

Ripasso del percorso didattico trattato, per congiungerci a questa introduzione alla vera patologia:

Meccanismi cellulari in risposta ad uno stimolo esterno; come muoiono le cellule; ora vediamo come il nostro organismo topico o sistemico reagisce alle lesioni con infiammazione cronica o acuta.

REAZIONI INFIAMMATORIE

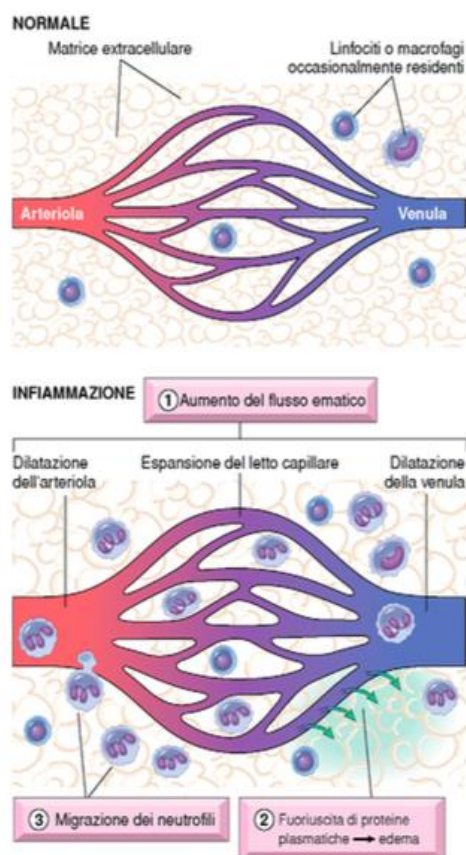


FIGURA 2.1 Principali manifestazioni locali dell'infiammazione acuta, confrontate con la situazione normale. (1) Vasodilatazione e aumento del flusso ematico (responsabili di eritema e calore), (2) fuoriuscita dai vasi e deposito extravascolare di liquido e proteine del plasma (edema), (3) migrazione dei leucociti e loro accumulo nella sede della lesione.

L'infiammazione acuta è una risposta rapidamente allestita dall'ospite allo scopo di condurre i leucociti e le proteine plasmatiche – come gli anticorpi – nella sede dell'infezione o della lesione tissutale.

*L'infiammazione acuta presenta tre componenti principali: (1) alterazioni del calibro vascolare determinanti un **incremento del flusso ematico**; (2) modificazioni strutturali nella microvascolarizzazione che consentono alle proteine plasmatiche e ai leucociti di lasciare il circolo; (3) **fuoriuscita dei leucociti** dal microcircolo, accumulo nella sede di lesione e attivazione per **l'eliminazione dell'agente lesivo**.¹*

Affinché avvenga l'infiammazione, necessita di vascolarizzazione: l'infiammazione è una risposta in tessuti che sono vascolarizzati. Infezioni o qualsiasi danno tissutale fa sì che cellule, per esempio dell'immunità innata, intervengano prontamente per, possibilmente, eliminare il patogeno, come nel caso della silicosi² dove una sostanza inerte viene fagocitata all'interno delle cellule.

Tant'è che noi abbiamo farmaci antinfiammatori³, come l'Ibuprofene, il più conosciuto e usato nell'artrosi, un dolore articolare. L'infiammazione, quando è ACUTA, è un fenomeno positivo, buono. In termini medici era rilegato al pensiero di danno, così era istintivo somministrare l'antinfiammatorio, ma in realtà essa **si risolve da sola**.

Anche se l'infiammazione acuta viene rilegata all'ambito della reazione "harmful", in realtà è una risposta protettiva essenziale per sopravvivere. Ci serve per sbarazzarci della lesione!

¹ Tutte le parti in corsivo sono prese da *Robbins e Cotran*, ed. VIII cap. 2

² Credo di aver capito male perché: "La silicosi è una pneumoconiosi causata dall'inalazione di polvere contenente biossido di silicio, (SiO₂), allo stato cristallino, che esita in una fibrosi polmonare progressiva dose-dipendente.

La malattia è causata dall'esposizione prolungata a biossido di silicio in forma cristallina, che si trova in natura prevalentemente come quarzo, calcedonio o opale."

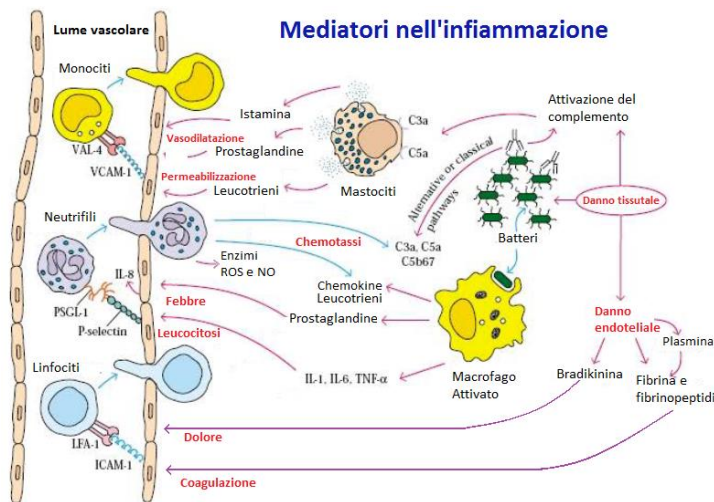
³ I farmaci antinfiammatori costituiscono una parte degli antalgici, rimediando al dolore attraverso la riduzione dell'infiammazione, al contrario, ad esempio, dei farmaci oppioidi o oppiacei che agiscono sui recettori oppiacei presenti nel cervello e nel midollo spinale.

Quello che ci fa male è lo sviluppo in un'**infiammazione CRONICA** che, sotto stimolo lesivo – per esempio corpi estranei come il silicio che permangono e producono radicali liberi (abbiamo visto anche alcuni farmaci che lo fanno) - generano questa infiammazione pericolosa. L'infiammazione cronica è **cattiva**.

Questo ci fa capire anche come comportarci dinanzi a reazioni infiammatorie. Si tende ad abusare di farmaci antinfiammatori laddove anche non ce ne sia bisogno: senza infiammazione le ferite non si chiuderebbero mai, rimarrebbero lesioni persistenti e i tessuti si danneggerebbero!

RISPOSTA INFIAMMATORIA AD UN PATOGENO

La risposta del Sistema Infiammatorio, in generale, comprende le seguenti tappe:



1. Batteri e altri patogeni (es. *Staphylococcus Aureus*) entrano nella ferita: qui eliminano subito l'epitelio cheratinizzato, che è una prima difesa. Abbiamo molti agenti che intervengono nella difesa dell'organismo.

2. **Reclutamento delle piastrine** presenti nel flusso sanguigno. Esse devono iniziare lo *scarring*, la chiusura della ferita per eliminare il sanguinamento e chiudere la porta d'ingresso ai batteri.

3. Le mastcellule secernono fattori che mediano la **dilatazione** (es. istamina) dei vasi sanguigni. Vasodilato per

reclutare neutrofili e altri leucociti sul luogo della lesione insorta: dai vasi essi usciranno e inizieranno a distruggere patogeni sia direttamente sia producendo sostanze atte a lederli.

4. L'importante ruolo dei **neutrofili** si riscontra soprattutto nell'infiammazione **acuta**: nell'infiammazione **cronica** invece prevalgono i **monociti**.

5. I macrofagi secernono citochine.

6. L'infiammazione perdura finché l'estraneo non è stato debellato.

SEQUENZA DEGLI EVENTI:

Il tessuto può essere o necrotico o danneggiato. *L'infiammazione ci serve perché con una ferita e una forte infiammazione batterica è benigna.*

- SISTEMA IMMUNITARIO ASPECIFICO. L'**epitelio** libera **defensine**, mentre l'organismo prepara la risposta immunitaria. Le defensine (es. catalicidine, prodotte anche dai neutrofili) hanno **azione antimicrobica** e **osponizzante**, in modo da avere un continuo tra immunità innata e immunità acquisita. Le proteine prodotte saranno le proteine del complemento. Troveremo quindi la presenza della **proteina C reattiva** - misurata a livelli plasmatici durante l'esame del sangue - come anche MPL2, anch'essa prodotta dal fegato.
- PRODUZIONE MEDIATORI. Le mastcellule rilasciano **istamina**. Macrofagi e cellule dendritiche fagocitano i patogeni e li presenteranno via MHCII ai TCR dei CD4+: immediato coinvolgimento di cellule presentanti l'antigene che medieranno l'azione del sistema protettivo.

Nel frattempo, proteine dell'immunità innata limiteranno l'azione del patogeno.

L'infiammazione è un fenomeno finemente orchestrato: la partecipazione di proteine del

sistema immune ci permette di rispondere efficacemente in prima battuta e in maniera indifferenziata. Nel frattempo, i macrofagi si preparano.

- **VASODILATAZIONE.** I mediatori chimici prodotti dalle cellule (amine, citochine)⁴ richiamano l'attenzione di cellule leucocitarie e mediano anche la vasodilatazione necessaria alla loro fuoriuscita dal vaso. Vasodilatazione e incremento della permeabilità vasale hanno come conseguenza è l'**EDEMA** (la zona edematosa è un piccolo rigonfiamento: molto fastidiosa se compare nell'organo interno).
- **INFLUSSO DI LEUCOCITI E PROTEINE PLASMATICHE.** Vengono reclutati neutrofili e monociti (che diventano, fuori dal vaso, macrofagi) per eliminare i microbi e il tessuto morto. Vengono anche liberati granuli.
- Macrofagi rilasciano citochine e fattori di crescita su fibroblasti e ECM.
- **Riparo la ferita:** le stesse citochine prodotte per l'infiammazione, stimolano i fibroblasti a riempire gli spazi creati dalla cicatrice.

“Questo schema ci dice cosa succede quando dobbiamo riparare i tessuti.”

L'infiammazione può essere di 2 tipi:

	ACUTA	CRONICA
Onset	Rapida (minuti-ore)	Lenta (giorni o più tempo)
Infiltrato cellulare	Neutrofili	Monociti, Macrofagi e Linfociti
Lesione tissutale	No	Severa e progressiva
Segni locali	Elevati ed evidenti: edema	Non abbiamo i segni clinici finché non compare la <i>functio laesa</i>

MEDIATORI CHIMICI

I mediatori chimici si possono misurare in laboratorio: se sono davanti ad un'infiammazione posso misurare la proteina C reattiva: è un marcatore “banale” ma utile.

Sono marcatori ematici di laboratorio usati per seguire lo sviluppo dell'infiammazione stessa.

- ✓ *I mediatori sono prodotti dalle cellule o dalle proteine plasmatiche. I mediatori di derivazione cellulare, normalmente sequestrati nei granuli intracellulari, possono essere secreti rapidamente per esocitosi dei granuli (ad es. l'istamina contenuta nei granuli dei mastociti) o essere sintetizzati de novo (ad es. prostaglandine e citochine) in risposta a uno stimolo. I **principali tipi cellulari** responsabili della **produzione** dei **mediatori** dell'infiammazione acuta sono le **piastrine**, i **neutrofili**, i monociti/**macrofagi** e i **mastociti**, ma anche le cellule mesenchimali (endotelio, muscolo liscio, fibroblasti) e la maggior parte delle cellule **epiteliali** possono essere indotte a sintetizzare alcuni di questi mediatori. I **mediatori di derivazione plasmatica** (ad es. le proteine del complemento e le chinine) sono prodotti principalmente a **livello epatico** e viaggiano nel circolo in forma di **precursori inattivi** che acquisiranno le loro proprietà biologiche solo dopo essere stati attivati, in genere tramite una serie di clivaggi proteolitici.*
- ✓ *I mediatori attivi sono prodotti in risposta a vari stimoli, quali ad esempio prodotti microbici, sostanze rilasciate dalle cellule necrotiche e le proteine dei sistemi del complemento, delle chinine e della coagulazione, a loro volta attivati da microbi e tessuti danneggiati. Il fatto che lo stimolo iniziatore consista nella presenza di microbi o di tessuti morti assicura che l'infiammazione venga normalmente*

⁴ utili a produrre farmaci antiinfiammatori (es. prostaglandine e aspirina)

innescata solo quando e dove necessario.

Un mediatore può stimolare il rilascio di altri mediatori. La citochina TNF, ad esempio, agisce sulle cellule endoteliali per stimolare la produzione di un'altra citochina, IL-1, e di numerose chemochine. Gli inibitori secondari possono esercitare gli stessi effetti dei mediatori iniziali oppure avere un'attività diversa o addirittura opposta. Tali cascate forniscono meccanismi atti ad amplificare – o in alcuni casi a contrastare – l'azione di un mediatore iniziale.

- ✓ I mediatori hanno **bersagli** cellulari **variabili**. Essi possono agire su uno o pochi tipi di cellule bersaglio, possono avere bersagli differenti o, ancora, produrre effetti diversi a seconda del tipo cellulare che costituisce il loro bersaglio.
- ✓ La maggior parte di questi mediatori, una volta attivati e rilasciati dalla cellula, ha **vita breve**. Essi si degradano rapidamente (metaboliti dell'acido arachidonico), vengono inattivati per via enzimatica (la chininasi inattiva la bradichinina), sono eliminati in altro modo (gli antiossidanti eliminano i metaboliti tossici dell'ossigeno) oppure vengono inibiti (le proteine regolatrici del complemento frammentano e degradano i componenti attivati del complemento). Esistono quindi sistemi di controllo e di riequilibrio atti a regolare le azioni dei mediatori.

La lista dei mediatori è lunga, ma importante da sapere:

Mediatore	Fonti principali	Azioni
DI DERIVAZIONE CELLULARE		
Istamina	Mastociti, basofili, piastrine	Vasodilatazione, aumento della permeabilità vascolare, attivazione endoteliale
Serotonina	Piastrine	Vasodilatazione, aumento della permeabilità vascolare
Prostaglandine	Mastociti, leucociti	Vasodilatazione, dolore, febbre
Leucotrieni	Mastociti, leucociti	Aumento della permeabilità vascolare, chemiotassi, adesione e attivazione dei leucociti
Fattore attivante le piastrine	Leucociti, mastociti	Vasodilatazione, aumento della permeabilità vascolare, adesione dei leucociti, chemiotassi, degranulazione, cascata ossidativa
Specie reattive dell'ossigeno	Leucociti	Uccisione dei microbi, danno tissutale
Ossido di azoto	Endoteli, macrofagi	Rilassamento della muscolatura liscia vascolare, uccisione microbica
Citochine (TNF, IL-1)	Macrofagi, cellule endoteliali, mastociti	Attivazione endoteliale locale (espressione di molecole di adesione), febbre/dolore/anorexia/ipotensione, riduzione delle resistenze vascolari (shock)
Chemochine	Leucociti, macrofagi attivati	Chemiotassi, attivazione leucocitaria
DERIVATO DALLE PROTEINE PLASMATICHE		
Prodotti del complemento (C5a, C3a, C4a)	Plasma (di origine epatica)	Chemiotassi e attivazione leucocitaria, vasodilatazione (stimolazione dei mastociti)
Chinine	Plasma (di origine epatica)	Aumento della permeabilità vascolare, contrazione della muscolatura liscia, vasodilatazione, dolore
Proteasi attivate durante la coagulazione	Plasma (di origine epatica)	Attivazione endoteliale, reclutamento leucocitario

Abbiamo mediatori sintetizzati, di derivazione: Cellulare = le cellule mandano importantissimi segnali per attivare localmente l'infiammazione. Epatica = fattori attivanti il complemento e fattore XII della coagulazione. Tutto questo farà sì che io abbia, in modo regolato, una fase infiammatoria e poi una fase di riparo.

Sono mediatori da ricordare, soprattutto per i FARMACI:

Per esempio, i leucotrieni hanno farmaci antiasmatici che ne limitano o annullano l'azione, perché sono fortemente coinvolti nella bronco-reattività.

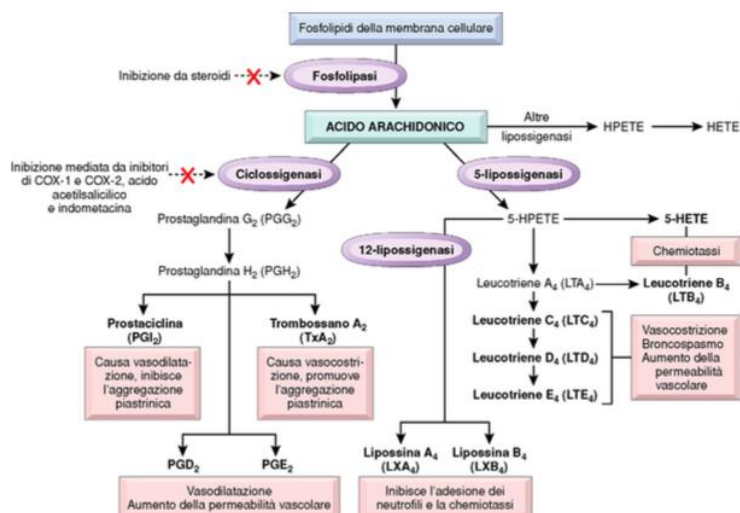


FIGURA 2.11 Generazione di metaboliti dell'acido arachidonico e relativi ruoli nell'infiammazione. I bersagli molecolari dell'azione di alcuni farmaci antinfiammatori sono indicati da una X rossa. Non vengono illustrati gli agenti responsabili di sopprimere la produzione di leucotrieni mediante inibizione della 5-lipossigenasi (ad es. zileuton) o di bloccare i recettori dei leucotrieni (ad es. montelukast). COX, ciclossigenasi; HETE, acido idrossieicosatetraenoico; HPETE, acido idroperossieicosatetraenoico.

Mediatori e farmaci.

CELSUS – che introdusse i primi quattro caratteri - e VIRCHOW – che aggiunge l'ultima – descrissero i segni clinici dell'infiammazione:

- ✓ Calor: calore si scalda
- ✓ Rubor: diventa rosso, per la dilatazione e l'aumento del flusso sanguigno
- ✓ Tumor: rigonfiamento
- ✓ Dolor: nel momento in cui premo sulla ferita edematosa
- ✓ Functio laesa: perdita di funzione

“Tutto ciò è per un'infiammazione cronica esterna, in un organo facilmente palpabile. Nella pratica clinica per l'organo interno seguiamo segnali che nell'epitelio vediamo chiaramente.”

L'infiammazione è protettiva, diventa causa di malattia quando lo stimolo infiammatorio persiste, è una caratteristica *dominante*:

Avere un sistema immune attivato a lungo mi causa super infiammazione --> aumento di necrosi nelle malattie infiammatorie --> infiammazione contro cellule *self* --> necrosi e distruzione contro noi stessi, nelle nostre cellule.

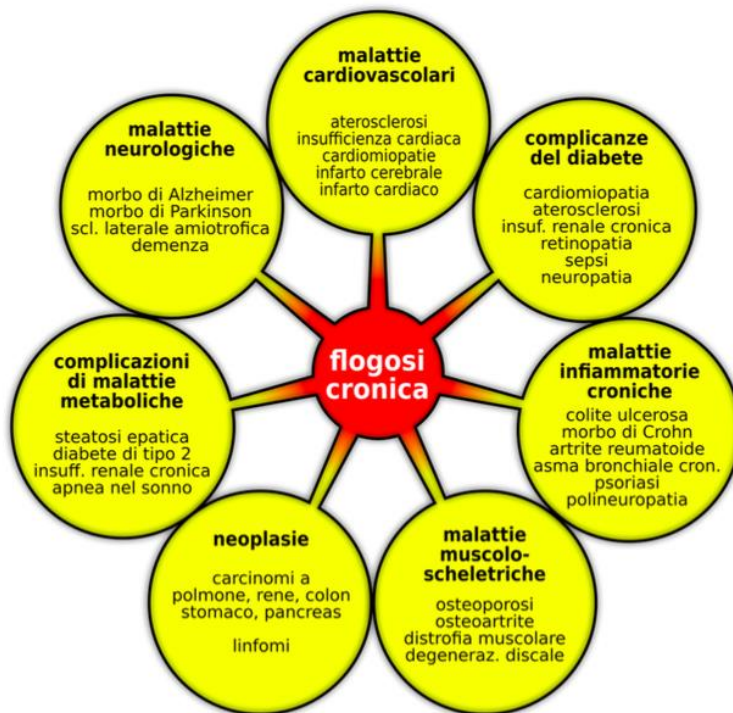
Le malattie **autoinfiammatorie** a livello pediatrico sono malefiche: hanno natura sistemica, i meccanismi sono poco conosciuti e possono riguardare contemporaneamente o “a spot” tessuti diversi. In tal modo, c'è un mancato controllo dell'evoluzione di queste patologie e dell'infiammazione cronica. *Come le trattiamo?* **Cortisone**, ma non si è precisi nella terapia. Es: Patologie come le connettiviti, la sclerodermia⁵.

Quindi, o l'infiammazione si risolve perché è diretta e ristretta a noi stessi, o potrebbe sfociare in malattie autoimmunitarie.

INFIAMMAZIONE CRONICA

La flogosi cronica è implicata nello sviluppo di numerose patologie croniche e progressive dell'età matura o avanzata, quindi conoscere bene le fasi dell'infiammazione, nonché cause e mediatori, ci serve in medicina.

⁵ Malattia multisistemica legata ad eccessiva deposizione di connettivi, con mani che hanno un derma cutaneo spesso, faccia a botulino.



- Malattie cardiovascolari
- Complicazioni diabetiche
- Infiammazioni croniche: IBO, COPD
- Malattie su muscoli, scheletro
- Cancro
- Metaboliche
- Neurologiche

TIPI DI INFIAMMAZIONE

1) **CLASSICA**: *hot*, calda, il patogeno agisce sulle cellule del sistema immune, aumenta l'infiammazione così recluterà le cellule del SI, che scateneranno una serie di reazioni per produrre citochine e altri fattori. È un'infiammazione facile, facilmente visibile.

2) **METAINFIAMMAZIONE**.

3) **INTERVENTI POTENZIALI**: *cold*, non mi accorgo dell'infiammazione ma nel mentre stanno avvenendo i danni tissutali specifici dell'infiammazione, dovrò così intervenire nelle vie di trasduzione del segnale in modo che non siano prodotti i mediatori che potrebbero

aumentare i danni già apportati.

L'infiammazione è tipica delle malattie croniche, ma non posso prendere antinfiammatori per tutta la vita. Cito nuovamente l'*Ibuprofene*, ci sono effetti indesiderati come:

disturbi gastrointestinali, quali piroisi, dispepsia, dolore addominale e nausea, vomito, flatulenza, diarrea, stipsi, palpitazioni, insufficienza cardiaca, infarto miocardico, edema polmonare acuto, edema, disturbi ematopoietici, cefalea, affaticamento, agitazione, capogiro, irritabilità, patologie dell'occhio, patologie dell'orecchio e del labirinto, rinite, broncospasmo, nefrite, gravi forme di reazioni cutanee, ipertensione, alcuni disturbi psichiatrici.

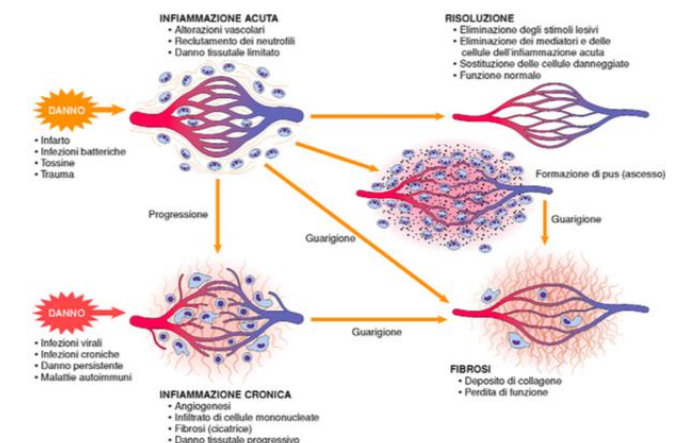


FIGURA 2.16 Esiti dell'infiammazione acuta: risoluzione, guarigione per fibrosi o infiammazione cronica. Sono elencate le componenti delle varie reazioni e i relativi effetti funzionali.

Tuttavia, il mercato farmaceutico abbonda di questi farmaci. La lista degli antinfiammatori spaventa il docente.

TABELLA 2.2 Esempi clinici di lesione indotta da leucociti*

Disturbi	Cellule e molecole coinvolte nel danno
ACUTI	
Sindrome da distress respiratorio acuto	Neutrofili
Rigetto acuto di trapianto	Linfociti; anticorpi e complemento
Asma	Eosinofili; anticorpi IgE
Glomerulonefrite	Neutrofili, monociti; anticorpi e complemento
Shock settico	Citochine
Ascesso polmonare	Neutrofili (e batteri)
CRONICI	
Artrite	Linfociti, macrofagi; anticorpi?
Asma	Eosinofili; anticorpi IgE
Aterosclerosi	Macrofagi; linfociti?
Rigetto cronico di trapianto	Linfociti; citochine
Fibrosi polmonare	Macrofagi; fibroblasti

*Sono elencati esempi di patologie in cui la risposta dell'ospite assume un ruolo significativo nella lesione tissutale, con l'indicazione delle cellule e delle molecole principalmente responsabili del danno. Queste malattie e la relativa patogenesi saranno discusse nel dettaglio nei capitoli dedicati alle patologie specifiche.

Accorgimenti

*MALATTIA ACUTA

L'asma è malefica: l'asma allergica con il *prick test* ci dice qual è l'agente che lo causa, ma quella cronica si tratta senza conoscerne la causa, col cortisone.

Lo shock settico è una malattia multiorgano, dove le citochine "schizzano per aria". Le citochine sono marcatori labili, dosare le citochine è difficile, esse dipendono dallo stato infiammatorio dell'organismo. Per esempio, ho il raffreddore e le ho alte per quello, non per lo shock. La concentrazione citochinica è individuale, personale per ognuno di noi. Solo alcune sono usate come marcatori per malattie croniche.

MALATTIA CRONICA dove spariscono i neutrofili

Neutrofili: acuto

Macrofagi e monociti: cronico

Ovviamente, non soltanto avere una risposta infiammatoria è un vantaggio ma anche un deficit in essa è probabilmente minatorio (=ma anche non averla). L'assenza d'infiammazione vuol dire che io non sono in grado di controllare le infiltrazioni: *Bambini bolla*, dove le infezioni sono controllate solo ponendo il paziente in un ambiente asettico. Forti deficit immunologici bloccano l'infiammazione.

"Quindi quando noi ci tagliamo con un chiodo va bene avere un po' di edema, che ci faccia un po' rosso e malino, se non ci fossero saremmo molto più fragili."

Il vantaggio dell'infiammazione acuta è che finisce quando finisce lo stimolo

infiammatorio. Le stesse cellule del sistema immune che hanno dato lo stimolo pro-infiammatorio manderanno citochine con stimoli antiinfiammatori. I **PMN**, cellule principe dell'infiammazione, andranno in **apoptosi**. Ciò che pone inizio poi pone fine, come per esempio i fagociti. Una volta spenta l'infiammazione, finito l'edema, i macrofagi possono tornare ai linfonodi dopo aver mangiato corpi morti dei neutrofili, avremo produzione di sostanze che finiscono la vasodilatazione, finisce la produzione d'istamine e il volume dei vasi torna normale.

CAUSE DELL'INFIAMMAZIONE

Le reazioni infiammatorie acute sono scatenate da diversi stimoli:

- I. Le **infezioni** (batteriche, virali, micotiche e parassitiche) e le tossine microbiche sono alcuni dei fattori più frequentemente coinvolti e costituiscono le principali cause cliniche di infiammazione. I mammiferi possiedono meccanismi di rilevazione della presenza di microbi. Tra i più importanti recettori per i prodotti microbici figura la famiglia dei recettori Toll-simile (Toll-Like Receptor, TLR), i quali devono il proprio nome alla proteina Toll della *Drosophila*, e una varietà di recettori citoplasmatici capaci di riconoscere batteri, virus

e funghi Il legame di questi recettori innesca vie di segnale stimolanti la produzione di molteplici mediatori. “In entrambe l’infezione, dipende quanto dura l’invasione. L’eziologia viene dedotta dal profilo morfologico dell’agente virale.”

- II. La **necrosi tissutale** di qualsiasi origine, compresa la necrosi conseguente a *ischemia* (come nel caso di un infarto del miocardio), a *trauma* e a *danno fisico e chimico* (ad es. danno termico, come nelle ustioni o nel congelamento, irradiazione ed esposizione a sostanze chimiche ambientali), è anch’essa annoverata tra gli stimoli dell’infiammazione. Svariate molecole rilasciate dalle cellule necrotiche esercitano notoriamente un ruolo proinfiammatorio: queste includono l’acido urico, un metabolita della purina; l’adenosina trifosfato, molecola in cui viene normalmente immagazzinata l’energia; una proteina legante il DNA chiamata HMGB-1 il cui meccanismo di azione resta sconosciuto; e il DNA stesso quando, anziché rimanere sequestrato nel nucleo come avviene in condizioni normali, fuoriesce nel citoplasma. Di per sé, anche l’**ipossia**, condizione spesso sottostante il danno cellulare, costituisce uno stimolo per la risposta infiammatoria. Questa risposta è mediata in larga parte da una proteina chiamata HIF-1 (Hypoxia-Induced Factor-1) e prodotta dalle cellule private di ossigeno, la quale attiva la trascrizione di diversi geni coinvolti nell’infiammazione, tra cui il fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF), responsabile di aumentare la permeabilità vascolare. “Immediatamente la cellula necrotica farà in modo di stimolare l’infiammazione, per fagocitarne tutte le cellule morte.”
- III. I **corpi estranei** (schegge, sporcizia, fili di sutura) inducono tipicamente l’infiammazione determinando un danno tissutale traumatico o veicolando un’infezione microbica. Per esempio, la silice stimola TGF e interleuchine. Possono essere causate **anche** da corpi **endogeni**: cristalli (in *gout disease*) e cristalli di colesterolo (nell’aterosclerosi).
- IV. Le **reazioni immunitarie** (dette anche reazioni di ipersensibilità) sono reazioni in cui il sistema immunitario normalmente investito di funzioni protettive arreca un danno ai tessuti dell’ospite. Le risposte immunitarie dannose possono essere rivolte contro gli antigeni self, determinando così *malattie autoimmuni*, o costituire una reazione eccessiva a sostanze ambientali o microbi. In tali patologie, l’infiammazione è una delle principali cause di danno tissutale. Poiché lo stimolo alla risposta infiammatoria (ossia i tessuti dell’ospite) non può essere eliminato, le reazioni autoimmuni tendono ad avere un carattere persistente e a porre difficoltà di gestione terapeutica, sono associate a infiammazione cronica e rappresentano cause importanti di morbidità e mortalità. L’infiammazione è indotta dalle citochine prodotte dai linfociti T e da altre cellule del sistema immunitario e il gruppo di patologie correlate a questo tipo di reazione è spesso designato con il termine *malattia infiammatoria immuno-mediata*. “Un’eccessiva reazione immune può causare necrosi. Tanto più aumenta l’infiammazione più avrò cellule necrotiche da eliminare.”

Sbobina Patologia.
Sbobinatore: Rui Wang
Controllore: Anna Todeschini

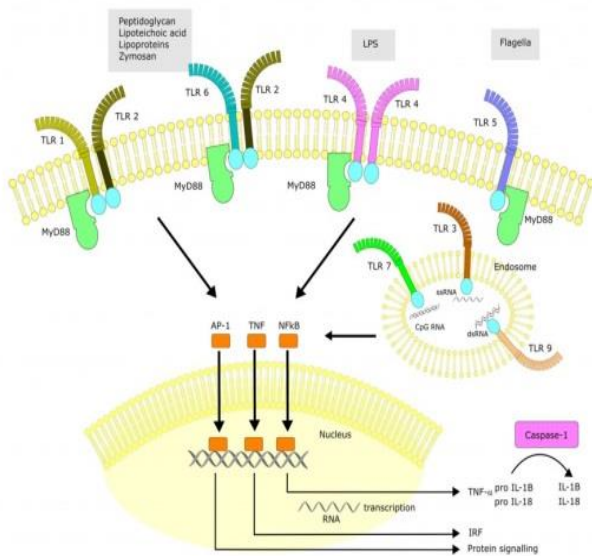
18.04.19.

2^ ora

IL RICONOSCIMENTO DEI MICROBI

Per effettuare una risposta nei confronti degli stimoli esterni, abbiamo innanzitutto bisogno di riconoscerli. Questo compito è svolto dai **recettori cellulari** e dalle **proteine circolanti** come le proteine del complemento, capaci non solo di riconoscere i microbi ma anche di promuovere i processi di distruzione con la fagocitosi, attivando in seguito anche la risposta del sistema immune adattativo. Necessitiamo quindi di recettori sia di membrana che intercellulari che siano in grado di rispondere al patogeno.

◇ Recettori cellulari per i microbi



I **toll like receptors (TLR)**, sono dei recettori specializzati presenti sulle membrane o cellulari o coinvolti nell'internalizzazione (membrane endosomiali).

Ne esistono di diversi tipi e ogni TLR è in grado di riconoscere una serie di bersagli; ciascuno presenta una via di trasduzione del segnale diversificata ed estremamente complessa, che gli permette di mandare una serie di segnali al nucleo per indurre la sintesi di citochine infiammatorie come gli interferoni.

È un sistema conservato, localizzato a livello della membrana sia endosomica sia plasmatica.

Tra i numerosi TLR ricordiamo **TLR4** che ha una specificità per il **LPS** batterico.

Solitamente si definisce l'immunità innata un sistema aspecifico, questo è vero ma solo parzialmente perché essa presenta delle caratteristiche tissutali diverse,

infatti i TLR e le altre proteine dell'immunità innata in base alla localizzazione si comportano in modo differente, questo è logico perché tessuti diversi si espongono ai patogeni in maniera diversa.

◇ Sensori di danno cellulare

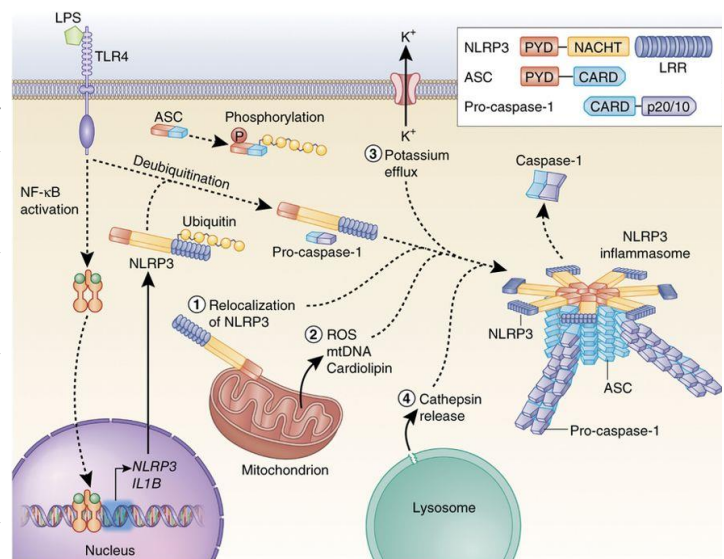
Le cellule, oltre al TLR, hanno **sensori citosolici** che rispondono a danni a livello cellulare, riconoscendo molecole liberate o alterate: queste ultime vengono chiamate **DAMPs**, ovvero "*damage-associated molecular patterns*": possono essere acido urico (dovuto ad una rottura del DNA), ATP, ridotte concentrazione di K⁺ intracellulare, DNA e altre molecole.

Una piattaforma citosolica importantissima è rappresentata dall'**inflammasoma**, in grado di riconoscere i **DAMPs** o **PAMPs** ("*patogen-associated molecular patterns*" che sono invece molecole prodotte dal patogeno stesso).

È una piattaforma piuttosto complessa che porta alla produzione di citochine specifiche nel processo infiammatorio: tra le citochine infiammatorie prodotte dagli inflammasomi ricordiamo **IL-1β** e **IL-18**.

A livello nucleare il TLR manda dei segnali per attivare **NLRP3**; questa molecola a sua volta invia segnali per attivare il gene codificante l'**interleuchina-1β**. Quando viene stimolato, NLRP3 innesca la cascata di eventi che culmina nella formazione del complesso dell'inflammasoma. NLRP3 è coinvolto nel clivaggio della **pro-caspasi** (che diventa caspasi). Contemporaneamente al processo di clivaggio avviene via fosforilazione, l'attivazione della proteina adattatrice ASC; viene assemblato il **complesso dell'inflammasoma** (formato quindi da NLRP3+ASC+procaspasi 1), dove la caspasi 1 effettuerà il clivaggio della pro-interleuchina 1-β, tagliandola: la pro-interleuchina 1β viene così attivata e diventa IL-1β.

Abbiamo un doppio sensore, uno di membrana (TLR) e uno citoplasmatico (NLRP3), dove quello di membrana funziona da trigger di quello citoplasmatico.



Mutazioni a livello dei geni codificanti l'**inflammasoma** causano patologie di tipo **gain of function**: la cellula acquisisce delle funzioni che alternano l'omeostasi cellulare.

Uno sbilanciamento dovuto alla superattivazione dell'inflammasoma, porta alla manifestazione di sintomi **autoinfiammatori**.

Le malattie autoinfiammatorie sono patologie difficili da trattare, perché non abbiamo un farmaco che regola il difetto a livello dell'inflammasoma, questo significa che ci troviamo di fronte a un'infiammazione cronica sistemica che causerà una serie di danni come:

- gotta
- aterosclerosi
- sindromi metaboliche
- obesità
- deposito di amiloidi e altre problematiche.

Le malattie autoinfiammatorie sono generalmente caratterizzate da un'eccessiva produzione di citochine infiammatorie e hanno spesso un esordio precoce: un esempio è la **febbre periodica**, che presenta picchi di febbre con un andamento ciclico.

I segni clinici sono aspecifici:

- **rash cutaneo**, che in realtà caratterizza tutte le malattie in età pediatrica;
- **atralgia**, dolori che colpiscono le articolazioni;
- **febbre**, che si scopre che è ciclica dopo una serie di eventi febbrili che si autorisolgono;
- **piccoli sintomi neurologici**, che compaiono solo in un momento successivo.

A questo punto eseguendo degli esami di laboratorio scopriremmo che siamo di fronte a un'infezione.

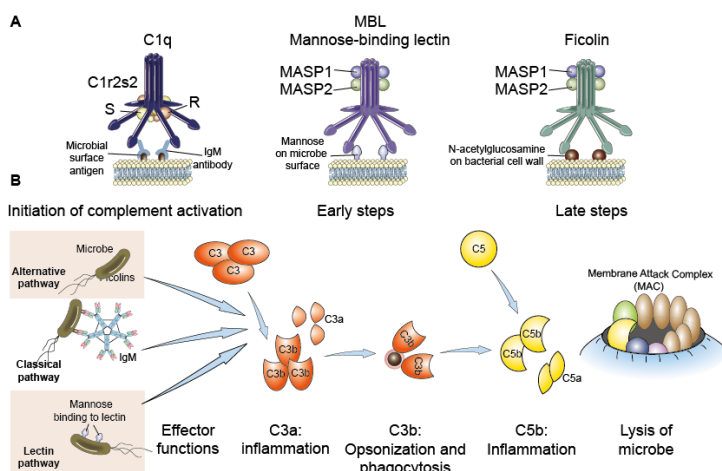
I segni clinici sono quindi molto difficili da individuare, nei casi più gravi si arriva alla **morte** del paziente, causato in genere da una **neuroinfiammazione**. Sono patologie insidiose dal punto di vista clinico, di difficile cura e spesso croniche.

◇ Proteine circolanti

Le proteine circolanti sono prodotte a livello del **fegato** e vengono poi riversate nel plasma che li porta in circolo. Sono molecole dotate di un **CRD domain**, un dominio C-terminale capace di riconoscere gli zuccheri. La risposta è dunque indifferenziata, vengono riconosciuti sia le glicoproteine come gp120 dell'HIV, che zuccheri di origine batterica o presenti sui funghi ecc....

Prendendo in considerazione la **proteina MBL**, essa si lega alla superficie microbica con il CRD domain, attiva e coopera con la cascata del complemento, potenziando le funzioni del complemento e mandando gli stimoli per produrre i mediatori dell'infiammazione.

Il sistema del complemento produce una vasta gamma di attori che possono intervenire anche direttamente sul patogeno. Alcune componenti del complemento come C3, C4, C5a o C5b sono capaci di legarsi al microbo in maniera indipendente (se avessimo poco C4 comunque riusciremmo ad effettuare una risposta) ma l'attività di queste proteine viene maggiormente stimolata in presenza di MBL, che per funzionare ha bisogno di legarsi alla **proteina MASP**. La mancanza di MASP porta spesso a delle patologie dovute alla disfunzione di MBL.



L' MBL, la ficolina, le collettine e il C1q hanno una struttura estremamente simile tra di loro, e come MBL, tutte queste molecole per funzionare si legano a delle proteine (MBL e ficolina si legano addirittura alla stessa proteine).

L'attivazione del complemento può avvenire per **via classica, lettinica o alternativa**, e ha come scopo quello di opsonizzare l'agente patogeno, di attivare il processo d'infiammazione, di

richiamare altre cellule del sistema immunitario per la fagocitosi del microbo, e della formazione del complesso MAC che causa la lisi della cellula bersaglio.

Questo sistema è estremamente efficiente perché utilizza strategie diverse per distruggere il patogeno.

Reazione dei vasi sanguigni nell'inflammazione acuta

L'inflammazione acuta presenta tre componenti principali a livello vascolare:

- 1) **Dilatazione dei piccoli vasi venosi** che determina un aumento del flusso ematico.
- 2) **Aumento di permeabilità vascolare** che consente alle proteine plasmatiche e ai leucociti di lasciare il circolo per raggiungere il sito d'inflammazione.
- 3) **Migrazione dei leucociti** dal microcircolo al focus dell'injury, si accumulano nella sede di lesione e si attivano per l'eliminazione dell'agente lesivo.

Contemporaneamente fagociti e altre cellule sentinella cominceranno a riconoscere il patogeno.

Dunque, avremo una produzione di **istamina** da parte delle mastcellule, che di conseguenza crea un aumento della permeabilità tale da permettere la fuoriuscita dei neutrofili.

Essudato e trasudato

Normalmente nei microvasi c'è un equilibrio tra pressione idrostatica e pressione colloidale, che mantiene normale il livello del flusso ematico e di concentrazione delle proteine plasmatiche.

Confrontando le due pressioni possiamo notare una piccola differenza che fa fuoriuscire il liquido che deriva dai vasi linfatici.

In un **essudato**, abbiamo **vasodilatazione** e aumento di permeabilità di piccoli vasi e la fuoriuscita di un liquido contenente proteine, neutrofili o eritrociti.

Il **trasudato** invece si forma in seguito a un **aumento della pressione idrostatica**, quindi all'ostruzione di un vaso venoso, ed è caratterizzato da un edema povero di proteine.

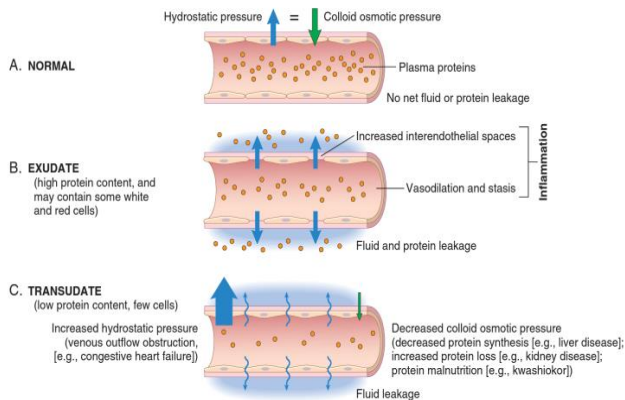


Fig. 3.2 Formation of exudates and transudates. (A) Normal hydrostatic pressure (blue arrow) is about 32 mm Hg at the arterial end of a capillary bed and 12 mm Hg at the venous end; the mean colloid osmotic pressure of tissues is approximately 25 mm Hg (green arrow), which is equal to the mean capillary pressure. Therefore, the net flow of fluid across the vascular bed is almost nil. (B) An exudate is formed in inflammation because vascular permeability increases as a result of retraction of endothelial cells, creating spaces through which fluid and proteins can pass. (C) A transudate is formed when fluid leaks out because of increased hydrostatic pressure or decreased osmotic pressure.

Modifiche del flusso sanguigno e del calibro vascolare

Quando abbiamo vasodilatazione, si ha rilascio di istamina anche nei muscoli lisci vicino ai vasi.

Inizialmente si hanno dei fenomeni di **vasocostrizione**, seguiti dall'apertura dei vasi: di conseguenza si avrà un flusso sanguigno aumentato che genera **calore** e **rossore**, dunque un **eritema** a livello del sito dell'infiammazione.

La vasodilatazione porta poi alla formazione di essudato (edema) ricco di proteine.

La perdita di fluidi a livello del sistema del microcircolo genera un flusso più lento, aumentando la concentrazione di globuli rossi, con conseguente **aumento della viscosità del sangue**: questo è un concetto legato alla dinamica dei fluidi, in quanto se togliamo solvente, avremo un soluto più concentrato.

Questo è possibile vederlo istologicamente in tutte le aree congestive del nostro tessuto.

I leucociti neutrofili fuoriescono dai vasi grazie a **mediatori chimici** e a **proteine di legame**.

A livello del vaso, il neutrofilo riesce a passare grazie alla retrazione delle cellule endoteliali o a un danno delle cellule stesse per necrosi.

Risposta dei vasi linfatici e dei linfonodi

I vasi linfatici aiutano a drenare l'edema.

Abbiamo già parlato di **elefantiasi**, dovuta ad un blocco dei vasi linfatici: un esempio è l'elefantiasi da *Filaria*, dove il parassita *Filaria* blocca i vasi linfatici formando delle aree gonfie.

Il risultato di un'infiammazione a livello dei vasi linfatici o a livello dei linfonodi porta rispettivamente a:

- **Linfangite** = infiammazione dei vasi linfatici.
- **Linfoadenite** = infiammazione di un linfonodo (*immagine a sinistra*)

Se guardiamo una linfangite a livello del braccio, è visibile un'infiammazione lungo il decorso del vaso linfatico, con una zona parzialmente edematosa (*immagine a destra*)

I neutrofili sono coinvolti nell'infiammazione acuta e i macrofagi nell'infiammazione cronica.



NETs

Fino adesso noi abbiamo visto i fagociti che internalizzano il patogeno per distruggerlo.

I neutrofili, invece, si "immolano" (come un kamikaze) buttando fuori DNA per creare una rete in grado di intrappolare il patogeno: questo funziona da trigger per i mediatori chimici per l'infiammazione.

Questo processo, chiamato NETosi, è predominante in alcune patologie.

Questo ve l'ho mostrato per farvi vedere come anche i neutrofili possono svolgere delle funzioni che non ci aspettavamo: la NETosi è una scoperta recente.

Migrazione leucocitaria

C'è una prima fase di rolling, dove i leucociti rotolano lungo l'endotelio.

Il leucocita rotola e comincia ad attaccarsi all'endotelio, grazie alla P-selectina ed E-selectina che favoriscono il legame del leucocita con l'endotelio stesso.

Inizialmente l'integrina dei leucociti è dimerizzata, per poi assumere una conformazione aperta: questo ci indica che è avvenuto il legame con le P-selectine e le E-selectine, ma anche con dei proteoglicani.

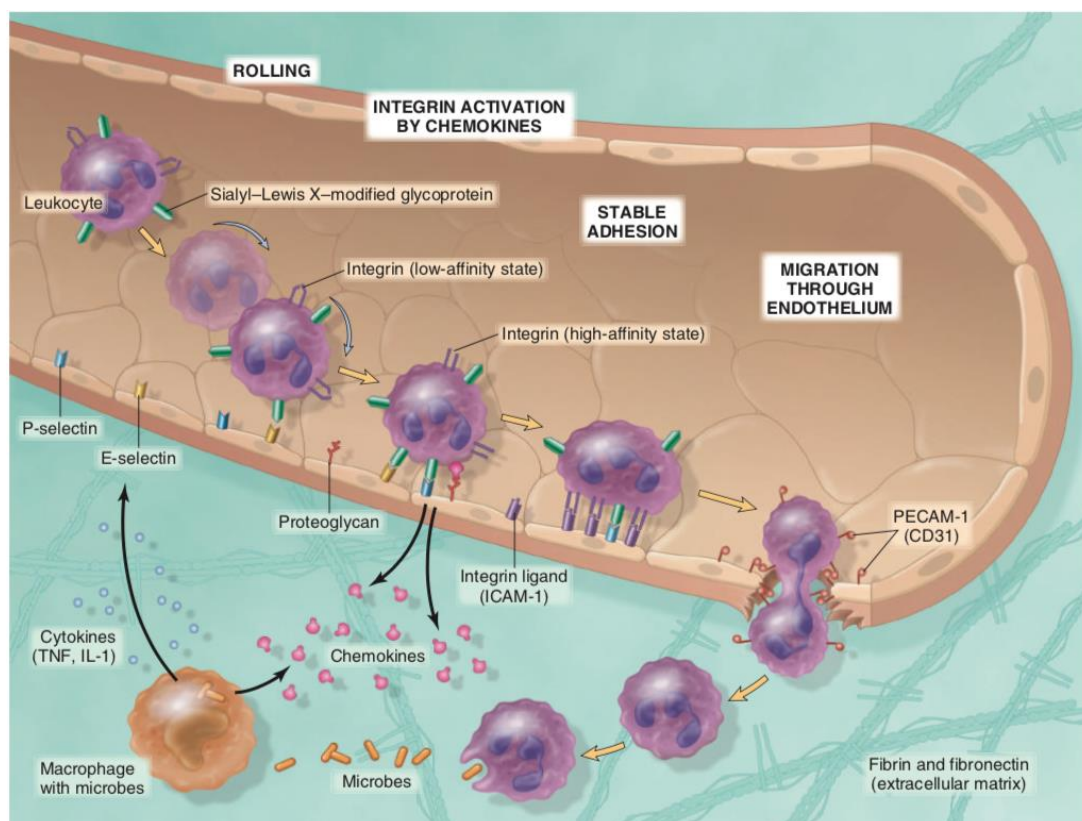
Interviene poi **ICAM** che blocca definitivamente il neutrofilo e lo sequestra nell'endotelio.

In seguito agisce **PECAM-1 (CD31)** che dà inizio alla fase finale: il neutrofilo esce dal vaso sanguigno.

Intanto sono state prodotte chemochine e citochine infiammatorie che attivano vie di trasduzione del segnale, per produrre E-selectine e P-selectine.

Tutto questo processo comporta un consumo di ATP e impiega un po' di tempo.

Se voglio vedere quanti neutrofili sono pronti ad uscire dall'endotelio, faccio un prelievo e misuro quante CD31 sono presenti a questo livello.



Selectine

- **L-selectina** = presente a livello di neutrofili, monociti, cellule T;
- **E-selectina** = espresso dall'endotelio attivato dalle citochine;
- **P-selectina** = presente a livello dell'endotelio attivato dalle citochine, istamina o trombina, quest'ultima prodotta dalle piastrine: quindi le piastrine non cercano soltanto di riparare il tessuto, ma

mandano anche dei segnali per il rolling (questo ci dimostra che raramente abbiamo cellule specializzate per un'attività unica, ma una cellula può svolgere più attività)

Integrine

- **LFA-1 (CD11-CD18)** = presenti nei neutrofili, monociti, cellule T;
- **MAC-1** = monociti e cellule dendritiche
- **VLA-4** = monociti e cellule T

Un'altra molecola coinvolta nell'adesione dei leucociti è **CD31**, che fa parte della famiglia delle Ig.

La fuoriuscita dei neutrofili è dunque un processo fine. Se, nel caso di un danno infiammatorio, non si attivano correttamente le selectine, il neutrofilo non esce e avrà dunque un'assenza di reazioni infiammatorie.

Table 3.4 Endothelial and Leukocyte Adhesion Molecules

Family	Molecule	Distribution	Ligand
Selectin	L-selectin (CD62L)	Neutrophils, monocytes T cells (naïve and central memory) B cells (naïve)	Sialyl-Lewis X/PNAd on GlyCAM-I, CD34, MAdCAM-I, others; expressed on endothelium (HEV)
	E-selectin (CD62E)	Endothelium activated by cytokines (TNF, IL-1)	Sialyl-Lewis X (e.g., CLA) on glycoproteins; expressed on neutrophils, monocytes, T cells (effector, memory)
	P-selectin (CD62P)	Endothelium activated by cytokines (TNF, IL-1), histamine, or thrombin; platelets	Sialyl-Lewis X on PSGL-1 and other glycoproteins; expressed on neutrophils, monocytes, T cells (effector, memory)
Integrin	LFA-1 (CD11aCD18)	Neutrophils, monocytes, T cells (naïve, effector, memory)	ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102); expressed on endothelium (upregulated on activated endothelium)
	MAC-1 (CD11bCD18)	Monocytes, DCs	ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102); expressed on endothelium (upregulated on activated endothelium)
	VLA-4 (CD49aCD29)	Monocytes T cells (naïve, effector, memory)	VCAM-1 (CD106); expressed on endothelium (upregulated on activated endothelium)
	$\alpha 4\beta 7$ (CD49D/CD29)	Monocytes T cells (gut homing naïve effector, memory)	VCAM-1 (CD106), MAdCAM-I; expressed on endothelium in gut and gut-associated lymphoid tissues
Ig	CD31	Endothelial cells, leukocytes	CD31 (homotypic interaction)

CLA, Cutaneous lymphocyte antigen-I; GlyCAM-I, glycan-bearing cell adhesion molecule-I; HEV, high endothelial venule; ICAM, intercellular adhesion molecule; Ig, immunoglobulin; IL-1, interleukin-1; MAdCAM-I, mucosal adhesion cell adhesion molecule-I; PSGL-1, P-selectin glycoprotein ligand-1; TNF, tumor necrosis factor; VCAM, vascular cell adhesion molecule.

In questa tabella sono riportate le molecole di adesione coinvolte in questo processo, la loro distribuzione nei diversi tipi cellulari e i loro ligandi. (Il professore ha detto che non serve ricordarsi i ligandi).

Come migrano i leucociti attraverso l'endotelio (Trasmigrazione)

Fino adesso abbiamo visto gli attori coinvolti in questo processo, ma come fanno i leucociti a raggiungere il patogeno? Ci sono dei segnali o mediatori chimici che indirizzano il leucocita?

Lo fanno tramite un **gradiente chimico legato alle chemochine**: queste sono prodotte da tessuti extra-vascolari e stimolano i leucociti a muoversi verso il bersaglio tramite gradiente.

Se ho un difetto a livello delle chemochine, i leucociti non riescono ad arrivare al loro target, esistono molti studi dove si nota che le chemochine o i loro recettori sono legati ad alcune patologie.

Questo gradiente chimico prende il nome **chemiotassi**, viene prodotto da molecole chemoattrattanti che possono essere sia **endogene** (come citochine) che **esogene** (come LPS):

- **Prodotti batterici**, in particolare peptidi che terminano con N-formilmethionina;
- **Citochine**, in particolare le chemochine;
- **Componenti del sistema del complemento**
- **Prodotti della via lipogenasica del metabolismo dell'acido arachidico**;

Il vantaggio è che queste molecole vengono prodotte anche dal microbo, quindi è il patogeno stesso che si “frega”.

Tutti questi chemoattranti si legano al dominio transmembrana legato alla proteina G: questo è fondamentale per il legame della membrana dei leucociti con i chemoattranti.

Scendendo ancora più nel dettaglio, questi segnali polimerizzano l'actina e i leucociti si muoveranno lungo i filopodi: quindi avviene un legame che induce la polimerizzazione dell'actina in filopodi, i quali permetteranno il movimento del leucocita ^[6].

Qui si può vedere un filtrato in una necrosi ischemica in un infarto, dove si notano i vasi sanguigni congestionati e l'infiltrato di neutrofili. (*immagine a sinistra*)

Se analizziamo la cinetica di questo processo, si ha prima l'edema, poi neutrofili e, dal 2° giorno, i macrofagi, dove quest'ultimi sono un segno di criticità dell'inflammatione. (*immagine a destra*).

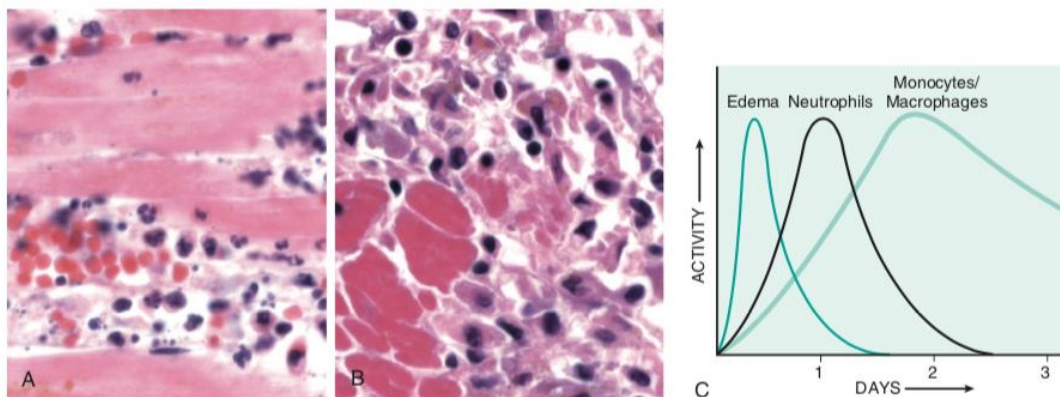


Fig. 3.5 Nature of leukocyte infiltrates in inflammatory reactions. The photomicrographs show an inflammatory reaction in the myocardium after ischemic necrosis (infarction). (A) Early (neutrophilic) infiltrates and congested blood vessels. (B) Later (mononuclear) cellular infiltrates. (C) The approximate kinetics of edema and cellular infiltration. For simplicity, edema is shown as an acute transient response, although secondary waves of delayed edema and neutrophil infiltration also can occur.

Attivazione dei leucociti

I leucociti vengono attivati grazie a diversi tipi di recettori di membrana:

- **Recettori proteina G**
- **Toll-like receptor e CD14**
- **Recettori citochinici**
- **Recettori fagocitici**

I **recettori proteina G** riconoscono mediatori lipidici, chemochine e peptidi N-formilmetionilici.

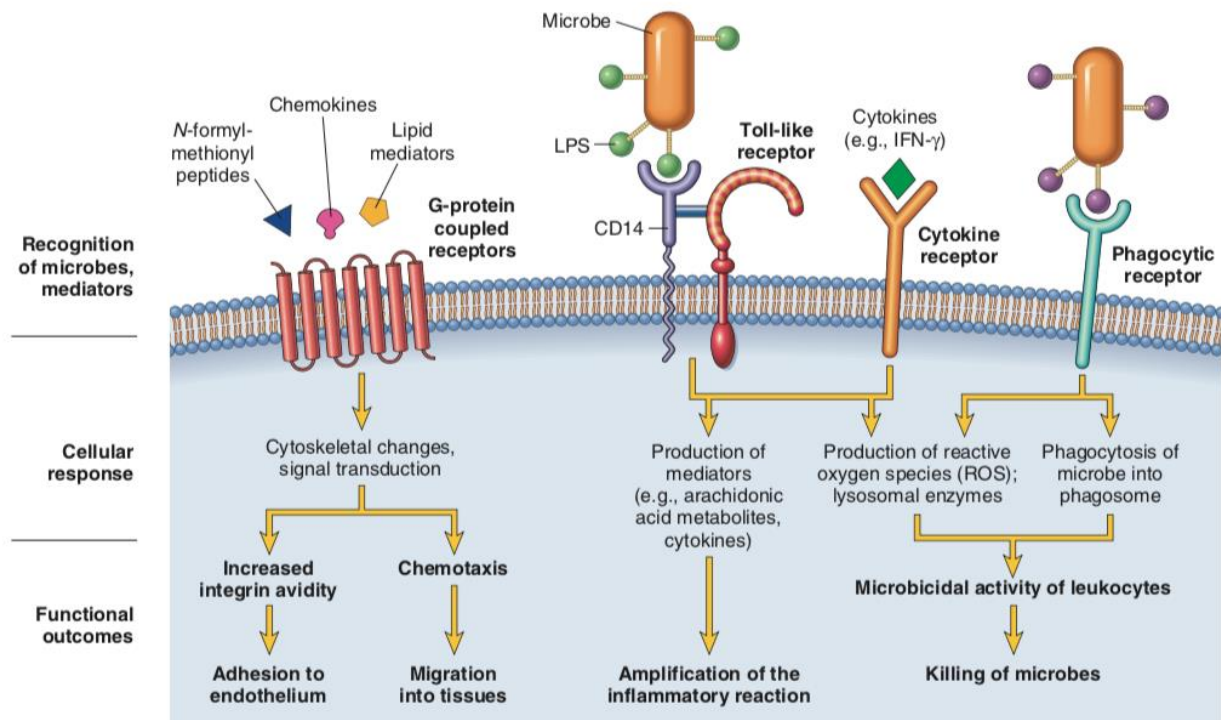
In seguito, si avranno cambiamenti del citoscheletro e trasduzione del segnale, che a loro volta causano **chemiotassi** (per la migrazione dei leucociti verso i tessuti) e una **maggiore avidità delle integrine** (per aumentare l'adesione all'endotelio).

⁶ Questi recettori mandano dei segnali che inducono la polimerizzazione dell'actina, con conseguente aumento della quantità di actina polimerizzata all'estremità anteriore della cellula e localizzazione di filamenti di miosina al polo opposto della cellula. Il leucocita si muove estendendo i filopodi che tirano la parte posteriore della cellula nella direzione dell'estensione. Il risultato è che i leucociti migrano verso lo stimolo infiammatorio nella direzione dei fattori chemiotattici prodotti localmente. Robbins, IX edizione, pag. 65

I **Toll-like receptors**, insieme a **CD14**, riconoscono LPS, attivando così la produzione di diversi mediatori (acido arachidonico, citochine) che mandano stimoli per aumentare la risposta infiammatoria.

I **recettori citochinici** e i **recettori fagocitici** inducono la produzione di ROS per l'attività microbica.

Tutti questi recettori si attivano in una singola cellula, dandoci un “kit” completo per l'eliminazione dei patogeni.



Eliminazione intracellulare dei microbi e dei detriti

Le **specie reattive all'ossigeno (ROS)** e l'**ossido nitrico (NO)** eliminano i microbi e il materiale ingerito: queste specie sono dunque regolarmente prodotte per distruggere e portare via il materiale ottenuto nella distruzione del patogeno.