

Sbobinatore: Angelica Salvador

Controllore: Veronica Vello

Fagocitosi

La fagocitosi degli elementi patogeni per avvenire richiede:

1. La presenza di **recettori di membrana** che formano un legame con i recettori presenti sulle membrane dei leucociti;
2. La **fusionione (engulfing)** del vacuolo fagocitico (denominato endosoma precoce), fino ad arrivare al **fagolisosoma**. A questo punto ci sarà la distruzione dell'elemento fagocitato, che sia esso un patogeno o una componente cellulare disgregata.

Questa distruzione può avvenire attraverso **due vie**: o attraverso gli ***enzimi lisosomali** o con le ***specie reattive all'ossigeno e l'ossido nitrico**.

Che cosa succede nel fagocita attivato? Di fatto le componenti del citoplasma si assemblano nelle membrane del fagosoma, formano enzimi attivi e viene catalizzata la conversione di ossigeno in superossido o in acqua ossigenata. La mieloperossidasi presente nei granuletti dei neutrofili convertirà poi il perossido di idrogeno in ipoclorito. Queste specie reattive all'ossigeno e l'ossido nitrico sono tutte sostanze estremamente reattive che distruggeranno i patogeni.

Durante la fagocitosi, oltre a distruggere il patogeno fagocitato a livello intracellulare, queste sostanze vengono anche rilasciate a livello degli spazi extracellulari in modo tale da uccidere preventivamente i patogeni. È facile immaginare come, se questo rilascio è eccessivo, ci possa essere un danno all'organismo. In questa attività sono dunque essenziali gli enzimi litici e quelli che catalizzano la produzione di specie reattive all'ossigeno o che abbiano a che fare con l'ossido nitrico.

I granulociti sono le cellule professioniste dell'infiammazione: oltre a adoperare le specie reattive dell'ossigeno possiedono enzimi specifici. Vi sono diversi tipi di granuli che svolgono funzioni diverse¹ e che hanno colorazioni istologiche differenti:

- ◆ I granuli **azzurrofilo** o **primari** contengono mieloperossidasi, defensine, idrolasi acide, elastasi e collagenasi. Nella compartimentalizzazione degli enzimi vi sono enzimi rivolti a strutture diverse dei nostri compartimenti cellulari e tissutali;
- ◆ I granuli **secondari** sono più piccoli e contengono lisozima, collagenasi, gelatinasi, lattoferrina e istaminasi. La presenza di istaminasi indica che queste cellule **autoregolano il processo infiammatorio**. Il vantaggio dell'infiammazione è proprio che le stesse cellule che mandano stimoli proinfiammatori mandano anche stimoli per terminare l'infiammazione.

Il sistema è estremamente efficiente perché quando avviene l'*engulfing* questi granuli si fondono con il fagosoma dando un'azione distruttiva a livello intracellulare, ma vengono anche degranulati a livello extracellulare per combattere direttamente i patogeni.

Domanda studente: visto che alcuni di questi enzimi sono prodotti anche da alcuni patogeni che senso ha che siano implicati anche nella risposta immunitaria?

Il rilascio è specifico. Se il patogeno usa una specifica serie di enzimi per invadere l'organismo, questo non produrrà gli stessi enzimi in ambiente extracellulare ma prima fagociterà il patogeno e poi lo distruggerà con gli enzimi necessari. L'organismo è in competizione costante con i patogeni che evolvono sistemi per infettare meglio. La compartimentalizzazione in vescicole a livello citoplasmatico è una risposta evolutiva a questo problema: non vengono prodotte proteine specifiche che possono danneggiare l'organismo, ma ad esempio si usano defensine contro il patogeno e gli altri enzimi solo dopo che è stato fagocitato. Attualmente viene molto

¹ Il professore precisa che all'esame non chiederà mai quali sono tutte le proteine presenti nei piccoli granuli. È importante sapere che ci sono e che sono diverse.

studiato il meccanismo per il quale un microorganismo del microbioma ad un certo punto diventa patogeno. È estremamente interessante la coevoluzione tra sistemi di attacco dei patogeni e sistemi di difesa dell'organismo.

Le **proteasi acide* degradano batteri e rifiuti dentro i fagolisosomi e non funzionano in altri ambienti. Necessitano infatti di un ambiente acido e per questo i fagolisosomi sono acidificati da proteine che hanno a che fare con le pompe protoniche.

Le **proteasi neutre* hanno a che fare con la matrice extracellulare. Se non fossero neutre non funzionerebbero al di fuori della cellula. Distruggono collagene, membrane basali, elastina e cartilagine e quindi hanno a che fare con la necrosi che accompagna il processo infiammatorio.

L'**elastasi* combatte le infezioni degradando i fattori di virulenza dei batteri.

Proprio perché questi enzimi contenuti nei granuli sono estremamente aggressivi, un eccessivo infiltrato neutrofilico può potenziare uno stato infiammatorio preesistente, danneggiare i tessuti e portare a necrosi.

Tutte queste proteasi sono controllate da **antiproteasi** che sono presenti nel siero e nei fluidi tissutali (come l' **α 1-anti-tripsina**, il più importante inibitore dell'elastasi neutrofilica). Quando termina la risposta infiammatoria acuta entrano in gioco queste proteine.

Un altro meccanismo che può essere attuato per distruggere il patogeno è quello della **NETosi**. Il neutrofilo con il suo nucleo plurilobato fa uscire proteine istoniche e DNA per formare una trappola per il patogeno: il patogeno viene intrappolato e poi in modo esocrino vengono prodotte sostanze battericide. Si sta ancora lavorando per cercare di capire se la NETosi è un meccanismo preferenziale o generalista che si aggiunge agli altri.

Tutti questi meccanismi sono coinvolti in tante risposte infiammatorie e in alcune patologie con infiammazioni croniche.

Come si spegne l'infiammazione?

I neutrofili, così come tutte le sostanze enzimatiche rilasciate, hanno **emivita breve** quindi l'infiammazione si autoregola perché produce un qualcosa di estremamente aggressivo ma che dura poco. Vi sono una serie di segnali prodotti dalle stesse cellule che autolimitano l'infiammazione.

I neutrofili dopo poche ore vanno in apoptosi e vengono portati via dai macrofagi.

Mediatori chimici coinvolti nell'infiammazione

Lo stesso processo infiammatorio mentre si sviluppa già produce dei segnali che serviranno a terminare la reazione. Nel metabolismo dell'**acido arachidonico** vengono prodotti molti metaboliti che sono coadiuvati da citochine antiinfiammatorie (TGF- β e IL10, prodotte dai macrofagi). Ci sono inoltre impulsi neurali che inibiscono la produzione di citochine pro-infiammatorie a livello dei macrofagi. Nel momento in cui viene prodotto uno stimolo infiammatorio viene già montato ciò che servirà per bloccare questo stimolo.

Tutto ciò viene grazie a vari mediatori chimici, quali:

- **Istamina:** prodotta da mastcellule, basofili e piastrine. Provoca vasodilatazione, aumentata permeabilità vascolare e attivazione degli endoteli;
- **Leucotrieni:** prodotti da mastcellule, leucociti. Sono coinvolti nella permeabilità vascolare, nella chemiotassi e nell'adesione dei leucociti;
- **Citochine** (TNF, IL-6, IL-1): attivano l'endotelio esprimendo molecole di adesione dell'endotelio (ICAM, selectine) e sono coinvolte nel *rolling* dei leucociti;
- **Fattore di attivazione delle piastrine:** prodotto da leucociti e mastcellule. Provoca vasodilatazione, aumento della permeabilità vascolare, adesione, chemiotassi e degranulazione;
- **Complemento:** chemiotassi leucocitaria, distruzione del MAC (*Membrane Attack Complex*);
- **Chinine:** aumento della permeabilità vascolare, contrazione delle fibre lisce e vasodilatazione.

Amine vasoattive: istamina e serotonina.

Le amine vasoattive vengono prodotte da mastcellule, basofili e piastrine e svolgono un'azione importantissima a livello di vasodilatazione e vasocostrizione. L'istamina provoca dilatazione delle arteriole e aumenta la permeabilità delle venule.

Rispondono a due tipi di stimoli:

- ✦ Uno generico, legato ad un *danno fisico* (freddo, caldo, traumi);
- ✦ Uno specifico, in cui l'attivazione è dovuta al *legame di anticorpi* sulle mastcellule. Questo legame è coinvolto nel meccanismo allergico e causa reazioni di ipersensibilità.

Tuttavia, anche *fattori del complemento* come le anafilossine (C3a, C5a), *neuropeptidi* come la sostanza P e *citochine* (IL-1, IL-8) possono stimolare le mastcellule a rilasciare istamina. Tutte queste molecole sono quindi possibili bersagli di farmaci antistaminici.

Qual è il recettore più importante? Il **recettore H1** è importante perché è un *binding receptor* dell'istamina che è presente sull'endotelio vascolare. Gli antistaminici sono inibitori del recettore H1: non si ferma la produzione di istamina ma si bloccano gli effetti.

Acido arachidonico²

L'acido arachidonico è un acido grasso polinsaturo che deriva o dalle arachidi o dalla conversione dell'acido linoleico da parte di alcuni enzimi (fosfolipasi). Il metabolismo dell'acido arachidonico è estremamente interessante per la produzione di farmaci. Quando le cellule vengono attivate da vari stimoli, l'acido arachidonico viene rapidamente convertito per via enzimatica allo scopo di produrre prostaglandine e leucotrieni. I mediatori derivati dall'acido arachidonico sono sintetizzati da due importanti classi di enzimi: le ***ciclossigenasi**, dalle quali si ottengono prostaglandine e trombossani, e le ***lipossigenasi**, responsabili della produzione di leucotrieni e lipossine.

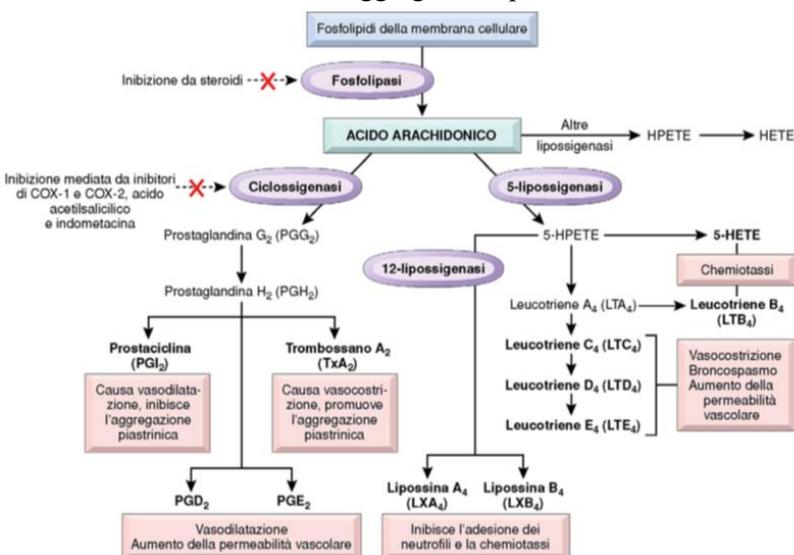
◆ Da una parte con attivazione delle **ciclossigenasi** verranno prodotte diverse prostaglandine:

- **Prostaciclina G₂ (PGG₂)**: causa vasodilatazione e inibisce l'aggregazione piastrinica;
- **Trombossano**: causa vasocostrizione e promuove l'aggregazione piastrinica;
- **Prostaglandine PGD₂ e PGE₂**: vasodilatazione e aumento della permeabilità vascolare (edema).

La produzione di questi mediatori richiede l'intervento due ciclossigenasi, **COX-1** e **COX-2**. COX-1 è espressa costitutivamente in molti tessuti, mentre COX-2 viene prodotta dopo uno stimolo proinfiammatorio.

◆ Dall'altra parte ci sono le **lipossigenasi**, responsabili della produzione di leucotrieni, sostanze sintetizzate principalmente dai leucociti e dotate di valore chemiotattico per queste stesse cellule, nonché di effetti vascolari e di broncospasmo. La 5-lipossigenasi è quella predominante nei neutrofili e controlla l'infiammazione.

- **Leucotrieni**: sono legati all'azione dell'enzima lipossigenasi e sono prodotti a partire da LTA₄ (prodotto da neutrofili e da alcuni macrofagi) fino a LTC₄. LTB₄ richiama l'attenzione di neutrofili e li attiva, promuove la generazione di ROS e di enzimi lisosomali. Questi leucotrieni causano forte vasocostrizione e broncospasmo. Provocano inoltre reazioni a livello della muscolatura liscia e permettono il reclutamento di leucociti. Farmaci antileucotrienici sono fondamentali per prevenire il broncospasmo presente nella risposta infiammatoria;



² Ho ritenuto opportuno integrare questa parte con il libro perché mi sembrava altrimenti incomprensibile e poco chiara. (Robbins e Cotran- Le basi patologiche delle malattie, VIII ed., pag. 59).

| Azione | Eicosanoide |
|--------------------------------------|---|
| Vasodilatazione | PGI ₂ (prostaciclina), PGE ₁ , PGE ₂ , PGD ₂ |
| Vasocostrizione | Trombossano A ₂ , leucotrieni C ₄ , D ₄ , E ₄ |
| Aumento della permeabilità vascolare | Leucotrieni C ₄ , D ₄ , E ₄ |
| Chemiotassi, adesione leucocitaria | Leucotriene B ₄ , HETE |

- Anche le **lipossine** sono generate a partire dall'acido arachidonico attraverso la via della lipossigenasi ma, a differenza delle prostaglandine e dei leucotrieni, le lipossine agiscono come **inibitori** dell'infiammazione. Le principali funzioni delle lipossine sono l'inibizione del reclutamento leucocitario e delle componenti cellulari dell'infiammazione, espletate inibendo la chemiotassi dei neutrofili e l'adesione all'endotelio.

Una volta che sono noti gli effetti e le molecole che li provocano, si possono creare farmaci per controllare l'infiammazione.

- **Inibitori delle ciclossigenasi:** rientrano in questa categoria l'acido acetilsalicilico e altri farmaci antinfiammatori non steroidei NSAIDs (*Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs*). Inibiscono COX-1 e COX-2 bloccandone la trascrizione. Sono farmaci anti-trascrizionali, quindi bloccano a monte tutte le prostaglandine. Due esempi sono rappresentati da farmaci generalistici, come l'aspirina e l'ibuprofene;
- **Inibitori delle lipossigenasi:** la 5-lipossigenasi non è influenzata dai farmaci NSAIDs, sono quindi stati sviluppati altri farmaci. Si usano anche antagonisti dei recettori dei leucotrieni;
- **Corticosteroidi:** hanno un amplissimo spettro. Inibiscono la trascrizione di COX-2, iNOS (*inducibile-Nitric Oxide Synthases*) specie enzimatiche coinvolte nella formazione di ossido nitrico), fosfolipasi A2 e citochine pro-infiammatorie.

Sbobina.Pato

19/04/2019

2^ora

Sbobinatore: Angela Trevisiol

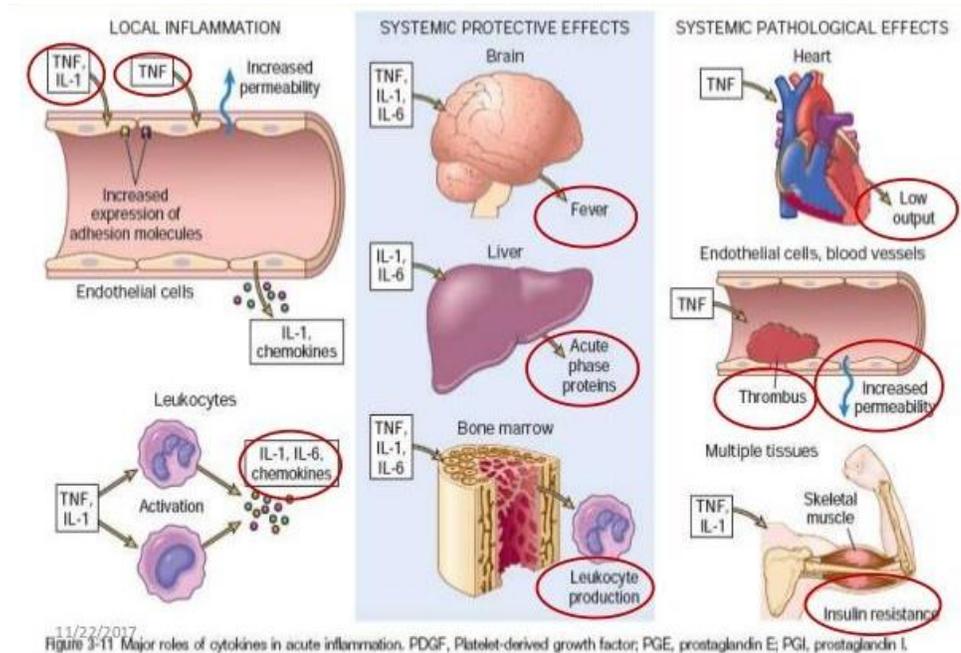
Controllore: Daniele Vanz

Citochine e chemochine

Le **citochine** sono proteine prodotte principalmente dai **macrofagi** e dalle cellule **dendritiche**, **endoteliali**, **epiteliali** e del tessuto **connettivo**; esse causano reazioni infiammatorie. Le cellule che le producono sono tipiche delle mucose (quindi degli epiteli che possono venire a contatto con potenziali patogeni).

| Citochina | Fonti principali | Principali azioni nell'infiammazione |
|-----------------------------------|--|--|
| NELL'INFIAMMAZIONE ACUTA | | |
| TNF | Macrofagi, mastociti, linfociti T | Stimola l'espressione delle molecole di adesione endoteliale e la secrezione di altre citochine; effetti sistemici |
| IL-1 | Macrofagi, cellule endoteliali, alcune cellule epiteliali | Simili a quelle del TNF; ruolo più importante nella febbre |
| IL-6 | Macrofagi, altre cellule | Effetti sistemici (risposta di fase acuta) |
| Chemochine | Macrofagi, cellule endoteliali, linfociti T, mastociti, altri tipi cellulari | Reclutamento dei leucociti nei siti di infiammazione; migrazione delle cellule nei tessuti normali |
| NELL'INFIAMMAZIONE CRONICA | | |
| IL-12 | Cellule dendritiche, macrofagi | Maggiore produzione di IFN- γ |
| IFN- γ | Linfociti T, cellule NK | Attivazione dei macrofagi (più efficace eliminazione dei microbi e delle cellule tumorali) |
| IL-17 | Linfociti T | Reclutamento di neutrofili e monociti |

Tra le citochine che partecipano all'infiammazione acuta si trova anche IL-17, che è prodotta dai linfociti T ed è coinvolta nel reclutamento dei neutrofili e dei monociti, i quali si trasformeranno in macrofagi. Quando si vuole studiare il profilo citochinico di un paziente con malattie acute si usa una piattaforma chiamata Luminex, un citofluorimetro che lavora con biglie magnetiche e che riesce a realizzare pannelli utilizzando fino a 48 citochine alla volta. Questo permette di studiare l'organizzazione dell'infiammazione nei pazienti (utile soprattutto nelle infiammazioni croniche).



Nell'infiammazione locale, la produzione di TNF provoca un aumento della permeabilità dei vasi (dai quali escono le chemochine) e un aumento dell'espressione delle molecole di adesione che favoriscono il rolling. Il TNF inoltre agisce sui leucociti e sui macrofagi, che a loro volta producono IL-1, IL-6 e chemochine; le cellule T, stimulate da IL-1 e IL-6, produrranno IL-17 e chemochine. Questo è un sistema di autoregolamentazione, in cui tutte le citochine hanno un ruolo specifico e sequenziale nel processo di infiammazione.

Chemochine

Le chemochine sono una famiglia di piccole proteine (8-10 kDa) che agiscono principalmente come fattori chemiotattici di attrazione per specifici tipi di leucocita. Esistono circa 40 tipi differenti di chemochine e 20 diversi recettori per le chemochine (insieme ai loro co-recettori specifici). Esse sono specifiche per i vari tipi cellulari e sono classificate in quattro gruppi in relazione alla disposizione dei residui conservati di cisteina (C) nelle chemochine mature; questi residui di cisteina formano numerosi ponti disolfuro.

Le categorie sono:

- **Chemochine CXC:** è presente un residuo amminoacidico che separa i primi due residui di cisteina conservati. Queste chemochine **agiscono sui neutrofili**, in particolare **IL-8 (CXCL8)** è la chemochina tipica di questo gruppo. Le chemochine CXC sono secrete principalmente da macrofagi attivati, cellule endoteliali e altri tipi di cellule; esse promuovono l'attivazione e la chemiotassi dei neutrofili, ma hanno anche un'azione, seppur minore, su monociti ed eosinofili.
- **Chemochine CC:** i primi due residui di cisteina conservati sono adiacenti. Di questa categoria fanno parte la *proteina chemiotattica dei monociti (MCP-1 o CCL3)*, l'*eotassina (CCL11)* e la *proteina-1a*

infiammatoria dei macrofagi (MIP-1 α o CCL3). Queste molecole sono **chemioattrattanti per monociti, eosinofili, basofili e linfociti**.

- **Chemochine C**: in questo tipo di chemochine manca il primo e il terzo dei quattro residui conservati di cisteina. Di questa categoria fa parte la **linfotattina**, che è specifica per i **linfociti**.
- **Chemochine CX₃C**: contengono tre aminoacidi tra le due cisteine. L'unico membro noto di questa categoria è la *fractalchina (CX₃CL1)* che esiste in due forme, una legata alla superficie cellulare, che può essere indotta nelle cellule endoteliali da citochine infiammatorie e promuove una forte adesione di monociti e linfociti T, e una forma solubile, derivata dalla proteolisi della proteina di membrana e dotata di un potente effetto chemiotattico di attrazione per le cellule stesse.

Funzioni delle chemochine:

- Ruolo preponderante nelle **infiammazioni acute**. Esse stimolano l'adesione dei leucociti all'endotelio durante il rolling (aumentando la loro affinità per le integrine) ed hanno **effetto chemiotattico**.
- **Mantenimento dell'architettura tissutale**. Esse vengono prodotte in modo costitutivo dalle cellule dello stroma (partecipando dunque alle funzioni di "scaffold"), e dai linfociti B e T in alcune aree sia della milza che dei linfonodi.

Sistema del complemento

Il sistema del complemento consiste in un insieme di circa 30 proteine che, a livello plasmatico, partecipano al processo di infiammazione. L'attivazione del complemento, tramite diverse vie, porta al clivaggio di C3. Le funzioni del sistema del complemento sono mediate dai prodotti della rottura di C3, da altre molecole del complemento e dal complesso di attacco della membrana MAC.

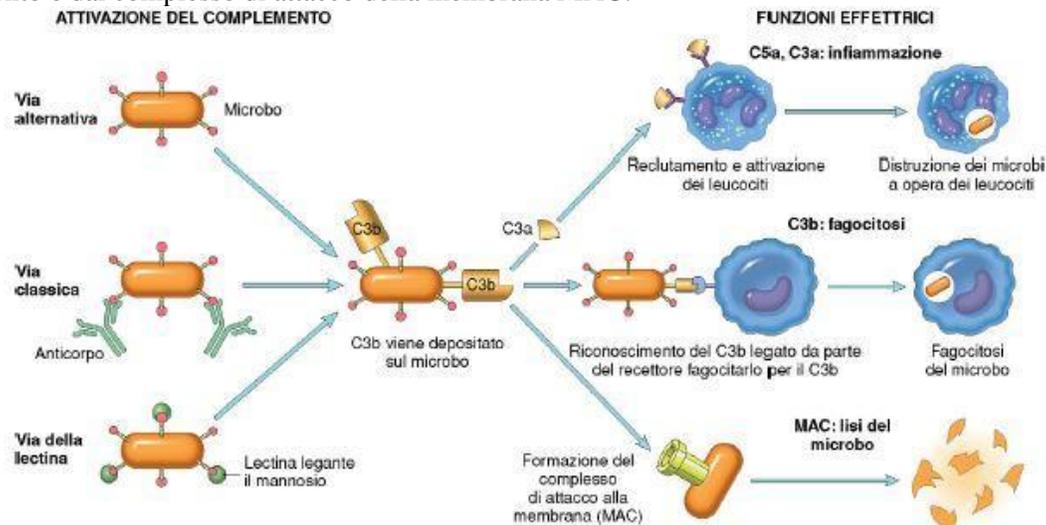


FIGURA 2.14 Attivazione e funzioni del sistema del complemento. L'attivazione del complemento attraverso vie diverse conduce alla scissione di C3. Le funzioni del sistema del complemento sono mediate dai prodotti di degradazione di C3 e altre proteine del complemento e dal complesso di attacco alla membrana (MAC).

Le tre vie di attivazione del complemento sono la via **alternativa** (il microbo viene direttamente legato dal complemento), la via **classica** (usa gli anticorpi) e la via **lectinica** (usa MBL).

Dopo che C3 viene clivato dalla C3 convertasi in C3a e C3b, quest'ultimo si lega alla membrana del microbo e avvia la cascata del complemento (termina con la formazione del MAC), oppure C3b viene riconosciuto dai recettori fagocitari sui leucociti.

L'attivazione del complemento è finemente regolata da proteine circolanti. Esse sono:

- **C1 inibitore**, che blocca l'attivazione di C1 (blocca la via classica del complemento). Quando manca

questa molecola si ha l'insorgenza dell'**angioedema ereditario** (super attivazione del complemento).

- **Decay accelerating factor (DAF) e CD59:** DAF previene la formazione della C3 convertasi e CD59 inibisce la formazione del MAC. La mancanza di queste proteine porta a delle patologie nelle quali il complemento è attivato in modo eccessivo (ad esempio **PNH, emoglobinuria parossistica notturna**). Un farmaco che previene la formazione del MAC è l'**Eculizumab**.
- **Fattore H:** cofattore per la proteolisi della C3 convertasi (se manca si avrà eccessiva attivazione del complemento, che provoca la **sindrome emolitica-uremica**).

Riassumendo:

| TABELLA 2.7 Ruolo dei mediatori nelle diverse reazioni infiammatorie | |
|--|--|
| Ruolo nell'infiammazione | Mediatori |
| VASODILATAZIONE | Prostaglandine Ossido di azoto Istamina |
| AUMENTO DELLA PERMEABILITÀ VASCOLARE | Istamina e serotonina C3a e C5a (tramite la liberazione di amine vasoattive da parte dei mastociti e di altre cellule) Bradichinina Leucotrieni C ₄ , D ₄ , E ₄ PAF Sostanza P |
| CHEMIOTASSI, RECLUTAMENTO E ATTIVAZIONE DEI LEUCOCITI | TNF, IL-1 Chemochine C3a, C5a Leucotriene B ₄ (Prodotti batterici, ad es. peptidi contenenti N-formilmimetionina) |
| FEBBRE | IL-1, TNF Prostaglandine |
| DOLORE | Prostaglandina Bradichinina |
| DANNO TISSUTALE | Enzimi lisosomiali dei leucociti Specie reattive dell'ossigeno Ossido di azoto |

Altri mediatori dell'infiammazione

- **PAF (platelet-activating factor)**, fattore attivante le piastrine: è un mediatore fosfolipide-derivato che causa aggregazione delle piastrine, ma ha anche altri effetti pro-infiammatori sulle altre cellule dell'immunità quali basofili, mastocellule, neutrofili, macrofagi e cellule endoteliali. PAF causa vasocostrizione, broncocostrizione e, a basse concentrazioni, induce vasodilatazione e un'aumentata permeabilità vascolare (edema).
- **Prodotti della coagulazione:** ne fanno parte i **PARs** (protease-activated receptors), che sono attivati dalla trombina e tagliano il fibrinogeno per produrre la rete di fibrina. I PARs sono espressi sui leucociti ed hanno un ruolo nell'infiammazione (significa che anche la trombina e i suoi recettori cooperano con il processo infiammatorio).
- **Chinine:** peptidi vasoattivi derivati dai *chininogeni* (proteine plasmatiche) che vengono attivati dalle callicreine. Esse tagliano delle glicoproteine plasmatiche (precursori delle chinine) e il prodotto finale sarà la **bradichinina**, che **aumenta la permeabilità vascolare**, genera contrazioni delle cellule muscolari lisce, dilatazione dei vasi e dolore (effetti simili all'istamina).
- **Neuropeptidi:** secreti dalle terminazioni nervose sensoriali e dai leucociti. Essi includono la **sostanza P** e la **neurochinina A**, prodotte a livello del SNC e coinvolte nella trasmissione del segnale dolorifico, nella regolazione della pressione sanguigna, nella stimolazione endocrina di produzione ormonale e nell'aumento della permeabilità vascolare. Dunque, all'infiammazione partecipa anche il SNC mandando delle sostanze che, nel momento dell'infiammazione, aumentano gli stimoli dolorifici.

Caratteristiche morfologiche dell'infiammazione

A livello morfologico un'infiammazione si presenta con la dilatazione dei piccoli vasi e il conseguente accumulo di leucociti. Tutto ciò si traduce con edema. Quello che è stato visto precedentemente a livello molecolare si manifesta con i cinque segni classici dell'infiammazione: tumor, rubor, calor, dolor e functio lesa.

Divisione delle tipologie di infiammazione dal punto di vista istologico:

- **Infiammazione sierosa:** presenza di **lesione edematosa**, è facile da riconoscere in istopatologia. Notiamo una porzione di epitelio scollato dal resto, ciò è causato alla produzione di essudati o trasudati. In questo caso specifico si presentano essudati fibrinosi, con presenza di **fibrina**. Tipici dell'**infiammazione delle cavità corporee** come pericarditi croniche, meningiti e pleuriti. Aumenta permeabilità interstiziale, aumento di proteine come il fibrinogeno che fuoriescono dai vasi sanguigni, con conseguente formazione di fibrina, la quale si deposita negli spazi extracellulari. Negli esami clinici, diagnostici e laboratoriali possiamo vedere fibrina all'interno dell'essudato, ad esempio nel caso dello pneumotorace.
- **Infiammazione purulenta:** caratteristica è la formazione di **pus**, presenza di essudato ricco di neutrofili e parti di cellule necrotiche. È tipica nelle **infezioni da batteri** che causano necrosi tissutale, per esempio lo *Staphylococcus Aureus*. In generale i patogeni piogenici causano la formazione di pus. A livello infiammatorio, paragonando una ferita interna a un organo e una ferita della cute si presenta lo stesso processo infiammatorio, ma le conseguenze sono più drammatiche a livello di un organo interno. Nell'infiammazione purulenta spesso si forma un **ascesso**, ovvero un tentativo di localizzare, in uno spazio definito, la formazione di pus. Se ciò non avvenisse si presenterebbe il rilascio e la diffusione di cellule necrotiche e l'aumento dell'infiammazione a livello sistemico, che si può trasformare in sepsi. Nell'ascesso c'è un importante componente di **neutrofili**, **cellule necrotiche** e **vasi congestionati**, che sono il risultato di vasodilatazioni notevoli che hanno comportato perdita di fluidi, edema, e perdita di globuli rossi.
- **Ulcera:** fenomeno diverso dal trauma, però comporta simili perdite di materiale. È il prodotto di una **necrosi drammatica, conseguente all'infiammazione**. Prima necrosi poi infiammazione che coesistono allo stesso livello. Perdita di porzioni rilevanti di epitelio. Presenza di essudato infiammatorio. Un'ulcera consiste in necrosi + infiammazione. Nella gangrena bagnata che consiste in un'infiammazione pesante ci sono dei punti di ulcerazione. Nel paziente diabetico sono presenti ulcere croniche.
- **Infiammazione acuta:** è causata da ferita/danno, seguono una produzione di stimoli pro-infiammatori e mediatori chimici, si presenta un cambiamento a livello vascolare, notiamo il reclutamento dei neutrofili. Successivamente abbiamo la risoluzione, che consiste nell'eliminazione dello stimolo dannoso, delle cellule coinvolte nell'infiammazione e dei mediatori, riparo delle cellule danneggiate e ripristino delle funzioni normali. Nel momento in cui l'infiammazione è di notevole importanza possono presentarsi formazione di pus e di ascessi. Se il danno è cronico (nel caso di infezioni croniche, infezioni virali, malattie autoimmuni...) si presenta angiogenesi: ho bisogno di nuovi vasi, trasporto ulteriori neutrofili e di fibroblasti. Con la presenza di fibroblasti inizia depositarsi il tessuto fibroso per limitare danni, il **risultato finale** è una **fibrosi** con perdita di funzione (functio lesa). Cirrosi e fibrosi polmonare sono infiammazioni croniche che comportano la comparizione di tessuto fibrotico che comporta una perdita di funzione.
- **Infiammazione cronica:** legata a infezione persistente. L'organismo non è in grado di eliminare un determinato patogeno, che evade il sistema immune. Alcuni virus, funghi, parassiti, micobatteri causano infiammazione cronica. Per esempio, **onicomicosi** a livello delle unghie in popolazioni di zone rurali, il clima permette la persistenza del patogeno nonostante il sistema immunitario funzioni correttamente si presentano ricorrenti onicomicosi. In alcuni paesi in via di sviluppo è diffusa la **candidosi orale**, poco comune nei paesi

sviluppati, dove si presentano candidosi a livello orale in pazienti immunodepressi o immunodeficienti. Mentre nei paesi in cui troviamo un clima tropicale o sub tropicale la persistenza dei patogeni causa candidosi orale anche in individui sani. È anche il caso del *Mycobacterium Tuberculosis*.

Dove abbiamo una super reazione immune abbiamo ipersensibilizzazione di tipo ritardato, lo stimolo proinfiammatorio causa una super infiammazione. Il sistema immune non è in grado di effettuare la clearance del patogeno, si instaura un'infiammazione cronica che si manifesta con danno tissutale.

Malattie da ipersensibilità:

Malattie **autoimmuni**: auto-antigeni che scatenano la risposta immune costante il cui risultato è l'infiammazione cronica e il danno tissutale.

Allergie: a sostanze ambientali, asma bronchiale, a sostanze alimentari,

La presenza di infiammazione cronica è sempre seguita da fibrosi.

Agenti tossici:

L'aterosclerosi è un processo cronico infiammatorio legato alla **deposizione** di **colesterolo** e **lipidi** sugli endoteli, pertanto le cause sono endogene. Nella silicosi le cause sono esogene, mentre nell'arteriosclerosi sono endogene. È il risultato dell'esposizione prolungata al difetto di processamento del colesterolo e dei lipidi, i trigliceridi. La quantità di trigliceridi che si riscontra nelle analisi del sangue è un indicatore della salute del paziente.

Un'infiammazione cronica non convenzionale è quella legata al tessuto nervoso, la **neuroinfiammazione**. Un esempio può essere l'Alzheimer. L'agente eziologico della patologia è la proteina amiloide mal ripiegata che depositandosi comporta danno. Nell'Alzheimer la neuroinfiammazione non è la causa né la conseguenza della patologia, ma partecipa alla distruzione tissutale neuronale. Questo fenomeno è di interesse anche per altre patologie croniche, come il Parkinson. Si pensa a farmaci che agiscano per limitare i danni dovuti a questo processo.

Domanda: perché la neuroinfiammazione non è una conseguenza dell'Alzheimer? La morte dei neuroni non è dovuta all'accumulo della proteina mal ripiegata? Questo fenomeno non dovrebbe causare necrosi e di conseguenza infiammazione?

Risposta: in quest'ottica è anche una conseguenza, giusto. Però la necrosi che avviene è lenta e progressiva, non basta a spiegarci lo scatenamento di un fenomeno infiammatorio così importante, ovvero l'Alzheimer e il Parkinson sono malattie prolungate nel tempo e la necrosi non è massiva che causa un'infiammazione sistemica. Presuppongo un intervento del sistema immunitario che comporta infiammazione come ulteriore trigger, stimolo, non come solo conseguenza. È una concausa, è un'infiammazione che diventa cronica. Le citochine infiammatorie sono altamente espresse in un pz con Alzheimer.

Questo è un ulteriore meccanismo alla base dell'Alzheimer.

Caratteristiche istologiche:

Infiammazione cronica: si verifica distruzione tissutale accompagnata dal tentativo di rimpiazzo del danno da parte dei connettivi, abbiamo angiogenesi per promuovere la fibrosi del tessuto. È presente un forte infiltrato infiammatorio. Si nota la distruzione del parenchima, che viene rimpiazzato da fibroblasti che ricostituiranno il tessuto danneggiato.

Infiammazione acuta: per esempio in una bronchite acuta i neutrofili si distribuiscono in tutti gli spazi alveolari, notiamo edema e congestione dei vasi.

Cellule e mediatori dell'infiammazione:

1. Cronica: macrofagi, citochine e fattori di crescita che dovranno stimolare la produzione di fibroblasti e fibrosi. Fagociti che distruggono patogeni o cellule invecchiate.
2. Acuta: neutrofili, citochine e chemochine, cambiamenti a livello vascolare. Fagocitosi.

Monociti

Derivano dal midollo osseo tramite ematopoiesi abbiamo la produzione di monociti circolanti, i quali sono richiamati nel sito di infezione, si trasformano in macrofagi e svolgono la loro funzione. I monociti derivano anche dal sacco vitellino e dal fegato fetale, questi sono i macrofagi tissutali. Quelli residenti nel fegato prendono il nome di cellule di Kupffer, nei linfonodi istiociti dei seni linfonodali, nel SNC cellule della microglia e nel polmone macrofagi alveolari. Le istiocitosi sono patologie pediatriche che comportano un'inflammatione grave e acuta, multisistemica con effetti devastanti per il paziente. L'unica terapia possibile è il trapianto di midollo.

Quindi distinguiamo i macrofagi derivati dal midollo dai macrofagi residenti nei tessuti.

Attivazione:

I monociti possono essere stimolati a sviluppare diversi tipi di risposta e diverse tipologie di macrofagi, dipendendo dagli stimoli stessi.

Sono attivati da patogeni e citochine, in particolare dall'interferone gamma.

- Monociti **M1**: circolanti, il recettore TLR e interferone gamma attivano il macrofago che produce ROS, NO ed enzimi lisosomiali al fine di eliminare il patogeno. Produce anche IL-1, TNF, IL-12, IL-6, promotori dell'inflammatione. **Azione microbica**, fagocitosi, distruzione del patogeno e promozione del processo infiammatorio.
- Monociti **M2**: è attivato da IL-13 e IL-4. M2 produce IL-10 e TGF-beta, citochine che bloccano l'inflammatione. Sono macrofagi antinfiammatori. Promuovono la **riparazione** del tessuto.

Lo stesso precursore, attivato in maniera diversa, produce due tipi di cellule simili ma con funzioni opposte.

Mentre si scatena l'inflammatione l'organismo già pensa a come terminarla e riparare gli eventuali danni.

I linfociti T helper CD4+, producendo citochine, promuovono l'inflammatione.

TH1: producono **Interferone gamma**.

TH2: producono IL4, IL5 e IL13, attivano M2

TH17: secrezione **chemochine**, reclutamento dei neutrofili e azione immediata pro-distruzione del patogeno.

Sia TH1 che TH17 sono coinvolte nel processamento di batteri e virus, e malattie autoimmuni. I **TH2** sono coinvolti in **reazioni allergiche e anti-parassiti**.

Sia linfociti che macrofagi possono interagire bidirezionalmente, alla base di queste interazioni ci sono le citochine. Come risultato avremo la propagazione dell'inflammatione oppure il suo arresto. I **macrofagi presentano antigeni ai T**, però hanno co-stimolatori che **attivano** le cellule **T**, quindi **richiamano** i T producendo citochine e presentano loro gli antigeni. Due funzioni contemporanee. I linfociti attivati producono citochine che, a loro volta, attivano i macrofagi. Ciò si traduce con un aumento dell'efficacia della risposta.

Eosinofili la loro risposta è legata alle **IgE**, sono reclutati da molecole di adesione e da eotassina, una chemochina specifica. Presentano granuli contenenti proteine basiche, tossiche per **parassiti**, ma sono coinvolte anche in **reazioni allergiche**, dannose per l'organismo.

Mastcellule si trovano nei tessuti **connettivi**, liberano **istamina** sia nelle reazioni acute che nelle reazioni croniche. Derivano dal midollo osseo, sono simili ai basofili circolanti, possono essere residenti nei tessuti. Esprimono molti recettori, tra cui FCsigma-R1 che si legano alla porzione Fc delle IgE, questo legame comporta la degranolazione di istamina e prostaglandine. Ciò avviene in qualsiasi tipo di reazione allergica. Sono, però, presenti anche nell'inflammatione cronica, in quanto secernono citochine. Sono cellule multitasking.

Hanno molti recettori per interleuchine, TLR4, per molte chemochine, Pd (regolazione dell'apoptosi)...

Eccezione:

I neutrofili sono generalmente caratteristici dell'inflammatione acuta. Tuttavia, in infiammazioni croniche possiamo avere infiltrato neutrofilico dovuto a microbi che persistono, oppure da citochine o da altri mediatori, prodotti da linfociti T e macrofagi. Nell'osteomielite, infezione batterica dell'osso, i neutrofili persistono per mesi nel sito di infezione. Però sono caratterizzati da altri recettori di membrana, che hanno effetti diversi sul vaso sanguigno, genereranno danno endoteliale. La didattica è diversa dalla clinica.

Inflammatione granulomatosa:

- i granulomi immuni possono essere presenti a livello di post-ascesso per cause dentistiche (ad es. carie penetrante non curata che porta a riassorbimento osseo e granuloma)
- sono presenti tanti macrofagi attivati, cellule T e una necrosi centrale all'interno del granuloma
- questi granulomi attivati si possono trasformare in cellule giganti (cellule epitelioidee → assomigliano alle cellule epiteliali) che andranno poi a unirsi in sincizi formando cellule multinucleate giganti
- il granuloma è il tentativo di contenere un patogeno difficile da eradicare
- possono formarsi dei granulomi legati a corpi che provengono dall'esterno; il talco, ad esempio, ha delle grosse fibre che precludono la fagocitosi da parte dei macrofagi ma che sono inerti dal punto di vista immunogenetico quindi permangono al centro del granuloma

Malattie granulomatose e reazioni tissutali:

- Tuberculosis → necrosi caseosa al centro del tubercolo; esso rappresenta la foce di macrofagi attivati e di cellule epiteliali giganti; è il principale esempio di malattia granulomatosa e deve sempre essere esclusa per prima quando si cercano le possibili cause di un granuloma
- Lebbra → granulomi con necrosi non caseosa
- Sifilide (*Treponema Pallidum*) → formazione di gomme sifilitiche, ovvero nodosità dovute alla presenza di muri di macrofagi, infiltrato di plasmacellule e cellule centrali necrotiche che non perdono la membrana
- Cat-scratch disease ("la malattia da graffio di gatto") → è dovuta a un'infezione da *Bartonella* (Gram negativo); si manifesta con il tipico granuloma stellato che contiene all'interno frammenti di cellule necrotiche
- Sarcoidosi → granulomi con necrosi non caseosa
- Morbo di Crohn → reazione immune contro patogeni non ancora ben definiti

Si dovrebbe sempre identificare l'agente patogeno alla base di un granuloma mediante colorazioni istologiche specifiche o PCR (sistema più usato oggi).

Riassunto sugli effetti sistemici dell'inflammatione:

- febbre → è mediata da prostaglandine (sono prodotte dall'ipotalamo in seguito a stimolazione da parte di citochine), TNF, proteina C reattiva (e altre proteine della fase acuta), IL-6
- leucocitosi → aumentata produzione dei leucociti nel midollo osseo
- shock-settico → caduta della pressione sanguigna con conseguenti anomalie metaboliche e possibile coagulazione intravascolare disseminata mediata TNF e altre citochine