

## Ο πρωτεύων ρόλος των κυτταροκινών στον ανοσιακό μηχανισμό – Σύγχρονες εφαρμογές τους σε ανοσοθεραπείες

Ευαγγελία Παπαδοπούλου, Μαρία Άννα Κυριαζίδη, Ασημούλα Καββαδά, Στέλλα Μήτκα,  
Μαρία Χατζηδημητρίου

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης (ΑΤΕΙΘ),  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ)



### Περίληψη

Ως κυτταροκίνες ή κυτοκίνες ορίζονται πρωτεϊνικά μόρια χαμηλού μοριακού βάρους που λαμβάνουν μέρος κυρίως στις ανοσολογικές αντιδράσεις του οργανισμού. Διακρίνονται σε έξι ομάδες: ιντερλευκίνες, ιντερφερόνες, παράγοντες νέκρωσης όγκων, αυξητικοί παράγοντες, παράγοντες διέγερσης αποικιών, χημειοκίνες. Οι κυτταροκίνες παράγονται από πολυάριθμους κυτταρικούς τύπους, κυριότεροι εκ των οποίων είναι τα μονοπύρηνα-μακροφάγα, τα λεμφοκύτταρα, τα κύτταρα NK, τα σιτευτικά και τα ενδοθηλιακά κύτταρα καθώς και οι ινοβλάστες. Η δράση τους στοχεύει σε ποικίλους κυτταρικούς πληθυσμούς, αφού οι κυτταροκίνες αποτελούν ρυθμιστικούς μεσολαβητές της φυσικής και ειδικής ανοσίας και της φλεγμονής στο σύνολό τους. Η επίδραση των κυτταροκινών στα κύτταρα-στόχους προϋποθέτει τη σύνδεση αυτών με ειδικούς μεμβρανικούς υποδοχείς πάνω στα κύτταρα. Το σήμα φτάνει τελικώς στους πυρήνες των κυττάρων μετά από πολύπλοκες χημικές αντιδράσεις με τη συμμετοχή κινασών τυροσίνης και μεταγραφικών παραγόντων. Με τη διαφοροποίηση, τον πολλαπλασιασμό και, γενικότερα, τις

λειτουργικές μεταβολές που υφίστανται τα κύτταρα-στόχοι έπειτα από τη δράση των κυτταροκινών, η ανοσιακή απάντηση προσαρμόζεται στις ανάγκες του οργανισμού έναντι του αιτιοπαθογενετικού παράγοντα προς την εξάλειψή του. Έτσι, οι κυτταροκίνες διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο τόσο στην πορεία όσο και στην έκβαση της ανοσιακής αντίδρασης. Βάσει της ιδιότητας αυτής, οι κυτταροκίνες βρίσκουν εφαρμογή τα τελευταία χρόνια στις ανοσοθεραπείες διαφόρων ασθενειών. Μέσα από αρκετές μελέτες οι οποίες χρήζουν βέβαια περαιτέρω έρευνας, οι κυτταροκίνες έχουν αναδειχθεί πολύτιμα μόρια-εργαλεία στον χειρισμό της ανοσιακής απάντησης. Ως εκ τούτου, αξιοποιούνται ως βιολογικοί δείκτες της πρόγνωσης και της διάγνωσης ασθενειών καθώς και ως θεραπευτικά μέσα. Ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) έχει εγκρίνει την ανοσοθεραπεία σε διάφορες ασθένειες, όπως AIDS, σκλήρυνση κατά πλάκας, ρευματοειδή αρθρίτιδα, ηπατίτιδα Β-С, T κυτταρική λευχαιμία, σπηπτικό σοκ, σάρκωμα Καρσί, μελάνωμα. Η χρήση των κυτταροκινών διευρύνεται και στην παράταση του προσδόκιμου ζωής μοσχευμάτων σε πειραματικά μοντέλα. Παρά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα της χρήσης κυτταροκινών στην κλινική πράξη, δεν παύουν να υπάρχουν προκλήσεις σχετικά με τις παρενέργειες και τις δόσεις χορήγησης των φαρμάκων στον εκάστοτε ασθενή. Συνεπώς, οι σύγχρονες μελέτες που διεξάγονται απαιτούν επιπλέον έρευνα με μελλοντικό στόχο την δημιουργία ασφαλέστερων και αποδοτικότερων μεθόδων ανοσοθεραπείας με βασικό όπλο τις κυτταροκίνες.



### Λέξεις κλειδιά

κυτταροκίνες, ανοσοθεραπεία, βιολογικοί δείκτες

### Υπεύθυνος αλληλογραφίας

Ευαγγελία Παπαδοπούλου

Αίαντα 9, Εύοσμος, Θεσσαλονίκη Τ.Κ 56226

κιν.: 6942863176, σταθ.: 2310757749

paraeve96@gmail.com

## Εισαγωγή

Οι κυτταροκίνες ή κυτοκίνες (cytokines) αποτελούν διαλυτά πρωτεϊνικά ή γλυκοπρωτεϊνικά, σηματοδοτικά μόρια χαμηλού μοριακού βάρους, περίπου 8-80 kDa. Παράγονται από πληθώρα κυττάρων του οργανισμού ως αποτέλεσμα απόκρισης σε πλήθος ερεθισμάτων.<sup>1-4</sup>

Ειδικότερα, παράγονται από μονοκύτταρα-μακροφάγα, Β- και Τ-λεμφοκύτταρα, φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα NK, ινοβλάστες, ενδοθηλιακά και σιτευτικά κύτταρα.<sup>3</sup> Λειτουργούν ως ρυθμιστικά μόρια, με κύρια αποστολή τη διέγερση είτε την αναστολή κυτταρικών λειτουργιών, μεταξύ ανοσολογικών και μη κυττάρων. Η δράση τους είναι χαρακτηριστική στα διάφορα κύτταρα στόχους, συμπεριλαμβανομένου του πολλαπλασιασμού, της κινητικότητας, της διαφοροποίησης και,

γενικότερα, της λειτουργίας των κυττάρων αυτών. Οι κυτταροκίνες παράγονται κατά τη φυσική ανοσία, αλλά και κατά την ειδική ανοσιακή απάντηση διαδραματίζοντας με αυτόν τον τρόπο σπουδαίο ρόλο στην ανοσιακή και φλεγμονώδη απάντηση του οργανισμού.<sup>1-5</sup>

Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωρισθεί πάνω από διάκόσια είδη κυτταροκινών που υπάγονται σε διάφορες ομάδες οι οποίες δεν φέρουν σχεδόν κανένα κοινό γενετικό και δομικό υπόβαθρο.<sup>1-4</sup>

## Ονοματολογία και συμβολισμοί κυτταροκινών

Το σύνολο των κυτταροκινών μπορεί να διακριθεί στις παρακάτω κατηγορίες με βάση τις λειτουργίες που

επιστρατεύουν, τα κύτταρα στόχους όπου ασκούν τη δράση τους, καθώς και τη σειρά ανακάλυψής τους (Πίνακας 1):

- Ιντερλευκίνες ILs (IL-1, IL-2 κλπ.)
- Ιντερφερόνες IFNs (IFN-α, IFN-β, IFN-γ)
- Παράγοντες νέκρωσης όγκων TNFs (TNF-α, TNF-β)
- Αυξητικοί παράγοντες GFs (NGF, EGF)
- Παράγοντες διέγερσης αποικιών CSFs (M-CSG, G-CSF, GM-CSF)
- Χημειοκίνες CC (RANTES, MCP-1, MIP-1α)<sup>2,3</sup>

## Υποδοχείς κυτταροκινών (cytokine receptors)

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι κυτταροκίνες ασκούν τη δράση τους στα κύτταρα στόχους μόνο εάν έχουν προηγουμένως συνδεθεί με τους κατάλληλους μεμβρανικούς υποδοχείς πάνω σε αυτά. Έτσι, γίνεται κατανοητό πως ο κύριος σκοπός της ύπαρξής τους είναι η μεταβίβαση του εξωκυττάριου μηνύματος που φέρει η αντίστοιχη κυτταροκίνη στον ενδοκυττάριο χώρο.<sup>1-5</sup>

Οι υποδοχείς των κυτταροκινών είναι διαμεμβρανικά, διμερή ή τριμερή πρωτεϊνικά μόρια και αποτελούνται από τις πολυπεπτιδικές αλυσίδες α, β και κάποιες φορές γ. Η α αλυσίδα αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα κάθε κυτταροκίνης, ενώ οι β και γ είναι απαραίτητες για προσδέσεις μεγάλης χημικής συγγένειας και τη μεταφορά μηνυμάτων.<sup>3</sup> Βάσει των ομόλογων αμινοξικών αλληλουχιών των μορίων τους οι υποδοχείς των κυτταροκινών διακρίνονται σε πέντε ομάδες:

1. Υποδοχείς της υπερικογένειας των ανοσοσφαιρινών (Igs)
2. Οικογένεια υποδοχέων κυτταροκινών τάξης I, γνωστή και ως οικογένεια υποδοχέων αιμοποιητινών.
3. Οικογένεια υποδοχέων κυτταροκινών τάξης II, γνωστή και ως οικογένεια υποδοχέων ιντερφερονών.
4. Οικογένεια υποδοχέων κυτταροκινών τάξης III ή οικογένεια υποδοχέων TNF.
5. Οικογένεια υποδοχέων χημειοκινών ή υποδοχείς επτά διαμεμβρανικών ελίκων ή οφιοειδείς (serpentine) υποδοχείς.<sup>1-4</sup>

## Γενικό μοντέλο μεταγωγής μηνυμάτων που ακολουθείται από τους περισσότερους υποδοχείς τάξεων I και II

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

**1ο στάδιο:** η κυτταροκίνη συνδέεται με το εξωκυττάριο τμήμα του υποδοχέα ο οποίος, όπως προαναφέρθηκε, αποτελείται από δύο ξεχωριστές υπομονάδες. Η πρόσδεση, έτσι, της κυτταροκίνης επάγει τον διμερισμό αυτών των υπομονάδων.<sup>4</sup>

**2ο στάδιο:** ο διμερισμός του υποδοχέα επάγει την ενεργοποίηση κινάσων τυροσίνης (JAKs). Οι κινάσες είναι ένζυμα που μεταφέρουν μία φωσφορική ομάδα στο υπόστρωμά τους από ένα τριφωσφορικό νουκλεοτίδιο, συνήθως το ATP ή το GTP.<sup>2-4,6</sup>

**Πίνακας 1**

Οι κατηγορίες των κυτταροκινών και η κύρια προέλευσή τους

ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ	ΚΥΡΙΑ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ
ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΕΣ	Μονοκύτταρα-μακροφάγα, Τ και Β λεμφοκύτταρα, ινοβλάστες, ενδοθηλιακά-σιτευτικά-NK κύτταρα
ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΕΣ	NK κύτταρα, ενεργοποιημένα ΤΗ1 κύτταρα, μακροφάγα, ουδετερόφιλα
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΝΕΚΡΩΣΗΣ ΟΓΚΩΝ	Ενεργοποιημένα μακροφάγα, Τ και Β λεμφοκύτταρα, σιτευτικά
ΑΥΞΗΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	Ενεργοποιημένα Τ λεμφοκύτταρα, αιμοπετάλια, μακροφάγα
ΔΙΕΓΕΡΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΑΠΟΙΚΙΩΝ	Μονοκύτταρα-μακροφάγα, Τ λεμφοκύτταρα, ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα
ΧΗΜΕΙΟΚΙΝΕΣ	Μακροφάγα, ινοβλάστες

Αρχικά, οι κινάσες τυροσίνης (δύο στον αριθμό) υπάρχουν στην ανενεργή τους μορφή πάνω σε κάθε υπομονάδα του υποδοχέα, χωρίς αυτό να προϋποθέτει σύνδεση του υποδοχέα με την κυτταροκίνη. Ωστόσο, όταν απουσιάζει η κυτταροκίνη οι κινάσες χάνουν την ιδιότητα της κινάσης τυροσίνης. Τελικά, οι JAKs συνδέονται με τον υποδοχέα με αμοιβαία φωσφορυλίωση και ενεργοποιούνται.<sup>3,4</sup>

**3ο στάδιο:** οι ενεργοποιημένες JAKs φωσφορυλιώνουν διάφορα κατάλοιπα τυροσίνης πάνω στις υπομονάδες του υποδοχέα. Με αυτόν τον τρόπο, δημιουργούνται πάνω στον υποδοχέα συγκεκριμένα σημεία πρόσδεσης.<sup>2,4</sup>

**4ο στάδιο:** Στη συνέχεια, μέλη της οικογένειας μεταγραφικών παραγόντων STAT (μεταγωγείς μηνύματος και ενεργοποιητές της μεταγραφής, Signal Transducers and Activators of Transcription) προσδένονται σε αυτά τα σημεία και, ειδικότερα, πάνω στα φωσφορυλιωμένα κατάλοιπα τυροσίνης. Κατά τη διάρκεια της παραμονής τους στα σημεία πρόσδεσης οι STATs υφίστανται επίσης φωσφορυλίωση ενός κομβικού καταλοίπου τυροσίνης από τις JAKs.<sup>2,4</sup>

**5ο στάδιο:** μετά την υφιστάμενη φωσφορυλίωση, οι μεταγραφικοί παράγοντες STAT απομακρύνονται από τα σημεία πρόσδεσης του μεμβρανικού υποδοχέα και μετατοπίζονται προς τον πυρήνα όπου συνδέονται με τις γονιδιακές περιοχές του ενισχυτή, συγκεκριμένα στο 5'-πέρασ του γονιδίου.<sup>1,4</sup>

**6ο στάδιο:** τέλος, οι STATs προωθούν την έκφραση γονιδίων που διαθέτουν τις κατάλληλες ρυθμιστικές αλληλουχίες στις περιοχές των υποκινητών τους. Έτσι, μεταγράφεται ένα νέο αγγελιαφόρο mRNA και ολοκληρώνεται η αντίδραση του κυττάρου στόχου στην επίδραση της κυτταροκίνης.<sup>3,4</sup>

## Λειτουργική κατηγοριοποίηση των κυτταροκινών

Ανάλογα με τις κύριες βιολογικές λειτουργίες που κατέχουν στην ανοσιακή απάντηση, οι κυτταροκίνες μπορούν να διακριθούν σε τέσσερις ομάδες. Πληθώρα διαφορετικών κυττάρων συμμετέχουν σε κάθε μία από τις ομάδες αυτές, με σκοπό την πρόκληση της παραγωγής κυτταροκινών οι οποίες με τη σειρά τους θα επιδράσουν πάνω σε άλλα κύτταρα στόχους (άλλους κυτταρικούς τύπους) ή ακόμη και στον εαυτό τους (Πίνακας 2).<sup>1,3</sup>

i. Η πρώτη ομάδα κυτταροκινών ασχολείται με τη συμμετοχή τους στη φυσική (μη ειδική) ανοσία. Οι εν λόγω κυτταροκίνες παράγονται από τα μονοκύτταρα φαγοκύτταρα υπό την επίδραση λοιμογόνων παραγόντων (λιποπολυσακχαριδικό περίβλημα LPS, ιοί, μύκητες κ.λπ.) και στόχος

τους είναι να επάγουν την φυσική ανοσία.<sup>1,3,5</sup>

- ii. Στη δεύτερη ομάδα ανήκουν οι κυτταροκίνες οι οποίες, εκκρινόμενες έπειτα από την ειδική αναγνώριση του αντιγόνου από τα T λεμφοκύτταρα, ρυθμίζουν την ενεργοποίηση, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των λεμφοκυττάρων. Με λίγα λόγια, οι κυτταροκίνες αυτές συμμετέχουν στην ειδική ανοσιακή απάντηση του οργανισμού.<sup>1,3,5</sup>
- iii. Η τρίτη ομάδα αποτελείται από κυτταροκίνες που λειτουργούν ως διεγερτικοί παράγοντες της αιμοποίησης. Ειδικότερα, παράγονται από διεγερμένα λεμφοκύτταρα, από κύτταρα του στρώματος του μυελού των οστών και από λευκοκύτταρα. Στόχος τους είναι να διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των άωρων λευκοκυττάρων. Γι' αυτό το λόγο, την ομάδα αυτή εκπροσωπούν κυρίως πέντε αυξητικοί παράγοντες της αιμοποίησης.<sup>1,3,5</sup>
- iv. Στην τέταρτη και τελευταία ομάδα κατατάσσονται οι ρυθμιστικοί παράγοντες της ανοσιακής φλεγμονής που ενεργοποιούν τα μη ειδικά δραστικά κύτταρα.<sup>1,3,5</sup>

## Σύγχρονες εφαρμογές κυτταροκινών στην κλινική πράξη

Η χρήση των κυτταροκινών ως θεραπευτικά μόρια στην κλινική πράξη υπόσχεται αφενός την ίαση από απειλητικές ασθένειες (καρκίνος, μολυσματικές νόσοι, αλλεργίες), αφετέρου τη ρύθμιση της ανοσολογικής αντίδρασης με στόχο τη βελτίωση ιατρικών πρωτοκόλλων, όπως αυτό των μεταμοσχεύσεων.<sup>4</sup> Οι κυτταροκίνες έχουν να επιδείξουν μεγάλη διαγνωστική και προγνωστική ικανότητα καθώς η παραγωγή τους μπορεί να αντικατοπτρίζει την πορεία και έκβαση των ανοσοθεραπειών.<sup>7</sup> Τα τελευταία χρόνια μελέτες ερευνούν σε βάθος τις δράσεις, τις αλληλεπιδράσεις και τα αποτελέσματα των κυτταροκινών ενώ οι κλινικές έρευνες εστιάζουν στην εμπλοκή των κυτταροκινών στην αιτιοπαθογένεση συγκεκριμένων νοσημάτων. Έτσι, απαιτούνται εκτενέστερες μελέτες στο πεδίο των κυτταροκινών με στόχο τη βελτίωση της διάγνωσης των ασθενειών με τη βοήθεια φλεγμονωδών δεικτών.<sup>8</sup>

Μερικές από τις θεραπευτικές χρήσεις των κυτταροκινών έχουν ήδη τεθεί σε εφαρμογή σε ασθενείς που πάσχουν από ρευματοειδή αρθρίτιδα, αλλεργικό άσθμα, σηπτικό σοκ, AIDS, T- κυτταρική λευχαιμία, ηπατίτιδα Β και C, σκλήρυνση κατά πλάκας, φλεγμονώδη νόσο του εντέρου όπως η νόσος του Crohn, σάρκωμα Karosi αλλά και σε πειραματόζωα με σκοπό την μη απόρριψη καρδιακών και νεφρικών μοσχευμάτων.<sup>4,9,10</sup>

Οι παραπάνω χρήσεις τίθενται σε εφαρμογή αξιο-

Πίνακας 2

Λειτουργική διάκριση κυτταροκινών

ΟΜΑΔΑ	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ	ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΕΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ	ΚΥΡΙΑ ΔΡΑΣΗ
1η	Συμμετοχή στην φυσική ανοσία	TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ και IFN- $\beta$ , IL- 1, 6, 10, 12, 15, 18, χημειοκίνες	Επαγωγή φυσικής ανοσίας μέσω ενεργοποίησης μονοκυττάρων-μακροφάγων
2η	Συμμετοχή στην επίκτητη ανοσία	TNF- $\beta$ , IL- 2, 4, 5, 13, TGF- $\beta$	Ενεργοποίηση, πολλαπλασιασμός και διαφοροποίηση των λεμφοκυττάρων
3η	Αιμοποίηση	GM-CSF, G-CSF, M-CSF, IL-3 και IL-7	Πολλαπλασιασμός και διαφοροποίηση άωρων λευκοκυττάρων
4η	Συμμετοχή στην ανοσιακή φλεγμονή	IFN- $\gamma$ , IL-5, 10, 12, λεμφοτοξίνη	Ενεργοποίηση των μη ειδικών δραστικών κυττάρων/ρύθμιση του μηχανισμού φλεγμονής

ποιώντας μόρια καθαρών κλωνοποιημένων κυτταροκινών, μονοκλωνικά αντισώματα, συζεύγματα κυτταροκινών με τοξίνες καθώς και διαλυτούς υποδοχείς και ομόλογα μόρια αυτών αποσκοπώντας στη δέσμευση των κυτταροκινικών υποδοχέων.<sup>4</sup>

Αρχικά, σημειώθηκαν πολύ ικανοποιητικά και ελπιδοφόρα αποτελέσματα σε ασθενείς με AIDS στο πλαίσιο πολυεθνικής κλινικής μελέτης. Οι ερευνητές κατάφεραν να αποκαταστήσουν τα επίπεδα των CD4+ T κυττάρων χορηγώντας ανασυνδυασμένη IL-2 (Proleukin). Οι ασθενείς που έλαβαν IL-2 σε συνδυασμό με την αντι-ρετροϊκή θεραπεία τους σημείωσαν πρόοδο στη διατήρηση των επιπέδων CD4+ T κυττάρων για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, ενώ παράλληλα παρατηρήθηκε και αύξηση ενός υποπληθυσμού CD8+ T κυττάρων με αντιική δράση. Η χορήγηση πραγματοποιούνταν δύο φορές την ημέρα υποδερμικά, για πέντε ημέρες κάθε οκτώ εβδομάδες. Δεν σημειώθηκαν σοβαρές παρενέργειες παρά μόνο συμπτώματα από το αναπνευστικό και άλγος στην περιοχή της χορήγησης.<sup>4</sup> Πρόσφατες έρευνες υποστηρίζουν πως η χορήγηση IL-2 από μόνη της δεν αποφέρει σημαντικό όφελος στη θνησιμότητα και πιθανώς δεν υπάρχει διαφορά στη συχνότητα εμφάνισης ευκαιριακών λοιμώξεων στους οροθετικούς ασθενείς.<sup>11</sup>

Για τη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας έχει εγκριθεί και χρησιμοποιείται η διαλυτή μορφή του υποδοχέα του TNF- $\alpha$  ο οποίος δεσμεύει τον TNF- $\alpha$  και τον αδρανοποιεί εξουδετερώνοντας τη φλεγμονώδη δράση του (Πίνακας 3).<sup>12,13</sup>

Πέρα από αναστολείς του TNF, θεραπείες που έχουν

εγκριθεί από τον FDA για την ρευματοειδή αρθρίτιδα αξιοποιούν αναστολείς των κινάσων τυροσίνης JAK (tofacitimid), συγκεκριμένα των υποτύπων JAK1 και JAK3. Σε κυτταρικό επίπεδο, οι αναστολείς αυτοί εμποδίζουν τη σηματοδότηση μέσω της κοινής  $\gamma$  αλυσίδας των υποδοχέων που φέρουν κυρίως οι κυτταροκίνες IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 και IL-21 και έτσι τροποποιούν τη λειτουργία των λεμφοκυττάρων. Άλλες θεραπευτικές προσεγγίσεις αλλά ακόμα υπό μελέτη, είναι αντισώματα έναντι του διαλυτού GM-CSF καθώς και του υποδοχέα του. Ο GM-CSF έχει βρεθεί σε μεγάλα ποσά στο αρθρικό υγρό ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα.<sup>14</sup>

Ακόμη, μελέτες αποδεικνύουν τον επιβλαβή ρόλο του TNF- $\alpha$  στο αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (APS), ένα αυτοάνοσο νόσημα που χαρακτηρίζεται από αρτηριακές/φλεβικές θρομβώσεις ή/και καθ'έξιν αποβολές. Η παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων στον ορό των ασθενών αποτελεί εργαστηριακό κριτήριο για τη διάγνωση του συνδρόμου. Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα φαίνεται να προκαλούν αύξηση των συστηματικών επιπέδων TNF- $\alpha$  σε πειραματικό μοντέλο APS, ενώ παραδόξως, η χορήγηση αναστολέων TNF- $\alpha$  έχει συσχετιστεί με de novo σύνθεση αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων σε ασθενείς με διάφορες αυτοάνοσες ασθένειες. Ενώ το πειραματικό μοντέλο παρέχει στοιχεία για το γεγονός ότι η εφαρμογή των αναστολέων του TNF- $\alpha$  έχει ωφέλιμες επιδράσεις, η έλλειψη μελλοντικών τυχαίοποιημένων μελετών αποτελεί το κύριο εμπόδιο για το σενάριο χορήγησης αναστολέων του TNF- $\alpha$  ως θεραπευτική επιλογή.<sup>15</sup>

Πίνακας 3

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

TNF-α αναστολείς	Περιγραφή	Μηχανισμός	Σύσταση	Χρόνος ημιζωής (t ½) μέρες	Χορηγούμενη δόση
<b>Infliximab</b>	Χιμαϊρικό αντίσωμα anti- TNF-α (ανθρώπου/ποντικίου)	Anti-TNF-α μονοκλωνικό αντίσωμα (mAb)	Πρωτεΐνες ανθρώπου/ποντικίου	8-10	Πρώτες 3 δόσεις μέσα σε 10 μέρες. Έπειτα 1 φορά στις 8 εβδομάδες Ενδοφλεβίως
<b>Adalimumab</b>	Ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα anti- TNF-α	Anti-TNF-α (mAb)	Ανθρώπινες πρωτεΐνες	14	Μία φορά/ 2 εβδομάδες Υποδορίως
<b>Etanercept</b>	Διαλυτό σύζευγμα πρωτεΐνης του υποδοχέα TNF-αR II (p75)	Διαλυτός υποδοχέας «δόλωμα» του TNF-α	Σύζευγμα ανθρώπινης πρωτεΐνης	4-6	1-2 φορές/εβδομάδα Υποδορίως
<b>Golimumab</b>	Ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα anti- TNF-α	Anti-TNF-α (mAb)	Ανθρώπινη πρωτεΐνη	14	1 φορά/μήνα Υποδορίως
<b>Certolizumab pegol</b>	Πεγκυλιωμένο Fab κλάσμα ανθρωποποιημένου μονοκλωνικού TNF-α αντισώματος	Πεγκυλιωμένο anti-TNF-α (mAb)	Ανθρώπινη πρωτεΐνη	14	1 φορά/μήνα Υποδορίως

Η χορήγηση IFN-β αποτελεί θεραπευτική στρατηγική στη σκλήρυνση κατά πλάκας ήδη από τη δεκαετία του '90 και τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται μια πιο βελτιωμένη έκδοσή της, η πεγκιντερφερόνη β-1α (πεγκυλιωμένη PEG- IFNβ-1α).<sup>16,17</sup>

Η θεραπεία αυτή έχει ως στόχο την παρεμπόδιση της δράσης των ανοσοποιητικών μηχανισμών στο κεντρικό νευρικό σύστημα μειώνοντας τη διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Επίσης, μειώνεται η παραγωγή TNF-α και IFN-γ, αναστέλλεται η ενεργοποίηση των Τ κυττάρων και παράλληλα επάγονται διάφοροι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί.<sup>12</sup> Το μειονέκτημα της θεραπείας είναι πως απαιτεί συχνές δόσεις ενέσιμης μορφής του φαρμάκου το οποίο είναι μερικώς αποτελεσματικό, ωστόσο αρκετά ασφαλές.<sup>16</sup>

Αντίστοιχα, η πεγκυλιωμένη IFN-α (PEG-interferon-alpha) σε συνδυασμό με τη ριμπαβιρίνη αποτελούν αντική θεραπεία για τη χρόνια ηπατίτιδα C. Και σε αυτή την περίπτωση οι παρενέργειες της πεγκιντερφερόνης θέτουν εμπόδια κατά την έναρξη και τη συνέχιση της θεραπείας σε πολλούς ασθενείς.<sup>18</sup>

Το 1986 η θεραπεία με IFN-α εγκρίθηκε για τη θεραπεία της λευχαιμίας των τριχωτών κυττάρων (Τ κυτταρική λευχαιμία ενηλίκων), αλλά τείνει να αντικατασταθεί πλέον από ομόλογα μόρια πουρινών όπως είναι η κλαδριβίνη και η πεντοστατίνη.<sup>19</sup> Ακόμη, ένα μονο-

κλωνικό αντίσωμα που χρησιμοποιείται είναι το αντι-CD25 ή Daclizumab.<sup>4,20</sup> Βρίσκει εφαρμογές στην παράταση του προσδόκιμου ζωής καρδιακών μοσχευμάτων σε αρουραίους και δρα κατά της Τ κυτταρικής λευχαιμίας των ενηλίκων, η οποία πιθανώς να προκαλείται από τον ρετροϊό HTLV-1. Η δράση του αντι-CD25 συνοψίζεται στην ιδιότητά του να συνδέεται με την α υπομονάδα του υψηλής συγγένειας υποδοχέα της IL-2 και, έτσι, να παρεμποδίζει τη δράση της που σχετίζεται με τον T<sub>H</sub> πολλαπλασιασμό και την T<sub>C</sub> ενεργοποίηση.<sup>4</sup>

Επίσης, τα συζεύγματα κυτταροκινών με τοξίνες, όπως με την διφθεριτική τοξίνη συμβάλλουν στην επέκταση του προσδόκιμου ζωής νεφρικών και καρδιακών μοσχευμάτων σε πειραματόζωα.<sup>4</sup> Ακόμη, το σύζευγμα της διφθεριτικής τοξίνης με την IL-2 χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του CD25+ δερματικού Τ λεμφώματος.<sup>21</sup>

Το 1995 η IFN-α επικυρώθηκε ως η πρώτη ανοσοθεραπεία για την επικουρική αντιμετώπιση του σταδίου IIB/III του μελανώματος.<sup>22</sup> Σήμερα, καλύτερη θεραπευτική ανταπόκριση με χαμηλότερη επίπτωση παρενεργειών επιτυγχάνεται με συνδυασμό χρήσης κυτταροκινών μαζί με άλλα μόρια ή μεθόδους, όπως μονοκλωνικά αντισώματα, αναστολείς κινασών, ογκοδιηθητικά Τ λεμφοκύτταρα, χημειοθεραπευτικούς πα-

ράγοντες, στερεοτακτική ακτινοθεραπεία ή ανοσοπεπτιδία. Παρά την πρόοδο στη θεραπεία του μελανώματος μερικοί ασθενείς παρουσιάζουν τελικά αντίσταση στη θεραπεία, γι' αυτό η αποτελεσματικότητα των παραπάνω θεραπειών παραμένει μη προβλέψιμη.<sup>23</sup>

Ο βαθμός στον οποίο η ιντερφερόνη α προσφέρει πραγματικά κλινικά οφέλη στην ανοσοενισχυτική θεραπεία του μελανώματος με υψηλό κίνδυνο υποτροπής αποτελεί αντικείμενο συζήτησης. Αυτό, μαζί με δυσκολίες σχετικά με το βέλτιστο σχήμα θεραπείας και τις ανησυχίες για τοξικότητα, έχει περιορίσει την κλινική χρήση του.<sup>24</sup>

Αν και είναι σαφές ότι απαιτείται περισσότερη έρευνα για τον εντοπισμό ασθενών που είναι πιθανότερο να επωφεληθούν από την επικουρική θεραπεία με IFN, η IFN παραμένει η μόνη διαθέσιμη επί του παρόντος ανοσοενισχυτική ουσία για το μελάνωμα. Με βάση τις αναλύσεις κλινικών δοκιμών, υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι η θεραπεία με IFN είναι ευεργετική όσον αφορά την επιβίωση των ασθενών.<sup>24</sup>

Μελέτες, παράλληλα, έχουν αναδείξει την αποτελεσματικότητα της IFN-α και στον τομέα της οφθαλμολογίας. Οι εφαρμογές της αφορούν οφθαλμικές παθήσεις, όπως θήλωμα του επιπεφυκότα, εποχική κερατοεπιπεφυκίτιδα, οπίσθια ραγοειδίτιδα, διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια κ.ά.<sup>25</sup>

Η IL-1β είναι η κυτταροκίνη που εμπλέκεται στην παθογένεια της σήψης. Ενεργοποιείται από φλεγμονώδη σώματα τα οποία σχηματίζονται μετά από τα σήματα «κινδύνου» που αναγνωρίζει το ανοσοποιητικό σύστημα. Γι' αυτόν τον λόγο έρευνες εστιάζουν στην ανάπτυξη ενός μορίου το οποίο θα μπλοκάρει την IL-1β, αξιοποιώντας αντι-IL-1β αντισώματα ή ανταγωνιστές των υποδοχών της IL-1 όπως τα sIL-1Ra, icIL-1Ra και IL1 trap. Τέτοια φάρμακα όπως το rilonacetab και το canakinumab έχουν ήδη εγκριθεί από τον FDA.<sup>26,27</sup>

Πιο συγκεκριμένα, όταν το 1981 απομονώθηκε ο IL-1Ra υποδοχέας αποδείχθηκε πως έχει ρυθμιστικές δυνατότητες πάνω στην φλεγμονώδη απάντηση. Ο υποδοχέας IL-1Ra είναι πρωτεΐνη μοριακού βάρους 25 kDa που φυσιολογικά απαντάται στο πλάσμα. Δεσμεύεται στον τύπου I υποδοχέα της IL-1 (IL-1RI), αναστέλλοντας τη μεταβίβαση του σήματος και της IL-1α και της IL-1β. Οι ερευνητές κατάφεραν να παρασκευάσουν ένα ανασυνδυασμένο, μη γλυκοζυλιωμένο μόριο 17 kDa αντίστοιχο του ανθρώπινου IL-1Ra (ανακίνρα). Τα έως τώρα ευρήματα μετά την εφαρμογή του ανακίνρα σε κλινικές δοκιμές υποστηρίζουν την πιθανότητα ελάττωσης των σηπτικών φαινομένων σε ασθενείς που παρουσιάζουν χαρακτηριστικά του συνδρόμου ενεργοποίησης των μακροφάγων (Macrophage activation syndrome, MAS).<sup>28</sup> Το σύνδρομο αυτό είναι μια σοβαρή και δυνητικά θανατηφόρα επιπλοκή

των ρευματικών παθήσεων που προκαλείται από εκτεταμένη ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων και των μακροφάγων, γεγονός που οδηγεί σε υπερφλεγμονώδεις καταστάσεις. Η εφαρμογή της θεραπείας στην κλινική πράξη, ωστόσο, χρήζει περαιτέρω έρευνας για να εγκριθεί.<sup>29</sup>

Μεγάλα ποσά της IL-6 ανευρίσκονται σε ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα, την πιο κοινή εκφυλιστική νόσο των αρθρώσεων (κυρίως σε ηλικιωμένα άτομα) καθώς και σε οφθαλμικές λοιμώξεις.<sup>30,31</sup>

Η IL-6 ανιχνεύεται, επίσης, σε υψηλά ποσά και στην ρευματοειδή αρθρίτιδα.<sup>32</sup> Βάσει διαφόρων μελετών οι ερευνητές στοχεύουν στην καταστολή της υπερέκφρασης της IL-6 με επιγενετικές τροποποιήσεις των αρθρικών ινοβλαστών.<sup>33</sup>

Η εκτεταμένη παραγωγή της IL-6 είναι τοξική για τον οργανισμό και οδηγεί σε συνεργασία με άλλες προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες στην εμφάνιση του συνδρόμου απελευθέρωσης κυτταροκινών (Cytokine release syndrome). Πρόκειται για ένα σύνδρομο που εκδηλώνεται κλινικά με πυρετό, ρίγος, ταχυκαρδία, δύσπνοια και παθολογικές αιματολογικές εξετάσεις ως επιπλοκή, μετά από ανοσοθεραπείες που στοχεύουν σε όγκους. Το σύνδρομο αυτό μπορεί να αποβεί θανατηφόρο προκαλώντας υποξία και υπόταση. Μετά την έκθεση στο νέο φάρμακο μπορεί να παρατηρηθούν και αλλεργικά συμπτώματα, όπως κνίδωση και οίδημα της γλωττίδας.<sup>34</sup> Το σύνδρομο οφείλεται στην υπερβολική αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος μετά από ανοσοθεραπείες που στόχο έχουν την τροποποίηση των T κυττάρων, όπως στην περίπτωση για την αντιμετώπιση της οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας. Γενικότερα, αυτού του τύπου οι ανοσοθεραπείες καταστέλλουν αποτελεσματικά τα καρκινικά κύτταρα των όγκων που εκφράζουν σε υψηλά ποσοστά το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA), αλλά διεγείρουν ταυτόχρονα την υπερέκκριση τοξικών κυτταροκινών. Η ανεύρεση νέων μη βλαβερών αντικαρκινικών μορίων είναι αντικείμενο εντατικών μελετών.<sup>35,36</sup>

Επιπρόσθετα, ερευνητές κατάφεραν να αποδείξουν σε πειραματικά μοντέλα ποντικών με αλλεργική ρινίτιδα ότι ένα μονοκλωνικό αντισώμα έναντι της IL-9, κυτταροκίνη που υποκινεί τις αλλεργικές αντιδράσεις του ανοσοποιητικού, μπορεί να ελαττώνει την αλλεργική φλεγμονή. Καταστέλλει τα TH<sub>2</sub> κύτταρα και ενισχύει τη δράση των ρυθμιστικών T κυττάρων. Συγχρόνως, βρέθηκε πως μειώνει τα επίπεδα των IgE ανοσοσφαιρινών και των ηωσινοφίλων. Αυτό το εύρημα αποτελεί πιθανή θεραπεία σε ασθενείς που πάσχουν από μη ελεγχόμενες αλλεργίες του αναπνευστικού στο μέλλον.<sup>37</sup> Ακόμη, σε καταστάσεις χρόνιου αλλεργικού άσθματος το anti-IL-9 αντισώμα φαίνεται να αναστέλλει την είσοδο φλεγμονωδών κυττάρων

στους πνεύμονες και την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών, κυρίως της IL-17.<sup>38</sup>

Σε περιπτώσεις λεμφοκυτταρικών νεοπλασιών δοκιμάστηκε η μέθοδος της θεραπείας με μεταφορά Τ κυττάρων *ex vivo*, γνωστή ως «Adoptive cell transfer» (ACT) ή «Adoptive cell therapy». Η μέθοδος αυτή βασίζεται σε ανοσολογικούς κυτταρικούς πληθυσμούς οι οποίοι προσδίδουν άμεση ογκοκτόνο δράση, και συμπεριλαμβάνουν τα τυπικά κυτταροτοξικά CD8+ Τ λεμφοκύτταρα μόνα τους ή σε συνδυασμό με βοηθητικά CD4+ Τ λεμφοκύτταρα, φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα (NK) και επαγόμενα από κυτταροκίνες κυτταροκτόνα κύτταρα, γνωστά ως «cytokine-induced killer cells» (CIK cells). Γενικός στόχος της ACT αντικαρκινικής ανοσοθεραπείας είναι η εξάλειψη των εγκατεστημένων κακοήθων βλαβών με ενδοφλέβια χορήγηση αυτόλογων ή αλλογενών ανοσοενισχυτικών κυττάρων, τα οποία έχουν εμπλουτισθεί φυσικώς ή τεχνητώς με ογκοκτόνο δράση και ενεργοποιούνται *ex vivo*.<sup>39</sup> Έτσι λοιπόν σύμφωνα με την παραπάνω θεραπεία, οι ερευνητές στην προσπάθειά τους να βελτιώσουν και να διευρύνουν την εφαρμογή της ACT θεραπείας κατασκεύασαν ογκοκτόνους αδενοϊούς που κωδικοποιούν την ανθρώπινη IL-2, τον TNF-α ή και τα δύο. Οι ιοί ανέπτυξαν ικανή αντινεοπλασματική δράση

έναντι ανθρώπινων όγκων σε ανοσοκατασταλμένα ποντίκια που έπασχαν από SCID (Severe Combined Immunodeficiency). Επίσης, σε ανοσοεπαρκή χάμστερ μετέφεραν ιούς συνδυασμένους με λεμφοκύτταρα τα οποία είχαν ογκοδιηθητική ικανότητα (Tumor-infiltrating lymphocyte, TIL transfer) και απέδειξαν πως αφενός το 100% των πειραματοζώων εμφάνισαν ίαση, αφετέρου ανέπτυξαν και κύτταρα μνήμης έναντι επικείμενης επανεμφάνισης όγκων. Ο εφοδιασμός με IL-2 και TNF-α αύξησε τη συχνότητα και των δύο CD4+ και CD8+ TIL λεμφοκυττάρων *in vivo* και ενίσχυσε τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του σπλήνα *ex vivo*, αποδεικνύοντας ότι οι κυτταροκίνες παίζουν σημαντικό ρόλο στην αντοχή και τον πολλαπλασιασμό των Τ λεμφοκυττάρων. Τέλος, δεν σημειώθηκαν καθόλου σημεία συστηματικής τοξικότητας πράγμα που καθιστά τη θεραπεία ασφαλή. Κλινικές δοκιμές βρίσκονται πλέον σε εξέλιξη μελετώντας τη χρησιμότητα παρόμοιας θεραπείας σε ασθενείς με καρκίνο.<sup>40</sup>

#### Σύγκρουση συμφερόντων

Η ανασκόπηση δεν ενέχει κίνδυνο σύγκρουσης συμφερόντων με καμία προϋπάρχουσα έρευνα, ανασκόπηση, άρθρο ή μελέτη οποιουδήποτε είδους.





## Summary

### The major role of cytokines in the immune response – Modern immunotherapies in clinical practice

**Evangelia Papadopoulou, Maria Anna Kyriazidi, Asimoula Kavvada, Stella Mitka,  
Maria Chatzidimitriou**

*Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki, Aristotle University of Thessaloniki*

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



#### Key words

*cytokines, immunotherapy, biological markers*

## Βιβλιογραφία

1. Γερμενής ΑΕ. Κυτταροκίνες. In: Ιατρική Ανοσολογία. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα 2000: 125- 129, 134- 142.
2. Roitt, Brostoff, Male. Οι κυτταροκίνες και οι υποδοχείς τους. In: Ανοσολογία. Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνου. 2004. 6η έκδοση. :119- 129.
3. Παυλάτου Μ. Κυτταροκίνες: Μεσολαβητές (mediators) της ανοσιακής απάντησης- Χημειοκίνες. In: Ανοσολογία. 4η έκδοση. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας. Αθήνα 2004: 113- 135.
4. Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. Κυτταροκίνες. In: Kuby Ανοσολογία. 2η έκδοση. Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης. Κύπρος 2013: 363- 378, 383- 386, 388- 390, 604- 607, 611
5. Μπούρα Π. Κυτταροκίνες. In: Κλινική Ανοσολογία. 2η έκδοση. University Studio Press. Θεσσαλονίκη 2011
6. Πέτρου Χ., Ελευθερίου Φ. Ένζυμα. In: Βιοχημεία. 1η έκδοση. University Studio Press. Θεσσαλονίκη 2007: 67
7. Kurcova Skalnikova H, Cizkova J, Cervenka J, Vodicka P. Advances in Proteomic Techniques for Cytokine Analysis: Focus on Melanoma Research. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(12):2697. doi:10.3390/ijms18122697.
8. Monastero RN, Pentyla S. Cytokines as Biomarkers and Their Respective Clinical Cutoff Levels. *International Journal of Inflammation*. 2017;2017:4309485. doi: 10.1155/2017/4309485.
9. Shilovskiy, I. P., Eroshkina, D. V., Babakhin, A. A., & Khaitov, M. R. (n.d.). Anticytokine therapy of allergic asthma. *Institute of Immunology, Federal Biomedical Agency, Moscow*. 2017 Jan-Feb;51(1):3-17. doi: 10.7868/S0026898416060197
10. Jacob N, Targan SR, Shih DQ. Cytokine and anti-cytokine therapies in prevention or treatment of fibrosis in IBD. *United European Gastroenterology Journal*. 2016;4(4): 531-540. doi:10.1177/2050640616649356.
11. Onwumeh J, Okwundu CI, Kreda T. Interleukin-2 as an adjunct to antiretroviral therapy for HIV-positive adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;5(5):CD009818. Published 2017 May 25. doi:10.1002/14651858.CD009818.pub2
12. Κοκώνα Π. Χατζαντώνη. ΤΗ<sub>1</sub> και ΤΗ<sub>2</sub> τύπου κυτταροκίνες σε αυτοάνοσα νοσήματα. Διδακτορική διατριβή. Πάτρα 2003. Πανεπιστήμιο Πατρών. Σχολή επιστημών υγείας. Τμήμα Ιατρικής
13. Mittal M, Raychaudhuri SP. Golimumab and certolizumab: The two new anti-tumor necrosis factor kids on the block. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2010;76:602-9
14. Reynolds G, Cooles FA, Isaacs JD, Hilkens CM. Emerging immunotherapies for rheumatoid arthritis. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. 2014;10(4):822-837. doi:10.4161/hv.27910.
15. Bećarević, M. J Thromb Thrombolysis (2017) 44: 565. <https://doi.org/10.1007/s11239-017-1571-4>
16. Ortiz, M. A., Espino-Paisan, L., Nunez, C., Alvarez-La-fuente, R., & Urcelay, E. (n.d.). New life to an old treatment: pegylated Interferon beta 1a in the management of multiple sclerosis. *Current Medicinal Chemistry*. 2018 Feb 25. doi: 10.2174/0929867325666180226105612
17. Jakimovski, D., Kolb, C., Ramanathan, M., Zivadnov, R., & Weinstock-Guttman, B. (n.d.). Interferon β for Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2018 Jan 8. pii: a032003. doi: 10.1101/cshperspect.a032003
18. Peter LM Jansen & Joep De Bruijne (2012) Controlled-release interferon alpha 2b, a new member of the interferon family for the treatment of chronic hepatitis C, *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 21:1, 111-118, DOI: 10.1517/13543784.2012.640671
19. Levy I, Tadmor T. Time to Cure Hairy Cell Leukemia. *Turkish Journal of Hematology*. 2017;34(4):289-290. doi:10.4274/tjh.2017.0296.
20. Hermine O, Ramos JC, Tobinai K. A Review of New Findings in Adult T-cell Leukemia-Lymphoma: A Focus on Current and Emerging Treatment Strategies. *Advances in Therapy*. 2018;35(2):135-152. doi:10.1007/s12325-018-0658-4.
21. Wang Z, Zheng Q, Zhang H, et al. Ontak-like human IL-2 fusion toxin. *J Immunol Methods*. 2017;448:51–58. doi:10.1016/j.jim.2017.05.008
22. Marrugal Á, Ojeda L, Paz-Ares L, Molina-Pinelo S, Ferrer I. Proteomic-Based Approaches for the Study of Cytokines in Lung Cancer. *Disease Markers*. 2016;2016: 2138627. doi:10.1155/2016/2138627.
23. Kupcova Skalnikova H, Cizkova J, Cervenka J, Vodicka P. Advances in Proteomic Techniques for Cytokine Analysis: Focus on Melanoma Research. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(12):2697. doi:10.3390/ijms18122697.
24. Paolo, Vanna Chiarion-Sileni, Antonio Muggiano, Mario Mandalà, Nicola Pimpinelli, Michele Del Vecchio, Gaetana Rinaldi, Ester Simeone & Paola Queirolo (2014) Interferon alpha for the adjuvant treatment of melanoma: review of international literature and practical recommendations from an expert panel on the use of interferon, *Journal of Chemotherapy*, 26:4, 193-201, DOI: 10.1179/1973947813Y.0000000154
25. Interferon Alpha 2a and 2b in Ophthalmology: A Review. Natalia Lewczuk, Alexander Zdebek, Joanna Bogusławska. *Journal of Interferon & Cytokine Research* 2019 39:5, 259-272
26. Zhang, H. Anti-IL-1β therapies. *Recent Patents on DNA & Gene Sequences*. (2011, August). doi: 10.2174/187221511796392024
27. De Paepe B, Zschüntzsch J. Scanning for Therapeutic Targets within the Cytokine Network of Idiopathic Inflammatory Myopathies. Moudgil KD, ed. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015;16(8):18683-18713. doi:10.3390/ijms160818683.
28. Shakoory B, Carcillo JA, Chatham WW, et al. Inter-

- leukin-1 receptor blockade is associated with reduced mortality in sepsis patients with features of the macrophage activation syndrome: Re-analysis of a prior Phase III trial. *Critical care medicine*. 2016;44(2):275-281. doi:10.1097/CCM.0000000000001402.
29. Schulert GS, Grom AA. Macrophage activation syndrome and cytokine-directed therapies. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 2014;28(2):277-292. doi:10.1016/j.berh.2014.03.002.
  30. Lee A, Ellman MB, Yan D, et al. A Current Review of Molecular Mechanisms Regarding Osteoarthritis and Pain. *Gene*. 2013;527(2):440-447. doi:10.1016/j.gene.2013.05.069.
  31. Hassan Ghasemi (2018) Roles of IL-6 in Ocular Inflammation: A Review, *Ocular Immunology and Inflammation*, 26:1, 37-50, DOI: 10.1080/09273948.2016.1277247
  32. Wada, T. T., Araki, Y., Sato, K., Aizaki, Y., Yokota, K., Kim, Y. T., Mimura, T. Aberrant histone acetylation contributes to elevated interleukin-6 production in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2014 Feb 21;444(4):682-6. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.01.195
  33. Yang, F. et al. Epigenetic modifications of interleukin-6 in synovial fibroblasts from osteoarthritis patients. *Sci. Rep.* 7, 43592; doi: 10.1038/srep43592 (2017).
  34. Kroschinsky F, Stölzel F, von Bonin S, et al. New drugs, new toxicities: severe side effects of modern targeted and immunotherapy of cancer and their management. *Critical Care*. 2017;21:89. doi:10.1186/s13054-017-1678-1.
  35. Frey, N. V., & Porter, D. L. Cytokine release syndrome with novel therapeutics for acute lymphoblastic leukemia. *American society of Hematology*. doi: 10.1182/asheducation-2016.1.567
  36. Wang L, Ma N, Okamoto S, et al. Efficient tumor regression by adoptively transferred CEA-specific CAR-T cells associated with symptoms of mild cytokine release syndrome. *Oncoimmunology*. 2016;5(9):e1211218. doi:10.1080/2162402X.2016.1211218.
  37. Shin J-H, Kim DH, Kim B-Y, et al. Anti-Interleukin-9 Antibody Increases the Effect of Allergen-Specific Immunotherapy in Murine Allergic Rhinitis. *Allergy, Asthma & Immunology Research*. 2017;9(3):237-246. doi:10.4168/aair.2017.9.3.237.
  38. Kim MS, Cho K-A, Cho YJ, Woo S-Y. Effects of Interleukin-9 Blockade on Chronic Airway Inflammation in Murine Asthma Models. *Allergy, Asthma & Immunology Research*. 2013;5(4):197-206. doi:10.4168/aair.2013.5.4.197.
  39. Aranda F, Buqué A, Bloy N, et al. Trial Watch: Adoptive cell transfer for oncological indications. *Oncoimmunology*. 2015;4(11):e1046673. doi:10.1080/2162402X.2015.1046673.
  40. Havunen R, Siurala M, Sorsa S, et al. Oncolytic Adenoviruses Armed with Tumor Necrosis Factor Alpha and Interleukin-2 Enable Successful Adoptive Cell Therapy. *Molecular Therapy Oncolytics*. 2017;4:77-86. doi: 10.1016/j.omto.2016.12.004.