

# Cytokiny jako główne induktory syntezy białek ostrej fazy

MAGDALENA SOBIESKA, KRZYSZTOF KOSTRO\*, AGNIESZKA MIAZGA\*

Katedra Biologii i Ochrony Środowiska Wydziału Lekarskiego AM, ul. Długa 1/2, 61-848 Poznań

\*Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Głębocka 30, 20-612 Lublin

Sobieska M., Kostro K., Miazga A.

## Cytokines as the main inducers of acute phase proteins

### Summary

Cells of the immune system produce and secrete cytokines that regulate the immune responses in both the normal and pathological status of an organism. Cytokines act on a variety of cellular targets and they play the role of the main synthesis inducer of acute phase proteins (APC). Cytokine receptors are integral membrane proteins with both extracellular and intracellular domains. Liver cells increase synthesis and secretion of APC under the influence of three major cytokines, namely IL-1, IL-6 and TNF $\alpha$ . APC synthesis is regulated in many different ways by the synergistic action of pro-inflammatory cytokines.

**Keywords:** cytokines, acute phase proteins

Reakcją organizmu na zakażenie lub uszkodzenie ciągłości tkanek powstałe w wyniku zadziałania bodźca szkodliwego jest odpowiedź ostrej fazy (OOF). Celem OOF jest ograniczenie zapalenia, eliminacja czynnika uszkadzającego oraz odnowa uszkodzonych tkanek i narządów. Jednym z wykładników OOF są zmiany w syntezie białek surowicy, określanych jako białka ostrej fazy (bof).

### Cytokiny jako mediatory syntezy bof

Pierwszym i najważniejszym sygnałem indukującym czynniki transkrypcyjne genów bof są cytokiny pełniące rolę pozytywnych lub negatywnych czynników wzrostu komórek (IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-11, GM-CSF) oraz cytokiny o działaniu prozapalnym (IL-1 $\alpha/\beta$ , TNF $\alpha/\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12, IFN $\alpha/\gamma$ ) i przeciwzapalnym (IL-4, IL-10, IL-13, TGF $\beta$  – transforming growth factor). Są one syntetyzowane przez różne typy komórek układu immunologicznego, komórki nabłonkowe i fibroblasty aktywowane przez wirusy, bakterie, grzyby, pasożyty, czynniki zapalne i traumatyzujące oraz substancje uwalniane z martwych tkanek lub w przebiegu odczynów immunologicznych. Przez regulację wzrostu i dojrzewania komórek, a także ich aktywację, proliferację i różnicowanie, cytokiny wywierają zasadniczy wpływ na wielkość, charakter i czas trwania odpowiedzi immunologicznej. Działanie cytokin ma charakter addytywny, synergistyczny lub antagonistyczny (20). O ile zapoczątkowanie produkcji białek odbywa się głównie pod wpływem cytokin, to na wielkość i czas trwania syntezy wpływa szereg czyn-

ników, zarówno działających w tym samym czasie, jak i obecnych już przed zaistnieniem reakcji zapalnej.

Uruchomienie syntezy bof następuje głównie pod wpływem IL-1, TNF $\alpha$  i IL-6, choć cytokiny, takie jak: TGF $\beta$ , IFN $\gamma$  i HGF (Hepatocyte Growth Factor), mogą wywierać potem wpływ wzmagający produkcję lub modulujący proporcje syntetyzowanych białek. Tylko nieliczne białka są produkowane pod wpływem samej IL-1, dotyczy to nawet białka CRP. Maksymalna ekspresja genu dla tego białka zachodzi dopiero pod wpływem jednoczesnego działania IL-1 i IL-6. Pewną konkurencję między tymi dwiema cytokinami opisano także w przypadku wpływu na syntezę fibrynogenu u szczura: IL-1 blokowała indukcję syntezy fibrynogenu zachodzącą pod wpływem IL-6 na drodze pobudzenia NF-kappaB i blokady wiązania białka STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription Factor 3) z jego miejscem na promotorze genu dla fibrynogenu (35). Z kolei u myszy IL-1 działa pobudzająco na ekspresję genu dla SAA (Serum Amyloid A). Wpływ ten można zahamować inhibitorem kinazy białkowej C. IL-6 w połączeniu z inhibitorem kinazy białkowej działają silnie synergistycznie (15). Podobnie TNF $\alpha$  wywiera wpływ poprzez IL-6, a nie działa bezpośrednio na geny dla bof. U myszy pozbawionych IL-1 i IL-6 produkcja dwóch podstawowych białek ostrej fazy SAP (Serum Amyloid P) i SAA pozostaje niezmienną. Podobnie u myszy pozbawionych TNF $\alpha$  i IL-6 nie wzrasta stężenie bof po zadziałaniu bodźca. Wydaje się więc, że te cytokiny działają synergistycznie. Zmiana syntezy szeregu białek osoczowych zale-

ży głównie od IL-6 i innych cytokin z tej grupy, jak: onkostatyna M, czynnik hamujący białaczkę LIF (Leukemia Inhibiting Factor), rzęskowy czynnik neurotroficzny CNTF (Ciliary Neurothrophic Factor) i IL-11, działających przez rodzinę receptorów zawierającą podjednostkę gp130.

Głównym źródłem IL-6, dostarczającym sygnału hepatocytom, są komórki Kupffera. Konsekwencją braku IL-6 opisaną w pracy Xing i wsp. (31) są wyższe stężenia TNF $\alpha$ , MIP-2 (Macrophage Inflammatory Protein), GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor), IFN $\gamma$  i liczby neutrofilów, pod wpływem endotoksyny LPS. U myszy pozbawionych IL-6 i zakażonych *Streptococcus pneumoniae* stwierdzono wyższe stężenie IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  i IL-10 w tkance płucnej, wyższe surowicze stężenie rozpuszczalnego receptora dla TNF $\alpha$  oraz zmniejszoną produkcję bof (28). Interleukina-1 wywiera wpływ hamujący na syntezę niektórych białek, np. fibrynogenu pod wpływem działania IL-6. Hepatocyty stymulowane IL-1 $\beta$  lub kombinacja IL-1 $\beta$  i IL-6 produkują formę rozpuszczalną antagonisty receptora dla IL-1, uznawaną za białko ostrej fazy, ponieważ jej podwyższone stężenie notowano w surowicy chorych z różnego rodzaju stanami zapalnymi. W ekspresji genu dla tego białka uczestniczą NF-kappaB i C/EBP (Enhancer-Binding Protein) (9).

Podobnie jak IL-6 działają cytokiny z tzw. grupy IL-6, do której należą LIF (Leukemia Inhibiting Factor), OSM (Oncostatin M), CNTF, IL-11. Interleukina-6 przekazuje sygnał prowadzący do syntezy tych cytokin i produkcji białek, które chronią własne narządy i tkanki. Natomiast działanie TNF $\alpha$  może prowadzić do nasilonej apoptozy komórek wątroby i zwiększać aktywność cytotosyczną limfocytów, także w stosunku do własnych tkanek organizmu. Szlakiem przemian prowadzącym do apoptozy, a uruchamianym przez TNF $\alpha$ , jest pobudzenie receptora Fas, należącego do rodziny receptorów TNF/Nerve growth factor (NGF). Podanie TNF $\alpha$  do OUN powoduje pobudzenie osi podwzgórze-przysadka-nadnercza, obwodową produkcję cytokin i odpowiedź ostrej fazy. Podobny wpływ na odpowiedź ostrej fazy wywierało bezpośrednie podanie do OUN myszy przeciwciała monoklonalnego przeciwko Fas, będącego agonistą tego receptora. Natomiast podanie NGF inicjowało tylko produkcję SAA, bez wzrostu stężeń kortykosterydów lub IL-6. Mimo podobnych receptorów efekt biologiczny tych substancji jest zatem różny. TNF $\alpha$  po podaniu miejscowym wywołuje nasiloną odpowiedź zapalną, z następową produkcją innych cytokin, zwłaszcza IL-6 i IL-8, a także bof. U krów w okresie laktacji dowymieniowa aplikacja rekombinowanej formy TNF $\alpha$  obniżała produkcję mleka, natomiast zwiększała przepuszczalność bariery krew-mleko i wzrost stężenia wydzielanej IgG, przy braku ogólnoustrojowej odpowiedzi ostrej fazy (29).

Głównym źródłem produkcji OSM są aktywowane limfocyty T i monocyty, a wywierany przez nią efekt jest podobny do działania LIF. OSM jest też produkowana przez granulocyty i gromadzona w ziarnistościach tych komórek. Dlatego też w miejscu zapalenia cytokina ta jest uwalniana niemal natychmiast po działaniu bodźca i produkowana w trakcie przebiegu ostrej fazy (11).

Udział IL-11 i LIF w syntezie bof jest niewielki, prawdopodobnie tylko modulują one działanie głównych induktorów. IL-11 stymuluje głównie hematopoezę, działając na komórki wykazujące ekspresję receptora, złożonego ze swoistego dla niej łańcucha  $\alpha$  i ze wspólnego elementu gp130. Natomiast z użyciem syntetycznej cząsteczki, złożonej z połączonych IL-11R $\alpha$  i IL-11, cytokina ta może działać na inne komórki, niewykazujące ekspresji swoistego dla niej łańcucha  $\alpha$ , ale mające gp130. Ponadto IL-11 może pośrednio wpływać na odpowiedź ostrej fazy, ponieważ hamuje ona zarówno uwalnianie z makrofagów cytokin prozapalnych (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 i IL-12), jak i funkcje limfocytów CD4<sup>+</sup>. Dzięki tym właściwościom ta cytokina może mieć udział w limitowaniu reakcji zapalnej, niezależnie od jej pochodzenia.

U myszy udowodniono, że CNTF, który na produkcję bof wpływa podobnie do IL-6, dodatkowo wywołuje wstręt do jedzenia i działa wyniszczająco przez nasilenie katabolizmu. Badania nad wpływem mysiej onkostatyny M na hepatocyty i fibroblasty wykazały, że cytokina ta indukowała produkcję tkankowego inhibitora metaloproteazy w fibroblastach i syntezę bof w natywnych szczurzych hepatocytach (26).

Do grupy cytokin o podobnym działaniu jak IL-6 zaliczana jest IL-23, której podjednostką jest cząsteczka p19. Cząsteczka ta u myszy transgenicznym powodowała burzliwe zmiany narządowe, prowadząc do szybkiego wyniszczenia i śmierci w wieku ok. 3 miesięcy. Podobne objawy uzyskano u zwierząt, u których zwiększona ekspresja tej cząsteczki ograniczała się do komórek szpiku kostnego. Może to wskazywać, że właśnie te komórki są jej pierwotnym źródłem w organizmie i prawdopodobnie tkankowo swoista ekspresja warunkuje pełną aktywność G-CSF (Granulocyte Colony-stimulating Factor) (30).

Cytokina mogąca wpływać na odpowiedź ostrej fazy i produkcję bof jest także IL-21 wytwarzana przez limfocyty T pod wpływem IL-10-TIF (IL-10-related T-cells derived inducible factor). Cytokina ta aktywuje białka STAT1 oraz STAT3 i w komórkach wątrobiaka HepG2 prowadzi do syntezy bof. Jej stężenie *in vivo* u myszy rośnie szybko po zadziałaniu LPS. IL-21 działa na receptor, którego łańcuch  $\beta$  jest wspólny z receptorem dla IL-10, chociaż efekty biologiczne obu tych cytokin są zupełnie różne (8).

Czynnik wzrostu hepatocytów (HGF) wpływa na produkcję bof zarówno poprzez stymulację proliferacji hepatocytów, jak i bezpośrednio reguluje ich syntezę. Między innymi, czynnik HGF zwiększa produk-

cję albuminy, transferyny i fibronektyny oraz zmniejsza syntezę ACT, Hp i  $\alpha$ 2MG. Ponadto wykazano, że HGF działa silnie mitogenicznie na hepatocyty, zwiększając masę wątroby. Podawanie tego czynnika oparzonego na szczurom powodowało w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi wyższe stężenia albuminy, transferyny, IL-6 i TNF $\alpha$ , a także obniżenie surowiczego i wzrost tkankowego stężenia insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1) w wątrobie (17).

### Mechanizmy przekazywania sygnału prowadzącego do produkcji bof

W przekazywaniu sygnału od receptorów dla cytokin biorą udział białka STAT i kinazy janusowe (JAK family kinases). Interleukina-1 wywiera wpływ na geny dla bof za pośrednictwem NF-kappaB, natomiast IL-6 głównie za pośrednictwem APRF/STAT3 (acute phase response factor/STAT3). W promotorach genów wielu bof miejsca reagujące z oboma tymi czynnikami nakładają się na siebie. Współzawodnictwo o miejsce wiążące na promotorze może wyjaśniać, dlaczego różne proporcje tych samych cytokin wywierają różne efekty biologiczne (35). Może to także tłumaczyć, dlaczego produkcja IL-1 powoduje wzrost syntezy bof z tzw. pierwszej grupy, a dołączenie się IL-6 hamuje syntezę tych bof i uruchamia produkcję bof z drugiej grupy.

**Przekazywanie sygnału od receptora dla IL-1** odbywa się z udziałem samego receptora typu I (IL-1R type I) i związanego z nim białka (IL-1RAcP = IL-1R accessory protein), następnie dwóch kinaz IRAK: 1 i 2 (IL-1R associated kinases 1 and 2) i białka adaptorowego MyD88. Białko IL-1RAcP występuje także w formie rozpuszczalnej i może działać jako inhibitor IL-1, blokując jej wiązanie z receptorem (16). Z użyciem komórek wątrobiaka HepG2 udowodniono, że IL-1 $\beta$  hamuje zachodzące pod wpływem IL-6 wiązanie STAT1 (ale nie STAT3) do odpowiednich fragmentów genów docelowych, a także zależną od IL-6 fosforylację STAT1 (ale nie STAT3), choć nie obniża jego poziomu. Dane te potwierdzają, że IL-1 pobudza fosforylację NFkappaB i hamuje pobudzenie STAT1 przez IL-6, który to mechanizm jest prawdopodobnie odpowiedzialny za hamowanie przez IL-1 $\beta$  syntezy bof drugiej grupy pod wpływem IL-6 (27).

**Przekazywanie sygnału od receptora dla TNF $\alpha$**  odbywa się przez jeden z dwóch receptorów, TNFRI = p55 lub TNFRII = p75. Przekazanie sygnału przez p55 jest u myszy kluczowe dla odporności przeciwko *Streptococcus pneumoniae*. Myszy pozbawione p55 ginęły szybko po zakażeniu, choć nie wykazywały żadnych innych nieprawidłowości w odpowiedzi ostrej fazy, łącznie z produkcją białek i naciekaniem granulocytów w miejscu zakażenia (24).

Sygnał prowadzący do syntezy bof mogą hamować czynniki transkrypcyjne z grupy receptorów peroksisomalnych, aktywowanych czynnikami proliferacyjnymi (peroxisome proliferator-activated receptors,

PPARs). Należą one do grupy receptorów jądrowych, biorą udział w kontroli metabolizmu lipidów, lipoprotein i glukozy, a przez to uczestniczą w procesach proliferacji komórek, różnicowania i apoptozy. PPAR $\alpha$  występuje w mięśniach, nerkach, wątrobie i sercu, gdzie pośredniczy w utlenianiu kwasów tłuszczowych, natomiast PPAR $\gamma$  – w jelitach i tkance tłuszczowej, gdzie promuje magazynowanie lipidów. Dla PPAR $\alpha$  ligandem jest także leukotrien B<sub>4</sub>, a dla PPAR $\gamma$  prostaglandyna J<sub>2</sub>, stąd ich udział w regulacji procesów zapalnych. Wiadomo między innymi, że przez interferencję z czynnikami takimi, jak: NFkappaB, STAT i AP-1 receptory PPAR mogą hamować ekspresję genów dla IL-1, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$  i metaloproteaz (7). U myszy pozbawionych PPAR $\alpha$  nie zachodziło hamowanie ekspresji genów dla AGP i fibrynogenu pod wpływem środków chemicznych, których mechanizm działania u zdrowych myszy polegał na wpływie na produkcję białek poprzez aktywowanie przemian w peroksisomach (6).

**Receptory dla poszczególnych cytokin z grupy IL-6** są heterodimerami, składającymi się ze wspólnego elementu, glikoproteiny gp130 i łańcucha swoistego dla danej cytokiny. Dla OSM opisano dwa rodzaje receptorów: jeden z nich jest identyczny z receptorem dla LIF i składa się z gp130 i LIFR, drugi to receptor złożony z kompleksu gp130 i OSMR (23). Transdukcja sygnału do jądra komórkowego od gp130 odbywa się w komórkach hematopoetycznych za pośrednictwem kaskady JAK, białek STAT1 i STAT3, oraz fosfatazy tyrozynowej SHP-2. Kinazy tyrozynowe z rodziny JAK są związane z podjednostką gp130 receptora. Po zadziałaniu ligandu na receptor cząsteczki białka STAT3 skupiają się w pobliżu podjednostki gp130 i ulegają fosforylacji pod wpływem kinaz JAK. Funkcją SHP-2 jest zmniejszanie pobudzenia toru JAK/STAT po połączeniu ligandu z gp130. Wydaje się, że ten szlak aktywacji różni się w komórkach hematopoetycznych i wątrobowych tym, że kontrola ekspresji genów pod wpływem IL-6 nie jest tak absolutnie zależna od SHP-2 w wątrobie, jak w komórkach krwiotwórczych (19). SHP-2 wpływa na produkcję bof pod wpływem IL-6 dwojako: na szlaku od gp130 poprzez JAK/STAT działa jako fosfataza lub jest łącznikiem ze szlakiem sygnału poprzez kinazy MAP (17). Udowodniono m.in. udział STAT3 w przekazywaniu sygnału od IL-6 do produkcji ludzkiego CRP (35), a także szczerzej haptoglobiny (12). W aktywacji STAT3 pod wpływem IL-6 może też uczestniczyć kinaza z grupy MAP: p38. U myszy stwierdzono, że IL-6 pobudza syntezę SAP, głównego bof u tego gatunku, za pośrednictwem STAT3 i C/EBP $\beta$ , podczas gdy syntezę CRP – tylko przy udziale STAT3 (25). Pobudzające działanie IL-6 na aktywację STAT3 może być nasilane przez TGF $\beta$  (32). Są także doniesienia, że gp130 zawiera szereg miejsc mogących wiązać białka STAT, które konkurują o wiązanie, przez co może dochodzić do pobudzenia sygnału albo przez STAT1, albo przez

APRF/STAT3 (10). Wydaje się, że o ostatecznej drodze przekazania sygnału, jaka zostanie uruchomiona, decyduje ilość ligandu działająca na receptor i stopień fosforylacji reszt tyrozynowych w domenie SH2 receptora (10).

Uruchomienie fosforylacji STAT3 pod wpływem IL-6 opisano też we wstrząsie pokrwotocznym u szczura. Do pełnej aktywacji konieczny był zarówno etap niedokrwienia, jak i reperfuzy tkanek, a kinetyka zmian obu badanych parametrów była identyczna, co może świadczyć o tym, że to wątroba jest źródłem IL-6, która z kolei prowadzi do aktywacji STAT3 (14).

Pobudzenie białek STAT i kinaz janusowych po działaniu IL-6 może być hamowane przez LPS. U szczurów, którym podawano dożylnie LPS w dowolnym wlewie, odnotowano spadek aktywacji STAT1 i STAT3 oraz JAK-1, natomiast bez zmian zachodziła aktywacja kinaz ERK (extracellular signal-regulated kinase) -1, ERK-2 i p38. Działanie LPS może zatem upośledzać, a w każdym razie modulować odpowiedź ostrej fazy (22).

Antagonistyczne w stosunku do IL-6 działanie wykazuje też czynnik wzrostu komórek nabłonka (EGF). W pierwotnych mysich hepatocytach czynnik ten zmniejsza wywołaną przez IL-6 indukcję genów dla bof, mimo że aktywuje białka STAT. W komórkach wątrobiaka HepG2 EGF zmniejszał syntezę fibrynogeny i Hp, a stymulował syntezę ACT. Przekazywanie sygnału z receptora dla EGF następowało przez kinazy Src-podobne, natomiast hamujący wpływ na produkcję bof zachodził prawdopodobnie przez aktywację kinaz ERK-1/2; wydaje się zatem, że ostateczny efekt dotyczący konkretnych białek jest wypadkową pobudzenia tych dwóch torów (35). Co ciekawe, receptor dla IL-10 także przekazuje sygnał z użyciem białek STAT1 i STAT3, podobnie jak receptory dla cytokin z rodziny IL-6, mające wspólny element gp130 (21). Sygnał pochodzący od IL-6 można było całkowicie zahamować, podając przeciwciała monoklonalne przeciwko zewnątrzłonowej części gp130. Działanie tych przeciwciał udowodniono zarówno hamując produkcję bof w komórkach wątrobiaka, jak i *in vivo* u psów, u których zanotowano zniesienie wzrostu stężenia fibrynogeny, CRP i liczby płytek po podaniu IL-6.

O ile ogólnoustrojowa odpowiedź na podany dożylnie LPS jest niemal niezmienną u zwierząt z deficytem IL-6, o tyle miejscowa odpowiedź zapalna jest niemal całkowicie zniesiona. Ponadto przy odpowiedzi systemowej przekazywanie sygnału odbywa się w komórkach wątroby poprzez białka STAT1 i STAT3, a przy miejscowej wyłącznie przez STAT3 – i ta stymulacja nie zachodzi u zwierząt pozbawionych IL-6 (1). Prawdopodobnie za tę różnicę odpowiada w pierwszym przypadku równoczesne działanie IL-1 i IL-6 (4).

U szczura wywołanie posocznicy prowadzi do wzrostu stężenia IL-6, aktywacji STAT3 i ekspresji  $\alpha 2$ -makroglobuliny, jednak ani surowicze, ani wew-

nątrzwątrowe stężenie IL-6 nie koreluje z pozostałymi wykładnikami; STAT3 i  $\alpha 2$ -M korelują natomiast z wewnątrzwątrobową aktywnością IL-6, dopóki posocznica nie jest śmiertelna. Wskazuje to na pewną dysregulację, polegającą na spadku wrażliwości hepatocytów na IL-6 w przypadku zagrażającej życiu posocznicy (2); podobne zjawisko opisano też u pacjentów z urazami wielonarządowymi.

**Ostateczne przekazanie sygnału do jądra komórkowego** zachodzi poprzez rodzinę jun czynników transkrypcyjnych, z udziałem białka AP-1. Jednak efekt wywierany przez różne cytokiny może być odmienny także na tym etapie. Opisano, że TNF $\alpha$  działając na komórki wątrobiaka HepG2, powoduje wzrost syntezy mRNA dla c-jun i syntezę JunD, podczas gdy IL-6 stymuluje tylko c-jun, a żadna z tych cytokin nie prowadzi do wzrostu syntezy JunB. Końcowym etapem uruchomienia ekspresji genów dla bof, mających miejsca regulacyjne zależne od odpowiedzi ostrej fazy (APRE: acute phase response elements) po pobudzeniu przez IL-6 białka STAT3 i Sp1 jest aktywacja czynnika C/EBP $\delta$  (CCAAT enhancer binding protein delta). Wykazano także, że u nowo narodzonych myszy pozbawionych C/EBP $\alpha$  nie dochodzi do pobudzenia ekspresji genów dla bof po podaniu IL-1 $\beta$  czy LPS, chociaż obserwuje się wzrost poziomu C/EBP $\beta$  (3). Pobudzenie pod wpływem LPS, IL-1 $\beta$  i TNF $\alpha$  genów c/ebp  $\beta$  i  $\delta$  notowano także w hodowli mysich astrocytów, poprzedzało ono ekspresję genów dla składowej C3 dopełniacza i mysiego odpowiednika ludzkiej antychymotrypsyny, co może wskazywać na udział miejscowej syntezy bof w procesach chorobowych w obrębie centralnego układu nerwowego, na przykład w chorobie Alzheimera (5).

Białko STAT3 może powstawać w dwu formach w wyniku alternatywnego splicingu mRNA: STAT3 $\alpha$  i  $\beta$ . U myszy pozbawionych STAT3 $\beta$  zaobserwowano gorszą rekonwalescencję po wstrząsie wywołanym endotoksyną (LPS) i nadmierne pobudzenie ekspresji szeregu genów w reakcji na LPS. Wydaje się, zatem, że indukcja syntezy bof za pośrednictwem STAT3 $\beta$  ma na celu ograniczenie zapalenia w celu szybszego przywrócenia homeostazy (33).

## Piśmiennictwo

- Alonzi T., Fattori E., Cappelletti M., Ciliberto G., Poli V.: Impaired Stat3 activation following localized inflammatory stimulus in IL-6-deficient mice. *Cytokine* 1998, 10, 13-18.
- Andrejko K. M., Chen J., Deutschman C. S.: Intrahepatic STAT3 activation and acute phase gene expression predict outcome after CLP sepsis in the rat. *Am. J. Physiol.* 1998, 275, 1423-1429.
- Burgess-Beusse B. L., Darlington G. J.: C/EBP $\alpha$  is critical for the neonatal acute-phase response to inflammation. *Mol. Cell. Biol.* 1998, 18, 7269-7277.
- Cantwell C. A., Sterneck E., Johnson P. F.: Interleukin-6-specific activation of the C/EBP $\delta$  gene in hepatocytes is mediated by Stat3 and Sp1. *Mol. Cell. Biol.* 1998, 18, 2108-2117.
- Cardinaux J. R., Allaman I., Magistretti P. J.: Pro-inflammatory cytokines induce the transcription factors C/EBP $\beta$  and C/EBP $\delta$  in astrocytes. *Glia* 2000, 29, 91-97.
- Corton J. C., Fan L. Q., Brown S., Anderson S. P., Bocos C., Cattley R. C., Mode A., Gustafsson J. A.: Down-regulation of cytochrome P450 2C family

- members and positive acute-phase response gene expression by peroxisome proliferator chemicals. *Mol. Pharmacol.* 1998, 54, 463-473.
7. *Delerive P., Fruchart J. C., Staels B.*: Peroxisome proliferator-activated receptors in inflammation control. *J. Endocrinol.* 2001, 169, 453-459.
  8. *Dumoutier L., Van-Roost E., Colau D., Renauld J. C.*: Human interleukin-10-related T cell-derived inducible factor: molecular cloning and functional characterization as an hepatocyte-stimulating factor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2000, 97, 10144-10149.
  9. *Gabay C., Smith M. F., Eidlén D., Arend W. P.*: Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra) is an acute-phase protein. *J. Clin. Invest.* 1997, 99, 2930-2940.
  10. *Gerhartz C., Heesel B., Sasse J., Hemmann U., Landgraf C., Schneider-Mergener J., Horn F., Heinrich P. C., Graeve L.*: Differential activation of acute phase response factor/STAT3 and STAT1 via the cytoplasmic domain of the interleukin 6 signal transducer gp130. I. Definition of a novel phosphotyrosine motif mediating STAT1 activation. *J. Biol. Chem.* 1996, 271, 12991-12998.
  11. *Grenier A., Dehoux M., Boutten A., Arce-Vicioso M., Durand G., Gougerot-Pocidalo M. A., Chollet-Martin S.*: Oncostatin M production and regulation by human polymorphonuclear neutrophils. *Blood* 1999, 93, 1413-1421.
  12. *Grigorov I., Lazic T., Cvetkovic I., Milosavljevic T., Petrovic M.*: STAT3 involvement in the acute phase-related expression of the rat haptoglobin gene. *Mol. Biol. Rep.* 2000, 27, 81-86.
  13. *Guillen M. I., Gomez-Lechon M. J., Nakamura T., Castell J. V.*: The hepatocyte growth factor regulates the synthesis of acute-phase proteins in human hepatocytes: divergent effect on interleukin-6-stimulated genes. *Hepatology*, 1996, 23, 1345-1352.
  14. *Hierholzer C., Kalff J. C., Bednarski B., Memarzadeh F., Kim Y. M., Billiar T. R., Tweardy D. J.*: Rapid and simultaneous activation of Stat3 and production of interleukin 6 in resuscitated hemorrhagic shock. *Arch-Orthop-Trauma-Surg.* 1999, 119, 332-336.
  15. *Huang J. H., Liao W. S.*: Synergistic induction of mouse serum amyloid A3 promoter by the inflammatory mediators IL-1 and IL-6. *J. Interferon Cytokine Res.* 1999, 19, 1403-1411.
  16. *Jensen L. E., Muzio M., Mantovani A., Whitehead A. S.*: IL-1 signaling cascade in liver cells and the involvement of a soluble form of the IL-1 receptor accessory protein. *J. Immunol.* 2000, 164, 5277-5286.
  17. *Jeschke M. G., Herndon D. N., Wolf S. E., DeRoy M. A., Rai J., Thompson J. C., Barrow R. E.*: Hepatocyte growth factor modulates the hepatic acute-phase response in thermally injured rats. *Crit. Care Med.* 2000c, 28, 504-510.
  18. *Kim H., Baumann H.*: Dual signaling role of the protein tyrosine phosphatase SHP-2 in regulating expression of acute-phase plasma proteins by interleukin-6 cytokine receptors in hepatic cells. *Mol. Cell. Biol.* 1999, 19, 5326-5338.
  19. *Kim H., Hawley T. S., Hawley R. G., Baumann H.*: Protein tyrosine phosphatase 2 (SHP-2) moderates signaling by gp130 but is not required for the induction of acute-phase plasma protein genes in hepatic cells. *Mol. Cell. Biol.* 1998, 18, 1525-1533.
  20. *Kordula T., Rydel R. E., Brigham E. F., Horn F., Heinrich P. C., Travis J.*: Oncostatin M and the interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptor complex regulate alpha1-antichymotrypsin expression in human cortical astrocytes. *J. Biol. Chem.* 1998, 273, 4112-4118.
  21. *Lai C. F., Rippeger J., Morella K. K., Jurlander J., Hawley T. S., Carson W. E., Kordula T., Caligiuri M. A., Hawley R. G., Fey G. H., Baumann H.*: Receptors for IL-10 and IL-6-type cytokines use similar signaling mechanisms for inducing transcription through IL-6 response elements. *J. Biol. Chem.* 1996, 271, 13968-13975.
  22. *Ling Pei-Ra., Smith R. J., Mueller C., Mao Y., Bistrrian B. R.*: Inhibition of interleukin-6-activated janus kinases/signal transducers and activators of transcription but not mitogen-activated protein kinase signaling in liver of endotoxin-treated rats. *Crit. Care Med.* 2002, 30, 202-211.
  23. *Mosley B., De-Imus C., Friend D., Boiani N., Thoma B., Park L. S., Cosman D.*: Dual oncostatin M (OSM) receptors. Cloning and characterization of an alternative signaling subunit conferring OSM-specific receptor activation. *J. Biol. Chem.* 1996, 271, 32635-32643.
  24. *O'Brien D. P., Briles D. E., Szalai A. J., Tu A. H., Sanz I., Nahm M. H.*: Tumor necrosis factor alpha receptor I is important for survival from Streptococcus pneumoniae infections. *Infect. Immun.* 1999, 67, 595-601.
  25. *Ochriator J. D., Harrison K. A., Zahedi K., Mortensen R. F.*: Role of STAT3 and C/EBP in cytokine-dependent expression of the mouse serum amyloid P-component (SAP) and C-reactive protein (CRP) genes. *Cytokine* 2000, 12, 888-899.
  26. *Richards C. D., Kerr C., Tanaka M., Hara T., Miyajima A., Pennica D., Botelho F., Langdon C. M.*: Regulation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in fibroblasts and acute phase proteins in hepatocytes in vitro by mouse oncostatin M, cardiotrophin-1, and IL-6. *J. Immunol.* 1997, 159, 2431-2437.
  27. *Shen X., Tian Z., Holtzman M. J., Gao B.*: Cross-talk between interleukin 1beta (IL-1beta) and IL-signalling pathways: IL-beta selectively inhibits IL-1-activated signal transducer and activator of transcription factor 1 (STAT1) by a proteasome-dependent mechanism. *Biochem. J.* 2000, 352, 913-919.
  28. *van-der-Poll T., Keogh C. V., Guirao X., Buurman W. A., Kopf M., Lowry S. F.*: Interleukin-6 gene-deficient mice show impaired defense against pneumococcal pneumonia. *J. Infect. Dis.* 1997, 176, 439-444.
  29. *Watanabe A., Yagi Y., Shiono H., Yokomizo Y.*: Effect of intramammary infusion of tumour necrosis factor-alpha on milk protein composition and induction of acute-phase protein in the lactating cow. *J. Vet. Med.* 2000, 47, 653-662.
  30. *Wiekowski M. T., Leach M. W., Evans E. W., Sullivan L., Chen S. C., Vassileva G., Bazan J. F., Gorman D. M., Kastelein R. A., Narula S., Lira S. A.*: Ubiquitous transgenic expression of the IL-23 subunit p19 induces multi-organ inflammation, runting, infertility, and premature death. *J. Immunol.* 2001, 166, 7563-7570.
  31. *Xing Z., Gaudie J., Cox G., Baumann H., Jordana M., Lei X. F., Achong M. K.*: IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J. Clin. Invest.* 1998, 101, 311-320.
  32. *Yamamoto T., Matsuda T., Muraguchi A., Miyazono K., Kawabata M.*: Cross-talk between IL-6 and TGF-beta signaling in hepatoma cells. *FEBS Lett.* 2001, 492, 247-253.
  33. *Yoo J. Y., Huso D. L., Nathans D., Desiderio S.*: Specific ablation of Stat3beta distorts the pattern of Stat3-responsive gene expression and impairs recovery from endotoxic shock. *Cell* 2002, 108, 331-344.
  34. *Zhang D., Sun M., Samols D., Kushner I.*: STAT3 participates in transcriptional activation of the C-reactive protein gene by interleukin-6. *J. Biol. Chem.* 1996, 271, 9503-9509.
  35. *Zhang Z., Fuller G. M.*: The competitive binding of STAT3 and NF-kappaB on an overlapping DNA binding site. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997, 237, 90-94.

Adres autora: dr n. przyr. Magdalena Sobieska, ul. Osiedle Oświecenia 35/3, 61-207 Poznań

## ANDRÉ-FONTAINE G., BRANGER C., GRAY A. W., KLAASEN H. L. B. M.: Porównanie skuteczności trzech handlowych bakteryn w zapobieganiu leptospirozie psów. (Comparison of three commercial bacterins in preventing canine leptospirosis). *Vet. Rec.* 153, 165-169, 2003 (6)

Badania przeprowadzono na psach gończych w trzech grupach doświadczalnych i grupie kontrolnej. Psy szczepiono w wieku 9 i 12 tyg. szczepionkami handlowymi. W grupie A stosowano szczepionkę Vanguard 7, szczepionka wieloważna zawierająca żywy zmodyfikowany wirus nosówki (CDV), parwowirus psów (CPV), adenowirus psów typ 2 (CAV2), wirus parainfluenzy psów 2 (CPiV), inaktywowaną bakterynę *Leptospira canicola* i *L. icterohaemorrhagiae*. Psoom z grupy B podano szczepionkę Dohyvac 7L, która jest multiwalentną szczepionką zawierającą żywe zmodyfikowane wirusy CDV, CPV, CAV2, CPiV i inaktywowane *Leptospira canicola* i *L. icterohaemorrhagiae*. W grupie C zastosowano szczepionkę Nobivac DHPPI + Lepto (Intervet Int.) zawierającą zmodyfikowane wirusy CDV, CPV, CAV2, CPiV i inaktywowane leptospiry z grupy serologicznej *L. canicola* i *L. icterohaemorrhagiae*. W grupie kontrolnej zastosowano szczepionki Nobivac, DHPPI. Po 34 dniach po podaniu drugiej dawki szczepionki psy zakażono drogą dośwojówkową zjadliwym szczepem *L. interrogans serovar canicola* (0,6×10<sup>8</sup> jtk) do każdego oka i wyższą dawką (4×10<sup>8</sup> jtk) dotrzonowo. U wszystkich szczepionych psów po podaniu drugiej dawki szczepionki pojawiły się aglutyniny w niskim mianie. Wyrażna odpowiedź serologiczna pojawiła się w grupie kontrolnej. U szczepionych psów po zakażeniu nie wystąpiły większe zaburzenia w stanie zdrowia. Leptospiry izolowano z krwi wszystkich zwierząt z grupy kontrolnej, od 1 z 6 psów z grupy A, 2 z 4 psów z grupy B. Leptospiry izolowano z moczu psów z grupy kontrolnej, od 1 z 6 psów z grupy A i 2 z 4 z grupy B po 2 tyg. po zakażeniu.