

## CITOKINELE ȘI ROLUL ACESTORA ÎN PATOGENIA LUPUSULUI ERITEMATOS

## CYTOKINES AND THEIR ROLE IN PATHOLOGY OF LUPUS ERITHEMATOSUS

IONICA-MARIANA RĂDULESCU\*, MINERVA CLAUDIA GHINESCU\*,  
DUMITRU JUSTIN DIACONU\*\*, GABRIELA COMAN\*\*, MIHAIL ALECU\*,\*\*

### Rezumat

Lupusul eritematos sistemic (LES) este o afecțiune autoimună, cronică, multisistemică asociată cu anomalii imunologice multiple și cu o gamă largă de manifestări clinice. Mai multe deficiențe ale componentelor imunologice joacă un rol în patogenia LES. Citokinele sunt deasemenea jucători cheie în patogenia lupusului eritematos. Ele nu sunt implicate doar în dereglarea imunitară din LES ci și în răspunsul inflamator local care lezează în final țesuturile. Cunoașterea citokinelor nu oferă doar o perspectivă nouă asupra patogeniei LES dar anumite citokine (IL-6, IL-10, IL-2, IFN tip 1, TNF- $\alpha$ ) pot servi ca biomarkeri pentru monitorizarea activității bolii și evaluarea severității acesteia.

În plus, manipularea acestor citokine poate deveni potențială țintă terapeutică în LES.

**Cuvinte cheie:** lupus eritematos, citokine, dereglări imunologice.

Intrat în redacție: 2.09.2012

Acceptat: 8.11.2012

### Summary

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic, multi-system autoimmune disease with multiple immunological abnormalities and a wide range of clinical manifestations. Several defects of multiple immunological components play a role in the pathogenesis of SLE, cytokines being also key players in this pathogeny. They are not only involved in immune dysregulation in SLE but also in the local inflammatory response which ultimately leads to tissue injury. The knowledge of cytokines provide new insight into pathogenesis of SLE, certain cytokines (IL-6, IL-10, IL-2, Type 1 IFN, TNF- $\alpha$ ) being able to serve as biomarkers in disease activity monitoring and severity of the disease prediction. In addition the manipulation of these cytokines may become potential therapeutic targets for SLE treatment.

**Key words:** lupus erythematosus, cytokines, immunological abnormalities

Received: 2.09.2012

Accepted: 8.11.2012

Lupusul eritematos este o afecțiune cronică multisistemică, autoimună, caracterizată prin dezvoltarea de autoanticorpi și complexe imune, în asociere cu o mare varietate de manifestări clinice și leziuni tisulare.

Lupus erythematosus is a chronic autoimmune, multisystemic disease characterized by auto antibodies and immune complexes development in association with various clinical determinations and tissue lesions.

\* Universitatea „Titu Maiorescu” Facultatea de Medicină, Catedra de Dermatologie.

Titu Maiorescu University, Faculty of Medicine, Department of Dermatology.

\*\* Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale Dr. „V. Babeș”.

Hospital for Infectious and Tropical Diseases. Dr. „V. Babeș”.

Există din ce în ce mai multe dovezi care sugerează că citokinele sunt deasemenea jucători cheie în patogenia lupusului eritematos.

Termenul de „citokine” este un termen generic ce grupează o serie de glicoproteine și proteine cu rol de mediatori în comunicarea intercelulară. Ele sunt secretate de celule activate și se leagă de receptorii membranali specifici, prezenți fie pe celula secretorie fie pe alte celule. Au masă moleculară cuprinsă între 15 și 30 kDa și sunt mediatori ai imunității, inflamației, proliferării și diferențierii unor linii celulare. Din acest grup fac parte: interleukinele, interferonii, factorii de creștere hematopoietici, factori de necroză tumorală și chemokine [1].

Deși au structuri proteice diferite și acționează diferit în procesul imun, citokinele au anumite proprietăți comune:

1. Pleiotropia- fiecare citokină are activități biologice multiple.
2. Redundanță- citokine din grupuri diferite pot avea efecte biologice și biochimice asemănătoare.
3. Sunt active în concentrații foarte mici și secreția lor este de scurtă durată.
4. Reacțiile modulate de citokine sunt produse în cascadă.
5. Au receptori specifici de mare afinitate.
6. Acțiunea lor se poate produce autocrin, paracrin și endocrin..

Așadar, citokinele sunt factori solubili care joacă un rol esențial în diferențierea, maturarea și activarea diverselor celule alke sistemului imunitar, fiind implicate și în producerea răspunsului inflamator local care lezează în final țesuturile la pacienții cu LES.

Cunoașterea citokinelor oferă o perspectivă nouă în patogeneza LES și în aceeași măsură aduce clarificări și asupra diferitelor aplicații clinice. Anumite citokine pot fi folosite ca biomarkeri pentru monitorizarea activității bolii și pentru a face predicții asupra severității lupusului. În plus utilizarea acestor citokine poate deveni o importantă țintă terapeutică în LES.

În acest context vor fi prezente citokinele cu rol important în patogeneza LES.

### **Interleukina-6 (IL-6)**

Interleukina-6 (IL-6) este o citokină pleiomorfă sintetizată în principal de monocite,

There is an increasing body of evidence suggesting that cytokines are playing key role in lupus erithematosus' pathogeny.

The term “cytokines” is a generic term that groups a series of glycoprotein and proteins mediators with intercellular communication role. They are released after cell stimulation and activation and present specific receptors on different cells membrane or even on the secretor's cell membrane. With molecular mass between 15 KDal and 30 KDal they are mediators of immunity, inflammation, proliferation and differentiation of the cells. In this group are interleukins, interferons, growth factors, tumor necrosis factors, chemokines, hematopoietic factors [1]. Even though they have different structure and function they possess commune properties :

1. Pleiotropy, every cytokine possesses multiple biologic activities.
2. Redundancy, cytokines from different groups may present similar biological or biochemical effect.
3. They are active in reduced quantities and short time release.
4. Cytokines' modulated reactions are produced in cascade.
5. They present specific high affinity receptors
6. Their actions may be autocrine, paracrine or endocrine.

So cytokines are soluble factors playing an essential role in differentiation , maturation and activation of the different immune system's cells also involved in the local inflammatory response that generate the characteristic lesions in systemic lupus erithematosus patients.

The study of cytokines offers a new perspective in SLE pathogeny, bringing clarifications on clinical applications in the same measure. Some of the cytokines may be used as biomarkers for disease activity monitoring and diagnostic severity prediction. The cytokine use may become an important target for therapy.

In this context, cytokines with important role in SLE pathogeny will be presented.

### **Interleukine 6 (IL-6)**

IL-6 is a pleiomorph cytokine released mainly by monocytes , fibroblasts, endothelial cells but may be secreted by B and T lymphocytes also [2].

fibroblaste, celule endoteliale, dar poate fi secretată și de limfocitele T și B [2].

Sinteza sa este stimulată de IL-1, IL-2, și TNF $\alpha$  și atenuată de IL-4, IL-10, și IL-13 [3].

Principalele acțiuni ale IL-6 asupra celulelor limfoide și nelimfoide reprezintă mecanisme modulatorie ale răspunsurilor imun și inflamator al organismului. Deși multe dintre aceste funcții se suprapun peste cele ale IL-1, precum sinteza reactanților de fază acută și febra, IL-6 are și efecte antiinflamatorii.

Citokina IL-6 este secretată ca polipeptid format din 184 resturi de aminoacizi, cu o greutate moleculară de aproximativ 21kDa, în funcție de gradul glicozilării.

IL-6 stimulează răspunsurile imune de tip umoral și celular acționând atât asupra limfocitelor B cât și a limfocitelor T. IL-6 acționează ca important factor de creștere și diferențiere a celulelor B și stimulează producția lor de imunoglobuline [5].

Deasemenea, promovează activarea, creșterea și diferențierea celulelor T. IL-6 se leagă de receptorii de IL-6, specifici IL-6R, aparținând superfamiliei receptorilor citokinici (de tip hematopoietic).

IL-6 R este un complex proteic membranar compus din două subunități structurale și funcționale: o subunitate ligand specifică, IL-6Ra (lanț de 80kDa) și o subunitate semnalizatoare, gp130 (lanț b, componentă comună mai multor tipuri de receptori, precum cei de care se leagă IL-11, IL-17, IL-31).

Interacțiunea dintre IL-6 și receptorul său (IL-6R) duce la dimerizarea gp130, activarea JAK1 și fosforilarea tirozinei din gp130 în calea tirozin kinazică de semnalizare intracelulară [3].

Pe lângă acțiunile proinflamatorii, IL-6 mediază o serie de efecte antiinflamatorii, prin feed-back negativ.

Rolul esențial al IL-6 în patogeneza LES a fost susținut atât de studiile experimentale murine cât și de studiile experimentale umane.

La pacienții cu lupus s-au observat niveluri crescute ale IL-6 care au fost corelate cu activitatea bolii și cu nivelurile anticorpilor anti ADN [10,11].

Celulele limfoblastoide izolate de la subiecții cu lupus au exprimat un nivel ridicat de IL-6 și IL-6 antagonist ducând la scăderea titrului ADN in vitro. Limfocitele B de la pacienții cu lupus în comparație cu cele de la sănătoși produc spontan cantități sporite de imunoglobuline (Ig) [5].

Its synthesis is stimulated by IL-1, IL-2 and TNF  $\alpha$  and attenuated by IL-4, IL-10, IL-13 [3].

Main action of IL-6 on lymphoid and non lymphoid cells represents modulator mechanisms of immune and inflammatory response of the organism. Even though most of these functions are overlapping IL-1, as heat shock proteins synthesis, or fever, IL-6 has also anti-inflammatory effect.

IL-6 is secreted as 184 amino acids residues polypeptide with 21kDa molecular weight according to its glycosylation.

IL-6 stimulates humoral and cellular immune response acting on B and T lymphocytes. IL-6 is acting as an important growth and differentiation factor on B lymphocytes stimulating immunoglobulin production [5].

In the same time they are promoting activation, growth and differentiation of T lymphocytes. IL-6 binds to its specific receptors, IL-6R, member of cytokine superfamily receptors (hematopoietic type).

IL-6R is a membrane protein complex, with two structural and functional subunits. One subunit ligand specific, IL-6Ra (80kDa chain) and a signaling subunit, gp130 (chain b, commune component of different type of receptors as receptors binding: IL1, IL17, IL31).

Interaction between IL-6 and its receptor leads to gp130 dimerization, JAK1 activation and tyrosine phosphorylation in the tyrosine kinase signaling pathway [3].

IL-6 mediates some anti-inflammatory effects by negative feed-back, beside their pro inflammatory ones.

The essential role of IL-6 in SLE pathogeny is emphasized by murine and human experimental studies.

In lupus erithematosus patients elevated levels of IL-6 were determined and correlated with disease activity and anti DNA antibodies [10,11].

Lymphoblast cells isolated from lupus erithematosus patients presented high levels of IL-6. B lymphocytes from lupus patients spontaneous produce increased immunoglobulin quantities in comparison with healthy subjects [5]. Blocking of IL-6 significantly eliminated this spontaneous synthesis of Ig, fact restored by exogenous administration of IL-6 [11].

Blocarea IL-6 a eliminat în mod semnificativ această sinteză spontană de Ig , ea fiind refăcută prin administrarea de IL-6 exogen [11].

S-a demonstrat că limfocitele B de la pacienții cu lupus secretă spontan anti ADNdc și alți autoanticorpi. Este de remarcat faptul că IL-6 poate facilita scădere diferențierii limfocitelor B la pacienții cu lupus activ și transformarea lor directă în celule Ig secretoare [10].

S-a dovedit că IL-6 are o legătura strânsă cu afectarea renală a pacienților cu lupus. Mai multe studii au arătat un nivel crescut al IL-6 în urină la pacienții cu nefrită lupică activă (OMS clasa III-IV nefrită lupică), precum și niveluri crescute de anticorpi anti ADNdc. Nivelul ,crescut de IL-6 la pacienții cu nefrită lupică a fost mai mare decât la pacienții cu boală renală pasivă. IL-6 a fost asociat și cu manifestări neuropsihice la pacienții cu lupus, fiind depistate niveluri crescute de IL-6 în LCR [4,16].

IL-6 și receptorii săi pot fi utilizați ca markeri importanți pentru monitorizarea activității bolii și a răspunsului la tratament.

Alte studii au relevat o expresie crescută al receptorului agonist al IL-6, gp130 în limfocitele periferice la pacienții cu LES, iar nivelul său a fost corelat cu activitatea bolii. Succesul antagonistului de IL-6 pe modele murine a dus la cercetarea terapeutică în LES. Astfel, Tocilizumab, anti IL-6 antagonist R (inhibitor de receptor de IL-6), utilizat în cantități mici până la moderate, a demonstrat o bună tolerabilitate [6].

### Interleukina-10 (IL-10)

IL-10 este o citokină produsă de numeroase celule: limfocite T helper 1 și 2, limfocite T citotoxice, celule B activate, monocite, macrofage, keratinocite, celule epiteliale bronșice [1]. Lipopolizaharidele, TNF $\alpha$  și altele, sunt inductori ai secreției de IL-10. IL-10 este formată din 160 resturi de aminoacizi, cu o greutate moleculară de 18,5kDa și spre deosebire de interleukinele din aceeași familie este un dimer bisulfidic.

Receptorul specific pentru IL-10 (IL-10R) aparține superfamiliei receptorilor citochimici (de tip interferon). Acesta se află în special pe suprafața celulelor hematopoietice (macrofage, mastocite) expresia sa la nivelul celulelor nehematopoietice fiind indeductibilă de către stimuli precum lipopolizaharidele.

IL-10 are un important rol antiinflamator și imunosupresor în cadrul mecanismelor de

It has been demonstrated that B lymphocytes from lupus patients spontaneously secrete anti dsDNA antibodies and some other antibodies. It is noteworthy that IL-6 may facilitate the decrease of B lymphocytes differentiation in active lupus patients, directly inducing their Ig secretory status [10].

It was proved that IL-6 is closely related with kidney impairment in lupus patients. Several studies showed the increased level of IL-6 in urine patients with class III-IV lupus nephritis (focal and diffuse lupus nephritis) and elevated levels of anti dsDNA antibodies also. Level of IL-6 in urine was higher in lupus nephritis than passive renal disease. IL-6 was correlated with neuropsychological determinations in lupus patients increased levels of IL-6 in cerebrospinal fluid [4,16].

IL-6 and their receptors may be used as disease activity marker and treatment response.

Other studies report an increased expression of IL-6Ra, gp130 in peripheral lymphocytes in SLE patients, its level being correlated with disease activity. The IL-6 antagonist success in murine models leads to biological therapy development in SLE. Thus, Tocilizumab, an inhibitor of IL-6 receptor in small to moderate quantities demonstrated a good tolerance [6].

### Interleukine-10 (IL-10)

IL-10 is a cytokine produced by numerous cells Th1 and Th2, T cytotoxic activated lymphocytes, B cells, monocytes, macrophages, keratinocytes, bronchial epithelial cells [1].

TNF $\alpha$ , lipopolysaccharides and some other cytokines are IL-10 inducers.

IL-10 is a 160 amino acids residues protein with 18,5 kDa and a disulphide dimmer unlike other cytokines from the same family.

IL-10 specific receptor belongs to citochemical receptor superfamily (IFN type). These receptors are present on hematopoietic cells surface (macrophages, mast cells) its expression on non hematopoietic cells could not be induced by stimuli like lipopolysaccharides.

IL10 is an important anti-inflammatory and immuno-suppressor modulating response mechanisms to different pathogen factors.

IL-10 is produced in autocrine manner regulating its release by negative feed-back loop,

modulare a răspunsului organismului la diverși factori patogeni.

Deoarece IL-10 poate fi produsă într-o manieră autocrină, reglându-și producția prin intermediul unei bucle de feed-back negativ, IL-10 poate regla răspunsul imun din interiorul focarului inflamator.

IL-10 este considerată un puternic inhibitor al producției de citokine provenite din variate tipuri celulare.

Astfel IL-10 induce scăderea producției de : IFN $\gamma$  și IL-2, (din limfocitele Th1), IL-4 și IL-5 (din Th2), IL-1b, IL-6, IL-8, IL-2 și TNF $\alpha$  (din fagocitele mononucleare) IFN  $\gamma$  și TNF $\alpha$  (din celulele NK). Deasemenea IL-10 inhibă expresia moleculelor MHC de clasa a II, CD23, ICAM-1, CD80 și CD86 de la nivelul celulelor dendritice și al altor celule prezentatoare de antigen (APC). Scăderea producției de citokine de către limfocitele Th1 și Th2 este mediată de efectul IL10 asupra expresiei CD80 și CD86 [10]. IL-10 participă la apariția și progresia lupusului eritematos.

IL-10 stimulează proliferarea limfocitelor B și clasa de Ig de comutare ducând la creșterea secreției de autoanticorpi. IL-10 crește expresia moleculelor de adeziune de la nivelul celulelor endoteliului vascular, a capacității de extravazare, ceea ce accentuează inflamația în lupus. Câțiva stimuli, inclusiv anticorpii anti ADN sunt factori declanșatori puternici de IL-10 [7].

S-a observat creșterea raportului IFN $\gamma$ /IL10 la pacienții cu lupus nefritic activ clasa IV, în timp ce la nefrita clasa V raportul este invers (scăzut) [7].

Tratamentul cu anti IL-10 a condus la creșterea TNF $\alpha$  iar efectele sale au fost blocate când TNF $\alpha$  a fost blocat. Pe de altă parte se pare că IL-10 are un rol important în acțiunea și angajarea limfocitelor T, ceea ce ar putea fi benefic în lupusul eritematos. S-a mai observat o diminuare a activării limfocitelor T și mononuclearelor din sângele periferic la pacienții cu LES [6]. Blocarea IL-10 a oferit beneficii în limitarea afectării renale. Există studii preliminare care au arătat că anticorpii monoclonali anti IL-10 au un rol benefic asupra leziunilor cutanate și a simpromelor comune la pacienții cu LES.

## Interleukina-2 (IL-2)

IL-2 este o citokină importantă în declanșarea unui răspuns imun eficient, fiind și factorul esențial al reglării răspunsului imun.

thus IL-10 may regulate immune response within the inflammatory site.

IL-10 is considered to be a potent inhibitor of cytokine production in various cells.

Thus, IL-10 induces decrease production of: IFN $\gamma$  and IL-2, (from TH1), IL-4 and IL-5 (from Th2), IL-1b, IL-6, IL-8, and TNF $\alpha$  (from mononuclears) IFN $\gamma$  and TNF $\alpha$  (from NK cells). IL-10 also inhibits MHC class II molecules expression, CD23, ICAM-1, CD80, CD86 [10].

IL-10 participates in debut and progression of lupus erithematosus.

IL-10 stimulates B cells proliferation and immunoglobulin class switch with auto antibodies increased production. IL-10 increases the adhesion molecule expression on endothelial cells facilitating extravasations and inflammation in lupus erithematosus.

Some stimuli, including anti DNA antibodies are potent triggers for IL-10 [7].

An increased ratio IFN $\gamma$ /IL-10 was observed in nephritis lupus patients class IV (WHO classification) unlike class V nephritis which presents inversed ratio [7].

The treatment with IL-10 increased TNF  $\alpha$ , its effects being abrogated by TNF blocking. On the other hand it seems that IL-10 has an important role in T lymphocytes activation, and commitment. IL-10 blocking leads to kidney impairment limiting. A diminishing of T activated and mononuclear cells was observed in SLE patients [6] There are studies showing that anti IL-10 monoclonal antibodies has a benefic role on skin lesions and common symptoms in patients with SLE.

## Interleukine-2 (IL-2)

IL-2 is an important cytokine for an efficient immune response trigger being also an essential factor in immune response regulation.

It is produced by CD4+ T activated lymphocytes, resting lymphocytes are not releasing IL-2. Activation of Th1 lymphocytes after antigen recognition in MHC class II restriction, leads to IL-2 and IFN $\gamma$  production and release [1].

IL-2 is a four chain alphahelix peptide. Its receptor presents 3 polypeptide chains encoded by a specific gene.



De producția ei sunt responsabile limfocitele T CD4 activate, cele aflate în repaus nefiind capabile să secrete IL-2, dar momentul în care se produce activarea limfocitelor Th1, după recunoașterea antigenului cuplat cu moleculele MHC de clasa a II acestea vor produce IL-2 și IFN $\gamma$  [1].

IL-2 este structurată sub forma unui alfa-helix din 4 catene peptidice. Receptorul pentru IL-2 este format din 3 catene polipeptidice codificate de o genă specifică.

Receptorii pentru IL-2 se împart în trei clase:

- Receptorul de mică afinitate, format din catena alfa
- Receptorul de afinitate medie, format din două catene alfa și beta
- Receptorul de mare afinitate format din trei catene alfa, beta și gama.

Limfocitele care nu sunt stimulate antigenic prezintă numai receptorul de mică afinitate pentru IL-2, după stimularea antigenică primară exprimându-se și receptorul de afinitate medie în timp ce receptorul de mare afinitate se exprimă numai după stimularea antigenică secundară. Așadar intensitatea răspunsului imun este condiționată de disponibilitatea receptorului pentru IL-2.

IL-2 realizează o buclă autocrină prin stimularea leucocitelor care au produs-o inițial cu creșterea continuă a concentrației de IL-2 din sistem precum și o buclă paracrină stimulând producția de IL-2 și de către alte limfocite aflate local în contact cu limfocitul primar care a declanșat inițial producția primară de IL-2.

Efectul principal al IL-2 este expansiunea clonală a limfocitelor, deoarece limfocitele stimulate proliferază și exprimă pe suprafața lor receptori pentru IL-2 în cantitate foarte mare. Astfel se produce expansiunea clonală a limfocitelor T din categoria CD4+ și CD8+ deoarece numai expansiunea lor depinde de IL-2 [10].

IL-2 determină în cadrul răspunsului imun diferențierea limfocitelor T helper în Th1 și Th2.

IL-2 acționează autocrin asupra limfocitelor Th 1 și paracrin asupra Th2. Activitatea citotoxică a limfocitelor T CD8+, este stimulată de către IL-2.

IL-2 activează limfocitele B care posedă deopotrivă receptori de mare afinitate pentru IL-2. IL-2 determină și comutarea izotipică cu transformarea anticorpilor de tip IgM în anticorpi de tip IgG, cu transformarea răspunsului imun

There are three receptors category:

- Low affinity receptor (chain alpha)
- Medium affinity receptor (chain alpha and beta)
- High affinity receptor (three chains, alpha, beta, gamma)

Naive lymphocytes presents only low affinity receptor for IL-2, after primary antigen stimulation expressing medium affinity receptor and after secondary antigen stimulation, the high affinity receptor. Immune response intensity is conditioned by IL-2 receptors availability.

IL-2 is doing an autocrine loop by their lymphocyte producing stimulation with continuous increasing of IL-2 in the system and a paracrine loop by stimulating IL-2 production in spectator lymphocytes.

The main effect of IL-2 is clone expansion of lymphocytes, activated lymphocytes expressing on their surface the IL-2R in high quantities. So clone expansion of CD4+ and CD8+ T cells is produced [10].

IL-2 determines differentiation of T lymphocytes in Th1 and Th2.

IL-2 presents autocrine action on Th1 and paracrine action on Th2. T cytotoxic lymphocytes are stimulated by IL-2 action, B lymphocytes are also stimulated by IL-2 because of their high affinity receptors for IL-2. In the same time IL-2 determines the switch of immunoglobulin isotype with transformation of IgM in IgG antibodies, and non specific immune response into antigen specific immune response.

Natural killer cells are stimulated by IL-2, and their cytotoxic action is raised by IL-2, but their proliferation is not influenced. Macrophages are also stimulated by IL-2 [1].

IL-1 stimulates IL-2 synthesis, in turn, IL-2 stimulates IL-4, IL-5, IL-6 synthesis. It intensifies TNF synthesis [1].

The implications of IL-2 in SLE pathogeny has been intensively studied. There are studies that demonstrate the increased level of IL-2 in SLE patients but also studies that demonstrate lower levels of IL-2.

The association of IL-2 with SLE was inconstant and variable [16].

nespecific în răspuns imun specific cu anticorpi specifici pentru antigenul declanșator.

Celulele NK (natural killer) sunt stimulate de către IL-2 care determină creșterea acțiunii lor citotoxice, însă nu și proliferarea lor, de asemenea și macrofagele sunt stimulate de IL-2 [1].

IL-1 stimulează secreția de IL-2 și la rândul ei IL-2 stimulează sinteza citokinelor 4,5 și 6. Intensifică de asemenea producția de TNF $\alpha$  [1].

IL-2 a fost studiată cu privire la implicațiile sale în patogenia LES. Există studii care dovedesc producția crescută de IL-2 în LES, dar există și studii care au demonstrat o anomalie în LES- scăderea producției de IL-2.

Așadar asocierea lupusului eritematos cu IL-2 a fost inconstantă și variabilă [16].

### Interferonii de tip 1 (IFN tip 1)

Interferonii sunt glicoproteine alcătuite din 146-166 resturi de aminoacizi, care fac parte din familia citokinelor, având rol principal în apărarea antivirală, în modificarea răspunsului imun și în controlul proliferării și diferențierii celulare.

Celulele obișnuite nu sintetizează cantități deductibile de interferon în mod normal, deoarece genele care codifică sinteza lor nu sunt transcrise.

Cel mai bun și mai puternic stimulator al producției de interferoni este ARN dublu catenar, indiferent dacă originea sa este naturală sau sintetică, prin urmare, în cazul virusurilor cu genom ARNdc, genomul viral este el însuși stimulatorul producției de IFN. Virusurile cu genom ADN sunt slab inductoare ale sintezei de IFN, sinteza lui fiind stimulată și de virusurile inactivate din vaccinuri.

Există mai multe tipuri de IFN. Se pare că IFN de tip 1 este cel mai important pentru lupusul eritematos [8]. IFN tip 1 este produs de toate leucocitele și celulele dendritice plasmocitare (PDC). ADN și ARN viral declanșează secreția de IFN1, semnalele fiind mediate de receptori TLR (toll like receptors) sau receptori de tipul acid retinoic-gena I inductibilă (RIG-I). Există câteva mecanisme de funcționare prin care IFN tip 1 pot contribui la patogeniza LES.

Complexele imune generate de anticorpi și autoantigene duc la activarea celulelor dendritice și prin urmare la creșterea prezentării antigenelor și la creșterea secreției de IFN.

### Type 1 interferons (IFN tyope 1)

Interferons are glycoproteins with 146-166 aminoacid residues, part of cytokine family, their most important role being anti viral defense, immune response modifyng and cell proliferation and differentiation control.

Normal cells do not synthesze detectable amounts of interferons, their encoding genes not being transcribed.

The most powerful stimulator of interferon production is dsRNA, regardless of its nature, natural or synthetised, so viruses with ds RNA genome are IFN production inducers, its synthesis being stimulated by inactiated viruses from vaccins also. DNA viruses are low IFN producers.

There are different types of interferons. It seems that the most important type for SLE is type 1 IFN [8].

This is synthesized by all leucocytes, dendritic cells, plasmocytes (PDC).

Viral DNA and RNA trigger IFN1 secretion, the signals being mediated by TLR receptors (toll like receptors) or receptors like RIG-I (retinoic-gene I inducible).

There are some mechanisms for IFN type1 function in lupus pathogeny.

Immune complexes generated by antibodies and autoantigenes leads to dendritic cells activation so eliciting antigen presentation and IFN secretion.

Interferons may increase autoantigens expression by Ro52 translocation and autoantigen release from nuclei followed by apoptosis. Interferons are acting on dendritic cells producing their maturation. So Th1 response is developing. IFN type 1 is increaring the antibodies production, decreasing B cells selectivity for CpG rich DNA [13].

There are studies that demonstrate that PDC population, existing in small amounts in peripheral blood in lupus erithematosus patients, is present in cutaneous lesions and responsible for continuous IFN release [10].

PDC may accumulate in lupus nephritis and migration of these cells to glomeruli is influenced by IL-18 [14]. This studies show that the elevated levels of IFN are capable to induce alterations of gene expression in active lupus erithematosus

Interferonii pot mări expresia de autoantigene prin translocarea Ro52 și eliberarea autoantigenelor din nucleii urmată de apoptoză. Interferonii acționează asupra celulelor dendritice producând maturarea acestora. Astfel se dezvoltă răspunsul Th1. În plus IFN tip 1 crește producția de anticorpi, scade selectivitatea celulelor B pentru ADN bogat în CpG [13].

Există studii care demonstrează că populația PDC deși mică în sângele periferic la pacienții cu lupus este prezentă în leziunile cutanate și responsabilă de eliberarea continuă de IFN [10].

PDC se pot acumula în nefrita lupică, iar migrarea acestor celule către glomeruli este considerată a fi influențată de IL-18 [14].

Aceste descoperiri arată că nivelurile crescute de IFN sunt capabile să inducă alterări ale expresiei genelor la pacienții cu lupus activ și susține faptul că IFN joacă un rol foarte important în patogenia LES.

S-a remarcat că pacienții care primesc tratament cu anti IFN pentru alte boli, aceștia pot dezvolta autoanticorpi și un sindrom asemănător LES. Rolul IFN în LES va fi susținut în viitor de studiile genetice. Factorul de transcripție IRF5 a fost primul identificat în producția de IFN și a fost asociat cu riscul crescut de lupus [13].

O legătură între IFN și LES a fost stabilită la pacienții cu polimorfism JAK TYK2.

Interferonii pot fi folosiți pentru monitorizarea activității bolii și a afectării organelor în lupus. Un studiu clinic de fază I arată o legătură strânsă între anticorpii monoclonali anti-IFN și inhibarea genelor IFN tip 1, atât în sângele periferic cât și în biopsiile cutanate în LES [13].

### **Factorul de necroză tumorală-alfa (TNF- $\alpha$ ).**

TNF- $\alpha$  este o glicoproteină formată din 156 resturi de aminoacizi, produsă în cea mai mare parte de macrofage dar și de către adipocite, limfocite B, fibroblaste, granulocite, monocite, celule NK, celule musculare netede și limfocite T. TNF- $\alpha$  este o citokină proinflamatorie [1].

Factorii care induc secreția de TNF- $\alpha$  sunt prezenți în bacterii, complexe antigen-anticorp, celule maligne, virusuri, zimozanul din peretele levurilor, ionii de zinc.

Efectele sale sunt date de inhibarea replicării virale și stimularea diferențierii monocitelor și

pacienții emphasizing the important role of IFN in lupus pathogeny.

It was observed that patients treated with IFN for some other diseases may develop autoantibodies and lupus-like syndrome. Genetic studies will support the role of IFN in SLE in the future. The transcription factor IRF5 was the first identified in the IFN production and was associated with the increased risk for lupus [13].

Patients with polymorphism JAK TYK2 presented a correlation between IFN and SLE.

Interferons may be used for disease activity monitoring and organ impairment in lupus. A phase 1 clinical study showed a close connection between anti-IFN monoclonal antibodies and IFN type 1 genes inhibition, both in peripheral blood and cutaneous SLE biopsies [13].

### **Tumor Necrosis Factor- alpha (TNF)**

TNF is a glycoprotein of 156 amino acids residues produces mostly by macrophages, but also by adipocytes, B lymphocytes, fibroblasts, granulocytes, monocytes, NK cells, smooth muscle cells, T lymphocytes. TNF is a pro inflammatory cytokine [1].

Factors that induce TNF production are present in bacteria, Ag-Ac complexes, malignant cells, viruses, zimozan from levures and zinc ions.

Their effects consists in viral replication inhibition, stimulation of monocytes and macrophages differentiation and activation for phagocytosis, synthesis of MHC class I and class II molecules, eliciting fibroblast proliferation and phagocyte activity.

Its significance in SLE pathogeny is controversial, there is evidence of the protecting role but also harmful in murine models [10]. There are studies showing that TNF has a pro inflammatory role in SLE patients. Serological levels of TNF alpha in patients with active lupus is correlated with the disease activity and are elevated in patients with lupus nephritis [9].

However there are conflicting results seen in patients with other autoimmune diseases, treated with anti TNF alpha.

These patients developed ANA, dsDNA antibodies, anti cardiolipin antibodies and lupus-like syndrome [9,15].



macrofagelor active, capabile de fagocitoză, sinteza moleculelor MHC de clasa I și II, creșterea proliferării fibroblastelor, creșterea activității fagocitare.

Semnificația TNF- $\alpha$  în patogenia LES este controversată, existând argumente pro și contra protectivității sale pe modele murine [10]. Există studii care arată că TNF- $\alpha$  poate juca rol proinflamator la pacienții cu LES. Nivelurile serice de TNF- $\alpha$  la pacienții cu LES activ se corelează cu activitatea bolii și este prezent în cantitate mare la pacienții cu nefrită lupică [9].

Cu toate acestea există rezultate contradictorii observate la pacienții cu alte boli autoimune care au primit tratament cu anti TNF $\alpha$ . Acești pacienți au dezvoltat factori antinucleari, anti ADNc și anticorpi anti-cardiolipinici și un sindrom lupus-like [9,15].

În urma descoperii nivelurilor crescute de TNF- $\alpha$  în nefrita lupică activă, folosirea unui antagonist de TNF- $\alpha$  pare o opțiune terapeutică pentru lupus. Eficacitatea terapeutică a blocării TNF- $\alpha$  în LES este limitată și sunt necesare studii ample pentru evaluarea efectelor secundare [15].

## Discuții

Bolile autoimune, inclusiv lupusul eritematos, apar datorită unei predispoziții genetice asociate cu activarea unor factori ambientali. Caracteristica acestor boli este prezența de autoanticorpi și a inflamației. Atât autoanticorpii cât și inflamația apar în urma unui răspuns imun alterat dar care respectă schema generală de desfășurare a răspunsului imun normal: activarea celulelor dendritice, apariția clonelor de limfocite T autoreactive și de celule B producătoare de anticorpi la care se adaugă activarea fagocitelor mononucleare [1].

Citokinele reprezintă o componentă importantă a răspunsului imun normal și patologic. Polarizarea limfocitelor Th în Th1 și Th2 se reflectă în producția de citokine dar și în efectele pe care le prezintă aceste citokine. Astfel limfocitele Th1 care secretă IL-2, IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$  sunt implicate în imunitatea mediată celular și mecanismele de apărare împotriva organismelor intracelulare, dar contribuie și la patogeneza bolilor autoimune. Limfocitele Th2 care secretă IL4, IL5, IL6, IL-10 sunt implicate în alergii și apărarea antihelmintică dar antagonizează diferențierea limfocitelor Th1 și imunității

Considering studies results, the elevated TNF levels in active SLE patients serum, the excess of TNF in lupus nephritis, an antagonist of TNF seems to be a therapeutically option. The efficacy of TNF alpha blocking therapy is limited and requires further studies to assess side effects [15].

## Discussions

Autoimmune diseases, including lupus erythematosus, are caused by a genetic predisposition associated with activation of environmental factors. Characteristic of these diseases is the presence of auto antibodies and inflammation. Both auto antibodies and inflammation arising from an altered immune response but with a general pattern of development, same as the normal immune response: dendritic cell activation, auto reactive T cell clones appearance, and B cells producing autoantibody, mononuclear phagocytes activation[1].

Cytokines are an important component of normal and pathological immune response. Th cell polarization in Th1 and Th2 is reflected in the production of cytokines and the effects of these cytokines. Thus Th1 cells that secrete IL-2, IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$  are involved in cell-mediated immunity and defense mechanisms against intracellular organisms, but also contributes to the pathogenesis of autoimmune diseases. Th2 lymphocytes that secrete IL4, IL5, IL6, IL-10 are involved in allergy and anti helminthic defense but antagonize Th1 cell differentiation and cell-mediated immunity. Imbalance between these two types of cytokines is an important factor in the pathogenesis of lupus erythematosus and other autoimmune diseases.

In animal models, administration of adjuvant LPS stimulates the production of TNF- $\alpha$  and IL1 $\beta$ , a cytokine with strong pro inflammatory action [17]. TNF is also a growth factor for B cells and activated B cells are capable of producing increased TNF (loop action) [17,18]. TNF has the capacity of induction of IL-6 secretion. TNF is also involved in tissue destruction in lupus erythematosus with organ impairment. Thus, circulating immune complexes stimulate macrophages to produce TNF in excess. Interleukin -10 inhibitory of the particular Th1 and IFN $\gamma$  and IL-2 secretion seems to be

mediate celular. Dezechilibrul între aceste două categorii de citokine constituie un factor deosebit de important în patogenia lupusului eritematos ca și în cazul altor boli autoimune.

Pe modele de animale, administrarea de adjuvant LPS stimulează producția de TNF- $\alpha$  și IL1- $\beta$ , citokine cu o acțiune puternică pro-inflamatorie [17]. Deasemenea TNF este un factor de creștere pentru limfocitele B iar limfocitele B activate sunt capabile să producă o creștere a secreției de TNF (acțiune loop) [17,18]. Deasemenea TNF are capacitatea de a induce secreția de IL-6. TNF este implicat și în distrucția tisulară în cazul lupusului cu afectarea organelor intern. Astfel complexe imune circulante stimulează macrofagele să producă TNF în exces. Interleukina -10 cu rol inhibitor al limfocitelor Th1 și în special al secreției de IFN $\gamma$  și IL-2 pare să fie depășită de acțiunea TNF. Limfocitele Treglatoare (CD4+CD25+Foxp3+) secretă IL-10 și TGF- $\beta$ , care inhibă activitatea limfocitelor Th1 [18].

Până în prezent se conturează ideea că TNF constituie o citokină cu rol central în dezvoltarea răspunsului autoimun. Totodată trebuie să se țină seama că citokinele formează o rețea în care acțiunea unei citokine este compensată (supresată/exacerbată) de alte citokine.

Încercările terapeutice de a utiliza anticorpi monoclonali care să blocheze TNF nu au fost un eșec dar nici un succes [19].

Există numeroase studii care încearcă să stabilească valoarea terapeutică a acestui tratament. Existența rețelei de citokine, fie ca interacțiune între citokine fie ca acțiune a aceleiași citokine pe receptori de pe celule diferite, face ca blocarea unei citokine să poată genera efecte neașteptate cu consecințe greu de prevăzut.

overcome by the action of TNF. T regulatory lymphocytes (CD4 + CD25 + Foxp3 +) secrete IL-10 and TGF- $\beta$ , which inhibits Th1 [18].

To date looming idea that TNF is a cytokine with a central role in the development of autoimmune response. Should also be noted that cytokines form a network in which the action of a cytokine is compensated (suppressed / exacerbated) by other cytokines. Attempts with therapeutic monoclonal antibodies that block TNF, was not a failure nor a success [19]. There are numerous studies which attempt to determine the therapeutic value of this treatment.

Existing network of cytokines, either as cytokine interaction or the action of a same cytokine on different cells receptors makes blocking a cytokine an unexpected phenomenon with unpredictable consequences.

## Bibliografie / Bibliography

1. Delves P.J., Martin S.J., Burton D.R., Roitt I.M. – Roitt's Essential Immunology, Blackwell Pub. 2008, 9, 185-190.
2. T. Hiran – IL-6 and its receptor, International Reviews of Immunology, vol. 16,pg.249-284,1988.
3. E. Tackey, P.E. Lipsky, and G.G. Illei, Rationale for interleukin-6 blockade in systemic lupus erythematosus., Lupus, vol.13, nr.5, pg.339-343,2004
4. H. Cash, M. Relle, J. Menke, et al. – Interleukin-6(IL-6) deficiency delays. lupus nephritis in MRL-Fas mice: the IL-6 pathway as new therapeutic target in treatment of autoimmune kidney disease in systemic lupus erithematosus, Journal of Rheumatology, vol. 37, nr. 1, pg. 60-70,2010.
5. P. Pfliegerl, P. Vesely, B. Hantusch, et al. – Epidermal loss of JunB leads to a SLE phenotype due to hyper IL-6 signaling, Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, vol.106,nr.48.,pg20423-20428,2010.
6. G. Illei, C. Yarboro Y. Shirota, et.al.– Tocilizumab (humanized anti IL-6 Receptor Monoclonal Antibody) in patients with systemic lupus erithematosus(SLE):safety, tolerability and preliminary efficacy, Arthritis and rheumatism, vol.54,nr.12,supliment, pg.4043,2006.

7. K. H. Sun, C. L. Yu, S. J. Tang, and G. H. Sun – Monoclonal anti-double-stranded DNA autoantibody stimulates the expression and release of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- $\alpha$  from normal human mononuclear cells involving in the lupus pathogenesis, *Immunology*, vol. 99, pg.352-360,2000.
8. E. C. Baechler, F. M. Batliwalla, G. Karpys, et. al. – Interferon-inducible gene expression in peripheral blood cells of patients with severe lupus, *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, vol. 100,nr.5,pg.2610-2615,2003.
9. M. Aringer, W. B. Graninger, G. Steiner and J.S. Smole, – Safety and efficacy of tumor necrosis factor  $\alpha$  blockade in systemic lupus erythematosus: An open-label study, *Arthritis and Rheumatism*, vol.50,nr.10,pg.3161-3169,2004.
10. G. Grondal, I. Gunnarson, J. Ronnelid et all. – Cytokine production, serum levels and disease activity in systemic lupus erythematosus, *Clin. And Exper. Rheumatol.*, 18, 565-570, 2000.
11. M. Linker-Israeli, R. J. Deans, D. J. Wallace, J. Prehn, et. all. – Elevated levels of endogenous IL-6 in systemic lupus erythematosus: a putative role in pathogenesis. *J. of Immunol.* 147, 117-123, 1991.
12. L. Lorente, Y. Richaud-Patin, C. Garcia-Padilla et all. – Clinical and biological effect of anti ILK-10 monoclonal antibody administration in systemic lupus erythematosus, *Arthr. and Rheumatol.* 43, 8, 1790-1800, 2000.
13. M. B. Uccellini, L. Busconi, N. M. Green et all. – Autoreactive B cells discriminate CpG rich and CpG poor DNA and this response is modulated by IFN alpha , *J. of Immunol.* 181, 9, 5875-5884, 2008.
14. D. M. Santer, T. Yoshio, S. Minota et all. – Potent induction of IFN alpha and chemokines by autoantibodies in the cerebrospinal fluid of patients with neuropsychiatric lupus. *J. of Immunol.* 182, 2, 1192-1201, 2009.
15. A. K. Mohan, E. T. Edwards, T. R. Cote, J. N. Siegel, et all. – Drug-induced systemic lupus erythematosus and TNF alpha blockers. *The Lancet*, 360, 9333, 646, 2002.
16. Sriram Krishnamurthy, Subramanian Mahadevan – Systemic lupus erythematosus : recent concepts in genomics, pathogenetic mechanisms and therapy. *Immunol.* 5402, 7, 2-10, 2011.
17. O'Shea J.J., Averil MA, Peter Lipsky – Cytokines and helper T-cell differentiation. *Nature Reviews Immunol.* 2, 37-45, jan. 2002.
18. Delisa Fairweather – Autoimmune disease: Mechanisms, *Enciclopedia of Life Science*, 2007.
19. Martin Aringer, Josef S. Smolen – Complex cytokine effects in a complex autoimmune disease: tumor necrosis factor in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res. Ther.*, 5, 172-177, 2003.

Conflict de interese  
NEDECLARATE

Conflict of interest  
NONE DECLARED

Adresa de corespondență:  
Correspondance address:

Spitalul de Boli Infecțioase și Tropicale Dr. „V. Babeș”, București, Șoseaua Mihai Bravu 281, sector 3.  
Infectivity and Tropicale Diseases Hospital Dr. „V. Babes”, Bucharest, Bravu Road 281, sector 3.

