34
- Eotaxin în infecţii virale 36

EOTAXIN-2 37
CHEMOKINELE MCP (Monocyte Chemotactic Protein) 43
- MCP-1 43
- MCP-2 60
- MCP-3 63
- MCP-4 67

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

PREFAȚĂ

În intenția de a facilita cunoașterea de noi informații privind descoperirea unor molecule cu rol important în chemtaxisul celular în condiții normale și în procese inflamatorii, în lucrarea de față am sintetizat numeroase aspecte ce vizează chemokinele CC (beta). Astfel, chemokinele MIP (Macrophage Inflammatory Protein) sunt molecule mici (8kD), care activează monocitele având, de asemenea, o marcată influență asupra osteoblastelor, neutrofilelor și limfocitelor T. Chemoatracția este posibilă datorită prezenței unor receptori de pe suprafața acestor celulele, receptori asupra cărora acționează chemokinele ce manifestă astfel chemotactism.

Din această familie de chemokine beta (CC), pe lângă MIP face parte și chemokina RANTES (Regulated on Activation Normal T cell Expressed and Secreted), frecvent întâlnită în țesuturile inflamate ale căilor respiratorii (astm, fibroză chistică, alergie la polen), în cheratinocitele psoriazice unde atrage eozinofilele, limfocitele T și monocitele.

O altă chemokină beta este eotaxin, care deși specifică pentru eozinofile este chemoatractantă și pentru alte tipuri celulare. Lezarea mucoasei bronhice în astm induce sinteza de eotaxin ceea ce atrage infiltrarea eozinofilelor, proces mediat de CCR3. La locul inflamației, leucocitele pot penetra prin schimbarea formei, ceea ce presupune rearanjarea citoscheletului lor. Acesta este un proces dinamic care duce la polarizarea celulelor, aspect esențial pentru migrarea acestora din microcirculație, la locurile inflamate. Eozinofilia este influențată de molecule cum sunt selectinele, ICAM-1, VCAM-1 și VLA, implicate în migrarea leucocitelor.

Chemokinele CC și îndeosebi receptorii lor (CCR) intervin și în infecțiile virale. Interesant este faptul că acești receptori sunt, în același timp, coreceptori cu CD4 în cazul infecției cu HIV pe care astfel o pot bloca.

Din aceeași subfamilie cu eotaxin fac parte și chemokinele MCP-1, -2, -3, -4 care sunt induse de reglatori precum IL-1beta, TNF-alpha, IFN-gamma și LPS ce intervin diferit pentu fiecare chemokină pe care o reglează. Așa numitele citokine proinflamatorii stau la baza stimulării sintezei chemokinelor, care la rândul lor vor declanșa chemotaxisul diferitelor tipuri celulare implicate în apărare.

În limitele datelor existente, lucrarea informează asupra structurii moleculelor de chemokine, asupra genei codificante și asupra receptorilor corespunzători.

Există numeroase tipuri celulare care dețin capacitatea de a sintetiza chemokine, astfel încât acestea devin detectabile în țesuturile afectate de alergii, infecții (bacteriene, virale, fungice) sau de parazitoze.

Majoritatea datelor prezentate în lucrare vizează afectarea mucoasei bronhice și epiteliului respirator pulmonar, dar nu mai puțin interesante sunt și datele care relevă faptul că și celulele tumorale pot sintetiza chemokine atractante pentru populațiile celulare implicate în apărare.

AUTORII

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CHEMOKINELE MIP

(Macrophage Inflammatory Protein)

Chemokinele CC MIP activează principalmante monocitele umane. MIP-1alpha este o proteină de 8kD elaborată de diferite tipuri celulare precum macofagele, celulele endoteliale, limfocitele şi osteoblastele. De fapt, chemokina este prezentă în diverse ţesuturi în care se exprimă citokinele proinflamatorii, ea atrăgând astfel diferite celule. Joacă un rol important în hematopoieză limitând parţial diferenţierea timpurie a seriilor celulare din măduva osoasă.

S-a demonstrat că IL-1beta şi/sau TNF-alpha stimulează celulele osteoblast-like umane, care produc rapid mRNA MIP-1 alpha şi cantităţi importante de proteină. Se sugerează că aceste celule produc MIP-1 alpha şi in vivo pentru a susţine hematopoieza în ariile medulare în care osteoblastele şi celulele hematopoietice sunt intim asociate (1).

Macrofagele medulare murine tratate cu GM-CSF şi IL-3 exprimă nivele înalte de MIP-1 alpha şi alte chemokine şi receptorii lor. După tratamentul cu GM-CSF, macrofagele arată o creştere marcată a nivelelor mRNA MIP-1 alpha şi de proteină, creştere similară indusă şi de IL-3. Ambele citokine produc, de asemenea, şi creşterea cantităţilor de MIP-1 beta, MCP-1 şi MCP-3.

GM-CSF stimulează şi sinteza receptorului CCR1, dar nu a CCR5. La suprafaţa celulelor medulare tratate cu GM-CSF se constată creşterea numărului receptorilor CCR1. Se sugerează ideea că cele două citokine (GM-CSF şi IL-3) pot fi implicate în mecanismele care reglează nivelele expresiei proteinei MIP-1 alpha şi a receptorilor săi (2). TNF-alpha, o citokină stimulatoare a multor chemokine, influenţează atât proteina MIP-1 alpha cât şi proteina receptorului MIP-1 alpha subtipul CCR5 (3).

Adeziunea progenitorilor hematopoietici la fibronectină via activării integrinelor alpha-4 beta-1 şi alpha-5 beta-1 este superior reglată de factori de creştere cum sunt SCF, GM-CSF şi trombopoietina. MIP-1 alpha modulează fenotipul de adeziune a progenitorilor, care însă, provenind din diferite surse sau având diferite stadii de evoluţie şi afinităţi pentru integrine expresia receptorului său (R-MIP-1) afectează diferit migrarea celulelor (4).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

MIP-1 alpha de la şobolan este o chemokină puternic atractantă pentru neutrofile atât in vivo cât şi in vitro la concentraţia de 3x10(-8) moli; la concentraţie mai scăzură are potenţă mai redusă decât CINC-1 (Cytokine-Induced Neutrophil Chemoatractant-1). Stimularea neutrofilelor cu MIP-1 alpha induce,în funcţie de doză, creşterea tranzitorie a calciului liber intracelular. Se sugerează că la şobolan, MIP-1 alpha laolaltă cu CINC joacă un rol important în infiltrarea neutrofilelor la locul inflamaţiei fiind chemoatractante pentru neutrofile (5).

MIP-1 alpha atrage in vitro monocite şi limfocite T exprimându-se la locul inflamat. Biopsiile prelevate de la subiecţii cărora li s-a injectat i.d. doze de până la 1.000pm de MIP-1 alpha la două, 10 şi 24 ore, arată activarea celulelor endoteliale exprimată prin selectina E. Ca şi in vitro, infiltrarea monocitelor şi limfocitelor, mai puţin a eozinofilelor, atinge un maximun la 10 şi respectiv 24 ore.

În contrast cu absenţa activării in vitro a neutrofilelor, in vivo are loc o rapidă infiltrare (sub 2ouă ore), precedeând apariţia celorlalte tipuri celulare şi atingând maximum la 10 ore. Neutrofilele din sângele integral, dar nu cele izolate, exprimă pe suprafaţa lor CCR1; se crede că acest receptor este funcţional numai după reglarea neutrofilelor CD11b ulterioară stimulării sângelui integral cu MIP-1 alpha.

În concluzie, efectele biologice ale MIP-1 alpha asupra monocitelor şi limfocitelor T se exprimă şi pe neutrofile în procesele de inducere a infiltrării lor tisulare şi în activarea celulelor endoteliale, procese necesare evaluării in vivo a chemokinelor umane (6).

Ipoteza că acţiunea peroxinitritului format în urma reacţiei dintre oxidul nitric şi superoxid, poate regla funcţia citokinelor în timpul inflamaţiei este testată prin răspunsul chemotaxic al neutrofilelor şi monocitelor la MIP-1 alpha. Tratarea cu peroxinitrit reduce cuplarea chemokinei la aceste două tipuri celulare detectându-se în acelaşi timp şi nitrotirozina, date congruente cu nitrararea tirozinei de către peroxinitrit urmată de inhibarea ulterioară a cuplării MIP-1 alpha la aceste celule (7).

Sindromul hemofagocitic (HPS) este determinat de activarea sistemică a macrofagelor stimulate să fagociteze. Chemokinele au rol important în recrutarea în ţesuturi a celulelor inflamatorii. Astfel, în limfomul periferic cu celule T, în limfomul nazal T/NK, în cel subtegumentar asemănător paniculitei şi în infecţia cronică cu EBV, MIP-1 alpha şi IFN-gamma se exprimă la nivele înalte comparativ cu ţesuturile de control, în timp ce factorul chemoatractant derivat din macrofage nu se exprimă..

MIP-1 alpha poate promota chemotaxisul macrofagelor, iar IFN-gamma, activarea acestora. Deci, exprimându-se în ţesuturile afectate de HPS chemokina MIP-1 alpha are un rol important (8).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

În patogeneza bolii Alzheimer ce presupune procese inflamatorii, microglia şi astrocitele exprimă amplificat receptorii chemokinelor beta CCR3 şi CCR5. Se apreciază că nivelul crescut al acestor receptori vizează liganzii MIP-1 beta, MIP-1 alpha, RANTES, eotaxin şi MCP-3, cu menţiunea că MIP-1 beta este predominantă în populaţia de astrocite reactive. Detectarea receptorilor chemokinelor beta şi ai liganzilor lor pe microglie, astrocite reactive şi neuroni, sugerează rolul acestui sistem în interelaţiile nevroglie-nevroglie şi nevroglie-neuroni, care evident, influenţează progresia bolii Alzheimer (9).

S-au analizat în cazul demielinizării experimentale la şobolani, chemokinele IP-10, MIP-1 alpha, MCP-1 şi RANTES, dar şi limfocitele T reactive, proteina bazică a mielinei, astrocitele şi microglia. Analizele cantitative relevă că astrocitele activate care reprezintă nevroglia dominantă în sistemul nervos central au nivele înalte de transcripţie în comparaţie cu transcriptele citokinelor proinflamatorii majore TNF-alpha şi IFN-gamma (10).

HTLV-1 codifică proteina tax de 40kD, importantă în imortalizarea limfocitelor T. MIP-1 alpha, este selectiv exprimată şi secretată în linia Jurkat transfectată cu tax, după stimularea cu mitogeni. Expresia mRNA MIP-1 alpha-R în aceste celule supresează rolul autocrin al chemokinei în limfocitele T infectate cu HTLV-1. Expresia şi secreţia indusă de MIP-1 alpha în celulele Jurkat transfectate cu Tax şi stimulate cu PMA/PHA se corelează cu noninducţia factorului de transcriere MNP-1 care este profund implicat în scăderea modulării genei MIP-1 alpha (11).

CCR5 este un co-receptor major pentru HIV-1; el cuplează MIP-1 alpha, MIP-1 beta şi RANTES care sunt potenţi inhibitori ai replicării HIV intervenind important în patofiziologia SIDA (12).

Maimuţelor Cynomolgus macaques li s-a inoculat i.v. izolat patogen de clonă moleculară SIV mac 251 sau SIV mac 251 atenuat deletat de nef, stabilindu-se astfel două grupe de animale la care producţia spontană de MIP-1 alpha, MIP-1 beta şi RANTES s-a măsurat cu ELISA: grupul infectat cu clona SIV-nef deletat care arată o semnificativă reducere cantitativă a virusului şi o acumulare mai scăzută de limfocite în plămâni, comparativ cu grupul infectat cu izolatul SIV mac 251. Comparativ, cu nivelele preinfecţioase s-a constatat în cele două grupe de animale, la vârful viremiei, o creştere a nivelului RANTES, MIP-1 alpha, MIP-1 beta. La grupul care a primit virus atenuat s-a constatat o amplificare a producţiei de MIP-1 alpha (13).

Printre chemokinele secretate de celulele gliale activate, chemokine care au rol dominant în apariţia răspunsului inflamator al sistemului nervos central sunt şi MIP-2 şi MCP-1. Experimentele efectuate pe celulele C6 tratate cu TAU-Cl (taurine monocloramine) arată că în primele 4 ore apare inhibiţia producţiei de mRNA al celor două chemokine, printr-un mecanism post-trascripţional (14).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Adăugată la culturi de PBMC activate cu LPS sau PMA, MIP-3 induce, în funcţie de doză, amplificarea semnificativă a producţiei de IL-10, efect absent când în cazul adausului de MCP-1, RANTES, MIP-1 alpha, MIP-1 beta (chemokine CC) sau liganzi de hCC7.

Amplificarea producţiei de IL-10 de către MIP-3 beta se corelează cu inhibarea producţiei de către monocite a IL-12, p40 şi TNF-alpha, dar şi cu afectarea producţiei de către limfocitele T a IFN-gamma.

Abilitatea MCP-3 beta de a creşte producţia de IL-10 se corelează, de asemenea, cu expresia mRNA CCR7 şi cu stimularea mobilizării calciului intracelular atât în monocite cât şi în limfocitele T. Se sugerează că această chemokină acţionează direct pe mononuclearele umane (monocite şi limfocite T) şi că este unică printre liganzii ce cuplează la R-CC, datorită abilităţii ei de a modula activitatea inflamatorie via producţiei amplificate de citokină anti-inflamatorie IL-10 (15).

1. Taichman RS. Reilly MJ. Matthews LS. Human osteoblast-like cells and osteosarcoma cell lines synthesize macrophage inhibitory protein-1 alpha in response to interleukin-1 beta and tumour necrosis factor alpha stimulation in vitro. Br. J. Haematol,, 2000, 108 (2), 275-83.
2. Jarmin DI. Nibbs RJ. Jamieson T. de Bono JS. Graham GJ. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor and interleukin-3 reglate chemokine and chemokine receptor expression in bone marrow macrophages. Exp.Hematol., 1999, 27 (12), 1735-45.
3. Durig J. Testa NG. Lord BI. Kasper C. Chang J. Telford N. Dexter TM. Heyworth CM. Characterization of the differential response of normal and CML haemopoietic progenitor cells to macrophage inflammatory protein-1 alpha. Leukemia, 1999, 13 (12), 2012-22.
4. Svehiro Y. Muta K. Umemura T. Abe Y. Nishimura J. Nawata H. Macrophage inflammatory protein- 1 alpha enhances in a different manner adhesion of hematopoietic progenitor cells from bone marrow, cord blood, and mobilised peripheral blood. Exp. Hematol., 1999, 27 (11), 1637-45.
5. Takano K. AL-Mokdad M. Shibata F. Tsuchiya H. Nakagawa H. Rat macrophage inflammatory protein-1 alpha, a CC chemokine, acts as a neutrophil chemoattractant in vitro and in vivo. Inflammation, 1999, 23 (5), 411-24.
6. Lee SC. Brummet ME. Shahabuddin S. Woodworth TG. Georas SN. Leiferman KM. Gilman SC. Stellato C. Gladue RP. Schleimer RP. Beck LA. Cutaneous injection of human subjects with macrophage inflammatory protein-1 alpha 2 induces significant recruitment of neutrophils and monocytes. J. Immunol., 2000, 164 (6), 3392-401,
7. Sato E. Simpson KL. Grisham MB. Koyama S. Robbins RA.. Inhibition of MIP-1 alpha-induced human neutrophil and monocyte chemotactic activity by reactive oxygen and nitrogen metabilites. J. Lab. Clin. Med., 2000, 135 (2), 161-9.
8. Teruya-Feldstein J. Setsuda J. Yao X. Kingma DW. Straus S. Tosato G. Jaffe ES. MIP-1 alpha expression in tissues from patients with hemophagocytic syndrome. Lab. Invest., 1999, 79 (12), 1583-90.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

9. Xia MQ. Qin SX. Wu KJ. MacKay CR. Hyman BT. Immunohistochemical study of the beta-chemokine receptors CCR3 and CCR5 and CCR5 and their ligands in normal and Alzheimer's disease brains. Am. J. of Pathology, 1998, 153 (1), 31-7.
10. Sun D. Hu X. Liu X. Whitaker JN. Walker WS. Expression of chemokine genes in rat glial cells; the effect of myelin basic protein-reactive encephalitogenic T cellls. J.of Neuroscience Research, 1997, 48 (3), 192-200.
11. Sharma V. May CC. Human T-cell lymphotropic virus type-1 tax gene induce secretion of human macrophage inflammatory protein-1 alpha. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1999, 262 (2), 429-32.
12. Kumar D. Parato K. Kumar A. Sun E. Cameron DW. Angel JB. Sustained suppression of plasma HIV RNA is associated with an increase in the production of mitogen-induced MIP-1 alpha and MIP-1 beta. AIDS Res. Hum. Retroviruses, 1999, 15 (12), 1073-7.
13. Caufour P. Le Grand R. Cheret A. Neildez O. Theodoro F. Boson B. Vaslin B. Dormont D. Secretion of beta-chemokines by bronchoalveolar lavage cells during primary infection of macaques inoculated with attenuated nef-deleted or pathogenic simian immunodeficiency virus strain mac 251. J.of General Virology, 1999, 80 (3), 767-76.
14. Liu Y. Schuller-Levis G. Quinn MR. Monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage inflammatory protein-2 production is inhibited by taurine chloramine in rat C6 glioma cells. Immunol. Lett., 1999, 70 (1), 9-14.
15. Byrnes HD. Kaminski H. Mirza A. Deno G. Lundell D. Fine JS.. Macrophage inflammatory protein-3 beta enhances IL-10 production by activated human peripheral blood monocytes and T cells. J. Immunol., 1999, 163 (9), 4715-20.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Chemokina RANTES

(Regulated on Activation Normal T cell Expressed and Secreted)

Chemokina RANTES este chemoatractantă pentru eozinofile, limfocite (fenotipul cu memorie) şi pentru monocite. Este un polipeptid de 60 reziduuri de aminoacizi, fiind membru al subfamiliei chemokinelor beta. RANTES sintetizat, cu puritate stabilă nu este diferit de RANTES uman recombinant, din punct de vedere imunochimic şi funcţional. Rantes şi analogii săi- Rantes (3-68)- s-au folosit ca substrat în studiul procesării mediate de dipeptidil-peptidaza IV (CD26), urmărindu-se efectul lor asupra receptorilor (1).

În contrast cu RANTES natural intact (1-68.) care este chemoatractant pentru monocite la 10 ng/ml, RANTES (3-68) trunchiat CD26/DPP IV este inactiv la 300 ng/ml acţionând ca un inhibitor chemotactic natural, comparativ cu RANTES intact. Numai o concentraţie de 10 ori mai mare de RANTES 3-68) induce un răspuns semnificativ al Ca^{2+}. Cu toate acestea, RANTES (3-68) inhibă infectarea mononuclearelor cu o specie HIV-1 (Macrofag-tropică), de 5 ori mai eficient decât RANTES intact. Astfel, procesarea proteolitică a chemokinei pe CD26/DPP IV poate constitui un mecanism reglator important în tipul de răspuns anti-inflamator şi anti-viral (2).

Receptorii CC

Cum s-a menţionat, chemokinele joacă un rol limportant în atragerea granulocitelor la locurile inflamate. În timp ce chemokinele din subfamilia alpha (CxC) cum este şi IL-8 atrag preferenţial neutrofilele, cele din subfamilia beta (CC) cum sunt RANTES şi eotaxin, atrag preferenţial eozinofilele. IL-8 induce chemotaxisul eozinofilelor chiar şi după prelucrarea prealabilă cu citokinele Th1 şi Th2-like. În contrast cu neutrofilele, eozinofilele şi limfocitele, nu exprimă mRNA CxCR1 şi CxCR2, ceea ce stopează in vivo influxul lor către locurile inflamatorii alergice (3). Chemokinele contribuie astfel la recrutarea selectivă a celulelor.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Chemokinele provenite din macrofage induc chemotaxisul celulelor dendritice, al monocitelor şi al celulelor NK, cuplând exclusiv la CCR4 şi niciodată la CCR1,2,3,5,6,7. Eozinofilele nu exprimă mRNA CCR4 fiind atrase în consecinţă, de chemokinele CC ale macrofagelor, prin alţi receptori (4).

Concentraţii înalte de RANTES cresc infecţiozitatea izolatelor HIV-1 care folosesc pentru intarea lor în celulă, chemokinele CxC. Totuşi, RANTES are efecte amplificatorii similare asupra virusului macrofagotropic care intră în celulă via CCR5. Chemokina amplifică infecţiozitatea HIV-1 pseudotipat cu anvelopa glicoproteică a virusului leucemiei murine sau a virusului stomatitei veziculare, sugerând că mecanismul amplificării este independent de rata fuziunii virus-celulă. Modificarea derivatului aminooxipentan RANTES-(AoP-Rantes) în N-terminal, inhibă eficienţa infecţiei cu HIV-1 via CCR5 (5).

CCR5 şi CCR3, receptori ai chemokinelor CC, sunt coreceptori de fuziune pentru intrarea HIV-1 în macrofage. Reglarea expresiei lor influenţează infecţia cu HIV; astfel, IFN-gamma, citokină cu efect bidirecţional pentru infecţia cu HIV a macrofagelor, suprarreglează semnificativ expresia de suprafaţă a celor doi receptori în fagocitele mononucleare umane izolate din sângele cordonului ombilical şi din sângele periferic al adultului.

Monocitele tratate cu IFN-gamma manifestă chemotaxis crescut la liganzii pentru CCR5, MIP-1alpha şi MIP-1beta, confirmând relevanţa funcţională a expresiei CCR5 indusă de IFN-gamma. Totuşi, IFN-gamma supresează intrarea HIV în macrofage, deoarece inhibă expresia de suprafaţă a CD4-receptor major pentru HIV-, ceea ce poate explica efectul supresiei exercitată de IFN-gamma asupra intrării HIV în macrofage, în ciuda efectului său asupra expresiei CCR5 şi CCR3 ai acestor celule. În plus, secreţia de către fagocitele mononucleare de chemokine CC (RANTES, MIP-1alpha şi MIP-1 beta) indusă de IFN-gamma supresează, de asemenea, intrarea HIV în macrofage (6). Olbrich H. şi colab. (7) arată că CCR5 mediază şi activitatea limfocitelor T şi macrofagelor via chemokinele CC, fiind în acelaşi timp, coreceptor major pentru tulpina HIV-1 macrofag-tropică.

Liganzii RANTES naturali pentru CCR5 (MIP-1alpha şi MIP-1beta) şi modificările NH2-terminal al RANTES (Met-RANTES, AOP-RANTES) diferă semnificativ în abilitatea de a induce sechestrarea CCR5 de la suprafaţa celulelor.Aceste observaţii pot conta pentru diferenţele existente între aceste molecule privind inhibarea infecţiozităţii in vitro.

Mecanismele reglatoare timpurii iniţiate de cuplarea ligandului la CCR5 sunt implicate în endocitoza receptorului; de aici, o eventuală nouă strategie terapeutică pentru prevenirea infecţiei cu HIV (7).

Inocularea i.v. a 4 exemplare de Macacus cynomologus cu SIVmac251 induce amplificarea expresiei mRNA CCR1/CCR5 în ţesuturile animalelor. Expresia mRNA CCR5 şi RANTES este privită în contextul răspunsului

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

inflamator şi imun la infecţia cu acest virus. S-a demonstrat că CCR1 care este receptor pentru RANTES nu este coreceptor pentru infectarea cu SIV/HIV (8).

Expresia variatelor chemokine şi receptorilor lor este crescută în creierul afectat de encefalită HIV, particular în ariile de reacţie microglială unde se formează noduli microgliali. Pe de altă parte, prezenţa chemokinelor pe neuroni presupune implicarea acestora în patogeneza neurologică a pacienţilor cu SIDA. Astfel, CCR5-receptorul chemokinelor CC- a fost detectat numai pe macrofage/microglie, iar CCR3 şi CCR1 pe macrofage şi pe celulele endoteliale. Studiile in vitro demonstrează prezenţa CCR3, CCR5 şi CCR4 pe neuronii şi microglia creierului uman infectat cu HIV (9).

Tratate cu IFN-gamma, PMN migrează către chemokinele CC, exprimând locuri specifice de cuplare pentru RANTES, MCP-3, MIP-1alpha, MIP-5/HCC2 şi eotaxin. Anticorpul monoclonal 7B11 anti-CCR3 inhibă răspunsul chemotaxic al acestor celule la eotaxin, iar aminooxipentan-RANTES, le blochează migrarea spre RANTES. Se sugerează că selectivitatea unor chemokine pentru celulele ţintă poate fi alterată de citokine produse într-un context inflamator. De aceea, PMN pot juca un rol în orientarea imunologică a răspunsului Th1, cât şi în reorientarea semnificativă a funcţiei citokinelor efector Th2 (10).

Activarea chemokinei RANTES

Activarea transcripţională a hRANTES stimulată de LPS este dependentă de elemente reponsive specifice, AP-1 şi NF-kB care , la rândul lor, sunt reglate de c-jun, JNK (N-terminal kinază) şi respectiv, de NF-kB kinază. S-au analizat macrofagele care reprezintă "ţinte" ale poluanţilor mediului, deoarece intervin în inflamarea alergică prin inducţia, de către LPS şi quinone redox-active, a mRNA RANTES.

Activarea transcripţională a locului TRE (Tetradecanoyl phorbol acetate Response Element) este mediată de activarea transcripţională a c-jun de către JNK. O mutantă c-jun căreia îi lipseşte domeniul activării transcripţionale, interferă cu activarea promotorului RANTES. Similar, NF-kB kinaza inactivă, interferă cu activitatea acestui promotor. Activarea acestora ar putea fi blocată de kinazele aval de kinaze-inactive I kappa B (inhibitor al NF-kB) şi numai LPS par să fie I kappa alpha inductibil. Quinona redox-activă are efect subtil pe promotorul hRANTES şi induce expresia mRNA în paralel cu complexele care generează NF-kB (11).

S-a urmărit dacă factorul de transcriere NF-kB este activat în celulele epiteliului pigmentar al retinei umane (hRPE) ca răspuns la IL-1beta. TNF-alpha sau IFN-gamma, singure sau combinate şi dacă expresia genelor pro

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

inflamatorii induse de aceste citokine, poate fi blocată de inhibitorul proteosom MG-132 care inhibă degradarea I kappa B prevenind astfel translocarea nucleară a NF-kB..

Singure,TNF-alpha şi IL-1beta, dar nu IFNgamma, determină degradarea lui i-kB, translocarea nucleară a Rel-A şi activitatea crescută de cuplare a NF-kB DNA, efecte blocate prin pretratarea cu MG-132. Acesta represează expresia mRNA MGSA/GROalpha, RANTES, MCP-1, IL-1beta, M-CSF şi ICAM-1, dar şi secreţia proteinelor RANTES, MCP-1, M-CSF şi ICAM-1 la suprafaţa celulelor, secreţie indusă de IL-1beta şi TNF. Deci, ultimele două citokine induc în celulele hRPE, pe o cale de transducţie a semnalelor dependentă de NF-kB, expresia citokinelor pro inflamatorii efect blocat de MG-132, care previne astfel degradarea I-kB..

Inhibarea NF-kB poate fi o strategie pentru tratarea vitroretinopatiilor proliferative şi afecţiunilor oculare iniţiate şi perpetuate prin activarea citokinelor (12).

Rezoluţia inflamaţiei acute este incomplet elucidată, necesitând probabil, eliminarea celulelor inflamatorii şi producţia de citokine inflamatorii. În cazul celulelor inflamatorii produse de măduva osoasă hematogenă (granulocite, monocite), scurtarea duratei vieţii acestora ar contribui atât la eliminarea lor cât şi a citokinelor pe care le elaborează. În contrast cu acestea, celulele permanent rezidente în măduvă, aşa cum sunt fibroblastele, reclamă alte mecanisme pentru stoparea producţiei de chemokine generate ca răspuns la ţintele inflamatorii printre care şi LPS.

Rel-B este un reglator important al expresiei chemokinelor în fibroblaste având un rol cheie în rezoluţia inflamaţiei acute. Totuşi, fibroblastele Rel-B-/- stimulate, induc dramatic chemokinele RANTES, MIP-1alpha, MIP-1beta, MIP2, IP-10, JE/MCP-1 şi KC/CINC. Superexpresia persistentă a acestora se corelează cu creşterea cuplării NF-kB şi cu expresiei p50, p65/Rel-A şi ik-B alpha

Transfecţia cDNA Rel-B în fibroblastele deficiente în Rel-B reversează superexpresia chemokinei indusă de LPS. In vivo, fibroblastele Rel-B-/- activate cresc dramatic necesarul de granulocite în ţesuturi. Rel-B intervine în rezoluţia inflamaţiei acute a ţesuturilor, find necesar în iniţierea răspunsurilor imune prin diferenţirea celulelor prezentatoare de antigen. Astfel, el poate fi important în reglarea tranziţiei către imunitatea adaptativă (13).

RANTES este o chemokină importantă în generarea infiltratului inflamator şi intrării HIV-1 în celulele sistemului imunitar, dar se exprimă numai la 3-5 zile după activarea limfocitelor T. În plus, s-a descoperit un factor de transcriere T "târziu" –RF-LAT-1- (Rantes Factor Late Activated T) fosforilat la zinc finger, factor care se exprimă în limfocitele T după 3 zile de

BIBLIOTECA CENTRALĂ UNIVERSITARĂ

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

activare, coincizând cu expresia RANTES. În timp ce proteina Rel joacă un rol dominant în expresia genei RANTES în fibroblaste, RF-LAT-1 este un puternic transactivator pentru RANTES în celulele T (14).

RANTES şi virusurile

Chemokinele CC produse de limfocite sunt considerate factori supresori ai HIV-1. Astfel, s-a constatat că limfocitele T citotoxice (CTL) CD8+ sau mononuclearele sângelui periferic al subiecţilor infectaţi cu HIV-1 prezintă nivele crescute de RANTES. Activitatea citolitică se exprimă şi după adausul de chemokină. Chemokinele MCP-3, MCP-4 şi eotaxinul acţionează similar cu RANTES, în timp ce MIP-1alpha, MIP-1beta, MCP-1 şi factorul derivat din celulele stromale sunt inactive, sugerând intervenţia receptorului eotaxin CCR3 şi excluzând implicarea receptorilor CCR1, CCR2, CCR5 şi CxCR4.

Activitatea CTL abrogată de un anticorp care blochează CCR3 arată că lizarea specifică se realizează prin acest receptor. Este astfel relevat un mecanism care induce citotoxicitatea specifică HIV, dependent de activitatea RANTES via CCR3 (15).

O formă naturală de RANTES uman lipsit de două reziduuri N-terminal de aminoacizi, a fost izolată din celulele sarcomatoase stimulate, din fibroblaste şi din leucocite. RANTES S (3-68) reduce de 10 ori mai mult potenţialul chemotactic pentru monocite şi eozinofile. În celulele transfectate cu CCR5, coreceptor major pentru speciile de HIV cu tropism pentru macrofage, RANTES (3-68) este ineficient asupra transfecţiei CCR1 şi CCR3. Chemotaxisul monocitelor este inhibat de RANTES (3-68) care inhibă RANTES (1-68), MIP-1alpha sau MCP-3, dar chemotaxisul indus de MCP-1 sau MCP-2 nu este inhibat. Asfel, o modificare minoră post-translaţională are un impact remarcabil asupra activităţii biologice a lui RANTES. De asemenea, o stare patofiziologică care induce schimbări în cantitatea de RANTES intact sau trunchiat, poate afecta rezultatul inflamaţiei sau infecţiei cu HIV (16).

Toate izolatele HIV pot creşte uşor în limfocitele T primare CD4+ şi se disting prin abilitatea de a se replica în macrofage şi în liniile de celule T stabilizate. Macrofagele virus-tropice, în general nu induc sinciţi în culturi celulare, în timp ce limfocitele T virus-tropice induc. Infecţia limfocitelor T CD4+ cu virusul care nu induce sinciţii (NSI) sau induce sinciţii (SI) are efect diferit asupra producţiei de chemokine beta şi IFN-gamma. Infecţia cu virusul NSI creşte producţia de MIP-1alpha, MIP-1beta şi IFN-gamma, pe când cea cu virus SI nu are efect sau chiar scade producţia acestora. În schimb, producţia de RANTES este uşor crescută în ambele cazuri. Acest efect diferit al celor două variante se evidenţiază la nivelul mRNA al chemokinelor beta, ca şi la nivelul expresiei proteinei. Infectarea cu NSI creşte proliferarea celulelor T CD4+ (17).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Într-un model experimental de infectare a endoteliului cu CMV (citomegalovirus) apar stimuli inflamatori, printre care şi RANTES care se cuplează la suprafaţa celulei endoteliale stimulând influxul de calciu în etapa târzie a infecţiei. La 96 ore post-infecţie, celulele infectate exprimă mRNA receptorului chemokinei CC codificat CMV-US28, dar nu exprimă mRNA altor receptori, cum sunt cei care leagă RANTES (CCR1, CCR4, CCR5). Prin expresia receptorului US28, CMV poate utiliza proteina G rezidentă în celulele infectate (18).

Vectorii amplicon HSV (Herpes Simplex Virus) exprimă chemokina RANTES (HSV-RANTES) şi ligandul B7,1 costimulator al limfocitelor T (HSV-B7,1). Inocularea în tumorile EL4 a celui din urmă, numai a HSV-RANTES sau combinaţiei acestora, duce la completa regresie a tumorilor implantate şi/sau injectate, în timp ce tumorile de control sau cele infectate cu HSV care exprimă beta-galactozidaza, nu regresează (19).

În vederea analizei capacităţii mediatorilor imunologici stimulaţi şi nestimulaţi, s-au studiat linii de celule epiteliale vaginale, de ecto-şi endocol uterin imortalizate cu HPV16/E6, E7. Astfel, celulele endocolului exprimă caracterul epitelial columnar simplu iar cele ale exocolului şi vaginale exprimă caracterul epiteliului scvamos stratificat necheratinizat. În absenţa stimulării, toate 3 liniile produc în mod constant M-CSF, TGF-beta-1, IL-8, PGE2, leucoproteinază secretorie inhibitoare şi receptori polimerici ai imunoglobulinelor. Linia celulelor endocolului produce citokinele limfoproteinice IL-6, IL-7 şi nivele detectabile apreciabile de chemokină RANTES.

Stimularea cu citokinele exogene IFN-gamma şi TNF-alpha induce sau hiperreglează semnificativ expresia în toate 3 liniile a IL-6, IL-8, RANTES, M-CSF, antigeni MHC clasa II , iar pe membrană, expresia ICAM-1. Reiese că celulele epiteliale ale tractului genital inferior feminin participă la funcţiile imunologice carè variază în diferitele segmente ale acestuia şi, de asemenea, că activitatea lor este reglată de citokine pro inflamatorii (20).

În coriomeningita limfocitică, infecţie fatală a sistemului nervos central provocată la şoareci, la nivelul creierului se constată în ziua a 3-a, expresia genelor chemokinelor IP-10, RANTES, MCP-1, MIP-1beta şi MCP-3. În această afecţiune sunt profund influenţate fenotipul caracteristic şi răspunsul leucocitelor în creier contribuind la imunopatogeneza ei (21).

Producţia atât localizată cât şi sistemică de citokine în celulele infectate cu virus, joacă un rol important în patogenitate şi în activarea factorilor reglatori ai IFN (IRF) care este un mediator critic al transcrierii genelor citokinelor. Produsul genei IRF-3, de 55kD este un reglator transcripţional direct al activării IFN-alpha şi IFN-beta (IFN tip 1), în răspunsul la infecţia virală. Infecţia induce fosforilarea IRF-3 pe reziduurile de serină specific C-terminal, permiţând

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

translocaţia din citoplasmă în nucleu a IRF-3, activarea cuplării la DNA, transactivarea potenţială şi asocierea cu coactivatorul CBP/p300.

Transcrierea genei RANTES endogene umane este indusă direct în celulele care exprimă tetraciclin-inducible IRF-3 (5D) sau în cele infectate cu paramixovirus. Mutanta IRF-3 dominant negativă inhibă expresia proteinei RANTES indusă de virus. Mutageneze specifice pe situri ISRE-like localizate între nucleotidele –123 şi –96 în promotorul RANTES reduc activarea dependentă de IRE-3 indusă de virus (22).

Chemokinele şi celulele gliale

Microgliile- macrofage rezidente în sistemul nervos central- sunt celule primare care răspund la injuria creierului (inflamaţii, scleroze, traume). Chemokinele sunt potenţiali mediatori ai microgliei prelevată de la locul injuriei, migrând ca răspuns la atracţia exercitată de MCP-1, MCP-1alpha, MCP-1beta, RANTES, IL-8 şi IP-10 (IFN-gamma inducible protein-10). Toate aceste citokine induc schimbări în distribuţia filamentelor de actină din microglia şobolanilor adulţi şi din linia de microglie umană CHME-3 in vitro. Ambele tipuri de celule răspund prin migrarea semnificativă, dincolo de nivelul de control, la toate citokinele testate, în manieră dependentă de doză. Deci, chemokinele intervin important în recrutarea microgliei în ariile inflamatorii ale sistemului nervos central (23).

Celulele gliale primare umane pot produce chemokine alpha şi beta (IL-8, GRO-alpha) şi respectiv (RANTES, MIP-1alpha, MIP-1beta), paralel cu PGE2 şi PGE2alpha, după stimularea citokinelor pro-inflamatorii. TNF-alpha plus IL-1beta care le induce pe toate cu excepţia lui RANTES care este indus numai de TNF-alpha şi IFN-gamma. Pentru a produce toţi mediatorii menţionaţi, cu precizarea că MIP-1alpha şi MIP-1beta sunt predominant elaborate de astrocite, culturile purificate de astrocite şi microglii pot fin induse de aceleaşi combinaţii de citokine.

Inhibarea cu indometacin a producţiei de prostaglandine, duce la creşterea cu 37-60% a RANTES, MIP-1alpha şi MIP-1beta, dar nu a GRO-alpha şi IL-8. Inhibarea cu anticorpi a ultimelor două chemokine conduce însă, la creşterea de 6 ori a PGE2, dar nu a PGE2alpha de către microgliile şi astrocitele stimulate, în timp ce anticorpii anti-chemokinele beta nu au efect. Se sugerează că în condiţiile inflamaţiei, producţia intraparenchimală de PGG ar putea controla capacitatea chemotactică a chemokinelor beta de recrutare a celulelor efectoare sau pentru activarea lor. Invers, chemokinele alpha cantitativ crescute intracerebral, ar putea reduce secreţia de PG prevenind astfel exacerbarea inflamaţiei şi neurotoxicitatea (24).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Chemokina RANTES în diferite afecţiuni

Inflamarea căilor aeriene este asociată cu astmul şi se caracterizează prin infiltrarea eozinofilelor mediată parţial de factori chemoatractanţi specifici. În aspiratele nazale de la copii cu astm exacerbat, s-a urmărit prezenţa citokinelor şi a proteinelor bazice, cele din urmă fiind produse toxice ale granulaţiilor eozinofile. Nivelele crescute de asemenea proteine bazice sunt însoţite de nivele crescute de chemokine RANTES şi MIP-1alpha. În probele obţinute din perioadele asimptomatice s-a detectat şi GM-CSF.

Se apreciază că cei doi chemoatractanţi (RANTES şi MIP-1alpha) intervin major în atragerea eozinofilelor la locul infectat viral al tractului respirator superior (25).

În fibroza chistică a căilor aeriene sunt atrase în plămâni leucocitele, constatându-se exprimarea chemokinelor RANTES, MCP-1 şi IL-8 (26).

Recrutarea selectivă a eozinofilelor în mucoasa căilor aeriene este o trăsătură caracteristică a astmului atopic şi se considră a fi o componentă importantă în patogeneza bolii. Atât astmul atopic cât şi cel non-atopic se caracterizează prin inflamarea cronică a mucoasei bronşice cu dominanţa eozinofilelor care este considerată a fi asociată cu distrugrea tisulară locală. Factorii mobilizatori sunt chemoatractanţii specifici RANTES şi MCP-3 care prelungesc supravieţuirea eozinofilelor.

În comparaţie cu controlul, celulele căilor respiratorii ale subiecţilor cu astm relevă creşteri semnificative de mRNA RANTES şi MCP-3, precum şi de IL-5, IL-3 şi GM-CSF. Se conclude astfel că, chemokinele beta intervin important în mecanismul recrutării eozinofilelor în mucoasa căilor aeriene ale celor cu astm bronşic (27, 28).

Inflamarea alergică a căilor nazale ulterioară provocării cu alergeni nazali este reglată de producţia locală de citokine. Biopsiile prelevate înainte şi după provocarea cu polen recoltat toamna, (în afara sezonului) arată creşterea numărului eozinofilelor şi a celulelor care exprimă mRNA chemokinelor IL-8 şi RANTES, ca şi pentru citokinele Th2, IL-10 şi IL-13.. În faza timpurie a reacţiei la alergen s-au constatat corelaţii semnificative între eozinofile şi RANTES şi între acestea şi IFN-gamma, şi în faza târzie, între eozinofile şi IL-15 pe de o parte şi eozinofile şi RANTES, pe de altă parte. Chiar şi la o săptămână după administrarea polenului, se observă o creştere a eozinofiliei cu mRNA pozitiv. În concluzie, provocarea cu alergen nazal induce eozinofilie tisulară însoţită de o semnificativă creştere a celulelor cu mRNA IL-8, IL-15 şi RANTES (29).

Limfocitele Th2 specifice la alergen joacă un rol central în astm; transferate adoptiv, ele induc eozinofilele pulmonare şi chemokinele specifice. Supernatantul de celule Th2 administrat intranazal şoarecilor naivi, induce

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

expresia citokinelor eotaxin, RANTES, MCP-1 şi KC concomitent cu infiltarea cu eozinofile a mucoase nazale..

Testarea independentă a citokinelor a stabilit că IL-4 şi IL-5 induc nivele înalte de MIP-1alpha şi KC, IL-4 creşte şi producţia de MCP-1, iar IL-13 şi IL-14 induc eotaxin. IL-13 se dovedeşte cel mai puternic inductor al eotaxinei, neutralizarea ei cu anticorpi anti-IL-13 sistând, în mare parte, activitatea chemokinei din supernatantul Th2, deşi nu blochează total recrutarea eozinofilelor (30).

Eozinofilele sunt predominante în afecţiunile alergice, dar şi în ţesuturile conjunctive. Recrutarea lor la locurile inflamaţiei şi eliberarea de specii reactive de oxigen conduc la distrucţia ţesutului şi la propagarea inflamaţiei mediată de chemokine. Astfel, se urmăreşte găsirea unor agenţi terapeutici care să antagonizeze chemoatracţia exercitată de chemokinele tactice RANTES, MCP-3 şi eotaxin. Aşa este Met-RANTES –antagonist al CCR3 şi CCR1- care acţionează asupra eozinofilelor umane ca răspuns la acţiunea celor-3 chemokine (31).

Cantităţile crescute de RANTES din cheratinocitele tegumentului cu psoriasis semnifică rolul activator în atragerea limfocitelor T cu memorie şi a celor nad've activate, iar MCP-1 se dovedeşte un puternic chemoatractant pentru mononucleare (32). Clona limfocitelor T din acest tegument produce citokine Th1, printre care şi IFN-gamma. În plus, în leziunile psoriazice este prezentă şi citokina pro inflamatorie TNF-alpha. La rândul lor cele două citokine pot produce RANTES. În biopsii, RANTES s-a detectat imunohistochimic la nivelul spaţiilor dintre cheratinocite, către periferia plăgilor scade cantitativ, iar în tegumentul sănătos din preajma plăgilor lipseşte total. Combinate, TNF-alpha şi IFN-gamma cresc sinergic producţia de RANTES (33).

Implicate în migrarea leucocitelor inflamatorii, chemokinele au abilitatea de a adera la celulele endoteliale exercitându-şi astfel mai eficient, rolul lor promigrator. Lezarea mai multor chmokine beta (RANTES, MCP-1 şi MCP-3) în pielea intactă de la om se face într-o manieră saturabilă, specifică celulelor endoteliale ale venulelor şi micilor vene, dar nu ale arteriolelor şi capilarelor. RANTES inhibă legarea MCP-1 şi MCP-3 şi vice-versa, indicând faptul că siturile de legare sunt împărţite între aceste chemokine beta. MIP-1 alpha însă, nu se leagă la celulele endoteliale şi deci nu concurează cu RANTES.

Se constată, de asemenea, că în tegumentul normal cele 3 chemokine, dar nu şi MIP-1alpha sau IL-8, se leagă specific la celulele endoteliale ale vaselor limfatice aferente dermului, implicându-se astfel, în procesul intrării leucocitelor în acestea. Deşi concurează încrucişat pentru fiecare altă legare la endoteliul limfaticelor, cele 3 chemokine sugerează un situs de legare comun (34).

Chemokinele CC RANTES şi MCP-3 influenţează replicarea HIV în mononuclearele umane, cea mai sensibilă specie la efectele antivirale ale acestora fiind HIV-1SF-2. Concentraţia inhibitorie de RANTES a fost pentru

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

această specie, 4ng/ml, iar de MCP-3 de 1ng/ml, inhibarea fiind de 50% în ambele cazuri. Speciile HIV-1MN şi HIV-1HE sunt mai puţin sensibile la efectele antivirale ale acestor două chemokine, iar alte specii au fost total insensibile.

RANTES şi MCP-3 nu interferă numai cu procesul de fuziune indus de HIV, dar au şi efecte modulatorii asupra receptorului CD4. De aceea pot interfera cu legarea anticorpilor monoclonali OKT4 la acest receptor de pe limfocitele T, dar nu cu legarea anticorpilor OKT4A. Există astfel premize importante în strategiile imunoterapeutice pe care le oferă chemokinele în SIDA (35).

Cum s-a mai menţionat, eozinofilele joacă un rol important în bolile alergice, rinoconjunctivite şi dermatite atipice fiind atrase de chemokinele RANTES, MCP-3 şi eotaxin şi eliberând la locul inflamaţiei specii reactive de oxigen care conduc la distrucţia tisulară. Met-RANTES este un compus puternic şi eficient care antagonizează funcţiile efector ale eozinofilelor umane stimulate cu cele 3 chemokine. Pe lângă efectul său asupra calciului, Met-RANTES inhibă, în funcţie de doză, şi polimerizarea acţinei în eozinofile. De aici perspectiva folosirii lui în prevenirea invaziei eozinofilelor şi implicit distrucţiei tisulare în afecţiunile alergice (36).

În artrita reumatoidă indusă la şoareci de DBA-1 se constată la locul inflamaţiei atât prezenţa chemokinelor CC (RANTES, MIP-1alpha, MIP-1beta MIP-1beta, .MCP-1) şi receptorilor lor, cât şi a chemokinelor CxC (IL-8, GRO-alpha, ENA-78). Comparativ cu martorii, la şoarecii intoxicaţi se constată hiporeglarea CCR1, CCR2, CCR3 şi CCR5. Tratarea animalelor cu Met-RANTES reduce incidenţa bolii, evident în funcţie de doza administrată. Se conclude că, chemokinele CC şi receptorii lor au un rol important în distrucţia articulaţiilor inflamate, situaţie care poate fi ameliorată prin folosirea Met-RANTES (37). De asemenea, APO-RANTES (amino oxy pentan-RANTES) sintetizat chimic este utilizat în locul lui RANTES şi deoarece acesta din urmă cuplează CCR5 care este folosit şi de HIV-1 la intrarea în celule (prin blocarea acestui receptor de către APO-RANTES), se produce stoparea infecţiei cu HIV-1 (38).

Chemokina RANTES este secretată şi de celulele melanomului uman. ,deoarece supernatantul celulelor tumorale reacţionează cu anticorpi specifici anti-Rantes. Secvenţierea resturilor de aminoacizi ale fragmentelor N-terminal ale proteinei, confirmă analogia de 100% cu proteinele RANTES. Din 8 linii celulare de melanom, patru exprimă constitutiv chemokina RANTES-beta, care este secretată de 5-50 ori mai mult decât citokina IL-8.

Nivelele înalte de secreţie a RANTES in vitro sunt asociate cu formarea crescută de tumori după transplantarea la şoarecii nuzi a 6 linii de melanom uman, sugerând faptul că acţiunea lui RANTES poate susţine progresia

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

tumorilor. Un subset de celule melanotice care exprimă mRNA şi care secretă proteina RANTES poate fi responsabil de recrutarea în tumori a limfocitelor T şi a celulelor dendritice. Se apreciază că IL-2, IFN-gamma sau MSH pot supraregla secreţia citokinelor RANTES şi IL-8 (39).

1. Boukins RA. Oravecz T. Unsworth E.Syin C. Chemical synthesis and characterization of chemokine RANTES and its analogous, Cytokine, 1999, 11 (1), 8-15.
2. Proost P. De Meester I. Schols D. Struyf S. Lambeir AM. Wuyts A. Opdenakker G. De Clercq E. Sharpe S. Van Damme J. Amino-terminal truncation of chemokines by CD26/dipeptidyl-peptodase IV. Conversion of RANTES into a potent inhibitor of monocyte chemotaxis and HIV-infection. J. of Biological Chemistry, 1998, 273 (17), 7222-7.
3. Petering H. Gotze O. Kimming D. Smolarski R. Kapp A. Elsner J. The biologic role of interleukin-8;: functional analysis and expression of CXCR2 on human eosinophils, Blood, 1999, 93(2), 694-72.
4. Bochner BS. Bickel CA. Taylor ML. MacGlahan DW Jr. Gray PW. Raport CJ. Godiska R. Macrophage-derived chemokine induces human eosinophil chemotaxis in a CC chemokine receptor3-and CC chemokine receptor4 independent manner. J.of Allergy and Clinical Immunology, 1999, 103 (3=, 527-32.
5. Gordon CJ. Muesing MA. Proudfoot AE. Power CA. Moore JP. Trkola A. Enhancement of human immunodeficiency virus type 1 infection by the mechanism of virus-cell fusion. J.of Virology, 1999, 73 (1), 684-94.
6. Hariharan D. Douglas SD. Lee B. Lai JP. Campbell DE. Ho WZ. Interferon-gamma upreglates CCR5 expression in cord and adult blood mononuclear phagocytes. Blood, 1999, 93 (4), 1137-44.
7. Olbrich H. Proudfoot AE. Oppenmann H. Chemokine-induced phosphorylation of CC chemokine receptor (CCR5), J.of Leucocyte Biology, 1999, 65 (3), 801—5.
8. Cheret A. Le Grand R. Caufour P. Neildez O. Matheux F. Theodoro F. Vasilin B. Dormont D. RANTES, IFN-gamma, CCR1, and CCR5 mRNA expression in peripheral blood, lymph node, and bronchoalveolar lavage mononuclear cells during primary simian immunodeficiency virus infection of macaques. Virology, 1999, 255 (2), 285-93.
9. Sanders VJ. Pittman CA. White MG. Wang G. Wiley CA. Achim CL. Chemokines and receptors in HIV encephalitis. AIDS, 1998, 12 (9), 1021-6.
10. Bonecchi R. Polentarutti N. Lucini W. Borsatti A. Bernasconi S. Locati M. Power C. Proudfoot A. Wells TN. Mackay C. Mantovani A. Sazzani S. Up-regulation of CCR1 and CCR3 and induction of chemotaxis to CC chemokines by IFN-gamma in human neutrophils. J.of Immunology, 1999, 162 (1), 474-9.
11. Hiura TS. Kempiak SJ. Nel AE. Activation of the human RANTES gene promoter in a macrophage cell line by lippopolysaccharide is dependent on stress-activated protein kinases and the IkappaB kinase cascade: implications for exacerbation of allergic inflammation by environmental polluants.
12. Wang XC. Jobin C. Allen JB. Roberlts WL. Jaffe GJ. Suppression of NF-kappaB-dependent proinflammatory gene expression in human RPE cells by a proteasome inhibitor. Investigative Ophtalmology and Visual Science, 1999, 40 (2), 477-86.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

13. Xia Y. Pauza ME. Feng L. Lo D. RelB regulation of chemokine expression modulates local inflammation. American Journal of Pathology, 1997, 151 (2), 375-87.
14. Song A. Chen YF. Thamatrakoln K. Storm TA. Kreusky. RFLAT-1 : a new zinc finger transcription factor that activates RANTES gene expression in T lymphocytes. Immunity, 1999, 10(1). 93-103.
15. Hadida F. ieillard V. Antran B. Clark-Lewis I. Baggiolini M. Debre P. HIV-sprcific T cell citotoxicity mediated by RANTES via the chemokine receptor CCR3. J.of. Experimental Medicine, 1998, 188 (3), 609-14.
16. Struyf S. De Meester I. Scharpe S. Lenaerts JP. Menten P. Wang JM. Proost P. Van Damme J. Natural truncation of RANTES abolishes signaling through the CC chemokine receptors CCR1 and CCR3, impaires its chemotactic potency and generates a CC chemokine inhibitor. Euroean J.of immunol., 1998, 28 (4), 1262-71.
17. Greco G. Fujimura SH. Mourich DV. Levy IA. Differential effects of human immunodeficiency virus isolates on beta-chemokine and gamma interferon production and on cell proliferation. . of irology, 1999, 73 (2), 1528-34.
18. Billstrom MA. Johnson GL. Avdi NJ. Worthen GS. Intracellular signaling by the chemokine receptor US28 during human cytomegslovirus infection. J.of Virology, 1998, 72 (7), 5535-44.
19. Kutubuddin M. Federoff FJ. Challita-Eid PH. Halterman M. Day B. Atkinson M. Planelles V. Rosenblatt JD. Eradication of pre-established lymphoma using herpes simplex virus amplicon vectors. Blood, 1999, 93 (2), 643-54.
20. Fichorova RN. Anderson DJ. Differential expression of immunobiological mediators by imortalized human cervical and vaginal epithelial cells. Biology of Reproduction, 1999, 60 (2), 508-14.
21. Asensio VC. Campbell IL. Chemokine gene expression in the brains of mice with lymphocytic choriomeningitis. J.of Virology, 1997, 71 (10), 7832-40.
22. Lin R. Heylbroeck C. Genin P. Pitha PM. Hiscott J. Essential role of interferon regulatory factor 3 in direct activation of RANTES chemokine transcription. Molecular and Cellular biology, 1999, 19 (2), 959-66.
23. Cross AK. Woodroofe MN. Chemokines induce migration and changes in actin polymerization in adult rat brain microglia and a human fetal microglial cell line in vitro. J.of Neuroscience Research, 1999, 55 (1), 17-23.
24. Janabi N. Hau I. Tarddien M. Negative feedback between prostaglandin and alpha-and beta chemokine synthesis in human microglial cells and astrocytes. J.of Immunology, 1999, 162 (3), 1701-6.
25. Teran LM. Seminario MC. Shute JK. Papi A. Compton SJ. Low JL. Gleich GJ. Johnston SL. RANTES, macrophage-inhibitory protein 1 alpha, and the eosinophil product major basic protein okine expression in the lung: IL-13 potently induces eotaxin expression by airway epithelial cells. J.of Immunology, 1999, 162 (5), 2477-87.
26. Schwiebert LM. Estell K. Propst SM. Chemokine expression in CF epithelia: implications for the role of CFTR in RANTES expression. American Journal of Physiology, 1999, 276 (3), 700-10.
27. Powell N. Humbert M. Durham SR. Assoufi B. Kay AB. Corrigan CJ. Increased expression of mRNA encoding RANTES and MCP-3 in the bronchial mucosa in atopic asthma.European Respiratory Journal, 1996, 9 (12), 2454-60.
28. Humbert M Ying S. Corrigan C. Meuz G. Barkons J. Pfister R. Meng Q. et al. Bronchial mucosal expression of the genes encoding chemokines RANTES and MCP-3 in symptomatic atopic and non-atopic asthmatics : relationship to the eosinophil-active cytokines interleukin IL-5, granulocyte macrophage-colony-stimulating factor, and IL-3. Am.J.of Respiratory Cell Mol.Biol., 1997, 16 (1), 1-8.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

29. KleinJan A. Dijkstra MD. Boks SS. Severijnen LA. Hulder PK. Fokkens WJ. Increase in IL-8, IL-10, IL-13, and RANTES mRNA levels (in situ hybridization) in the nasal mucosa after nasal allergen provocation. J.of Allergy and Clinical Immunology, 1999, 103 (3), 441-50
30. Li L. Xia Y. Nguyen A. Lai YH. Feng l. Mosmann TR. Lo D. Effects of Th2 cytokines on chemokine expression in the lung: IL-13 potently induces eotaxin expression by airway epithelial cells. J. of Immunology, 1999, 162(5), 2477-87.
31. Elsner J. Petering H. Hochstetter R. Kimmig D. Wells TW. Kapp A. Proudfoot AE. The CC chemokine antagonist Met-RANTES inhibits eosinophil effector functions through the chemokine receptors CCR1, and CCR3. European J.of Immunology, 1997, 27 (11),2892-8.
32. Raychaudhuri SP. Jiang WY. Farber EM. Schall TJ. Ruff MR. Pert CB. Upregulation of RANTES in psoriatic keratinocytes: a possible pathogenic mechanism for psoriasis. Acta Dermato-Venereologica, 1999, 79 (1), 9-11.
33. Fukuoka M. Ogino Y. Sato H. Phta T. Komoriya K. Nishioka K. Katayama I. RANTES expression in psoriatic skin, and regulation of RANTES and IL-8 production in cultured epidermal keratinocytes by active vitamin D3 (tacalcitol). British Journal of Dermatology, 1998, 138 (1), 63-70.
34. Hub E. Rot A. Binding of RANTES, MCP-1, MCP-3 and MIP-1 alpha to cells in human skin. Am.J.of Pathology, 1998, 152 (3), 749-57.
35. Schols D. Proost P. Van Damme J. De Clercq E. RANTES and MCP-3 inhibit the replication of T-cell-tropic human immunodeficiency virus type 1 strains (SF-2, MN, and HE). J.of Virology, 1997, 71 (10), 7300-4.
36. Elsner J. Petering H. Kimming D. Wells TN. Proudfoot AE. Kapp A. The CC chemokine receptor antagonist Met-RANTES inhibits eosinophil effector functions. International Archives of Allergy and Immunology, 1999, 118 (2-4), 462-5
37. Plater-Zyberk C. Hoogewerf AJ. Proudfoot AE. Power CA. Wells TN. Effect of a CC chemokine receptor antagonist on collagen –induced arthritis in DBA/1 mice. Immunology Letters, 1997, 17)1-3), 117-20.
38. Wilken J. Hoover D. Thompson DA. Barlow PN. McSparron H. Picard L. Wlodawer A. Lubkowski J. Kent SB. Total chemical synthesis and high-resolution crystal structure of the potent anti-HIV protein AOP-RANTES. Chemistry and Biology, 1999, 6 (1), 43-51.
39. Mrowietz U. Schwenk U. Maune S. Bartles J. Kupper M. Fichtner I. Schroder JM. Schadendorf D. The chemokine RANTES is secreted by human melanoma cells and is associated with enhanced tumour formation in nude mice. British Journal of Cancer, 1999, 79 (7-8), 1025-31.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Chemokina EOTAXIN

Eotaxin este o chemokină CC frecvent întâlnită atât în ţesuturile sănătoase cât şi în cele inflamate. cDNA eotaxin de la şobolani codifică o proteină acidă de 97 reziduuri aminoacizi, care în urma maturării are 74 aminoacizi fiind identică în proporţie de 97.3% cu chemokina de la şoareci. Proteina genei eotaxin are activitate chemoatractantă pentru câteva tipuri celulare, fiind însă specifică pentru eozinofile. Expresia crescută (1,6 ori a mRN

A eotaxin apare imediat după expunerea la ozon, fiind de 4 ori mai înaltă după 20 ore. În acelaşi timp, numărul eozinofilelor din lavajul bronhoalveolar este de 3 şi respectiv 15 ori mai mare decât la control.. În plus, macrofagele alveolare şi celulele epiteliale ale bronhiilor sunt eotaxin pozitive (1).

Gena eotaxin de la om reuneşte exonii 132, 112 şi 542 p.b. şi doi introni de 1211 şi 378 p.b, ceea ce însumează un DNA de 3kb. Printre elementele potenţial reglatoare ale expresiei genei şi/sau efectele mediate de drogurile proinflamatorii, s-au evidenţiat secvenţe consens care interacţionează cu factori nucleari precum NF-IL-6, AP-1, cu o secvenţă consens NF-kB şi cu IFN-gamma (2).

Eotaxin este o chemokină selectivă pentru eozinofile pe care le stimulează via CCR3. Atât m RNA cât şi proteina sunt în mod specific înalt corelate. Celulele epiteliale pozitive pentru citocheratină şi celulele endoteliale CD31+ reprezintă suşa majoră de mRNA eotaxin, iar CCR3 este predominant colocalizat în eozinofile.

Lezarea mucoasei bronhice în astm implică secreţia de eotaxin de către celulele epiteliale şi endoteliale, ceea ce duce la infiltrarea eozinofilelor mediată de CCR3. Deşi produsă în diferite tipuri celulare exercitându-şi funcţiile pe diverse celule ţintă,, pricipala ţintă o reprezintă eozinofilele pentru a căror recrutare la nivel pulmonar este solicitat odată cu eotaxin şi receptorul său, şi IL-5.

Într.o reacţie alergică indusă la nivelul tegumentului de şoarece prin injectarea intradermică de eotaxin şi MIP-1alpha murine are loc o semnificativă recrutare de eozinofile, aspect prezent şi în reacţia anafilactică activă cutanată. Pretratarea pielii cu anti-eotaxin, dar nu cu anticorpi anti-MIP-1alpha supresează recrutarea celulelor în această reacţie.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Desensibilizarea CCR3 cu eotaxin murin, sau blocarea receptorului cu Met-RANTES inhibă semnificativ recrutarea celulelor în reacţia alergică. De aici rolul important al chemokinei în medierea recrutării celulelor în inflamaţia alergică, sugerând faptul că blocarea CCR3 ar putea fi o strategie validă pentru inhibarea eozinofilelor in vivo (3, 4, 5).

Schimbarea formei leucocitelor este mediată de rearanjarea citoscheletului acestora, într-un proces dinamic care duce la polarizarea celulei, schimbare esenţială pentru migrarea leucocitelor din microcirculaţie în locurile inflamate.. Chemokinele care acţionează prin CCR33 induc o rapidă schimbare a formei eozinofilelor de la toţi donorii, cele mai potente dovedindu-se eotaxin şi eotaxin-2.

Subseturile de limfocite Th1 şi Th2 pot fi recrutate diferenţiat pentru a promota diferite tipuri de reacţii inflamatorii induse de Th1 şi nu de Th2.. Eotaxin stimulează şi creşterea calciului intracelular, ca şi chemotaxisul limfocitelot T CCR3 pozitive. Atracţia limfocitelor Th2 (care deţin puţini receptori CCR3 comparativ cu limfocitele Th1) , de către eotaxin ar putea reprezenta mecanismul cheie în reacţiile alergice, deoarece promovează producţia direcţionată de alergeni cum sunt IL-4 şi Il-5 necesari activării eozinofilelor şi bazofilelor (6)

Eozinofilia pulmonară dependentă de eotaxin din reacţia inflamatorie este influenţată de molecule implicate în transportul celulelor aşa cum sunt selectinele P şi E, ICAM-1 şi VCAM-1 indispensabile în transmigrarea in vitro Studii de neutralizare cu anticorpi sugerează că integrinele Mac-1/CD11b/18, VLA-4/alpha4beta şi LFA-1 (CD11a/18) sunt implicate în chemotaxisul transendotelial al eozinofilelor către eotaxin. Migrarea transmembranară a acestor celule indusă de eotaxin atât in vivo cât şi in vitro, s-s-ar efectua prin interacţiunea integrinelor Mac-1/ICAM-1 şi VLA-4/INCAM-1, cele din urmă fiind mai relevante mai târziu în procesul mobilizării (7).

Anticorpii murini anti-ICAM-1 şi anti-VCAM-1 scad semnificativ adeziunea eozinofilelor indusă de eotaxin, de unde concluzia că acesta reglează acumularea celulelor în mucoasa nazală prin efectul său asupra moleculelor de adeziune prezente pe celulele endoteliale microvasculare (8). Experimentele de adeziune a eozinofilelor în care s-au folosit selectinele E, P şi L purificate şi VCAM-1, comparativ cu neutrofilele demonstrează că selectina P şi nu selectina E, este direct implicată în reţinerea şi fixarea eozinofilelor, pe endoteliul inflamat, în timp ce selectina L mediază principalmente, interacţia eozinofile- VLA-4 care intervine în arestul celulelor şi este amplificată de expunerea la chemoatractanţi (9).

Recrutarea eozinofilelor la locul inflamaţiei este astfel controlată de citokine, chemokine şi molecule de adeziune. Astfel, s-a urmărit efectul provocat de alergeni in vitro, şi al eotaxin asupra eozinofilelor din sângele

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

periferic uman, vizând expresia CD11b/CD18 şi adeziunea la fibronectina matriceală. La subiecţii sănătoşi şi la pacienţii cu astm asimptomatic datorat polenului, nu s-a constatat efectul eotaxin asupra expresiei CD11b/CD18 sau asupra eozinofilelor. Totuşi chemokina hiperreglează semnificativ nivelul cantitativ al LFA-1 şi adezivitatea crescută la fibronectină a eozinofilelor preincubate in vitro cu IL-5, de la subiecţii sănătoşi. Celulele obţinute la 24 orre după inhalarea in vivo a alergenului, arată hiperreglarea LFA-1 după incubarea in vitro numai cu eotaxim (10).

Studiul markerilor CD11b şi selectina L de la suprafaţa eozinofilelor umane proaspăt izolate din sângele donorilor sănătoşi şi stimulate cu r eotaxin, folosind inhibitorul selectiv rolipram (fosfodiesteraza4-PDE4) arată că acesta inhibă la doza cea mai mare testată (10 microM), hiperreglarea CD11b în proporţie de 60,6%+/- 7,6%. Chemotaxisul transendotelial este numai parţial inhibat la concentraţia de o,1 microM rolipram, atingând un platou maxim de aproximativ 30%. Deci, inhibitorul scade activarea eozinofilelor mediată de eotaxin (11).

Iniţial s-a crezut că şi chemokinele CxC alpha atrag eozinofilele, dar experimente cu IL-8 demonstrează că celulele nu elaborează m RNA CxCR1 şi CxCR2 care sunt receptorii familiei alpha de chemoatractanţi. S-a demonstrat astfel căm eozinofilele umane nu exprimă aceşti receptori nici chiar după activarea lor cu diferite citokine specifice. Se sugerează că la locurile inflamaţiei alergice, chemokinele CC cum sunt eotaxin-2 şi MCP-4 sunt predominante în atragerea acestor granulocite (12). Testarea CCR3 arată însă, că acesta poate fi un antagonist natural al CxCR3, blocând activitatea limfocitelor mediată de IP-10 (13).

Bazofilele exprimă, pe lângă receptori CxCR1 şi CxCR2, receptorul factorului activator plachetar şi receptorii chemokinelor neta respectiv CCR2, MCP, CCR3-eotaxin, ca şi nivele înalte de receptor C5a.. Pe de altă parte, CCR3 care se exprimă la nivele înalte şi pe bazofile cărora le mediază migrarea, nu reglează însă, expresia citokinelor (14).

Aşa cum s-a menţionat, CCR3 este receptorul major implicat în reglarea traficului eozinofilelor, Factorii care caracterizează internalizarea CCR3 după expunerea celulelor la liganzii receptorului, depind de calitatea şi doza acestora. Expunerea la 100ng/ml eotaxin reduce expresia de suprafaţă a receptorului, la 43,43% la 15 minute şi la 7.6% la 3 ore.. La aceeaşi doză, RANTES induce receptorului o internalizare mai semnificativă şi mai îndelungă decât eotaxin, dar acest proces nu este dependent de cuplarea la proteinele Gi sau la PKC (15).

CCR3 se dovedeşte astfel, un important reglator al migrării eozinofilelor, granulocite implicate în numeroase patologii de tip inflamator inclusiv astm Cuplarea eotaxin la CCR3 ar reprezenta de fapt, procesul cheie în inflamarea căilor respiratorii indusă de eozinofile.; în plus are efect dramatic asupra mobilizării calciului.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

În timpul proceselor inflamatorii, ţesuturile inflamate semnalizează măduvei hematogene intensificarea elaborării de cât mai multe leucocite, ori administrarea in vivo a eotaxin duce la creşterea în măduva osoasă a numărului progenitorilor mieloizi care exprimă CCR3 (16, 17).

Eotaxin este constitutiv exprimată în medulara şi corpusculii Hassal timici, receptorul său (CCR3) fiind detectat ka nivelele cele mai înalte, pe timocitele CD8+. Chemokina induce atât migrarea celulelor cât şi mobilizarea calciului intracelular în toate timocitele, cu excepţia celor imature CD4(-)/CD8(-). De aici supoziţia că activitatea timocitelor indusă de eotaxin poate avea implicaţii fiziologice importante în mobilizarea limfocitelor în şi din organul limfoid (18).

Clone de limfocite umane cu selectivitate pentru antigeni proteinici şi neproteinici au fost analizate pentru exprimarea CCR3 şi pentru producţia de citokine de tip Th1 şi Th2. Din 13 clone cu CCR3 de suprafaţă, 9 secretau nivele amplificate de IL-4 şi/sau IL-5 reieşind faptul că acest receptor predomină în limfocitele Th2.. Limfocitele Th2 CCR3+ migrează ca răspuns la eotaxin şi în plus, arată schimbări caracteristice în calciul liber, citosolic.

Imunocolorarea tegumentului cu dermatită , a polipilor nazali şi a mucoasei din colitele ulcerative arată că limfocitele T CCR3+ sunt recrutate împreună cu eozinofilele. Dimpotrivă, aceste celule lipsesc din ţesuturile în care nu sunt prezente eozinofilele, cum este cazul tegumentului normal sau sinoviei din artritele reumatoide. Se conclude că, limfocitele T se colocalizează cu eozinofilele în inflamaţiile alergice, exprimând CCR3 şi sugerând că eotaxin/CCR3 reprezintă un mecanism de recrutare a celulelor T esenţiale în această afecţiune. Astfel se explică de ce şoarecii lipsiţi de limfocite T sunt insensibili la agresiunea alergică. CCR3 poate marca un subset de limfocite T care induc mobilizarea eozinofilelor şi activarea acestora prin producţia locală de citokine tip RTh2 (19).

Analiza DNA CCR3 de la cobai relevă existenţa unui ORF, exon ce codifică proteina de 358 reziduuri aminoacizi a receptorului şi care are 67% omologii cu CCR3 uman şi 69% cu cel murin. Anticorpii monoclonali cuplează selectiv la transfectante CCR3 de cobai, ca şi la eozinofilele acestora. Anticorpii inhibă, de asemenea, chemotaxisul şi creşterea calciului citosolic în eozinofilele de cobai ca răspuns la eotaxin., Prin urmare, blocarea funcţională a receptorului chemoatractant pentru eozinofile se poate obţine in vivo oferind suport pentru descoperirea a noi droguri anti-inflamatorii care ţintesc recrutarea eozinofilelor (20). Procesul mobilizării acestora din organele formatoare a suscitat interes în condiţii de inflamare alergică. Mobilizarea lor sin măduva osoasă este o treaptă timpurie importantă în traficul acestora în timpul răspunsului la condiţia alergică. Experimental s-a constatat că eotaxin induce selectiv, în funcţie de

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

doză, (10nM/Kg) mobilizarea rapidă a eozinofilelor de cobai, de la 3,8+/-1,2 la 28+/-0,9x10 celule/ml, în 30 minute. În concluzie, eotayin este implicat în mobilizarea atât a progenitorilor medulari şi eozinofilelor mature din sângele circulant cât şi în recrutarea lor ulterioară la locurile inflamaţiei alergice (21).

Celulele în care se exprimă eotaxin

Eotaxin şi receptorul său CCR3 se exprimă în ţesuturile embrionare hematopoietice (ficat, sac vitelin). Chemokina acţionează sinergic cu factorul celulei stem şi pentru diferenţierea progenitorilor embrionari ai mastocitelor, a căror diferenţiere către celula matură promotată de eotaxin, s-a definit prin expresia proteazelor specifice acestor celule. Se sugerează astfel că, dincolo de faptul că chemokina este implicată în inducţia progenitorilor granulocitari, este implicată şi în diferenţierea şi/sau funcţionarea mastocitelor atât embrionare cât şi a celor din anumite condiţii patologice care determină nivele înalte ale acesteia, cum este şi cazul reacţiilor alergice (22).

Eozinofilele normale conţin în granulaţiile lor specifice eotaxin pe care îl elaborează după stimularea cu C5a sau inomicinŞde aici posibilitatea acumulării la locul inflamaţiei a eozinofilelor (23). În coculturile de mastocite-fibroblaste eotaxin creşte considerabil în ciuda faptului că este o chemokină specifică pentru eozinofile. Producţia ei este dependentă de contactele intercelulare putând fi inhibată de anticorpi anti-SCF, la rândul lui produs constitutiv de fibroblaste şi indus de TNF. În plăcile acoperite cu SCF se constată că mastocitele produc eotaxin; deci, coculturile fibroblast-mastocit exacerbează producţia acestei chemokine şi, de asemenea, eliberarea histaminei (24).

Surse majore de eotaxin sunt şi celulele endoteliale, dar în modelele inflamatorii absenţa lui nu afectează recrutarea eozinofilelor deoarece pentru acestea intervin alţi chemoatractanţi (25).

În lamina propria a jejunului şoarecilor tip-sălbatic se constată prezenţa chemokinei dat fiind faptul că aceasta este reglatorul fundamental al traficului fiziologic normal al eozinofilelor (26).

Factori care afectează producţia şi funcţiile chemokinei eotaxin.

Reglarea expresiei chemokinei eotaxin poate fi afectată de 0-100ng/ml de TNF alpha şi de o.o1microM de PMA care induc expresia mRNA său în celulele U-937, linie umană monocit-.like. Expresia indusă de PMA este maximă mai tardiv decât cea indusă de TNF-alpha. Dexametazona scade expresia mRNA eotaxin în aceste celule stimulate cu cei doi agenţi, iar expresia

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

indusă numai de PMA este inhibată de ciclofosfamidă, nu şi cea indusă de TNFalpha-.Staurosporin (10-50 nM) inhibă expresia mRNA eotaxin indusă de PMA în timp ce pe aceea indusă de TNFalpha o amplifică. Mecanismul inducţiei expresiei eotaxin de către PMA presupune activarea PKC, pe când cea indusă de TNFalpha este independentă de această kinază. Ambele căi sunt asociate cu NF-kB deoarece activitatea de cuplare a acestuia este amplificată în prezenţa celor doi stimuli, ambele fiind limitate de inhibitorul dietilditiocarbamat (27).

În inflanaţia pulmonară, expresia eotaxin indusă de limfocitele Th2 şi eozinofilia coexistă cu răspunsul limfocitelor Th1, reacţii asociate cu astmul alergic caracterizat prin infiltrarea masivă cu eozinofile ceea ce determină îngustarea căilor respiratorii.. Limfocitele Th2 izolate din acestea se pare că au un rol în patogeneza bolii, ele fiind suficiente pentru a induce expresia eotaxin şi eozinofilia dependente de antigeni, în timp ce limfocitele Th1 induc primar recrutarea neutrofilelor cu slabă producţie de eotaxin..Cotransfecţia cu cele două tipuri de limfocite T dovedeşte că hemaglutinina Th1 specifică nu stopează eozinofilia pulmonară indusă de antigeni şi nici expresia eotaxin. Prin urmare, inflamaţia alergică mediată de Th2 coexistă cu răspunsul citokinelor mediate de Th1 stimulate de diverşi antigeni (28).

Eozinofilele şi fibroblastele s-a dovedit că joacă un rol important atât în patogeneza astmului bronşic cât şi în afecţiunile pulmonare fibrozante. Il-4 stimulează fibroblastele pulmonare pentru a secreta chemoatractanţi eozinofili şi aceasta deoarece în urma analizei N-terminal se constată prezenţa de secvenţe similare cu eotaxin, iar pe de altă parte, IFNgamma are influenţe neglijabile asupra acestuia.. În schimb, TNFalpha stimulează fibroblastele pulmonare pentru a elibera două "vârfuri" ale activităţii chemokinei. TNFalpha sinergizează cu IL-4 pentru a creşte enorm cele 3 forme de eotaxin dustincte biochimic, iar IFNgamma sinergizează cu TNFalpha pentru a creşte producţia de RANTES. IL-2, IL-5, IL-6 şi IL-10 nu afectează capacitatea fibroblastelor pulmonare de a exprima sau elibera eotaxin şi RANTES.. Aceste celule stimulate de citokine exprimă mRNA pentru MCP-3 şi MCP-4, dar nu pentru eotaxin-2. Deci, eliberarea în ţesutul pulmonar a citokinelor de tip Th1 şi Th2 direcţionează fibroblastele să elaboreze eotaxin sau RANTES ca atractanţi pentru eozinofile (29).

Limfocitele T stimulate de IL-2 şi IL-4 induc expresia eotaxin şi receptorului său CCR3, atracţia lor făcându-se via receptorului. În concluzie, eotaxin în asociere cu IL-2(citokină derivată din celulele Th1) şi cu IL-4 (citokină derivată din celulele Th2) devine un important activator al limfocitelor T stimulând migrarea direcţionată, adeziunea, mobilizarea şi acumularea eozinofilelor, dar şi bazofilelor în unele tipuri de inflamaţii precum alergia (30).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Leziunile tegumentare în dermatitele atopice se disting prin hipertrofia epidermului şi dermului însoţită de infiltrarea cu eozinofile şi limfocite T, dar şi prin expresia citokinelor IL-4, IL-5 şi IFNgamma. Într-un model murin determinat prin sensibilizarea epicutanată cu ovalbumină şi prin deleţii în genele celor 3 citokine s-a stabilit funcţiile acestora. Astfel, pielea sensibilizată, lipsită de IL-5 (-/-) nu conţine eozinofile, iar cele două pături structurale scad în grosime. În schimb, pielea sensibilizată, lipsită de IL-4 (-/-) are grosime normală, foarte puţine eozinofile dar foaste multe limfocite T, Aceste aspecte se asociază cu reducerea mRNA eotaxin şi cu creşterea mRNA MIP-1beta, MIP-2 şi RANTES (chemokine T). De asemenea, pielea sensibilizată, lipsită de IFNgamma (-/-) prezintă dermul de grosime redusă. În concluzie, citokinele Th2 (IL-4 şi IL-5) şi Th1 (IFNgamma) intervin important în inflamaţiile tegumentare (31).

Limfocitele Th2 produc în cantităţi apreciabile şi IL-13, citokină pleiotropă exprimată selectiv în plămânii şoarecilor transgenici unde induce inflamarea căilor aeriene mari şi mici, dar şi a parenchimului ambiant. Pentru a-I defini acest potenţial in vivo s-a folosit promotorul de 10kD al proteinei celulelor Clara.Consecinţele experimentului sunt: hiperexpresia Il-13şi fibroza structurilor subepiteliale ale căilor aeriene, metaplazia celulelor mucoase şi prezenţa depozitelor de cristale Charcot-Leyden-like.. În plămânii acestor animale s-au detectat cantităţi mari de proteine şi mRNA eotaxin.. Astfel, IL-13, pe lângă celelalte funcţii, influenţează şi producţia de eotaxin de unde şi rolul său în patogeneza astmului sau în alte reacţii tisulare polarizate de limfocitele Th2 (32).

În interval de o oră, IFNgamma determină, în funcţie de concentraţie, creşterea rapidă a mRNA CCR1 şi CCR3. PMN tratate cu această citokină prezintă locuri de cuplare pentru eotaxin, MCP-3 MIP-1alpha, RANTES, MCP-3 şi MIP-5/HCC. De aici concluzia că aceste granulocite intervin în orientarea imunităţii către răspunsul Th1. Este posibilă astfel, speculaţia că IFNgamma nu numai că promotează direct diferenţierea limfocitelor tip Th1, dar şi reorientează semnificativ funcţionarea celulelor Th2 prin lărgirea spectrului efectelor acestora (33).

Eozinofilele sunt reglate şi de polipeptidul GM-CSF care promotează supravieţuirea eozinofilelor, iar analogul său specific E21R le induce apoptoza care se observă atât în celulele nestimulate cât şi în cele activate de RANTES şi eotaxin. Ultimele două chemokine reglează în schimb, migrarea eozinofilelor la locul inflamaţiei., şi nu supravieţuirea acestora., iar RANTES nu afectează nici supravieţuirea şi nici apoptoza lor.E2iR, analog al GM-CSF induce apotoza eozinofilelor de la pacienţii cu astn. Se asugerează astfel că, GM-CSF R poate controla activ atât apoptoza cât şi supravieţuirea celulelor, reglând cu precizie numărul şi activitatea lor. În plus, s-a demonstrat că chemokinele nu intervin în

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

"life span" al acestor granulocite. Administrarea lui E2iR ar putea fi o nouă terapie în inflamaţiile de diverse etiologii în care sunt implicate eozinofilele (34).

Eotaxin în diverse afecţiuni

Ca şi celelalte chemokine (RANTES, MCP-3) şi proteina eotaxin atrage celulele în ariile tisulare inflamate de antigeni externi sau interni, exprimându-şi cu predilecţie tactismul pentru eozinofile..Infiltrarea mucoasei nazale, tipică în rinitele cronice şi în sinuzitele polipoase, s-ar putea datora acttivităţii eotaxin de recrutare a eozinofilelor. Comparativ cu mucoasa normală, cea din cele două afecţiuni arată prezenţa mRNA RANTES şi eotaxin (35). Şoarecii IL-5 transgenici trataţi cu extract proteic din ciuperca Aspergillus fumigatus dezvoltă in mucoasa nazală, un influx de eozinofile comparabil cu cel de la om, patologia fiind similară (36).

Eotaxin şi MCP-4 apar hiperreglate la locul inflamaţiei alergice a căiliori respiratorii ale pacienţilor astmatici. Numărul celulelor cu mRNA - chemokinelor este semnificativ crescut comparativ cu subiecţii sănătoţi.. mRNA celor două chemokine este puternic exprimat atât în epiteliul bronşic cât şi în plămânii celor astmatici, corelându-se cu numărul eozinofilelor prezente contribuind la instalarea procesului inflamator (37).

Eozinofilele care se infiltrează în mucoasa bronşică a astmaticilor se diferecţiază din progenitori CD34+. Modelele animale sugerează o cooperare între eotaxin şi IL-5 pentru mobilizarea rapidă a eozinofilelor din măduva oasoasă către mucoasa căilor aeriene,.Numărul celulelor CD34+ creşte considerabil la subiecţii atopici, iar la pacienţii cu astm, măduva mobilizează rapid eozinofilele, care mature sau nu poartă CCR3.. În concluzie, eozinofilele participă la patogeneza astmului bronşic uman, recrutate fiind de eotaxin (38, 39, 40). De asemenea, transcrierea crescută a genei chemokinei se pare că precede apariţia astmului şi influxul de eozinofile activate atât în structurile bronhiolelor cât şi în lavajul acestora, iar inflamaţia apare numai după expresia crescută (4 ore după inhalarea alergenului) a chemokinei în celule, ceeace se corelează cu numărul mare al celulelor activate. La 24 de ore, expresia citokinei declină, însă nu şi numărul eozinofilelor din biopsiile bronhiolare (41).

După agresiunea cu ovalbumină, citokina este detectată şi în lavajul bronhoalveolar de la cobai, dar comparativ cu martorii proteina creşte de 5 ori, iar hiperreglarea genei sale de 25 ori în epiteliul căilor aeriene la 3 ore după agresiune. În căile respiratorii de la cobai există însă, multiple sişe celulare de eotaxin; astfel sunt celulele epiteliale bronşice şi bronhiolare, muşchii netezi, endoteliul vaselor sangvine, condrocitele şi macrofagele alveolare (42).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Eozinofilele activate de eotaxin eliberează leucotriene sau le sensibilizează la acestea, efecte amplificate şi de mastocite, Astfel, mastocitele şi lecotrienele intervin, de asemenea, în recrutarea eozinofilelor (43). Mastocitele pulmonare obţinute în urma sensibilizării cu ovalbumină nu exprimă însă eotaxin sau mRNA său, deşi supernatantul din celulele epitrliale arată cantităţi detectabile de chemokină, deoarece acestea sunt sursa majoro a ei în plămânii cobailor (44).

Astmul alergic se datorează unui răspuns celular de tip Th2. Şoarecii deficienţi în subunitatea p50 a NF-kB nu arată inflamarea eozinofilică a căilor aeriene, în timp ce la cei tip-sălbatic inflamaţia apare. Deficienţa nu se datorează blocării limfocitelor T primare şi nici unui defect în exprimarea VCAM-1 şi ICAM-1 reclamate, cum se ştie, pentru extravazarea eozinofilelor, ci absenţei producţiei de IL-5 (Th2) şi eotaxin, ambele cruciale pentru proliferarea, diferenţierea şi mobilizarea eozinofilelor în căile aeriene afectate de astm. În plus, şoarecii p50 (-/) sunt deficienţi şi în producţia de MIP-1alpha şi MIP-1beta, ambele implicate în mobilizarea limfocitelor T la locul inflamaţiei. Reiese astfel că, NF-kB are un rol crucial in vivo privind patogeneza astmului (45).

Activarea tisulară indusă de ischemie poate contribui la patogeneza vasculară. S-a stabilit cu anticorpi anti-capping proteine alpha şi eotaxin că acestea se exprimă în media aortei normale, în timp ce în ischemir producţia lor creşte şi trenează.. De aici supoziţia că ambeke proteien joacă un rol patologic în remodelarea peretelui vascular ischemic. Rămâne de stabilit dacă genele lor pot servi ca molecule ţintă în intervenţiile terapeutice destinate prevenirii sau tratării vasculopatiei grefei indusă prin conservarea la rece (46).

Recrutarea eozinofilelor marcate iiiIn din pielea şoarecilor este efectiv indusă de chemokinele CC eotaxin şi MIP-1 constatâmdu-se hiperexpresia IL-5, dar nu a MCP-1, MCP-3, MCP-4, MIPbeta, KC şi MIP-2.

Malignităţile limfoide Hodgkin sunt însoţite de diferite tipuri celulare recrutate de numeroase chemokine printre care şi eotaxin, corelat cu abundenţa eozinofilelor în ţesutul tumoral. Chemokina s.a detectat, de asemenea, şi în fibroblaste ca şi în muşchii netezi din pereţii vaselor (48).

Eotaxin a fost detectat şi în afecţiuni parazitare. Astfel, neurocisticercoza simptomatică, cauză majoră a epilepsiei, se instalează datorită inflamaţiei dezvoltate în jurul larvelor de Taenia solium, în serul pacienţilor constatându-se concentraţii detectabile de eotaxin şi IL-5, dar nu de IL-8. Lichidul cefalorahidian conţine, de asemenea, cantităţi importante de Il-5. În plus, şi eozinofilele sun implicate în această afecţiune (48).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Eotaxin în infecţia virală

Macrofagele intervin esenţial în apărarea gazdei agresate de diverşi antigeni, inclusiv de HIV-1. La adulţii sănătoşi ele exprimă nivele scăzute de CCR4 şi CCR5. HIV-1 maxrofago-monocitotrop (M-trop,YU2) şi cel dual tropic (89,6) pseudotip-env intră eficient în macrofagele alveolare ce exprimă CCR3 şi CCR5. Competenţa acestor receptori chemotactici pentru intrarea virusurilor în velulă este confirmată de timocitele canine ThCf2 cotransfectate cu hCD4 şi cu receptorii chemokinelor. Intrarea pseudotipului HIV-1 M-trop YU2 este mediată fie de CCR3 fie de CCR5 ai pseudotipului HIV-1 T-tropic HxB2 care este mediat de CxCR4, iar HIV-1 dual-tropic sau pseudotipul 1 SIV pbj 1,9, de CCR3, CCR5 sau de CxCR4.

Se sugerează că mecanismele intrării HIV-1 în celule sunt specifice receptorilor şi tipului celular şi, de asemenea, că expresia receptorilor chemokinelor pentru macrofagele alveolare nu relevă deplin susceptibilitatea celulelor la diverse izolate virale (50).

Receptorul pentru eotaxin (CCR3) este în acelaşi timp coreceptor pentru HIV-1 şi HIV-2 fiind asociat la celulele CD4. Prin comparaţie cu ceilalţi receptori chemoatractanţi cum sunt CCR5 şi CxcR4, secvenţele primare ale CCR3 uman şi ale omologului său de la macaca rhesus sunt marcat diferite în domeniul extracelular. Limfocitele CD4+ umane exprimă CCR3 şi de la maimuţă putând fi infectate de HIV-2 cu eficienţă relativ similară. În schimb, numai celulele care exprimă CCR3 uman pot fi infectate cu HIV-1. Proteinele anvelopei HIV-1 şi HIV-2 par să interacţioneze diferit cu CCR3 care este, cum menţionam coreceptor pentru HIV-1 (51).

După expunerea mucoaselor la HIV-1 celulele dendritice sunt printre primele care se infectează, identificându-se pe suprafaţa lor multiplii receptori chemoatractanţi ce pot funcţiona şi ca receptori pentru HIV-1. Astfel, aceste celule folosesc efectiv CCR5 pentru intrarea izolatelor M-tropice.. De asemenea, CCR3 identificat iniţial pe eozinofile este exprimat şi în celulele dendritice putând fi folosit drept coreceptor de intrare în celule a câtorva tulpini dual-tropice CxCR4. Celulele dendritice cu deleţie de 32pb din gena CCR5 sunt, de asemenea, infectabile cu tulpina HIV-1 M-tropică, proces inhibat însă, de SDF-1 (Stromal cell-Derived Factor) de unde ideia că acest receptor poate fi folosit de această tuulpină virală pentru a intra în celule (52).

Celulele endoteliale ale capilarelor cerebrale sunt ţinte ale infecţiei cu HIV-1, independent de limfocitele CD4, reprezentând o poartă de intrare a virusului în sistemul nervos central, ceea ce duce la afectarea barierei sânge-creier contribuind astfel la apariţia demenţei SIDA.

Celulele endoteliale ale vaselor cerebrale de la maimuţa rhesus exprimă receptorii CCR3, CCR5 şi CxCR4 implicaţi în intrarea HIV şi SIV în celule.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tulpina neurovirulentă SIV/17E-Fr infectează celulele endoteliale şi poate fi inhibată de aminooxipentan după activarea expresiei limfocitelor T normale. Proteina env din această tulpină şi din câteva tulpini adiţionale SIV, mediază fuziunea celulelor şi infecţia virală cu celulele CD4- şi CCR5+. Deci acest receptor poate fi un receptor primar pentru SIV pe celulele endoteliale sugerând un posibil mecanism independent, al disturbanţei barierei sânge-creier şi pentru intrarea virusului în sistemul nervos central (53).

Eotaxin-2

Recent s-a izolat o nouă chemokină CC umană de 78 reziduuri aminoacid cu g.m. de 8,778.3 daltoni, împreună cu variante minore trunchiate la COOH-terminal formate din 73, 75 şi respectiv 76 reziduuri aminoacid. Această nouă chemokină a fost numită eotaxin-2 deoarece este foarte similară funcţional cu eotaxin, dar ca structură este destul de diferită având numai 39% aminoacizi identici, iar în regiunea NH2-terminal diferă aproape complet

Chemotaxisul indus eozinofilelor dar şi bazofilelor de către eotaxin-2 sub influenţa IL-3 depinde de concentraţie în urma căreia are loc eliberarea histaminei şi leucotrienei-4 din bazofile. Migrarea şi reacţia de răspuns sunt abrogate de anticorpi care blochează selectiv CCR3, ceea ce confirmă că şi eotaxin-2 acţionează exclusiv pe calea acestui receptor.

În experimente de desensibilizare prin măsurarea schimbărilor în calciul din eozinofile folosind CCR3, se constată completa cross-desensibilizare între eotaxin-2 şi eotaxin pe de o parte, şi eotaxin-2 şi MCP-4 pe de altă parte, ceea ce confirmă activarea via CCR3. În neutrofile, monocite şi limfocite nu se constată mobilizarea calciului,, deoarece lipseşte răspunsul chemotactic.

Injectarea intradermică la maimuţa rhesus a 100 sau 1000 pM per site induce o marcată infiltrare locală de eozinofile, care este mai pronunţată în preajma venulelor postcapilare fiind compatibilă cu efectul eottaxinului (54).. În concluzie, eotaxin-2 este o proteină chemoatractantă pentru eozinofile, exercitându-şi activitatea via CCR3. Ea promotează chemotaxisul şi mobilizează calciul în eozinofilele umane, dar nu şi în neutrofile sau monocite.

Eotaxin şi MCP-4 pot cross-sensibiliza complet răspunsul calciului la eotaxin-2 pe aceleaşi celule confirmând faptul că acesta deţine acelaşi receptor ca cele două chemokine, Dintre toate chemokinele testate eotaxin-2 se dovedeşte a fi cel mai puternic chemoatractant pentru eozinofile;el înlocueşte cuplarea eotaxinului marcat cu iod radioactiv I^{125} la CCR3 clonat, stabil exprimat pe celulele CHO (CHO-CCR3) şi pe eozinofilele umane proaspăt izolate, cu afinitate similară cu eotaxin şi MCP-4 (55).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Asemenea eotaxinului, eotaxin-2 induce rapid şi tranzitoriu polimerizarea actinei necesară migrării celulelor şi modulării arderilor respiratorii în eozinofile. Chemokina induce eliberarea speciilor reactive de 02 în funcţie de doză. Eficacitatea sa este comparabilă cu a eotaxinului şi C5, ceea ce ar putea relevalua profilul recent estimat al activităţii chemokinelor CC în activarea eozinofilelor umane (56).

Schimbarea formei celulelor prin rearanjarea citoscheletuluii printr-un proces dinamic tipic, rezultă polarizarea celulei, proces esenţial pentru migrarea celulelor din microcirculaţie la locurile inflamat, cele mai eficiente chemokne în acest sens dovedindu-se eotaxin şi eotaxin-2 ambele acţionând prinCCR3 şi determinând schimbări rapide asupra eozinofilelor donorilor. În plus, MIP-1alpha induce aceleaşi modificări rapide asupra eozinofilelor mediate însă, de CCR1 şi nu de CCR3 (57).

1. Ishi Y. Shirato M. Nomura A. Sakamoto T. Uchida Y. Ohtsuka M. Sagai M. Hasegawa S. Cloning of rat eotaxin: ozone inhalation increases mRNA and protein expression in lungsof brown Norway rats. American J. of Physiology, 1998, 274(1 Pt 1):L171-6.
2. Hein H. Schluter C. Kulke R. Christophers E. Schroder JM. Bartels J. Genomic organization, sequence, and transcriptional regulation of the human eotaxin gene. Biochemical&Biophysical Research Communications, 1997, 273(3):537-42.
3. Ying S. Robinson DS. Meng Q. Rottman J. Kennedy R. Ringler DJ. Mackay CR: Daugherty BL. Springer MS. Durham SR. Williams TJ. Kay AB. Enhanced expression of eotaxin and CCR3 mRNA and protein in atopic asthma. Association with airway hyperresponsivenessand predominant co-localization of eotaxin mRNA to bronchial epithelial and endotelial cells. European J. of Immunology, 1997, 27(12):3507-16.
4. Griffiths-Johnson DA. Collins PD. Jose PJ. Williams TJ. Animal models of asthma: role of chemokines. Methods in Enzymology, 1997, 288:241-66.
5. Teixeira MM. Wells TN. Lukacs NW. Proudfoot AE. Kunkel SL. Wiliams TJ. Hellewell PG. Chemokine-induced eosinophil recruitment. Evidence of a role for endogenous eotaxin in an in vivo allergy model in mouse skin. J. of Clinical Investigation, 1997,100(7):1657-66.
6. Sallusto F. Mackay CR. Lanzavecchia A. Selective expression of the eotaxin receptor CCR3 by human T helper 2 cells. Science, 1997, 277(5334):2005-7.
7. Jia GQ. Gonzalo JA. Hidalgo A. Wagner D. Cybulsky M. Gutierrez-Ramos JC. Selective eosinophil transendothelial migration triggered by eotaxin via modulation of Mac-1/ICAM-1 and VLA-4/VCAM-1 interactions. International Immunology, 1999, 11(1):1-10.
8. Hohki G. Terada N. Hamano N. Kitaura M. Nakajima T. Yoshie O. Ikeda T. Kimura S. Konno A. The effects of eotaxin on the surface adhesion molecules of endothelial cells and on eosinophil adhesion to microvascular endothelial cells. Biochemical&Biophysical Research Communications, 1997, 241(1):136-41.
9. Kitayama J. Fuhlbrigge RC. Puri KD. Springer TA. P-selectin, L-selectin, and alpha 4 integrin have distinct roles in eosinophil tethering and arrest on vascular endothelial cells under physiological flow conditions. J. of Immunology, 1997, 159(8):3929-39.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

10. Lundhal J. Moshfegh A. Gronneberg R. Hallden G. Eotaxin increases the expression of CD11b/CD18 and adhesion properties in IL5, but not fMLP-prestimulated human peripheral blood eosinophils. Inflammation, 1998, 22(2):123-35.
11. Santamaria LF. Palacios JM. Beleta J. Inhibition of eotaxin-mediated human eosinophil activation and migration by the selective cyclic nucleotide phosphodiesterase type 4 inhibitor rolipram. British J. of Pharmacology, 1997, 121(6):1150-4.
12. Petering H. Gotze O. Kimmig D. Smolarski R. Kapp A. Elsner J. The biologic role of interleukin-8: functional analysis and expression of CXCR1 and CXCR2 on human eosinophils. Blood., 1999, 93(2):694-702.
13. Weng Y. Siciliano SJ. Waldburger KE. Sirotina-Meisher A. Staruch MJ. Daugherty BL. Gould SL. Springer MS. DeMartino JA. Binding and functional properties of recombinant and endogenous CXCR3 chemokine receptors. J. of Biological Chemistry,1998, 273(29):18288-91.
14. Ochensberger B. Tassera L. Bifrare D. Rihs S. Dahinden CA. Regulation of cytokine expression and leukotriene formation in human basophils by growth factors, chemokines and chemotactic agonists. European J. of Immunology, 1999, 29(1):11-22.
15. Zimmermann N. Conkright JJ. Rothenberg ME. CC chemokine receptor-3 undergoes prolonged ligand-induced internalization. J. of Biological Chemistry, 1999, 274(18):12611-8.
16. Dairaghi DJ. Oldham ER. Bacon KB. Schall TJ. Chemokine receptor CCR3 function is highly dependent on local pH and ionic strength. J. of Biological Chemistry, 1997, 272(45):28206-9.
17. Peled A. Gonzalo JA. Lloyd C. Gutierrez-Ramos JC. The chemotactic cytokine eotaxin acts as a granulocyte-macrophage colony-stimulating factor during lung inflammation. Blood., 1998, 91(6):1909-16.
18. Franz-Bacon K. Dairaghi DJ. Boehme SA. Sullivan SK. Schall TJ. Conlon PJ. Taylor N. Bacon KB. Human thymocytes express CCR-3 and are activated by eotaxin. Blood., 1999, 93(10):3233-40.
19. GerberBO. Zanni MP. Uguccioni M. Loetscher M. Mackay CR. Pichler WJ. Yawalkar N. Baggiolini M. Moser B. Functional expression of the eotaxin receptor CCR3 in T lymphocytes co-localizing with eosinophils. Current Biology, 1997, 7(11):836-43.
20. Sabroe I. Conroy DM. Gerard NP. Li Y. Collins PD. Post TW. Jose PJ. Williams TJ. Gerard CJ. Ponath PD. Cloning and characterization of the guinea pig eosinophil eotaxin receptor, C-C chemokine receptor-3: blockade using a monoclonal antibody in vivo. J. of Immunology, 1998, 161(11):6139-47.
21. Palframan RT. Collins PD. Williams TJ. Rankin SM. Eotaxin induces a rapid release of eosinophils and their progenitors from the bone marrow. Blood., 1998, 91(7), 2240- 8.
22. Quackenbush EJ. Wershil BK. Aquirre V. Gutierrez-Ramos JC. Eotaxin modulates myelopoiesis and mast cell development from embryonic hematopoietic progenitors. Blood., 1998, 92(6):1887-97.
23. Nakajima T. Yamada H. Iikura M. Miyamasu M. Izumi S. Shida H. Ohta K. Imai T. Yoshie O. Mochizuki M. Schroder JM. Morita Y. Yamamoto K. Hirai K. Intracellular localization and release of eotaxin from normal eosinophils. FEBS Letters, 1998, 434(3):226-3.
24. Hogaboam C. Kunkel SL. Strieter RM. Taub DD. Lincoln P. Standiford TJ. Lukacs NW. Novel role of transmembrane SCF for mast cell activation and eotaxin production in mast cell-fibroblast interactions. J. of Immunology, 1998, 160(12):6166-71.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

25. Yang Y. Loz J. Rzseck RP. Carrasco D. Bravo R. Antigen-induced eosinophilic lung inflammation develops in mice deficient in chemokine eotaxin. Blood., 1998, 92(10):3912-23.
26. Matthews AN. Friend DS. Zimmermann N. Sarafi MN. Luster AD. Pearlman E. Wert SE. Rothenberg ME. Eotaxin is required for the level of tissue eosinophils. Proceedings of the National Academy of the Sciences of the United States of America, 1998, 95(11):6273-8.
27. Nakamura H. Haley KJ. Nakamura T. Luster AD. Lilly CM. Differential regulation of eotaxin expression by TNF-alpha and PMA in human monocytic U-937 cells. American J. of Physiology,1998, 275(3 Pt 1):L601-10.
28. Li L. Xia Y. Nguyen A. Feng L. Lo D. Th2-induced eotaxin expression and eosinophilia coexist with Th1 responses at the effector stage of lung inflammation. J. of Immunology, 1998, 161(6):3128-35.
29. Teran LM. Mochizuki M. Bartels J. Valencia EL. Nakajima T. Hirai K. Schroder JM. Th1- and Th2-type cytokines regulate the expression and production of eotaxin and RANTES by human lung fibroblasts. American J. of Respiratory Cell&Molecular Biology, 1999, 20(4):777-86.
30. Jinquan T. Quan S. Feili G. Larsen CG. Thestrup-Pedersen K. Eotaxin activates T cells to chemotaxis and adhesion only if induced to express CCR3 by IL-2 together with IL-4. J. of Immunology, 1999, 162(7):4285-92.
31. Spergel JM. Mizoguchi E. Oettgen H. Bhan AK. Geha RS. Roles of TH1 and TH2 cytokines in a murine model of allergic dermatitis. J. of Clinical Investigation, 1999,103(8):1103-11.
32. Zhu Z. Homer RJ. Wang Z. Chen Q. Geba GP. Wang J. Zhang Y. Elias JA. Pulmonary expression of interleukin-13 causes inflammation, mucus hypersecretion, subepithelial fibrosis, physiologic abnormalities, and eotaxin production. J. of Clinical Investigation, 1999, 103(6):779-88.
33. Bonecchi R. Polentarutti N. Luini W. Borsatti A. Bernasconi S. Locati M. Power C. Proudfoot A. Wells TN. Mackay C. Mantovani A. Sozzani S. Up-regulation of CCR1 and CCR3 and induction of chemotaxis to CC chemokines by IFN-gamma in human neutrophils. J. of Immunology, 1999, 162(1):474-9.
34. Iversen PO. Robinson D. Ying S. Meng Q. Kay AB. Clark-Lewis I. Lopez AF. The GM-CSF analogue E21R induces apoptosis of normal and activated eosinophils. American J. of Respiratory&Critical Care Medicine,1997, 156(5):1628-32.
35. Bartels J. Maune S. Meyer JE. KulKe R. Schluter C. Rowert J. Christophers E, Schroder JM. Increased eotaxin-mRNA expression in non-atopic nasal polyps: comparison to RANTES and MCP-3 expression. Rhinology,1997, 35(4):171-4.
36. van de Rijn M. Mehlhop PD. Judkins A. Rothenberg ME. Luster AD. Oettgen HC. A murine model of allergic rhinitis: studies on the role of IgE in pathogenesis and analysis of the eosinophil influx elicites by allergen and eotaxin. J. of Allergy&Clinical Immunology, 1998, 102(1):65-74.
37. Taha RA. Minshall EM. Miotto D. Shimbara A. Luster A. Hogg JC. Hamid QA. Eotaxin and monocyte chemotactic protein-4 mRNA expression in small airways of asthmatic and nonasthmatic individuals. J. of Allergy&Clinical Immunology, 1999,103(3 Pt 1):476-83.
38. Zeibecoglou K. Ying S. Yamada T. North J. Burman J. Bungre J. Meng Q. Kay AB. Robinson DS. Increased mature and immature CCR3 messenger RNA+ eosinophils in bone marrow from patients with atopic asthma compared with atopic and nonatopic control subjects. J. of Allergy&Clinical Immunology, 1999,103(3 Pt 1):99-106.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

39. Lamkhioued B. Renzi PM. Abi-Younes S. Garcia-Zepada EA. Allakhverdi Z. Ghaffar O. Rothenberg MD. Luster AD. Hamid Q. Increased expression of eotaxin in bronchoalveolar lavage and airways of asthmatics contributes to the chemotaxis of eosinophils to the site of inflammation. J. of Immunology, 1997, 159(9):4593-601.
40. Conroy DM. Humbles AA. Rankin SM. Palframan RT. Collins PD. Griffiths-Johnson DA. Jose PJ. Williams TJ. The rolé of the eosinophil-selective chemokine, eotaxin, in allergic and non-allergic airways inflammation.[Review] [42 refs]. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz., 1997, 92 Suppl 2:183-91.
41. Brown JR. Kleimberg J. Marini M. Sun G. Bellini A. Mattoli S. Kinetics of eotaxin expression and its relationship to eosinophil accumulation and activation in bronchial biopsies and bronchoalveolar lavage (BAL) of asthmatic patients after allergen inhalation. Clinical &Experimental Immunology, 1998, 114(2):137-46.
42. Li D. Wang D. Griffiths-Johnson DA. Wells TN. Williams TJ. Jose PJ. Jeffery PK. Eotaxin protein and gene expression in guinea-pig lungs: constitutive expression and upregulation after allergen challenge. European Respiratory J., 1997, 10(9):1946-54.
43. Harris RR. Komater VA. Marett RA. Wilcox DM. Bell RL. Effect of mast cell deficiency and leukotriene inhibition on the infllux of eosinophils induced by eotaxin. J. of Leukocyte Biology, 1997, 62(5):688-91.
44. Cook EB. Stahl JL. Lilly CM. Haley KJ. Sanchez H. Luster AD. Graziano FM. Rothenberg ME. Epithelial cells are a major cellular source of the chemokine eotaxin in the guinea pig lung. Allergy&Asthma Proceedings, 1998, 19(1):15-22.
45. Yang L. Cohn L. Zhang DH. Homer R. Ray A. Ray P. Essential role of nuclear factor kappa B in the induction of eosinophilia in allergic airway inflammation. J. of Experimental Medicine, 1998, 188(9):1739-50.
46. Chen J. Akyurek LM. Fellstrom B. Hayry P. Paul LC. Eotaxin and capping protein in experimental vasculopathy. American J. of Pathology, 1998, 153(1):81-90.
47. Teixeira MM. Williams TJ. Hellewell PG. Description of an in vivo model for the assessment of eosinophil chemoattractants in the mouse. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz., 1997, 92 Suppl 2:211-4.
48. Teruya-Feldstein J. Jaffe ES. Burd PR. Kingma DW. Setsuda JE. Tosato G. Differential chemokine expression in tissue involved by Hodgkin's disease: direct correlation of eotaxin expression and tissue eosinophilia. Blood., 1999, 93(8):2463-70.
49. Evans CA. Garcia HH. Hartnell A. Gilman RH. Jose PJ. Martinez M. Remick DG. Williams TJ. Friedland JS. Elevated concentrations of eotaxin and interleukin-5 in human neurocysticercosis. Infection&Immunity, 1998, 66(9):4522-5.
50. Park IW. Koziel H. Hatch W. Li X. Du B. Groopman JE. CD4 receptor-dependent entry of human immunodeficiency virus type-1 env-pseudotypes into CCR5-, CCR3-, and CXCR4-expressing human alveolar macrophages is preferentially mediated by the CCR5 coreceptor. American J. of Respiratory Cell&Molecular Biology, 1999, 20(5):864-71.
51. Sol N. Treboute C. Gomas E. Ferchal F. Shacklett B. Alizon M. The rhesus macaque CCR3 chemokine receptor is a cell entry cofactor for HIV-2, but not for HIV-1. Virology, 1998, 240(2):213-20.
52. Rubbert A. Combadiere C. Ostrowski M. Arthos J. Dybul M. Machado E. Cohn MA. Hoxie JA. Murphy PM. Fauci AS. Weissman D. Dendritic cells express multiple chemokine receptors used as coreceptors for HIV entry. J. of Immunology, 1998, 160(8):3933-41.
53. Edinger AL. Mankowski JL. Doranz BJ. Margulies BJ. Lee B. Rucker J. Sharron M. Hoffman TL. Berson JF. Zink MC. Hirsch VM. Clements JE. Doms RW. CD4-

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

independent, CCR5-dependent infection of brain capillary endothelial cells by a neurovirulent simian immunodeficiency virus strain. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1997, 94(26):14742-7.
54. Forssman U. Uguccioni M. Loetscher P. Dahinden CA. Langen H. Thelen M. Baggiolini M. Eotaxin-2, a novel CC chemokine that is selective for the chemokine receptor CCR3, and acts like eotaxin on human eosinophil and basophil leukocytes. J. of Experimental Medicine, 1997, 185(12):2171-6.
55. White SR. Imburgia C. Dul E. Appelbaum E. O'Donnell K. O'Shannessy DJ. Brawner M. Fornwald J. Adamou J. Elshourbagy NA. Kaiser K. Foley JJ. Schmidt DB. Johanson K. Macphee C. Moores K. McNulty D. Scott GF. Schleimer RP. Sarau HM. Cloning and functional characterization of a novel human CC chemokine that binds to the CCR3 receptor and activates human eosinophils. J. of Leukocyte Biology, 1997, 62(5):667-75.
56. Elsner J. Petering H. Kluthe C. Kimmig D. Smolarski R. Ponath P. Kapp A. Eotaxin -2 activates chemotaxis-related events and release of reactive oxygen species via pertussis toxin-sensitive G proteins in human eosinophils. European J. of Immunology, 1998, 28(7):2152-8.
57. Sabroe I. Hartnell A. Joplilng LA. Bel S. Ponath PD. Pease JE. Collins PD. Williams TJ. Differential regulation of eosinophil chemokine signaling via CCR1 and non-CCR3 pathways. J. of Immunology, 1999, 162(5):2946-55.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

MCP-1
(Monocyte Chemotactic Protein-1)

Chemokina CC MCP-1 a fost identificată ca un chemoatractant major pentru monocite şi limfocite T (1).

MCP-1 este o proteină cu greutatea moleculară mică (8-10KDa), şi are un rol semnificativ în patologia bolilor inflamatorii acute şi cronice (2). mRNA precursor sau proteina, au fost detectate la nivele înalte în leziunile prezente în mai mule boli cum sunt fibroza pulmonară, artrita reumatoidă, ateroscleroza şi, de asemenea, în câteva tipuri de tumori.

Reglarea producţiei MCP-1 şi rolul ei în stările patofiziologice rămân în mare măsură necunoscute (3). Pentru a identifica regiunile MCP-1 care contactează receptorul său CCR2, s-au substituit cu alanină toate reziduurile expuse pe suprafaţa celulelor. Câteva reziduuri au fost mutate pe alţi aminoacizi pentru a identifica la poziţii specifice, importanţa sarcinilor, hidrofobiei şi a aromaticităţii reziduurilor.

Afinitatea de cuplare a fiecărui mutant pentru CCR2, a fost examinată pentru celulele CHL transfectate cu CCR2. S-a constatat că majoritatea mutaţiilor punctiforme nu au efect. Reziduurile la terminusul N al proteinei, cunoscut a fi crucial pentru semnalizare, contribuie mai puţin la afinitatea de cuplare. Situsul de cuplare al receptorului pentru MCP-1 este semnificativ diferit de situsurile de cuplare ale RANTES şi IL-8.

Au fost realizate mutaţii punctiforme la nivelul a 6 reziduuri acide din regiunea N-terminală a receptorului, pentru a testa rolul lor în cuplarea ligandului, demonstrându-se astfel implicarea motif-ului DYDY în cuplarea ligandului (1). S-a constatat că MCP-1 glicozilat (12 şi 13,5kD) este de 2-3 ori mai puţin chemotactic pentru monocite şi celulele THP-1, decât MCP-1 neglicozilat (10kD). MCP-1 (5-76) şi (6-76) trunchiate N-terminal, au fost lipsite de bioactivitate în timp ce MCP-1 (1-69) procesat COOH-terminal reţine întreaga sa capacitate de inducere a Ca^{2+}, ca şi a activităţii chemotactice. Capacitatea formelor MCP-1 modificate natural de a desensibiliza răspunsul Ca^{2+} indus de MCP-1 intact în celulele THP-1, se corelează cu potenţialul agonistic al lor.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

MCP-2 (6-76) modificat natural este lipsit de activitate, dar poate bloca complet efectul chemotactic al MCP-1, MCP-3 şi RANTES. MCP-2 (1-74) procesat COOH-terminal, nu reţine potenţialul său chemotactic. Comparativ cu MCP-1, MCP-2 natural intact este de 10 ori mai puternic în inducerea creşterii Ca^{2+} intracelular; astfel, modificările postranslaţionale fiziologice sau patologice afectează potenţialul chemokinei (4).

Receptorul MCP-1

CCR2, receptorul chemokinei MCP-1, este considerat o proteină G majoră care cuplează receptorul pentru MCP-1/JE (5). S-au investigat mecanismele moleculare prin care endotoxina bacteriană LPS, mediază hiporeglarea receptorilor CCR2 pe monocitele umane. Se constată că LPS induce o reducere marcată a nivelelor proteinei de suprafaţă CCR2, care a fost blocată prin pretratarea cu inhibitori ai TK, cum sunt ginestein şi herbamycin A.

Mecanismul efector care stă la baza hiporeglării CCR2 indusă de LPS, implică, se pare, activitatea proteinazelor întrucât analizele Western blot ale monocitelor stimulate cu LPS, relevă degradarea speciilor de 38kD ce corespund monomerului CCR2B. În celulele RBL ce exprimă proteina de fuziune CCR2B, LPS stimulează internalizarea şi degradarea CCR2. Inhibitorul serinproteinazei N-alpha-p-tosyl-L-lysine chloromethyl ketone, blochează hiporeglarea CCR2, indusă de LPS în monocite. Astfel, s-a demonstrat că mecanismul hipomodulării receptorului chemokinelor CC este dependent de activarea TK şi de degradarea receptorului mediată de serin -proteinază (6).

Studii de cuplare ale receptorului, demonstrează că MCP-1 marcat ^{125}I, se leagă la o singură clasă de receptori cu afinitate crescută cu o constantă Kd de 0,14 (0,07-0,32) nM. În studii de competiţie, MCP-2 şi MCP-3 inhibă complet legarea MCP-1 marcat ^{125}I , cu valori K_i de 0,3 (0,16-0,46), 8,8 (3,4-26) şi 12,2 (0,6-22) (7).

Mecanismele celulare ale MCP-1

Expresia hMCP-1 este prezentă în variate tipuri celulare şi fiind amplificată de o varietate de stimuli. S-a demonstrat iniţial că efectele a variaţi stimuli precum IL-1beta, TNF alpha, 2-O- tetradecanoyl forbol 13-acetat asupra expresiei hMCP-1 mRNA au fost diferite în celulele glioblastomului A172, fibrosarcomului HT1080 şi în celulele leiomiosarcomului SKLMS. Aceste constatări sugerează că expresia hMCP-1 este reglată atât într-o manieră stimul-specifică cât şi într-o manieră ţesut specifică.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Pentru a elucida mecanismul care stă la baza acestei reglări, s-a izolat DNA genomic de la capătul 5'al hMCP-1, DNA secvenţiat până la perechea de baze 3011 în amonte de situsul start transcripţional. Printre elementele cis putative, s-au identificat două elemente cis critice pentru transcripţia genei hMCP-1. Primul element îl constituie îndepărtarea situsului de cuplare kappa B localizat amonte, între perechile de baze -2612 şi -2603, care este important pentru activitatea enhancer-ului indusă de IL-1 beta, TNF alpha şi 2-O-tetradecanoyl phorbol 13-acetat. Mutaţia la situsul consens kappaB, conduce la o pierdere completă a activităţilor enhancer-ului indusă de stimuli. Elementul secundar este box GC, localizat între perechile de baze -64 şi -59 care este important în menţinerea activităţii transcripţionale bazale.

Superexpresia rSP1 conduce la o creştere a activităţi transcripţionale hMCP-1, via box GC. Aceste date indică faptul că expresia MCP-1 este controlată prin cel puţin două elemente reglatoare: un situs kappaB şi box GC, care este asociat, se pare, cu reglarea stimul-specifică şi respectiv ţesut-specifică (8).

Un alt posibil mecanism care reglează expresia chemokinei MCP-1 este hiperexpresia proteinei AP-1, ce provoacă direct co-inducerea expresiei genelor moleculelor de adeziune intercelulară (ICAM-1) şi ale chemokinei, MCP-1 în celulele endoteliale vasculare umane (EC). Expresia genei indusă de AP-1 se produce printr-un mecanism independent de factorul nuclear kappaB. Deoarece inducerea expresiei ICAM-1 şi MCP-1 în EC a fost implicată în activarea endoteliului vascular şi într-un număr de afecţiuni vasculare, s-a sugerat că activarea AP-1 poate juca un rol în patogeneza inflamaţiei, angiogenezei şi aterogenezei (9).

Expresia MCP-1 în procese fiziologice

MCP-1 este neexprimat în osul normal sau în osteoblastele normale in vitro, însă după stimularea cu mediatori inflamatori, chemokina MCP-1 este hiperreglată. Această expresie este temporal şi spaţial asociată cu recrutarea monocitelor atât în inflamaţia cât şi în timpul remodelării osului în procesul de dezvoltare. De asemenea, s-a constatat că MCP-1 exogen aplicată osului inflamat, amplifică recrutarea monocitelor. Monocitele produc factori care influenţează metabolismul oaselor, aşa cum sunt prostaglandinele, PDGF, IL-1 şi TNF, iar chemokinele MCP-1 care iniţiază recrutarea acestorar par a fi de asemenea, importante în metabolismul oaselor (10).

MCP-1, recrutează şi macrofage, fiind exprimată în corpul galben de la şobolan unde creşte cantitativ în timpul luteolizei. Expresia temporală şi spaţială a MCP-1 şi modificările în numărul macrofagelor au fost examinate

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

imunocitochimic. Imunocolorarea MCP-1 a fost marcată în cazul regenerării corpului galben comparativ cu cea din faza luteinică timpurie. Expresia MCP-1 a fost, de asemenea, marcată în peretele vaselor de sânge care înconjură corpul galben, comparativ cu cea din vasele localizate la distanţă de acesta. Se conclude astfel că, expresia MCP-1 şi numărul macrofaglor se amplifică odată cu regresia corpului galben şi că MCP-1 poate juca un rol în recrutarea macrofagelor în timpul regresiei acestuia (11).

Nivelele circulante ale MCP-1, s-a demonstrat că sunt amplificate într-o manieră dependentă de vârstă; astfel, utilizând tehnica ELISA, s-a constatat că vârsta reprezintă un predictor important al nivelelor circulante ale MCP-1, odată cu înaintarea în vârstă observându-se creşterea acestora. O posibilă explicaţie ar consta în faptul că nivelul plasmatic al MCP-1 poate reflecta existenţa aterosclerozei, deşi la pacienţii cu boli coronariene sau cu accidente cerebro-vasculare,acesta nu variază în funcţie de vârstă (3).

Celulele pigmentare ale retinei, situate între retină şi coroida vascularizată, formează o parte a barierei sânge-ochi şi sunt importante în homeostazia globului ocular. Aceste celule sunt capabile să producă o varietate de citokine care pot juca un rol în răspunsurile inflamatorii intraoculare. S-a urmărit dacă celulele epiteliului pigmentar al retinei secretă citokinea anti-inflamatorie TGF-beta 2 şi citokina pro-inflamatorie MCP-1, într-o manieră polarizată. Secreţia TGF-beta 2 şi MCP-1 la polul bazal şi la cel apical al monostraturilor celulelor RPE netratate cu IL-1beta a fost analizată prin ELISA. S-a demonstrat că secreţia TGF-beta 2 nu este hiperreglată de stimularea cu IL-1beta în schimb IL-1 beta induce puternic secreţia MCP-1, preferenţial în compartimentul bazal al monostraturilor RPE.

Astfel, se demonstrează că celulele RPE umane sunt capabile să secrete TGF-beta 2 şi MCP-1 într-o manieră polarizată. De asemenea, se susţine că, MCP-1 poate fi secretat de celulele RPE în direcţia vaselor coroidale din partea posterioară a ochilor, în timpul răspunsurilor inflamatorii, fapt ce poate limita leziunile retinei neurosenzoriale (12).

Expresia MCP-1 modulată de diferiţi stimuli

Monocitele şi limfocitele T, implicate în răspunsurile imune/inflamatorii pot fi atrase din circulaţie în ţesuturi prin MCP-1, iar ulterior, monocitele pot fi activate prin CSF, GM-CSF sau M-CSF.

Efectele IL-6 sau ale TGF-beta asupra producţiei de MCP-1 sau CSF au fost examinate în celulele foliculare tiroidiene (TFC). IL-6, fiind eficient numai în prezenţa receptorului solubil IL-6R, stimulează expresia MCP-1 şi GM-CSF, dar are efect inhibitor asupra expresiei GM-CSF. TGF-beta stimulează expresia atât a MCP-1 şi GM-CSF, dar supresează expresia M-CSF.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Aceste rezultate sugerează un posibil rol al IL-6 sau TGF-beta în inițierea și modularea răspunsurilor tiroid imune/inflamatorii (13).

Expresia chemokinelor, incluzând MCP-1 a fost examinată în celulele endoteliale ale venei ombilicale umane (EC) în urma tratamentului cu citokine. S-a comparat efectul TGF-beta 1 asupra acestei expresii induse a chemokinelor și s-a demonstrat că TGF-beta are efecte imunosupresive pe celulele endoteliale. EC exprimă mRNA MCP-1 și proteina, ca răspuns la TNF-alpha, IFN-gamma sau IL-1beta, dar nu ca răspuns la TGF-beta 1. TGF-beta 1 prin co-tratament cu TNF-alpha sau IL-1beta, dar nu cu IFN-gamma, reduce semnificativ expresia mRNA MCP-1 și a proteinei comparativ cu tratamentul separat cu TNF-alpha sau IL-1.

Pretratamentul cu TGF-beta nu are efect asupra expresiei MCP-1 indusă de orice citokină, de asemenea, TGF-beta 1 nu are nici un efect asupra stabilității mRNA MCP-1. S-a demonstrat că TNF-alpha provoacă o reducere a expresiei p75 pe suprafața celulară iar tratamentul celulelor endoteliale cu TGF-beta singur provoacă o reducere aditivă a expresiei p75 comparativ cu tratamentul TNF-alpha singur.

Aceste observații susțin existența unor mecanisme adiționale prin care TGF-beta exercită proprietăți imunosupresive asupra EC (14).

Un alt studiu evaluează chemokinele exprimate de celulele endoteliale umane derivate din piele (HDMEC) și reglarea expresiei acestor chemokine, indusă de citokine. După stimularea cu IL-1beta și TNF-alpha, HDMEC și HMEC (linie celulară endotelială microvasculară umană) exprimă nivele înalte ale IL-8, GRO, MCP-1. RANTES a fost indus doar într-o mică măsură.

Tratamentul concomitent cu TNF-alpha și IFN-gamma conduce la hiporeglarea RANTES, indicând o sinergie între aceste două citokine. Chemokina CXC, IP-10 este hiporeglată prin acțiunea IFN-gamma, dar nu ca rezultat al acțiunii altor citokine. MIP-1alpha și beta, 1-309 și ENA-78 nu pot fi induse. Profilul chemokinelor din HDMEC și HMEC-1 a fost comparat cu acela al chemokinelor din endoteliul venei ombilicale umane și s-a găsit a fi similar cu acesta, cu excepția faptului că IFN-gamma și IL-4 hiporeglează MCP-1doar în endoteliul macrovascular (15).

TNF- alpha este o citokină cu efecte majore asupra expresiei chemokinei MCP-1. Astfel, s-a demonstrat că TNF-alpha reglează transcripțional expresia MCP-1 murin. S-au realizat o serie de studii pentru a determina mecanismul prin care TNF reglează MCP-1 și s-a demonstrat că două situsuri distale kappa B, o secvență hipersensibilă dimetilsulfat și un situs SP-1 promotor proximal sunt necesare pentru inducția TNF. Studiile de transactivare, realizate prin co-transfecția vectorilor de expresie p50 și/sau p65 cu constructele MCP-1 demonstrează că TNF-alpha reglează expresia MCP-1 prin intermediul NF-kappa B. Acest studiu ilustrează rolul crucial al p65 NF-kappa B în

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

inducerea genei MCP-1 de către TNF ca şi în asamblarea enhancer-ului dependent de NF-kappa B, in vivo (16).

Efectul IL-10 asupra producţiei induse de LPS a chemokinelor MIP-1alpha şi MCP-1 a fost examinat la 16 subiecţi sănătoşi care au fost injectaţi intravenos cu LPS şi cu IL-10. LPS induce o creştere tranzientă în ser a MIP-1alpha, MIP-1beta şi MCP-1 dar pretratamentul cu IL-10 inhibă eliberarea chemokinelor indusă de LPS. Inhibarea producţiei de MIP-1alpha şi beta, indusă de către IL-10 este independentă de prezenţa sau absenţa anticorpilor anti-TNF (17).

GM-CSF derivat din celulele tumorale şi activitatea tumoricidă a macrofagelor, reduc tumorigenicitatea. Pentru a investiga implicarea sa în acest fenomen, gena GM-CSF murină a fost transfectată în celulele KM12SM - celule de carcinom de colon uman - observându-se o infiltrare densă cu PMN, urmată de infiltrare cu macrofage, care se corelează cu expresia MIP-1alpha şi MCP-1. Incubarea macrofagelor cu GM-CSF induce expresia moleculelor de adeziune ceulară CD11b, molecule ce au fost asociate cu creşterea ataşamentului la celule tumorale. Celulele KM12SM au fost înalt sensibile la liza mediată de macrofage, în prezenţa MCP-1 recombinant şi a rGM-CSF.

În ansamblu rezultatele sugerează că GM-CSF derivat din celulele tumorale, stimulează celulele polimorfonucleare şi macrofagele să secrete MIP-1alpha şi MCP-1, care determină recrutarea celulelor mononucleare, induce expresia moleculelor de adeziune pe suprafaţa macrofagelor şi creşte citoliza dependentă de contact a celulelor tumorale (18).

Activitatea chemotactică a MCP-1 poate fi alterată prin tratamentul cu peroxinitrit, un oxidant care poate nitra reziduurile de Tyr ale MCP-1, şi astfel, poate reduce activitatea chemotactică monocitară indusă de MCP-1, într-o manieră dependentă de doză. Peroxinitritul reduce cuplarea MCP-1 la monocite şi conduce la formarea nitrotirozinei. Se concluzionează că peroxinitritul poate juca un rol în reglarea chemotaxisului monocitelor indus de MCP-1 (19).

Expresia MCP-1 în patologie

Expresia MCP-1 în infecţii bacteriene

Infecţia bacteriană coincide cu migrarea leucocitelor în circulaţie, în ţesutul infectat cu bacterii. Recent, s-a demonstrat că celulele endoteliale, după cuplarea şi ingestia Staphyloccocus aureus, expun proprietăţi proinflamatorii incluzând activitatea procoagulantă şi creşterea expresiei ICAM-1 şi VCAM-1 pe suprafaţa celulară, conducând la o superadeziune în principal pentru monocite.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Creşterea extravazării monocitelor la situsurile infecţiei bacteriene este facilitată de producţia locală a factorilor chemotactici. Se observă că, după infecţia celulelor endoteliale umane cu bacterii acestea eliberează MCP-1, care, în schimb, stimulează chemotaxisul monocitelor. Astfel, după 24 ore, după ingestia S. aureus, celulele endoteliale eliberează cantităţi semnificative de MCP-1, într-o manieră dependentă de numărul şi de virulenţa bacteriilor utilizate pentu infecţie. Kineticile, ca de asemenea, cantitatea de MCP-1 eliberată de celulele endoteliale infectate cu S. aureus, diferă marcat de acelea eliberate de celulele endoteliale stimulate cu IL-1 beta.

Se concluzionează că celulele endoteliale pot iniţia şi susţine activ un răspuns inflamator după invazia microorganismelor patogene, fără a fi necesară o intervenţie cu citokine proinflamattorii derivate din macrofage (20).

Expresia MCP-1 în nefrite

IL-6, un factor de creştere autocrin pentru celulele mesangiale, şi chemokinele care sunt eliberate de celulele mesangiale activate şi care induc infiltrarea leucocitelor, joacă un rol critic în progresia bolilor renale mediate de sistemul imun. S-a analizat dacă IL-6 singur sau în combinaţie cu forma solubilă a receptorului său, poate induce celulele mesangiale umane normale (NHMC) să elibereze chemokine alpha şi sau beta (MCP-1, IL-8, RANTES).

Se constată că doar tratamentul sincron al IL-6 cu IL-6R este eficient în inducerea eliberării semnificative a chemokinelor în celulele NHMC. Astfel, tratamentul cu IL-6 şi IL-6R determină un efect sinergic puternic asupra sintezei şi eliberării MCP-1, dar nu are nici un efect asupra IL-8, RANTES sau MIP-1alpha. S-a demonstrat că NMHC exprimă doar lanţul de transducere a semnalului (gp130) nu şi subunitatea specifcă a receptorului IL-6 (gp180).

Aceste constatări susţin implicarea IL-6 în reacţiile inflamatorii ale rinichiului prin reglarea selectivă a recrutării monocitelor (21).

Secreţia MCP-1 de către celulele mesangiale umane, se produce şi ca răspuns la acţiunea IL-1 şi această secreţie are un rol central în amplificarea răspunsului inflamator în glomerulonefrită (22).

Mecanismul prin care IL-1 reglează transcripţia sa nu a fost elucidat. S-a observat că membrii familiei kappa B/rel (NF-kappa B), pot regla expresia MCP-1 într-o manieră specifică de ţesut sau de stimulare. Prin analize Western blot s-a caracterizat acţiunea membrilor familiei NF-kappa B care cuplează la două situsuri NF-kappa B ale enhancer-ului MCP-1 (A_1şi A_2), in vitro. Transactivarea genei MCP-1 a fost investigată prin transferul enhancer-ului în celulele mesangiale.

S-a observat că celulele mesangiale umane primare conţin în plus faţă de p50 (NF-kappa B_1) şi p65 (RelA), oncoproteina c-rel şi RelB, dar nu p52 (NF-kappaB_2).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

IL-1 induce c-rel să formeze un complex cu p65, care cuplează la situsul A_2 MCP-1, dar nu la A_1. IL-1 hiperreglează activitatea transfectată a enhancer-ului MCP-1. Co-transferul enhancer-ului cu heterodimerul c-rel p65 poate transactiva selectiv gena MCP-1 via situsurilor A_1şi A_2, în celulele mesangiale. Deci, c-rel poate amplifica transcripţia MCP-1 în celulele mesangiale şi poate determina amplificarea expresiei genei în glomerulul infectat (22).

Se susţine că interacţia dintre celulele mesangiale (MC) şi monocite/macrofage (Mo/Mo) este o trăsătură patogenică importantă a glomerulonefritei dar mecanismul său nu este încă elucidat. Interacţiunile celulă-celulă au fost examinate în condiţiile expresiei MCP-1 iar rezultatele relevă că adeziunea celulară a culturilor de macrofage la celulele mesangiale, induce expresia MCP-1 care este observată, în principal, în celulele mesangiale. Se pare că inducerea expresiei MCP-1 este, cel puţin în parte, mediată de activarea factorului kappa B, care se produce preferenţial în celulele mesangiale (23).

S-a observat că inhibitorii Angiotensin-converting enzyme (ACE) reduc infiltrarea macrofagelor în câteva modele de injurie renală şi s-a emis ipoteza că angiotensin (AngII) poate fi implicată în recrutarea celulelor inflamatorii în leziunile renale prin inducerea sintezei MCP-1. Într-un model de nefrită imună, s-a observat o hiperreglare a MCP-1 renal (mRNA şi proteina) în asociaţie cu infiltrarea celulelor mononucleare, procese reduse semnificativ prin tratamentul cu inhibitorul ACE, quinapril. Expunerea celulelor mesangiale de şobolan la AngII amplifică expresia (2,5ori) şi sinteza (3ori), similar cu efectele observate la acţiunea TNF-alpha. Întrucât NF-kappa B este implicat în reglarea genei MCP-1, s-a investigat dacă efectele AngII sunt mediate tot prin activarea factorului NF-kappa B şi s-a observat că AngII activează NF-kappa B (4.3ori) iar inhibitorul NF-kappa B pyrolidine dithiocarbamate aboleşte activarea NF-kappa B şi expresia genei MCP-1, induse de către AngII în celulele renale. Acesta poate fi un mecanism care poate explica în viitor efectele benefice ale inhibitorilor ACE în bolile renale progresive (24).

MCP-1 în astm

Chemokinele beta sunt cunoscute pentru rolul lor fundamental în dezvoltarea bolilor alergice ale căilor aeriene printre care şi astmul. S-a demonstrat că celulele muşchilor netezi ai căilor aeriene umane (HASMC) nu au doar funcţii contractile ci sunt capabile să exprime şi să secrete chemokine ale familiei MCP/eotaxin.

Nivelele de expresie ale MCP (MCP-1,-2, -3)mRNA au fost comparate cu acelea ale mRNA RANTES în în cultura de HASMC. Aceste celule exprimă

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

mRNA MCP şi RANTES după stimularea cu IL-1beta, TNF-alpha şi IFN-gamma. MCP mRNA a atins un nivel maxim la 8 ore după stimulare, în timp ce expresia mRNA RANTES s-a observat la 24 ore, după stimulare. Expresia mRNA MCP, indusă de citokine în HASMC, a fost asociată de eliberarea MCP, care a fost inhibată prin dexametazonă şi postranslaţional prin IL-4.

Se poate susţine că HASMC participă activ la patogeneza astmului prin expresia şi eliberarea chemokinelor implicate în generarea răspunsului inflamator caracteristic al bolilor alergice ale căilor respiratorii (25).

Studii realizate pe un caz particular de astm şi anume astmul indus de diisocyanate (DOA) şi s-a observat că există o asociere, in vitro, între această formă de astm şi factorii eliberatori de histamină stimulaţi de antigenul diisocynate în PBMC. Chemokinele identificate în supernatantele PBMC, se cunosc a exprima activitatea factorului eliberator de histamină.

PBMC de la muncitorii expuşi la diisocyanat, s-au testat in vitro, pentru necesarul specific de diisocyanat al MCP-1, MCP-3, MIP-1 alpha, RANTES, IL-8 şi citokinele celulelor T care pot juca un rol reglator în sinteza citokinelor (IL-4, IL-5, IFN-gamma şi TNF-alpha). Muncitorii cu DOA prezintă PBMC ce expun creşteri semnificative ale secreţiei MCP-1 comparativ cu muncitorii asimptomatici expuşi la diisocyanate.

Cuantificarea citokinelor în supernatante arată o producţie medie crescută de IL-8 şi TNF-alpha, în timp ce IFN-gamma, IL-4 şi IL-5 nu erau crescute la subiecţii DOA.

Astfel, stimularea antigenică a secreţiei MCP-1 şi TNF-alpha, sugerează că reacţiile imune celulare specifice diisocyanate au drept rezultat activarea macrofagelor, care pot fi importante în patogeneza DOA (26).

MCP-1 în boli alcoolice de ficat

Bolile alcoolice de ficat sunt asociate cu creşterea expresiei hepatice a MCP-1 şi a MIP-1alpha. Concentraţiile MCP-1 în ser sunt mai înalte în hepatitele alcoolice comparativ cu ciroza sau comparativ cu subiecţii control sănătoşi. Concentraţiile MIP-1alpha au fost sub sensibilitatea de detectare la cei mai mulţi pacienţi însă concentraţiile din ser ale MCP-1, au fost corelate semnificativ cu aspartat aminotransferaza şi creatinina serică. În hepatitele alcoolice severe, concentraţiile MCP-1, au fost mai înalte în venele hepatice comparativ cu venele periferice; în hepatitele alcoolice blânde nu există diferenţe.

Secreţia de către celulele mononucleare atât a MCP-1 cât şi a MIP-1alpha, este mai înaltă în hepatitele alcoolice severe comparativ cu controalele sănătoase, iar mRNA-ul chemokinei a fost identificat în monocite (27).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Aceste rezultate susţin MCP-1 drept candidat pentru activarea şi infiltrarea celulelor mononucleare în hepatitele alcoolice (AH). Producţia MCP-1 de către monocitele de la pacienţii AH a fost redusă, in vitro, prin pretratamentul monocitelor cu N-acetilcisteina şi, de asemenea, este redusă la pacienţii ameliorati clinic, după 6 luni. Nivelele plasmatice ale MCP-1 au fost sub limitele de detectare ale tehnicilor utilizate atât la pacienţii AH cât şi la subiecţii normali.

S-a observat că monocitele de la pacienţii cu AH produc atât nivele constitutive ale MCP-1, dar, de asemenea produc nivele înalte ale MCP-1 atunci când sunt stimulate cu LPS (28).

MCP-1 în boli inflamatorii intestinale

Boala intestinală inflamatorie (IBD) indică disfuncţii inflamatorii acute ale tractului gastrointestinal de etiologie necunoscută. Perturbarea sistemului imun intestinal la nivel celular şi umoral constituie un element important în patogeneza multifactorială a IBD.

Expresia citokinelor proinflamatorii (IL-1, IL-6, TNF-alpha) şi a chemokinelor (IL-8, ENA-78, MCP-1, RANTES), în mucoasa intestinală de la pacienţi IBD este marcat crescută, totuşi nu este întotdeauna însoţită de creşterea nivelelor serice ale citokinelor. În IBD se observă şi modificări importante în expresia tisulară a citokinelor imunoreglatorii. Astfel, se observă nivele crescute ale IL-2 mRNA şi IFN-gamma precum şi nivele scăzute ale IL-4 în mucoasa intestinală inflamată (29).

Se susţine că chemokinele sunt importante pentru recrutarea granulocitelor şi a celulelor mononucleare şi astfel, pentru menţinerea inflamaţiei în colitele ulcerative (UC). Pentru a examina rolul chemokinelor în progresia bolii a fost studiată expresia proteinei 10 (IP-10) indusă de IFN-gamma ca, de asemenea, expresia IL-8, MCP-1, MCP-3 şi MIP-1alpha, atât la pacienţii UC cât şi la indivizi control.

S-a constatat că chemokinele analizate se exprimă în celulele ce infiltrează lamina propria dar nu şi în celulele epiteliale. Procentajul celulelor ce exprimă IP-10, IL-8, MCP,1 şi MCP-3 a fost semnificativ crescut în toate mostrele UC, comparativ cu controalele. Expresia MIP-1alpha nu a fost detectată nici la controale nici la indivizi UC (30).

Celulele colonului au o producţie diferenţiată de chemokine care se presupune că ar contribui la infiltrarea crescută, caracteristică de populaţii de leucocite selectate în boala inflamatorie a colonului.

IL-13 amplifică secreţia IL-1alpha ce induce IL-8 în linia HT-19. Combinaţia TNF-alpha şi IFN-gamma stimulează minim reglarea activării expresiei mRNA RANTES şi MCP-1 în celulele HT-29. Aceeaşi stimulare induce însă o expresie mai puternică a secreţiei mRNA IL-8.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Pretratarea cu IL-13 sau IL-4 reduce semnificativ RANTES şi MCP-1, dar nu expresia secreţiei mRNA IL-8. Dimpotrivă, IL-10 nu are efect asupra generării mRNA RANTES, MCP-1 şi IL-8.

Deci producţia de chemokine de către celulele epiteliale colonice poate fi diferit reglată de citokine derivate din celulele T şi sugerează un interjoc între celulele epiteliale şi limfocitele T, potenţial important în inflamarea intestinului gros (31).

MCP-1 în inflamaţia şi injuria creierului

Injuria în ţesuturile ne-neuronale stimulează expresia chemokinelor ce conduc la migrarea celulelor inflamatorii responsabile de procesul de reparare. Semnalele implicate în procesul de reparare a leziunilor din creier sunt foarte puţin înţelese.

Se presupune că în urma injuriei creierului, chemokinele se exprimă şi reglează rata şi patern-ul acumulării celulelor inflamatorii. Au fost evaluate patern-urile expresiei mRNA pentru chemokinele alpha şi beta (MCP-1/JE, MIP-1alpha, MIP-1beta, RANTES) precum şi acumularea leucocitelor în urma leziunilor cerebrale. Leziunile cerebrale analizate se datorau în parte adiţiei endotoxinei bacteriene LPS, care stimulează expresia citokinelor. În leziunile induse de LPS, toate citokinele se exprimă la nivele crescute.MCP-1 şi MIP-alpha erau crescute la două ore şi atingeau un vârf la 6 ore, MIP-1beta atingea un nivel maxim la 6 ore dar scădea mai rapid decât MCP-1 sau MIP-1 alpha iar IP-10 avea un peak la 6 ore şi prezenta un declin rapid. Spre deosebire de inducţiile induse LPS, injuriile sterile, produse în absenţa endotoxinei, induceau doar mRNA pentru chemokina beta MCP-1 iar expresia sa era întârziată comparativ cu expresia citokinelor din injuriile corticale induse de LPS.

Prezenţa mesajului chemokinic la aproximativ o oră indică faptul că expresia acestei clase de molecule este un răspuns timpuriu în procesul de reparaţie ulterior injuriei traumatice a creierului. În leziunile corticale induse de endotoxina bacteriană se observă o acumulare mai rapidă a macrofagelor/microgliilor, de asemenea, se observă activarea suplimentară a microgliilor din marginile leziunii precum şi o acumulare celulară mai mare, comparativ cu leziunile sterile.

Aceste rezultate susţin capacitatea creierului de a exprima multiple gene pentru chemokine, în condiţiile unei stimulări adecvate (exemplu: tratamentul cu LPS). Gradientul activării microgliei este corespunzător leziunii care stimulează eliberarea de chemokine la situsul injuriei (32).

Expresia chemokinelor în sistemul nervos post-traumatic a fost studiată pe un model de degenarare wallerianã a axonilor din sistemul nervos periferic şi s-a constatat că celulele Schwann pot iniţia procesul degenerării walleriene

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

prin eliberarea citokinelor proinflamatorii (IL-1beta, MCP-1, IL-8 şi IL-6) implicate în recrutarea şi diferenţierea leucocitelor.

O comparaţie a patern-ului secretor dintre explantele de nervi şi celulele Schwann cultivate, susţine că fiecare citokină a fost reglată diferenţial prin absenţa factorilor de creştere sau a fragmentelor membranei axonale. Întrucât degenerări similare degenerării walleriene se produc într-o largă varietate de neuropatii periferice, producţia citokinelor mediată de celulele Schwann poate juca un rol important în multe bolii (33).

Expresia chemokinelor MCP-1, MCP-2, MCP-3 a fost, de asemenea studiată în leziuni de scleroză multiplă (MS) la indivizi cu vârste şi nivele ale activităţii inflamatorii diferite. Imunocolorarea pentru MCP-1, -2, -3, a leziunilor de scleroză multiplă cronice-active sau acute, este proeminentă în centrul leziunii iar reactivitatea este abrupt diminuată la periferia leziunii. Astrocitele hipertrofice apar puternic reactive iar celulele inflamatorii prezintă o reactivitate variabilă. Creierele normale, de control nu prezintă imunoreactivitate pentru MCP-1,-2 şi -3.

Deşi distribuţie celulară a celor trei membrii ai acestei familii este similară, anticorpii pentru MCP-3 induc coloraţii proeminente ale matrixului extracelular, care nu au fost descrise pentru MCP-1 şi MCP-2.

Toate aceste experimente susţin implicarea chemokinelor proceselor de reparaţie de la nivelul creierului (34).

În meningitele virale, răspunsul inflamator implică celulele T şi monocitele, care sunt necesare în spaţiul subarahnoidian. S-au investigat semnalele chemotactice ce atrag celulele la locul inflamaţiei din meninge şi s-a constatat că patru citokine şi anume MCP-1, RANTES, MIP-1alpha şi MIP-1beta precum şi citokinele IL-15 şi IL-16 sunt prezente în lichidul cerebrospinal al pacienţilor cu meningită virală. Rezultatele indică o implicare a MCP-1 şi IP-10 întrucât s-a constatat că spre deosebire de alte chemokine, MCP-1 şi IP-10 sunt prezente în 97% şi 79% din CSF, la concentraţii suficiente pentru a induce chemotactismul celulelor mononucleare, de asemenea, s-a observat că mai mult de 90% din CSF-urile din meningitele virale induceau chemotaxisul celulelor mononucleare din sângele periferic (PBMC) (35).

MCP-1 în endometrioză

Endometrioza, una din cele mai frecvente boli ginecologice, este dependentă de estrogeni şi este adesea asociată cu modificări imunologice. Acestea includ amplificarea activării şi infiltrării macrofagelor în implanturile endometriotice ca şi în implanturile care se dezvoltă în cavitatea peritoneală. În ciuda rolului critic al estrogenilor în dezvoltarea acestei boli, mecanismele biochimice nu sunt cunoscute.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

S-a demonstrat că estradiolul (E_2) creşte responsivitatea celulelor endometriotice la citokinele proinflamatorii IL-1beta prin hiperreglarea expresiei MCP-1 indusă de către IL-1, în timp ce progesteronul nu are efecte semnificative.

Analizele de imunohistochimie ale expresiei MCP-1 în ţesutul endometriotic relevă o imunocolorare intensă atât în glandele epiteliale cât şi în stroma indiferent de faza ciclului menstrual, ceea ce este în conformitate cu datele obţinute pe culturi de celule şi indică faptul că expresia MCP-1 nu este subiect de variaţie ciclică.

Constatările acestui studiu furnizează dovezi care susţin că E_2 hiperreglează, deşi pe o cale indirectă, expresia unui factor activator şi chemotactic puternic, de către celulele endometriale ectopice, care se poate produce local la situsul inflamator şi poate contribui la activarea macrofagelor peritoneale, şi relevă o nouă cale de acţiune a E_2 în patofiziologia endometriozei (36).

În fluidul peritoneal al femeilor cu endometrioză, s-au detectat nivele înalte ale MCP-1. Un studiu asupra endometriozei investighează dacă expresia MCP-1 este indusă de adeziunea celulelor stromale endometriale sau acest proces este mediat de integrine.

După cum este cunoscut, endometrioza este o boală care se datorează abilităţii edometrului menstrual de a se implanta şi a creşte, proces dependent de conexiunile celulă-celulă sau celulă-matrix (ECM), conexiuni ce pot fi mediate de integrine. Se demonstrează că integrinele sunt asociate cu adeziunea celulelor endometriale în endometrioză şi conduc la hiperreglarea expresiei genei MCP-1 şi a secreţiei proteinei.

Disrupţia citoskeletului de actină prin tratarea celulelor cu citochalasin D, blochează complet creşterea MCP-1 indusă ca răspuns la activarea integrin. Prin urmare adeziunea ECM este un eveniment important care conduce la stimularea expresiei MCP-1, iar acest proces este mediat de integrine (37).

MCP-1 în miopatie inflamatorie

Miopatiile inflamatorii idiopatice (IIM) sunt boli musculare cu patogeneză autoimună caracterizate de infiltrarea celulară mononucleară a ţesutului muscular. Întucât acumularea celulelor imune la situsul competiţiei antigenice este, uzual, mediată de chemokine, s-a evaluat expresia a două beta chemokine - MCP-1 şi MIP-1alpha - la pacienţii cu poliomiozită, dermatomiozită, şi s-a corelat expresia lor cu alterările patologice din muşchi. Transcriptele MCP-1 şi MIP-1alpha au fost detectate, prin PCR, în toţi muşchii de la bolnavii IIM dar nu la control. Prin imunocitochimie, chemokinele au fost detectate în toate secţiunile muşchilor IIM, localizate în celulele inflamatorii infiltrante şi, de asemenea, în matrixul extracelular din apropiere.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Având în vedere abilitatea cunoscută a chemokinelor de a cupla matrixul extracelular şi posibilitatea lor de sinteză de către componentele matrixului extracelular, s-a sugerat că acumularea chemokinelor în matrixul extracelular poate acţiona ca un factor de micromediu ce amplifică activarea şi migrarea limfocitelor, prin care se menţine atacul împotriva antigenilor musculari necunoscuţi (38).

MCP-1 în infecţii parazitare

Conform definiţiei MCP-1 este o chemokină cu rol critic în bolile inflamatorii acute şi cronice susţinându-se implicarea sa şi în infecţii parazitare.

Pentru a demonstra această posibilitate, şoareci Balb-C au fost infectaţi cu Trichinella spiralis, iar după infecţie au fost sacrificaţi la intervale diferite de timp şi au fost cuantificate nivelele serice ale MCP-1 şi TNF-alpha. Nivelele MCP-1, pentru un interval de studiu de 50 zile, cresc şi ating un maxim la 33 zile şi ulterior scad, în timp ce nivelele TNF-alpha în ser au rămas identice pe tot intervalul. Serul de la şoarecii neinfectaţi nu conţine nivele detectabile ale MCP-1 sau TNF-alpha dar toate aceste date nu elucidează rolul şi funcţia MCP-1 în bolile inflamatorii parazitice (2).

O altă boală parazitară, keratita oncocercală, indusă de infecţia cu Onchocerca valvulus, a fost studiată din punct de vedere al efectelor citokinelor şi al expresiei chemokinelor.

Keratita oncocercală poate fi indusă la şoareci prin imunizări SC şi injectare intracorneală a O. valvulus Ags (OvAg) solubil iar răspunsul inflamator este dependent de celulele T şi de IL-4. Întrucât IL-12 recombinant afectează răspunsurile mediate de Th2, dependente de IL-4, în alte infecţii parazitare şi în modele de astm alergic, s-a încercat determinarea efectului IL-12 în keratita oncocercală.

Surprinzător este faptul că tratamentul cu IL-12 provoacă exacerbarea patologiei corneale care era asociată cu creşterea infiltraţiei celulelor mononucleare şi a eozinofilelor în stroma corneană. Corespunzător cu efectul cunoscut al IL-12 asupra dezvoltării celulelor Th1, corneea animalelor tratate cu IL-12 prezintă expresia crescută a citokinelor Th1, IFN-gamma şi expresia diminuată a citokinelor Th2 - IL-4, IL-5, IL-10, IL-13. Totuşi corneea acestor animale prezenta o creştere marcată a chemokinelor alpha şi beta cunoscute a fi active pe eozinofile şi mononucleare: Ip-10, MIP-1alpha, MIP-1beta, JE/MCP-1 şi RANTES.

Aceste date susţin că IL-12 exacerbează patologia corneeană mediată OvAg, prin amplificarea expresiei chemokinelor (induse de agentul patogen) şi a necesarului de celule inflamatorii (39).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

MCP-1 în diabet

În dezvoltarea diabetului dependent de insulină celulele Th1, nu însă şi celulele Th2 conduc la distrucţia insulelor beta şi la debutul bolii. Pentru a identifica evenimentele care reglează intrarea celulelor CD4 în pancreas, s-au transferat celule Th1 şi Th2 induse in vitro de la celule CD4 trasgenice TCR specific de insulă, la recipienţi imunodeficienţi (NOD scid).

Deşi ambele subseturi infiltrează pancreasul şi necesită receptori de adeziune multipli (adresin în nodulii limfatici periferici, molecula-1 de adeziune celulară adresin mucosal, LFA-1, ICAM-1 şi VCAM-1) asupra endoteliului vascular, intrarea şi acumularea celulelor Th1 este mai rapidă decât aceea a celulelor Th2, şi doar celuleleTh1 induc diabet.

In vitro, celulele Th1 erau distincte de celulele Th2 prin capacitatea de a sintetiza mai multe citokine care includ limfotactinul, MCP-1, MIP-1alpha, pe când ambele subseturi produceau MIP-1beta. Unele din aceste citokine cum ar fi RANTES, MCP-3, MCP-5, s-au asociat cu celulele Th1 dar nu cu celulele Th2 infiltrate pancreatic.

Aceste rezultate demonstrează polarizarea expresiei chemokinelor pe celulele Th1 şi Th2 în micromediul pancreasului, în corelaţie cu infiltratele inflamatorii distinctive care determină dacă celulele beta producătoare de insulină sunt protejate sau distruse (40).

MCP-1 în infecţia cu HIV

Importanţa expresiei chemokinelor în infecţia HIV-1, a fost subliniată prin descoperirea faptului că infecţia celulelor T CD_4 (+) cu tulpinile M-tropice ale HIV, este antagonizată de chemokinele RANTES, MIP-1alpha şi MIP-1beta, care sunt liganzi naturali ai CCR5 - un co-receptor major pentru HIV-1 tropic pentru macrofage (M-tropic).

Într-o manieră similară, liganzii MCP-1 şi MCP-2 ai CCR2b, inhibă infecţia productivă a PBMC cu tulpinile HIV-1 dependente CCR5 şi CCR4, sugerând că expresia chemokinei MCP-1poate afecta infecţia HIV, via semnalizării prin receptorul CCR2 şi desensibilizarea ulterioară a căii de semnalizare a CCR5 şi/sau CXCR4. Întrucât receptorii chemokinici joacă un rol major în fuziunea/intrarea HIV, iar chemokinele exercită efecte reglatorii asupra infecţiei HIV-1, s-a examinat patern-ul expresiei genelor pentru chemokine în celulele mieloide infectate cu HIV-1 ca şi în monocitele/macrofagele primare. Infecţia cronică HIV-1 a celulelor U937, amplifică expresia genelor RANTES, MIP-1alpha, MIP-1beta şi IL-8, dar inhibă puternic transcripţia genei MCP-1 indusă de TNF-alpha.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Inhibiţia transcripţiei şi secreţiei MCP-1, mediată HIV-1, a fost corelată cu o întârziere a cuplării NF-kappa B la promotorul MCP-1, indusă de HIV-1 sau de semnal. Această inhibare a expresiei genei MCP-1, poate furniza un mecanism prin care HIV-1 se sustrage de influenţa expresiei chemokinelor în celulele monocitare (41).

Un alt studiu susţine că demenţa asociată SIDA, caracterizată prin pierderea neuronilor şi prin leziuni sinaptice, are ca predictor central pentru debutul clinic infiltrarea cu monocite şi macrofage a parenchimului sistemului nervos central. Utilizând o co-cultură de celule endoteliale şi astrocite, s-a examinat mecanismul prin care factorul derivat HIV, şi anume Tat, poate facilita transmigrarea monocitelor, şi s-a demonstrat că tratamentul co-culturii cu Tat HIV-1, induce semnificativ MCP-1. Sursa expresiei MCP-1 s-a constatat că sunt astrocitele şi nu celulele endoteliale.

Supernatantele de la coculturi tratate cu Tat, induc transmigrarea semnificativă a monocitelor la 2,5 ore după adiţia PBMC. Pretratamentul acestor supernatante cu anticorpi anti MCP-1 blochează complet transmigrarea. Analizele de flow citometrie ale PBMC stimulate Tat, demonstrează că Tat hiperreglează expresia CCR5 pe monocite într-o manieră dependentă de timp. Aceste date susţin că Tat-HIV poate facilita recruterea monocitelor în SNC, prin inducerea expresiei MCP-1 în astrocite (42).

Proteina Tat HIV-1 s-a dovedit a fi un chemoatractant principal pentru monocite şi s-a observat că prezintă aminoacizi conservaţi la situsurile critice ale chemokinelor familiei de molecule cunoscută pentru abilitatea de a atrage monocitele. Tat sintetic şi un peptid (Cys L_{24-51}), ce cuprinde regiunea "chemokine-like" a Tat, induc un influx rapid şi tranzient de Ca^{2+} în monocite şi macrofage, analog chemokinelor beta. Se demonstrează că Tat împarte receptorii cu MCP-1, MCP-3 şi eotaxin şi este capabilă să lege chemokinele beta la receptorii beta chemokinici CCR2 şi CCR3 dar nu la CCR1, CCR4 şi CCR5. HIV-Tat mimează, se pare, trăsăturile chemokinelor beta şi facilitează activarea şi infecţia HIV (43).

Chemokinele care reglează infiltrarea macrofagelor s-au măsurat în fluidul cerebrospinal al indivizilor HIV (-) şi HIV(+), cu sau fără boala neurologică şi s-a constatat că RANTES, MIP-1alpha, MIP-1beta şi IL-8 sunt foarte crescute în demenţa HIV. MCP-1 este corelat cu CSF viral şi severitatea demenţei şi el creşte după un timp la pacienţii care dezvoltă demenţă (44).

MCP-1 în cancer ovarian

MCP-1 este un important mediator al infiltrării monocitare în variate tumori solide cu origine epitelială. S-a evaluat rolul MCP-1 în evoluţia cancerului ovarian şi s-au determinat valorile sale ca marker de diferenţiere şi

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

de prognostic într-un studiu retrospectiv ce cuprinde 86 paciente cu cancer ovarian, 48 cu cancer ovarian primar şi 38 cu cancer ovarian recurent, 68 paciente cu chisturi ovariene benigne şi 42 de femei sănătoase.

Nivelele medii în serul pacientelor cu cancer ovarian primar, cancer ovarian recurent, chisturi ovariene benigne şi la femei sănătoase a fost 535, 6 pg ml (-1), 427, 3 pg ml (-1), 371, 2 pg ml (-1) şi 318, 7 pg ml (-1). Modelele de regresie relevă o influenţă semnificativă a nivelelor serice ale MCP-1 asupra pacientelor cu cancer ovarian primar contra pacientelor cu chisturi benigne şi contra femeilor sănătoase. Pe un model de regresie multivariată, considerând nivelele serice simultane ale MCP-1 şi CA125, atât MCP-1 cât şi CA125 relevă o semnificaţie statistică asupra subiecţilor cu cancer ovarian împotriva celor cu chisturi benigne.

La pacientele cu cancer ovarian, nivelele serice ale MCP-1 arată o corelaţie semnificativă statistică cu gradul histologic şi vârsta la momentul diagnozei.

În ansamblu aceste date susţin că MCP-1 poate juca un rol funcţional în istoria cancerului ovarian şi poate servi ca marker de diferenţiere între chisturile benigne şi cancer ovarian (45).

Rezultate recente susţin că semnalele proinflamatorii şi anti-inflamatorii reglează expresia receptorului chemokinic pe monocite. Astfel, s-a examinat expresia CCR2, receptorul ce cuplează MCP-1, în macrofagele asociate tumorilor (TAM) de la pacienţii cu cancer ovarian. TAM izolat de la carcinoma ovariană ascitică sau solidă, expune mRNA CCR2 defectiv, prezintă o expresie de suprafaţă deficientă şi nu migerază ca răspuns la MCP-1.

Defectul a fost selectiv pentru CCR2 întrucât CCR1 şi CCR5 au fost exprimate normal în TAM. Expresia genei CCR2 şi răspunsul chemotactic la MCP-1 a fos redus la o extindere mai mică în monocitele sângeluli de la pacienţii cu cancer. Nivelele mRNA CCR2 şi răspunsul chemotactic la MCP-1 a fost drastic redus în monocitele cultivate proaspete în prezenţa ascitelor din tumorile pacientelor cu cancer. Anticorpii anti TNF-alpha refac nivelele mRNA în monocitele cultivate în prezenţa fluidului ascitic.

Constatarea expresiei defective a CCR2 în TAM, dependentă masiv de producţia locală de TNF, este în conformitate cu datele anterioare asupra hiporeglării receptorilor chemokinici prin molecule proinflamatorii.În prezenţa inflamaţiei cronice sau a tumorilor avansate, hiporeglarea sistemică a receptorului prin molecule proinflamatorii, ajunse în circulaţia sistemică, pot avea importanţă pentru chemotaxisul deficient şi pentru capacitatea deficientă de a amplifica răspunsurile inflamatorii asociate cu neoplazia avansată (46).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

MCP-2
(Monocyte Chemotactic Protein-2)

MCP-2 (Monocyte Chemotactic Protein-2) este un membru al subfamiliei de chemokine CC sau β, cu o omologie secvenţială de peste 60% cu MCP-1 şi MCP-3 şi cu 30% cu MIP-1α, RANTES, MIP-1β. In ciuda acestei omologii secvenţiale cu alte chemokine CC, MCP-2 pare a avea proprietăţi juncţionale unice în comparaţie cu alte chemokine CC, cum ar fi MCP-1 şi MCP-3 (47).

Gena MCP-2 este situată pe cromozomul uman 17q 11.2 "YAC contig" având cu genele MCP-1 şi MCP-3 o structură comună intron-exon şi o omologie a secvenţei de nucleotide de 77%. Gena MCP-2 este localizată împreună cu genele eotaxin, MCP-1, MCP-3, MCP-4 pe cromozomul 17q 11.2 (48).

S-a detectat mRNA MCP-2 de 1,0 Kb predominant în intestinul subţire, sângele periferic, inimă, placentă, plămân, muşchi scheletic, ovar, colon, pancreas şi timus. Transcriptele de 1,5 şi 2,4 Kb s-au găsit în testicul, intestin subţire şi colon (49).

MCP-2 este secretată de o varietate de tipuri celulare normale, incluzând fibroblastele, celulele epiteliale şi leucocitele, precum şi de celulele tumorale. După stimularea cu diferite citokine şi inductori citokinici, nivelele MCP-2 sunt întotdeauna mai scăzute decât acelea ale MCP-1. In fibroblastele diploide umane, citokinele reglează diferenţial inducţia chemokinelor, IL-1β, IFN-γ şi TNF-α, fiind stimuli ai MCP-1 şi MCP-2. Se poate presupune că, producerea sinergică a MCP-1 şi MCP-2 indică o contribuţie egală a acestor chemokine în condiţii patologice şi normale (50, 51).

MCP-2 a fost izolată iniţial din celulele osteosarcoma stimulate ca o chemokină co-produsă cu MCP-1 şi MCP-3. cDNA-ul MCP-3 complet s-a clonat dintr-un cDNA din măduva osoasă umană. S-a constatat că există două variante alelice MCP-2 datorită poziţiei 46, codonii a două reziduuri (Lys 46 şi Gln 46). A fost codificată o proteină MCP-2 de 76 reziduuri, dar diferă de secvenţa cDNA MCP-2 din codonul 46 care codifică o Lys în loc de Gln (51).

Nu s-a observat nici o diferenţă în activitatea biologică dintrre isoformele rMCP-2 Gln 46 şi rMCP-2 Lys 46. Totuşi, pentru ambele variante MCP-2, pyroglutamatul NH2 - terminal s-a arătat a fi esenţial pentru chemotaxis, dar nu

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

pentru mobilizarea calciului. Astfel, pGlu NH2 - terminal în MCP-2 este necesar pentru activitatea chemotactică, dar şi că el protejează contra degradării de către proteaza CD26/dipeptidil peptidază IV (CD 26/DPP IV) (52).

Chemokinele mediază activităţile lor prin receptorii cuplaţi la proteina G. Receptorii pentru MCP-2 sunt: CCR1 pe monocite, eosinofile, bazofile şi Th1; CCR2 pe monocite, bazofile, neutrofile, Th2; CCR3 pe Th2, eosinofile, bazofile, Th1, monocite (53, 54).

Date recente au constatat că MCP-2 se cuplează şi la receptorul CCR5, un receptor chemokinic exprimat pe celulele T şi macrofage. CCR5 este cel mai înrudit cu CCR2b şi funcţionează ca un coreceptor pentru virusul HIV-1 macrofagic-tropic pentru a intra în celulele gazdă, limfocitele TCD4(+) (55, 56).

Cu toate că MCP-2 se poate lega şi semnaliza prin CCR1, CCR2b şi CCR5, dintre care CCR2 şi CCR5 se exprimă la nivele înalte pe celulele T activate, se pare a fi preferabil utilizat CCR5 pe aceste celule. Loops-urile extracelulare ale receptorului - printre care cel secundar are un rol important - sunt necesare pentru a determina semnalizarea eficientă a receptorului. Funcţional, CCR5 este implicat în procesul de fuziune cu anvelopa HIV şi va ajuta la dezvoltarea agenţilor capabili să interfere cu etapele timpurii ale infecţiei virale (56).

MCP-2 determină internalizarea dependentă de doză şi remarcabilă a CCR5 în celulele CCR5/293. MCP-2 inhibă intrarea/replicarea HIV-1ADA în celulele CCR5/293 ce comprimă CD4 indicând faptul că MCP-2 foloseşte CCR5 ca principal receptor funcţional şi este un inhibitor puternic al lui HIV-1 (57).

MCP-2 este un mediator important al migrării limfocitelor şi monocitelor.

Pentru a determina activităţile acestei chemokine s-au făcut numeroase investigaţii pe celulele EBNA-293 din rinichi de embrion uman, transfectate cu receptorul CC CKR2B. Datele au arătat că MCP-2 îşi poate exercita efectele sale prin receptorul MCP-1, CC CKR2B determinând o inhibare dependentă de doză a activităţii adenilciclazei stimulate de forskolin (58).

MCP-2 are rol în răspunsurile gazdei în inflamaţie şi neoplazie, pe celulele tumorale şi mezenchimale normale (51).

MCP-2 induce chemotaxisul, modificări ale [Ca2+]i precum şi eliberarea granzimei A şi N-acetil-D-glucosamidei din celulele TCD8+ după tratamentul cu cytochalasin B indicând că, chemokinele CC activează celulele NK şi sunt, astfel, nu doar atractanţi pentru monocite, limfocite T, ci şi pentru eosinofile, bazofile (59).

Studiul expresiei şi distribuţiei MCP-1, MCP-2 şi MCP-3 în leziunile de scleroză multiplă la diferite vârste şi nivele inflamatorii arată că în cele mai multe leziuni cronice imunoreactivitatea pentru MCP-1, MCP-2 şi MCP-3 era considerabil diminuată, iar în leziunile uşor cronice imunoreactivitatea era

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

restrânsă la câteva astrocite reactive împrăştiate. Aceste rezultate determină faptul că membrii familiei MCP de chemokine sunt implicaţi în dezvoltarea leziunilor de scleroză multiplă în sistemul nervos central (34).

În sinuzitele cronice asociate sau nu cu alergiile s-a constatat că MCP erau localizate în celulele epiteliale şi în celulele inflamatorii din mucoasă. Chemokinele pot fi o legătură comună între eosinofilia sinuzitelor asociate sau nu alergiilor, rolul principal îl au MCP-3 şi MCP-4, constatare care poate avea implicaţii terapeutice (59).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

MCP-3
(Monocyte Chemoatractant Protein-3)

MCP-3 este o chemokină CC care interacţionează cu receptorii CCR, CCR2(MCP-1) şi CCR3 cu spectru de acţiune pe celulele T, NK, eozinofile, celule dendritice şi pe fagocitele mononucleare.

Chemokina MCP-3 este constituită din 76 reziduuri de aminoacizi, prezentând multe situsuri de legare pentru celulele ţintă. Structura sa monomerică, aceeaşi cu a altor chemokine, o încadrează în subfamilia RANTES şi hMIP-1 beta (60).

MCP-3 purificată din PBMC are 11kD şi acelaşi potenţial ca MCP-3 din celulele tumorale. În monocitele şi celulele endoteliale umane, MCP-3 se exprimă sub acţiunea LPS, IL-1 şi TNF, la nivele transcripţionale apreciabile, ca şi prin produs de secreţie redus cantitativ. IFN-gamma are însă, un efect mai slab.

Citokinele anti-inflamatorii nu induc expresia MCP-3, ci din contră, o supresează. MCP-3 elaborat de celulele epiteliale poate fi important în reglarea extravazării celulelor ce prezintă receptori corespunzători, aşa cum sunt NK şi eozinofilele (61).

Nivelele producţiei MCP-3 (1-10ng/ml) induse sinergic de IL-1 beta şi IFN-gamma în fibroblastele diploide sunt de 10 ori mai mari comparativ cu cele induse de MCP-1. IFN-alpha şi IFN-beta, dar nu IFN-gamma sau virusul rujeolei induc în PBMC cantităţi importante de MCP-3, sugerând printre altele, rolul acestei chemokine în stadiul timpuriu al infecţiei virale. Inducţia MCP-3 de către IFN este diferenţiat reglată în fibroblaste şi PBMC, producţia sa locală fiind importantă pentru orientarea selectivă a răspunsului imunitar în cazul infecţiilor şi a inflamaţiilor (62).

MCP-3/FIC (Fibroblast-Induced Citokine) este chemoatractantă pentru celulele care infiltrează locurile inflamate ale căilor aeriene alergice în faza târzie. Pretratarea şoarecilor cu anticorpi anti-MCP-3/FIC inhibă semnificativ inflamaţia căilor aeriene indusă de OVA ca şi eozinofilia celulelor lavajului bronhiolar. Se conclude că, acest complex joacă un rol important în inflamaţia eozinofilică indusă de alergen în căile aeriene (63).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

MCP-3 aparţine astfel, chemokinelor CC, care sunt citokine implicate în recrutarea celulelor atât în preocese inflamatorii cât şi în neoplazie. Exprimarea variată la diferiţi stimuli în diferite ţesuturi se explică prin modul de abordare a diferitelor situsuri ale promotorului genei MCP-3. Astfel, virusul rujeolei şi PMA (Phorbol 12-Miristate 13-Acetate) induc mRNA MCP-3 la 6 ore după stimulare, iar IFN-beta, la 16 ore. În celulele MG-63 nu s-a observat creşterea semnificativă a nivelelor mRNA sub acţiunea IL-1 beta. Promotorul genei MCP-3 de 5kb, care deţine un microsatelit, este polimorf în diverse linii celulare. Prin deleţii la capătul 5' în promotor s-au stabilit elemente reglatoare transcripţionale negative şi pozitive. Astfel, un element pozitiv s-a găsit în box TATA, element similar cu AP-1. De asemenea, s-a observat o regiune care conţine un element Ets-like, precum şi alte elemente. Stimularea cu PMA creşte dramatic activitatea promotorului, prin activarea elementului pozitiv prezent între secvenţele -172 şi -100 (64).

Receptorii pentru MCP-3 (CCR)

În răspunsul lor la chemokine, leucocitele suportă rearanjări ale citoscheletului într-un proces dinamic care conduce la polarizarea celulară. Aceste modificări sunt esenţiale pentru migrarea leucocitelor din microcirculaţie la locurile inflamaţiei.

Eozinofilele răspund la chemokinele CC via receptorului CCR3, inducând modificări rapide de formă ale celulelor tuturor donatorului. Eozinofilele umane exprimă receptorul eotaxin CCR3, şi răspund la o varietate de chemokine incluzând MCP-3, MCP-2, MCP-4 şi RANTES (65).

Leucocitele PMN tratate cu IFN-gamma exprimă situsuri de legare specifice pentru MCP-3 şi migrează sub acţiunea MIP-1 alpha, MCP-3, MCP-5, HCC 2 şi eotaxin, iar IFN-gamma induce o creştere rapidă (circa o oră) a mRNA CCR1 şi CCR3 (66).

Celulele dendritice care sunt stimulate de mediatori inflamatori, se pot matura şi migra din ţesuturile nelimfoide în organele limfoide unde iniţiază răspunsuri imunitare mediate de limfocitele T. Această etapă de migrare este strâns legată de maturarea celulelor dendritice.

EBI1/CCR-7, receptorul pentru chemokinele ce pot regla migrarea celulelor dendritice exprimând maturarea acestora, apare hiperreglat în 3 culturi distincte de celule dendritice. MIP-1alpha, MCP-3 şi RANTES pot media migrarea celulelor dendritice imature din locurile periferice, în timp ce MIP-3 beta direcţionează migrarea celulelor purtătoare de antigen, de la situsurile inflamatorii periferice. Se apreciază astfel, că diferite chemokine sunt implicate în migrarea celulelor dendritice care poartă CCR7 (67).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Receptorul CCR10 a cărei gena este localizată în cromosomul 3 (3p21.31-3p21.32-gena care se consideră că are rol în imunitatea placentară şi în hematopoieză) se exprimă principalmente în placenta şi ficatul fetale, legând cu înaltă afinitate chemokinele MCP-1 şi MCP-3 (68).

Factori activatori ai chemokinei MCP-3

IFN-gamma este un puternic activator al funcţiei fagocitare a mononuclearelor, promotând apariţia răspunsului limfocitelor T, pe lângă faptul că induce şi modulează producţia de chemokine într-o varietate de tipuri celulare inclusiv fagocitele mononucleare. Astfel, IFN-gamma induce chemokinele MCP-1 şi MCP-3 în fagocitele mononucleare inhibând, în acelaşi timp, expresia receptorului MCP CCR2 în monocite, fără însă a fi substanţial afectaţi receptorii chemokinelor CCR1, CCR5. IFN-gamma laolaltă cu LPS, TNF-alpha şi IL-1 beta inhibă, de asemenea expresia CCR-2. În monocitele tratate cu IFN-gamma, half-life mRNA CCR-2 este scurt (69). Datele menţionate mai sus sunt în acord cu paradigma reglării divergente prin mai mulţi agenţi, a producţiei de chemokineşi, de asemenea, cu expresia receptorului în monocite.

Componentele microbiene induc expresia şi producţia de MCP-3 în monocitele umane. LipoArabino Mannan (Ara LAM) micobacterial induce expresia mRNA MCP-3 în celulele mononucleare, monocitele apărând responsabile de exprimarea acestui mRNA indus de Ara LAM.

Mycobacterium bovis BCG induce puternic expresia MCP-3, care fiind activă pe fagocitele mononucleare, pe celulele NK, T şi dendritice, devine relevantă în inducerea şi exprimarea imunităţii anti-mycobacteriene (70).

Ca reacţie le proteinele derivate din Mycobacterium bovis şi din Schistosoma mansoni aplicate şoarecilor cu granulom, dar deprivaţi de IFN-gamma şi IL-4, se constată producerea de citokine regionale. Astfel, în urma inhibării IL-4, granulomul de tip 2 nu se converteşte în granulom de tip 1, în schimb este persistent exprimată IL-3 şi, mai puţin IL-5 şi MCP-3, sugerându-se că aceste citokine pot susţine un răspuns compensatoriu de tip 2 (71).

MCP în patologie

MCP-3 este o chemokină atractantă pentru celulele mononuclerare (monocite, limfocite) implicate în procesele inflamatorii, celule care domină în leziunile de scleroză multiplă. În ideea stabilirii asocierii MCP-3 cu apariţia sclerozei multiple Swedish (55)! s-a studiat polimorfismul microsatelitului CA-GA din regiunea promotor-enhancer a genei MCP-3.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

În mostrele provenite de la 129 pacienţi cu scleroza Swedish s-au detectat cu o frecvenţă redusă, 5 variante de alele MCP-3 (MCP-3A1-MCP-3A5). Alelele MCP-3 individuale nu diferă însă semnificativ la pacienţii cu scleroză, comparativ cu controlul. S-a constatat însă, că alela MCP-3A4 poate preveni apariţia sclerozei (72).

Sinuzita cronică se caracterizează prin îngroşarea mucoasei inflamate şi prin formarea polipilor cu infiltrat dominant eozinofilic. Membrii subfamiliei de chemokine MCP sunt mediatori inflamatori capabili de atragerea populaţiilor de celule specifice. Chemokinele MCP-1, MCP-4 relevă proprietăţi funcţionale comune, printre care şi activitatea chemotactică pentru eozinofile.

În biopsiile de sinuzită cronică etmoidală, chemokinele MCP apar localizate în celulele epiteliale ale mucoasei şi în celulele inflamatorii. La pacienţii cu această afecţiune, dar şi alergici, cea mai expresivă imunoreactivitate o demonstrează MCP-3 şi MCP-4, în comparaţie atât cu afecţiunile neasociate cu alergii cât şi cu normalul.

În expresia chemokinelor MCP-1 nu apar diferenţe în epiteliul celor cu sinuzită şi cel al subiecţilor normali. Nivelul expresiei MCP-3 şi MCP-4 se corelează cu infiltrarea eozinofilelor şi limfocitelor T CD4+, dar nu cu a limfocitelor T CD8+. În patofiziologia sinuzitelor se sugerează potenţialul terapeutic al celor două chemokine (59).

Investigarea mucoasei intestinale umane inflamate de la pacienţii cu IBD (Inflammatory Bowel Disease) evidenţiază predominant proteina MCP-3 în celulele epiteliale ale mucoasei active, inflamate, ca şi în zonele în care endoteliul este distrus. mRNA MCP-3 este intens exprimat în liniile de celule epiteliale intestinale HT-29, Caco-2 şi T-84, stimulate cu IL-1 beta, IL-6 şi TNF-alpha. Concluzia este că, producţia de MCP-3 creşte esenţial în ariile intestinale active sugerând rolul imunoreglator al acesteia în inflamaţia intestinală (73).

Capacitatea de recrutare a diferitelor tipuri celulare (limfocite T, NK, eozinofile, celule dendritice) de către proteina MCP-3 presupune intervenţia ei importantă şi în evoluţia celulelor tumorale, astfel, celulele mastocitomului P815 transfectate cu gena care codifică chemokina MCP-3 (p815/MCP-3) cresc în gazde singeneice şi suferă rezecţii. Deci, trasferul de gene MCP-3 induce rejecţia tumorilor prin activarea imunităţii dependentă de celulele T tip 2 (74). Anticorpii monoclonali anti CD4, CD8 şi IFN-gamma, dar nu anti IL-4, inhibă rejecţia celulelor producătoare de MCP-3. Numărul macrogagelor asociate tumorii, ca şi numărul limfocitelor T, al eozinofilelor şi neutrofilelor creşte odată cu transferul genei. În schimb, celulele dendritice nu proliferează în masa tumorală, ci peritumoral, acumulându-se în ariile perivasculare. Acumularea crescută a macrofagelor şi PMN neutrofile este evident crescută la şoarecii nuzi.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

MCP-4
(Monocyte chemotactic protein-4)

MCP-4 este o chemokină beta recent descoperită (75), care prezintă o puternică activitate chemoatractantă pentru eozinofile.

Gena MCP-4 este constituită din trei exoni (138, 115 şi 578pb) şi doi introni (867 şi 437pb) şi prezintă o secvenţă reglatoare de 1,4 Kb, situată imediat în amonte de capătul 5'. Ca elemente promotor, ce reglează potenţial expresia genei MCP-4 şi/sau medierea efectelor medicamentelor antiinflamatorii, au fost identificate o serie de secvenţe consens, care interacţionează cu factori nucleari cum ar fi NF-IL-6, AP-2, o secvenţă consens NF-KB like, elemente IFN-gamma responsive, elemente YY_1 precum şi elemente de răspuns la glucocorticoizi (76).

Această nouă chemokină a fost detectată prin secvenţierea randomică a secvenţei tags exprimată în cDNA. MCP-4 cDNA a fost clonat în celulele Drosophila S_2 şi a fost purificată o proteină matură de 24-98 reziduuri aminoacizi (77).

MCP-4 prezintă comun cu alte trei proteine chemotactice monocitare, un motif piroglutamic acid proline şi o identitate de secvenţă de 56-61%, de asemenea, prezintă o identitate de secvenţă de 60% cu eotaxin (75).

Berkhout şi colaboratorii confirmă rezultatele obţinute de Uguccioni, susţinând că secvenţa MCP-4 prezintă nivele înalte de omologie (59-61%) cu MCP-1, MCP-3 şi eotaxin.

Receptorul MCP-4

Ca şi alte chemokine, MCP-4 nu interacţionează printr-un receptor unic ci printr-un număr de receptori diferiţi în funcţie de tipul celular şi efectele pe care le induce. S-a observat că MCP-4 şi MIP-1 alpha, spre deosebire de MCP-2, acţionează prin receptori multipli pe aceeaşi celulă (55).

Studiile de cuplare realizate pe monocite susţin că MCP-4, MCP-3 şi MCP-1 interacţionează cu receptorul 2 al chemokinelor CC (MCP-1 receptor). Aceste date au fost confirmate prin studii pe celule ovariene de hamster chinezesc, transfectate stabil cu receptorul chemokinic CCR2b (77).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Similar MCP-3, MCP-4 este un chemoatractant cu eficienţă înaltă pentru monocite şi limfocite T şi cuplează pe aceste celule prin receptori care recunosc MCP-1, MCP-3 şi RANTES (75).

Cercetări asupra fluxului de Ca^{2+} susţin că MCP-4 activează receptorul CCR_2 ce cuplează proteine G, receptor care, de asemenea, recunoaşte MCP- 1 şi MCP-3 (78). CCR2b s-a constatat că prezintă omologie de secvenţă cu un alt receptor pentru chemokine CC şi anume CCR5 (cuplează MIP-1 alpha, MIP-1 beta, RANTES). S-au investigat prin mutageneză regiunile potenţial implicate în specificitatea răspunsului funcţional şi de cuplare la liganzii respectivi şi s-a demonstrat că regiunea cheie a CCR5, implicată în interacţia specifică cu MIP-1 alpha, MIP-1 beta şi RANTES, este localizată pe inelul extracelular!! Secundar iar domeniul NH-2 terminal al CCR_2 reprezintă regiunea responsabilă de afinitatea de cuplare înaltă a MCP-1, dar aceasta nu este suficientă pentru a determina activarea cascadelor intracelulare (56).

Receptorul CCR3, exprimat în număr ridicat pe eozinofile, este specific pentru eotaxin dar poate cupla şi MCP-4 precum şi alte chemokine CC (MCP-2, MCP-3, RANTES). Anticorpii monoclonali 7B11 sunt selectivi pentru CCR3 şi blochează cuplarea a diferite chemokine radiomarcate la eozinofile sau la transfectanţii CCR3. Pretratamentul eozinofilelor cu aceşti anticorpi blochează chemotaxisul şi fluxul de Ca^{2+} indus de toţi liganzii CCR_3. La donorii alergici s-a observat că mai mult de 95% din răspunsurile eotaxin, RANTES, MCP-2, MCP-3 şi MCP-4 sunt mediate de CCR3 (65).

Studii de Northern blothing sau flow citometrie, relevă faptul că CCR_3 este, de asemenea, exprimat la nivel înalt pe bazofilele din sângele uman şi au, în principal, rol de mediere a chemotaxisului (79).

Eotaxin şi MCP-4 stimulează migrarea bazofilelor cu eficacitate similară cu cea reglată de activarea limfocitelor T normale ce exprimă RANTES şi MCP-4. Pretratamentul bazofilelor cu anticorpi care blochează CCR3, anulează migrarea indusă de de eotaxin, RANTES şi MCP-4, dar reduce numai minimal răspunsul la MCP-3. Anticorpii care blochează CCR3 afectează exocitoza: abrogă eliberarea histaminei şi a leucotrienelor indusă de eotaxin, şi inhibă parţial răspunsul la RANTES şi MCP-4. S-a observat că anticorpii nu afectează răspunsurile la MCP-1, MCP-3 şi MIP-1 alpha, chemokine care pot acţiona şi prin receptorii suplimentari CCR1 şi CCR2.

Acest studiu demonstrează că CCR3 este un receptor major pentru eotaxin, RANTES şi MCP-4 în bazofilele umane şi sugerează că bazofilele şi eozinofilele, celule efectoare caracteristice ale inflamaţiei alergice, depind masiv de CCR3 în procesul de migrare către situsurile inflamaţiei (80).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Expresia MCP-4

Analizele Northern blot realizate pe extracte de ţesuturi umane normale, relevă expresia mRNA MCP-4 în intestinul subţire, timus, colon. De asemenea, expresia proteinei MCP-4 a fost identificată, prin studii de imunocitochimie, în leziunile aterosclerotice unde este asociată celulelor endoteliale şi macrofagelor (77).

Alte studii de hibridizare Northern indică faptul că MCP-4 este exprimat constitutiv la nivele înalte, atât în intestinul subţire şi colon cât şi în plămâni. Acest profil de expresie este în conformitate cu rolul său de chemoatractant pentru eozinofile, care pot fi mobilizate din plămân sau intestin ca răspuns la patogenii invadatori.

Se susţine că MCP-4, spre deosebire de MCP-1 nu a fost indus în liniile celulare tratate cu stimuli proinflamatori cum ar fi LPS sau TNF alpha (78). Această afirmaţie se află în contradicţie cu rezultatele altor experimente (80) care demonstrează că celulele epiteliale şi endoteliale activate de TNF-alpha şi IL-1, in vitro, exprimă această chemokină.

Expresia proteinei a fost, de asemenea, identificată în mucoasa epitelială a pacienţilor cu sinuzită de tip alergic Th2 dar şi la cei cu sinuzită de tip non-alergic Th1. S-a constatat că atât IFN- gamma cât şi IL-4, secretate de Th1 şi Th2, sinergizează cu TNF-alpha şi IL-1, în inducerea acumulării mRNA-MCP. Aceste proprietăţi ale MCP-4 oferă o explicaţie moleculară pentru acumularea monocitelor, eozinofilelor şi bazofilelor în răspunsurile imune de tip Th1 şi Th2 (80).

MCP-4 - Rol

Principala acţiune a chemokinei MCP-4 este de chemoatractant pentru eozinofile şi nu numai. S-a demonstrat că MCP-4, ca şi MCP-3, este un chemoatractant cu eficienţă înaltă pentru monocite şi limfocite T. Pe eozinofile, MCP-4 are eficienţă similară MCP-3, RANTES şi eotaxin.

Dintre cele două variante ale chemokinei, numai (LA)-MCP-4 a putut fi purificată şi testată, şi s-a observat că este de peste 30 ori mai puţin eficientă decât MCP-4 (75).

Garcia-Zapeda confirmă rolul de chemoatractant puternic al MCP-4 pentru eozinofile şi monocite şi, de asemenea, susţine că această chemokină stimulează bazofilele să elibereze histamină (77, 80). Atât eotaxin cât şi MCP-4 cuplează CCR3 şi stimulează migrarea bazofilelor cu o eficienţă similară cu cea indusă prin activarea limfocitelor T normale ce exprimă RANTES şi MCP-3. Cele două chemokine stimulează bazofille IL-3 "primed" să migreze şi să

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

eliberează histamină şi leucotriene dar cu o eficienţă mai mică decât MCP-1 şi MCP-3, care sunt cei mai potenţi stimulatori ai exocitozei (79).

O serie de studii (77, 80, 81) susţin că MCP-4 induce creştere a Ca^{2+} intracitoplasmatic în eozinofile. Astfel, s-a demonstrat că, proteina MCP-4 induce un influx de Ca^{2+} în celulele HEK-293 transfectate cu receptorul MCP-1 selectiv pentru monocite (CCR2B) şi cu receptorul eotaxin selectiv pentru monocite (CCR3) dar nu induce acest influx via receptorilor mai bine exprimaţi, CCR1 şi CCR5 (80).

S-a constatat că chemokinele şi în special chemokinele CC, sunt implicate în modificarea formei leucocitelor în procesul de migrare al acestora din microcirculaţie la situsurile inflamaţiei. Aceste chemokine acţionează via CCR3, induc o rapidă modificare de formă a eozinofilelor; cele mai eficiente s-au dovedit a fi eotaxin şi eotaxin-2. Spre deosebire de celelalte chemokine CC, efectele induse de MCP-4 au fost calitativ diferite, relevând o reversare marcată a răspunsurilor de modificare a formei, proces dependent de concentraţia agonistului şi durata de tratament (82).

Activităţile biologice şi profilul de activare al MCP-4 au fost descrise pe eozinofile şi ulterior au fost comparate cu o serie de activatori cum ar fi Platelet Activating Factor (PAF), eotaxin şi RANTES. Astfel, s-a demonstrat că MCP-4 stimulează producţia metaboliţilor oxigen reactivi şi induce hiperreglarea integrinei $CD_{11}b$.

Studiile de flow citometrie relevă o polimerizare rapidă şi tranzientă a actinei după stimularea cu MCP-4. La concentraţii optime, modificările induse de MCP-4 au fost mai reduse decât efectele obţinute după stimularea cu PAF, şi comparabile cu acelea obţinute în urma acţiunii RANTES şi eotaxin. Răspunsurile celulare stimulate de MCP-4 au fost inhibate de toxina pertussis indicând implicarea proteinelor G_i în căle de comunicare.

Aceste constatări susţin rolul MCP-4 în patogeneza inflamaţiei eozinofilice ca chemotaxin şi, de asemenea, ca activator al funcţiilor efectoare proinflamatorii (83).

MCP-4 în patologie

MCP-4 în astm

Efectele MCP-4 au fost analizate pe efectorii eozinofilici ce conduc la activarea "respiratory burst". În eozinofilele umane, MCP-4 induce într-o manieră dependentă de doză, producţia speciilor de oxigen reactive şi polimerizarea actinei. Pretratamentul eozinofilelor cu diferiţi inhibitori ai enzimelor implicate în cascada de trasducţie a semnalului, relevă că proteinele G_i, protein-kinaza C, tirozin-kinaza şi fosfatidil inozitol 3 kinaza sunt implicate

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

în semnalizarea ce urmează activării MCP-4. Se observă că fibroblastele umane dermale exprimă nivele înalte de MCP-4 mRNA (84).

Deşi s-a constatat un infiltrat eozinofilic în căile aeriene mici ale indivizilor astmatici, mecanismele responsabile de recrutarea celulară din plămânul periferic sunt încă ambigue (85). Infiltrarea eozinofilică caracteristică în leziunile astmatice ale mucoasei bronhiale, este mediată atât de chemokine selective (eotaxin) cât şi de cele neselective cum sunt RANTES, MCP-3 şi MCP-4 via CCR3.

Întrucât acest receptor este exprimat în număr mare pe eozinofilele dar nu şi pe alte leucocite, el poate constitui ţinta terapeutică în spectrul bolilor care implică leziuni tisulare mediate de eozinofile (86).

Eotaxin şi MCP-4 sunt două chemokine care sunt hiperreglate la situsurile inflamaţiei alergice. Expresia acestor două chemokine în căile aeriene periferice şi în parenchimul pulmonar la pacienţii astmatici, a fost examinată, de asemenea, a fost examinată relaţia dintre expresia chemokinelor şi numărul eozinofilelor rezidente.

Numărul de celule pozitive pentru mRNA chemokinic a fost semnificativ crescut atât în căile aeriene mari cât şi în cele mici la subiecţii astmatici comparativ cu subiecţii non-astmatici. Deşi mRNA eotaxin şi MCP-4 este larg exprimat în plămânii pacienţilor cu astm, expresia lor a fost evidenţiată în mod particular în epiteliul bronhial al celulelor inflamatorii. În căile aeriene ale indivizilor astmatici, expresia mRNA eotaxin a fost semnificativ corelată cu numărul eozinofilelor prezente.

Se poate concluziona că există o creştere a expresiei mRNA eotaxin şi MCP-4 în căile aeriene periferice ale plămânilor la pacienţii cu astm, sugerând că aceste chemokine contribuie la inflamaţia căilor aeriene mici şi a celor periferice, inflamaţie ce apare în astm (85).

MCP-4 în sinuzita cronică

Întrucât subfamilia de chemokine MCP prezintă proprietăţi funcţionale chemoatractante pentru eozinofile, s-a analizat expresia MCP-3, MCP-4, MCP-2 în sinuzitele cronice asociate cu alergie sau neasociate cu alergie. Astfel, chemokinele MCP au fost localizate în celulele epiteliale şi într-un subset de celule inflamatorii din mucoasă. Expresia imunoreactivităţi MCP-3 şi MCP-4 a fost semnificativ crescută atât la pacienţii cu sinuzită cronică asociată cu alergie cât şi la forma neasociată cu alergie, comparativ cu controalele normale.

Nici o diferenţă semnificativă nu a fost observată în expresia MCP-1 în biopsiile nazale provenite de la indivizi care suferă de sinuzită cronică şi de la

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

indivizi normali. Nivelul expresiei MCP-3 şi MCP-4 a fost corelat cu infiltratul eozinofilic şi infiltratul celulelor T CD4 pozitive dar nu cu infiltratul celulelor T CD8 pozitive.

Toate aceste date sugerează redundanţa biologică în expresia chemoatractanţilor eozinofilici din sinuzita cronică şi un potenţial rol al MCP-3 şi MCP-4 dar nu MCP-1 în patofiziologia acestei boli (59).

1. Hemmerich S. Paavola C. Bloom A. Bhakta S. Freedman R. Grunberger D. Krstenansky J. McCarley D. Mulkins M. Wong B. Pease J. Mizoue L. Mirzadegan T. Polski I. Thompson K. Handel TM: Jarnagin K. Identification of residues in the monocyte chemotactic protein-1 that contact the MCP-1 receptor, CCR2 Biochemistry, 1999, 38(40),13013-25.
2. Reale M. Frydas S. Barbacane RC. Placido FC. Cataldo I. Vacalis D. Trakatellis A. Anogianakis G. Felaco M. Induction of monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) and TNF alpha by Trichinella spiralis in serum of mice in vivo, Molecular&Cellular Biochemistry, 1998, 179(1-2),1-5.
3. Inadera H. Egashira K. Takemoto M. Ouchi Y. Increase in circulating levels of monocyte chemoatractant ptotein-1 with aging, J.Interferon Cytokine Res., 1999, 19(10),1172-82.
4. Proost P. Struyf S. Couvreur M., Lanaerts JP., Conings R. Menten P. Verhaert A. Van Damme J. Postranslational modification affect the activity of the human monocyte chemotactic proteins MCP-1 and MCP-2:identification of MCP-2 (6-76) as a natural chemokine inhibitor, J.of Immunol, 1998, 160 (8), 4043-41.
5. Warmington K.S. Boring L. Ruth J.H. Sonstein J. Hogaboam C.M. Curtis J.L. Kunkel S.L. Charo I.R. Chensue S.W. Effect of C-C chemokine receptor 2(CCR2) knockout on type-2 (schistosomal antigen-elicited) pulmonary granuloma formation:analysis of cellular recruitment and cytokine responses Am. J. of Pathology,1999,154 (5),1407-16.
6. Xu L. Khandaker MH. Barlic J. Ran L. Borja ML. Mandrenas J. Rahipour R. Chen K. Mitchell G. Tan CM. De Vries M. Feldman RD. Kelvin DJ. Identification of a novel mechanism for endotoxin-mediated down-modulation of CC chemokine receptor expression, Eur. J. Immunol., 2000, 30(1),227-35.
7. Moore UM. Kaplow JM. Pleass RD. Castro SW. Lynch C.N. Daly S. Roach AG. Jaye M. Wiliams RJ. Monocyte chemoatractant protein-2 is a potent agonist of CCR2B, J.of Leukocyte Bilogy,1997, 62(6), 911-5.
8. Ueda A. Okuda K. Ohno S. Shirai A. Igarashi T. Matsunaga K. Fukushima J Kawamoto S. Ishigatsubo Y Okubo T. NF-kappa B and Sp1 regulate transcription of the human monocyte chemoatractant protein-1 gene, J.Immunol., 1994, 153 (5),2056-63.
9. Wang N. Verna L. Hardy S. Forsayeth J. Zhu Y. Stemerman MB. Adenovirus-mediated overexpresion of c-Jun and c-Fos induces intercellular adhesion molecule-1 and monocyte chemoattractant protein-1 in human endotelial cells, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 1999, 19 (9), 2078-84.
10. Graves D.T. Jiang Y. Valenta A.J. Regulated expression of MCP-1 osteoblastic cells in vitro and in vivo. Histol.Histopatol., 1999,14(4), 1347-54.
11. Senturk L.M. Seli E. Gutierrez L.S. Mor G. Zeyneloglu H.B. Arici A. Monocyte chemotactic protein-1 expression in human corpus luteum, Mol.Hum.Reprod., 1999, 5(8),697-702.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

12. Holtkamp G.M. De Vos A:F: Peek R. Kijlsta A. Analysis of the secretion pattern of monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) and transforming growth factor-beta2 (TGF-beta2) by human retinal pigment epithelial cells, Clin.Exp.Immunol., 1999, 118 (1), 35-40.
13. Matsumura M. Banba N. Motohashi S. Hattori Y. Interleukin-6 and transforming growth factor-beta regulate the expression of monocyte chemoattractant protein-1 and colony-stimulating factors in human thyroid follicular cells, Life Sci., 1999,65 (12), PL129-35.
14. Weiss JM. Cuff CA. Bermah JW. TGF-beta downmodulates cytokine-induced monocyte chemoatractant protein (MCP)-1 expression in human endothelial cells. A putative role for TGF-beta in the modulation of TNF receptor expression, Endothelium, 1999, 6(4), 291-302.
15. Golbeler M. Yoshimura T. Toksoy A. Ritter U. Brocker EB. Gilltyer R. The chemokine repertoire of human dermal microvascular endothelial cells and its regulation by inflammatory cytokines, J of Investigative Dermatology, 1997, 108(4), 445-51.
16. Ping D. Boekhoudt GH., Rogers EM. Boss JM. Nuclear factor-kappa B p65 mediates the assembly and activation of TNF-responsive element of the murine monocyte chemoattractant-1 gene, J.Immunol, 1999,162(2), 727-34.
17. Olszyna DP. Pajkrt D. Lauw FN. Van Deventer SJ. van Der Poll T. Interleukin 10 inhibits the release of CC chemokines during human endotoxemia, J.Infect.Dis., 2000, 181(2), 613-20.
18. Shinohara H. Yano S. Bucana CD. Filder IJ. Induction of chemokine secretion and enhancement of contact-dependent macrophage cytotoxicity by engineered expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in human colon cancer cells, J.Immunol., 2000, 165(5), 2728-37.
19. Sato E. Simpson KL. Grisham MB. Koyama S. Robbins RA. Effects of reactive oxygen and nitrogen metabolites on MCP-1-inducesd monocyte chemotactic activity in vitro, Am.J.Physiol., 1999, 277(3Pt1), L 543-9.
20. Tekstra J. Beekhuizen H. Van De Gevel JS. Van Benter IJ. Tuk CW. Beelen RH. Infection of endotelial cells with Staphylococcus aureus induces the production of monocyte chemotactic protein-1(MCP-1) and monocyte chemotaxis, Clin.Exp.Immunol., 1999, 117(3), 489-95.
21. Colleta I. Soldo L. Polentarutti N. Mancini F. Guglielmotti A. Pinza M. Mantovanti A. Milanese C. Selective induction of MCP-1 in human mesangial cells by the IL-6/sIL-6R complex, Exp Nephrol., 2000, 8(1), 37-43.
22. Stylianou E. Nie M. Ueda A. Zhao L. c-Rel and p65 trans-activate the monocyte chemoattractant protein-1gene in interleukin-1 stimulated mesangial cells, Kidney Int., 1999, 56(3), 873-82.
23. Hisada Y. Sakurai H. Sugaya T. Cell to cell interaction between mesangial cells and macrophages induces the expression of monocyte chemoatractant protein-1 trough nuclear factor-kappa B activation, Biochem.Biophys.Res.Commun, 2000, 269(2),309-16.
24. Ruiz-Ortega M. Bustos C. Hernandez-Presa MA. Lorenzo O. Plaza JJ. Egido J Angiotensin II participates in mononuclear cell recruitment in experimental immune complex nephritis through nuclear factor-kappa B activation and monocyte chemoattractant protein-1 synthesis, J.Immunol.,1998,161(1), 430-9.
25. Pype JL. Dupont LJ, Menten P. Van Coillie E. Opdenakker G. Van Damme J. Chung KF. DemendtsMG. Verdelen GM. Expression of monocyte chemotactic protein (MCP)-1, MCP-2 and MCP-3 by human airway smooth-muscle cells. Modulation by corticosteroids and T-helper2 cytokines, Am.J.Respir.Cell.Mol.Biol., 1999,2(4), 528-36.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

26. Lummus ZL. Alam R. Bernstein JA. Bernstein DI. Diisocyanate antigen-enhanced production of monocyte chemoattractant protein-1, IL-8, and tumor necrosis factor alpha by peripheral mononuclear cells of workers with occupational asthma, J of Allergy&Clinical Immunol., 1998, 102(2), 265-74.
27. Fisher NC. Neil DA. Williams A. Adams DH. Serum concentrations and peripheral secretion of The beta chemokines monocyte chemoattractant protein 1 and macrophage inflammatory protein 1 alpha in alcoholic liver disease, Gut.,1999, 45(3), 416-20.
28. Devalaraja MN. Mcclain CJ. Barve S. Vaddi K. Hill DB. Increased monocyte MCP-1 production in acute alcoholic hepatitis, Cytokine, 1999,11(11), 875-81.
29. Kmiec Z. Cytokines in inflammatory bowel disease, Archivum Immunological et Therapiae Experimentalis, 1998, 46(3), 143-55.
30. Uguccioni M. Gionchetti P. Robbiani DF. Rizzello F. Peruzzo S. Campieri M. Baggiolini M. Increased expression of IP-10, IL-8, MCP-1 and MCP-3 in ulcerative colitis, Am.J.Pathol.,1999, 155(2),331-6.
31. Kolios G. Wright KL. Jordan NJ Leithead JB. Robertson DA. Westwick J. C-X-C and C-C chemokine expression and secretion by the human colonic epithelial cell line, HT-29:differential effect of T lymphocyte-derived cytokines, European J.of Immunol., 1999,29(2),530-6.
32. Hausmann EH. Berman NE. Wang YY. Meara JB. Wood GW. Klein RM. Selective chemokine mRNA expression following brain injury, Brain Res.,1998,788(1-2),49-59.
33. Rutkowski JL. Tuite GF. Lincoln PM. Boyer PJ. Tennekoon GI. Kunkel SL. Sygnal for proinflammatory cytokine secretion by human Schwann cells, J.Neuroimmunol., 1999, 101(1), 47-60.
34. McManus C. Berman JW. Brett FM. Staunton H. Brosnan CF. MCP-1, MCP-2 and MCP-3 expression in multiple sclerosis lesions:an immunohistochemical and in situ hybridization study, J.of Neuroimmunol., 1998, 86(1), 20-9.
35. Lahrtz F. Piali L. Nadal D. Ifister HW. Spanaus KS. Baggiolini M. Fontana A. Chemotactic activity on mononuclear cells in the cerebrospinal fluid of patients with viral meningitis is mediated by interferon-gamma inducible protein-10 and monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), European J.of Immunol., 1997, 27(10), 2484-9.
36. Akoum A. Jelicoeur C. Boucher A. Estradiol amplifies interleukin-1-induces monocyte chemotactic protein-1 expression by ectopic endometrial cells of women with endometriosis, J.Clin.Endocrinol.Metab., 2000, 85(2), 896-904.
37. Garcia-Velasco JA. Seli e. Arici A. Regulation of monocyte chemotactic protein-1 expression in human endometrial stromal cells by integrin-dependent cell adhesion, Biol. Reprod., 1999, 61(2), 548-52.
38. Confalonieri P. Bernasconi P. Megna P. Galbiati S. Cornelio F. Mantegazza R. Increased expression of beta-chemokines in muscle of patients with inflammatory myopathies, J.Neuropathol.Exp.Neurol., 2000, 59(2),164-9.
39. Pearlman E. Lass Jh. Bardenstein DS. Diaconu E. Hazlett FE. Albright J. Higgins AW. Kazura JW. IL-12 exacerbates helminth-mediated corneal pathology by augmenting inflammatory cell recruitment and chemokine expression, J. of Immunol., 1997, 158(2), 827-33.
40. Bradley LM. Asensiv VC. Schioetz LK. Harbertson J. Krahl T. Pastone G. Woolf N. Campbell IL. Sarvetnick N. Islet-specific Th1, but not Th2, cells secrete multiple chemokines and promote rapid induction of autoimmune diabetes, J. of Immunol., 1999, 165(5),2511-20.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

41. Genin P. Mamane Y. Kwon H. LePage C. Wainberg MA. Hiscott J. Differential regulation of CC chemokine gene expresion in human immunodeficiency virus-infected myeloid cells, Virology, 1999, 261(2), 205-15.
42. Weiss JE. Nath A. Major EO. Berman JW. HIV-1 Tat induces monocyte chemoattractant protein-1 mediated monocyte transmigration across a model of the human blood-brain barrier and up-regulates CCR5 expression on human monocytes, J.Immunol.,1999, 163(5),2953-9.
43. Albinini A. Ferrini S. Benelli R. Sforzini S. Giunciuglio D. Aluigi MG. Proudfoot AE. Alouani S. Wells TN. Mariani G. Robin Rl Farber JM. Noonan DM. HIV-1 Tat protein mimicry of chemokines, Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 1998, 95(22), 1313-8.
44. Kelder W. McArthur JC. Nance-Sproson T. Mcclernon D. Griffin DE. Beta-chemokines MCP-1 and RANTES are selectively increased in cerebrospinal fluid of patients with human immunodeficiency virus-associated dementia, Annals of Neurology,1998, 44(5), 831-5.
45. Hefler L. Tempfer C. Heinze G. Mayerhofer K. Breitenecker G. Leodolter s. Reinthaller A. Kainz C. Monocyte chemoattractant protein-1 serum levels in ovarian cancer patients, J. Cancer, 1999, 81(5), 855-9.
46. Sica A. Saccani A. Bottazzi B. Bernasconi S. Allavena P. Gaetano B. Fei F. LaRosa G. Scotton C. Balkwill F. Mantovani A. Defective expression of the monocyte chemotactic protein-1 receptor CCR2 in macrophages associated with human ovarian carcinoma, J.Immunol., 2000, 164(2), 733-8.
47. Gong X. Gong W. Kuhns DB. Ben-Baruch A. Howard OM. Wang JM. Monocyte chemotactic protein-2(MCP-2) uses CCr1 and CCR2B as its functional receptors. J. of Biological Chemistry, 1997, 272(18):11682-5.
48. Van Coillie E. Fiten P. Nomiyama H. Sakaki Y. Miura R. Yoshie O. Van Damme J. Opdenakker G. The human MCP-2 gene (SCYA 8): cloning, sequence analysis, tissue expression, and assignment to the CC chemokine gene contig on chromosome 17q11.2. Genomics, 1997, 40(2), 323-31.
49. Struyf S. Van Coillie E. Paemen L. Put W. Lenaerts JP. Proost P. Opdenakker G. Van Damme J. Synergistic induction of MCP-1 and -2 by IL-1 beta and interferons in fibroblasts and epithelial cells. J. of Leukocyte Biology, 1998, 63(3), 364-72.
50. Proost P. Wuyts A. Van DammeJ. Human monocyte chemotactic proteins-2 and -3: structural and functional comparison with MCP-1. J. of Leukocyte Biology, 1996, 59(1),67-74.
51. Van Coillie E. Froyen G. Nomiyama H. Miura R. Fiten P. Van Aelst I. Van Damme J. Opdenakker G. Human monocyte chemotactic protein-2: cDNA cloning and regulated expression of mRNA in mesenchymal cells. Biochemical&Biophysical Research Communications, 1997, 231(3), 726-30.
52. Van Coillie E. Proost P. Van Aelst I. Struyf S. Polfliet M. De Meester I. Harvey DJ. Van Damme J. Opdenakker G. Functional comparison of two human monocyte chemotactic protein-2 isoforms, role of the amino-terminal pyroglutamic acid and processing by CD26/dipeptidyl peptidase IV. Biochemistry, 1998, 37(36), 12672-80.
53. Schweickart VL. Epp A. Raport CJ. Gray PW. CCR1 is a functional receptor for the monocyte chemoattractant protein family of chemokines. J. Biol. Chem., 2000, 275(13), 9550-6.
54. Samson M. Labbe O. Mollereau C. Vassart G. Parmentier M. Molecular cloning and functional expression of a new human CC-chemokine receptor gene. Biochemistry, 1996, 53(11), 3362-7.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

55. Ruffing N. Sullivan N. Sharmeen L. Sodroski8 J. Wu L. CCR5 has an expanded ligand-binding repertoire and is the primary receptor used by MCP-2 on activated T cells. Cellular Immunology, 189(2), 160-8.
56. Samson M. LaRosa G. Libert F. Paindavoine P. Dtheux M. Vassart G. Parmentier M. The second extracellular loop of CCR5 is the major determinant of ligand specificity. J.of Biological Chemistry, 1997, 272(40),24934-41.
57. Gong W. Howard OM. Turpin JA. Grimm MC. Ueda H. Gray PW. Raport CJ. Oppenheim JJ. Wang JM. Monocyte chemotactic protein-2 activates CCR5 and blocks CDE/CCR5 - mediated HIV-1 entry/replication. J. of Biological Chemistry, 1998, 273(8), 4289-92.
58. Yamagami S. Tanaka H. Endo N. Monocyte chemoattractant protein-2 can exert its effects through the MCP-1 receptor (CC CKR2B). FEBS Letters, 1997, 400(3), 329-32.
59. Loetscher P. Seitz M. Clark-Lewis I. Baggiolini M. Moser B. Activation of NK cells by CC chemokines. Chemotaxis, Ca2+ mobilization, and enzyme release. J. of Immunology, 1996, 156(1), 322-7.
60. Meunier S. Bernassan JM. Guillemont JC. Ferrara P. Darbon H. Determination of the three -dimensional structure of CC chemokine monocyte chemoattractant ptotein 3 by 1H two-dimensional NMR spectroscopy, Biochemistry, 1997, 36(15),4412-22.
61. Polentarutti N. Introna M. Sozzani S. Mancinelli R. Mantovani G. Mantovani A. Expression of monocyte chemotactic protein-3 in human monocytes and endothelial ells, European Cytokine Network, 1997, 8(3), 271-4.
62. Menten P. Proost P. Struyf S. Van Coillie E. Put W. Lenaerts JP. Conings R. Jaspar JM. De Groote D. Billian A. Opdenakker G. Van Damme J. Differential induction of monocyte chemotactic protein-3 in mononuclear leukocytes and fibroblast by interferon alpha/beta and interferon-gamma reveals MCP-3 heterogeneity, European of Immunol., 1999, 29(2), 678-85.
63. Stafford S. Li H. Forsythe PA. Ryan M. Bravo R. Alam R. Monocyte chemotactic protein-3 (MCP-3)/fibroblast-induced cytokine (FIC) in eosinophilic inflammation of the airways and the inhibitory effects of an anti-MCP-3/FIC antibody, J. of Immunol., 1997, 158 (10), 4953-60.
64. Murakami K. Nomiyama H. Mima R. Follens A. Fiten P. Van Coillie E. Van Damme Opdenakker G. Structural and functional analysis of the human MCP-3 gene: transactivation of expression by novel recognition sequences adjacent to trascription initiatin site, DNA&Cell Biology, 1997, 16(2),173-83.
65. Heath H. Qin S. Rao P: Wu L. LaRosa G. Kassam N: Ponath Pd. Mackay CR.Chemokine receptor usage by human eosinophils. The importance of CCR3 demonstrated using an antagonistic monoclonal antibody, J.of Clin. Invest., 1997, 99(2),178-84.
66. Bonechi R. Polentarutti N. Luini W. Borsatti A. Bernasconi S. Locati M. Power C. Proudfoot A. Wells TN. Mackay C. Mantovani A. Sozzani S. Up-regulation of CCR1 and CCR3 and induction of chemotaxis to CC chemokines by IFN-gamma in human neutropfils, J.of Immunol., 1999, 162(1), 474-9.
67. Yanagihara S. Komura E. Nagafune J. Watarai H. Yamaguchi Y. EBI1/CCR7 is a new member of dendritic cell chemokine receptor that is up-regulated upon maturation. J.of Immunol., 1998, 161 (6), 3096-102.
68. Bonini JA. Martin SK. Dralyuk F. Rol MW. Philipson LH. Steiner DF. Cloning, expression, and chormosomal mapping of a novel human CC-chemokine receptor (CCR10) that displeys high-affinity binding for MCP-1 and MCP-3. DNA and Cell Biology, 1997, 16 (10), 1249-56.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

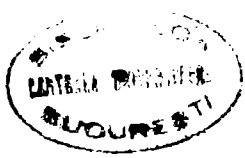
69. Penton-Rol G. Polentarutti N. Luini W. Borsatti A. Mancinelli R. Sica A. Sozzani S. Mantovani A. Selective inhibition of expression of the chemokine receptor CCR2 in human monocytes by IFN-gamma. J.of Immunol., 1998, 160 (8), 3869-73.
70. Vouret-Craviari V. Cenzuales S. Poli G. Mantovani A. Expression on monocyte chemotactic protein-3 in human monocytes exposed to the mycobacterial cells wall component lipoarabinomannan. Cytokine, 1997, 9 (12), 992-8.
71. Chensue SW. Warmington K. Ruth JH. Lukacs N. Kunkel SL. Mycobacterial and schistostomal antigen-elicited granuloma formation in IFN-gamma and IL-4 knockout mice: analysis of local and regional cytokine and chemokine networks. J.of Immunol., 1997, 159 (7), 3565-73.
72. Fiten P. van den Broeck K. Dubois B. van Coillie E. Nelissen I. van Damme J. Ligers A. Hillert J. Andersson M. Olsson T. Opdenakker G. Microsatellite polymorphism in the gene promoter of monocyte chemotactic protein-3 and analysis of the association between monocyte chemotactic protein-3 alleles and multiple sclerosis development. J.of Neuroimmunol., 199, 95 (1-2), 195-201.
73. Wedemeyer J. Lorentz A. Goke A. Meier PN. Flemming P. Dahinden CA. Manns MP. Bischoff SC. Enhaced production of monocyte chemotactic protein-3 in inflammatory bowel disease mucosa. Gut., 1999, 44 (5), 629-35.
74. Fioretti F. Fradelizi D. Stoppacciaro A. Ramponi S. Ruci R. Minty A. Sozzani S. Garlanda C. Vecchi A. Mantovani A. Reduced tumorogenicity and augmented leucocyte infiltration after monocyte chemotactic protein-3 (MCP-3) gene transfer: perivascular accumulation of dendritic cells in peritumoral tissue and neutrophil recruitment within the tumor. J. of Immunol., 1998, 161 (1), 342-6.
75. Uguccioni M. Loetscher P. Forssmann U. Dewald B. Li H. Lima SH. Li Y. Kreider B. Garotta G. Thelen M. Baggiolini M. Monocyte chemotactic protein-4 (MCP-4) a novel structural and functional analogue of MCP-3 and eotaxin. J.of Exp. Med., 1996, 183 (5), 2379-84.
76. Hein H. Schluter C. Kulke R. Christophers E. Schroder JM. Bartels J. Genomic MCP-4 organization, sequence analysis and transcriptional regulation of the human MCP4 chemokine gene (SCYA 13) in dermal fibroblasts: comparison to other eosinophilic beta-chemokines. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1999,255 (2), 470-6.
77. Berkhout TA. Sarau HM. Moores K. White JR. Elshoubagy N. Appelbaum E. Reape RJ. Brawner M. Makwana J. Foley JJ. Schmidt DB. Imburgia C. McNulty D. Matthews J. O'Donnell K. O' Shannessy D. Scott M. Groot PH. Macphee C. Cloning, in vitro expression, and functional characterization of a novel human CC chemokine of the monocyte chemotactic protein (MCP) family (MCP-4) that binds and signals through the CC chemokine receptor 2B. J.of Biol.Chem., 1997, 272 (26), 16404-13.
78. Godiska R. Chantry D. Raport CJ. Schweickart VL Trong HL. Grey PW. Monocyte chemotactic protein-4: tissue-specific expression and siglans through CC chemokine receptor-2. J.of Leucocyte Biol., 1997, 61 (3), 353-60.
79. Uguccioni M. Mackay CR. Ochensberg B. Loetscher P. Rhis S. LaRosa GJ. Rao P. Ponath PD. Baggiolini M. Dahinden CA. High expression of the chemokine receptor CCR3 in human blood basophils. Role in activation by eotaxin, MCP-4, and other chemokines. J.of Clin. Invest., 1997, 100 (5), 1137-43.
80. Garcia-Zepeda EA. Combadiere C. Rothemberg ME. Serafi MN. Lavigne F. Hamid Q. Murphy PM. Luster AD. Human monocyte chemoattractant protein (MCP)-4 is a novel CC chemokine with activities on monocytes, eosinophils and basophils induced in allergic and nonallergic inflammation that signals through the CC chemokine receptors (CCR)-2 and-3. J.of Immunol.,1996, 157 (12), 5613-26.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

81. Stellato C. Collins P. Ponath PD. Soler D. Newman W. LaRosa G. Li H. White J. Schweibert LM. Bickel C. Liu M. Bochner BS. Williams T. Schleimer RP. Production of the novel CC chemokine MCP-4 by airway cells and comparison of its biological activity to other CC chemokines. J. of Clin. Invest., 1997, 99 (5), 926-36.
82. Sabroe I. Hartnell A. Jopling LA. Bel S. Ponath PD. Pease JE Collins PD. Williams TJ. Differential regulation of eosinophils chemokine signals via CCR3 and non-CCR3 pathways. J.of Immunol.,1999,162(5), 2946-55.
83. Tenscher K. Metzner B. Hafmann C. Schopf E. Norgauer J. The monocyte chemotactic protein-4 induces oxygen radical production, actin reorganization, and CD11b up-regulation via pertussis toxin-sensitive G-protein in human eosinophils. Biochem. and Biophys Res.Commun., 1997, 240(1), 32-5.
84. Petering H. Hochstetter R. Kimming D. Smolarski R. Kapp A. Elsner J. Detection of MCP-4 in dermal fibroblast and its activation of the respiratory burst human eosinophils. J. of Immunol, 1998, 160(2), 555-8.
85. Taha R.A. Minshall EM. Miotto D. Shimbara A. Luster A. Hogg JC. Hamid QA. Eotaxin and monocyte chemotactic protein-4 mRNA expression in small airways of asthmatic and nonasthmatic individuals. J.of Allergy and Clin.Immunol.,1999, 103(3PT1), 476-83.
86. Ying S. Robinson DS. Meng Q. Rottman J. Kennedy R. Ringler DJ. Mackay CR. Daugherty BL. Springer MS. Durham SR. Williams TJ. Kay AB. Enhanced expression of eotaxin of eotaxin and CCR3 mRNA and protein in atopic asthma. Association with airway hyperresponsiveness and predominant co-localization of eotaxin mRNA to branchial epithelial and endothelial cells. Eur. J.of Immunol., 1997, 27(12), 3507-16.

VERIFICAT
2017

VERIFICAT
2007



https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tiparul s-a executat sub c-da nr. 732/2000, la
Tipografia Editurii Universităţii din Bucureşti

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

DATA RESTITUIRII		

BIBLIOTECA CENTRALA
UNIVERSITARA „CAROL I"

DE SPIRITU ET ANIMA

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

17 600

ISBN 973-575-472-X

Lei 17600

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro