

Sbobinatore: Giulia Voltarel
Controllore: Andrea Anzanello

Riparazione tissutale

Nelle lezioni precedenti sono stati visti i vari meccanismi dell'infiammazione e sono state trattate le piastrine. Queste ultime non concorrono solamente alla formazione del *plug*, del tappo piastrinico, ma emettono anche dei mediatori chimici al fine di favorire l'infiammazione.

Il danno subito può essere di due tipi:

- Danno **superficiale**, che interessa l'epitelio. L'epitelio stesso, grazie alla sua capacità autorigenerativa normale degli strati della lamina basale e parabasale, e grazie alle cellule staminali della linea staminale generale, è in grado di riparare una piccola ferita senza coinvolgere alcuni "attori" importanti dello *scarring*, come ad esempio i macrofagi residenti M2.
- Nel caso di injury **severa** è necessario invece attingere alle cellule staminali. A questo punto si avrà una sostituzione parziale e temporanea del tessuto con un'area definita *granulomatosa*, fibroblastosa, necessaria a chiudere il buco. Pertanto si avrà rigenerazione.

I tessuti quindi sono in grado di auto-ripararsi sia grazie alla loro capacità proliferativa sia grazie alle riserve delle *stem cells*; a livello del midollo osseo emopoietico si ha infatti una continua rigenerazione e produzione di nuove cellule. Ciò avviene nel caso di:

- epiteli squamosi di cute, cavità orale, vagina, cervice uterina;
- epiteli cuboidali dei dotti delle ghiandole esocrine (ghiandole salivari, pancreas, vie biliari);
- epitelio colonnare del tratto gastrointestinale, dell'utero, delle tube di Falloppio;
- epitelio di transizione del tratto urinario.

Questi sono epitelii in grado di autorigenerarsi grazie alle capacità rigeneranti delle proprie cellule o grazie alle nicchie di cellule staminali presenti (esempi di tali nicchie sono rappresentati dai *canali di Hering*, in prossimità dei dotti biliari del fegato, oppure da ghiandole presenti a livello del testicolo; è questo il caso di una specie di ansa epiteliale intestinale, vista nelle lezioni precedenti, ricca di queste cellule staminali che permettono la rigenerazione). Tali epitelii infatti sono solitamente sottoposti a piccoli danni dovuti ad agenti esterni o agenti infettivi.

I tessuti appena descritti richiedono poco tempo per eseguire tali funzioni e sono definiti **tessuti labili**.

Vi sono inoltre i **tessuti stabili**, questi sono costituiti da **cellule** che si trovano **in G0** e che possono eventualmente riprendere il ciclo cellulare qualora vi sia un danno. Al momento del danno vengono inviati dei segnali che stimolano la proliferazione cellulare. Ciò avviene nel caso di:

- fegato
- rene
- pancreas
- cellule endoteliali
- fibroblasti
- fibre muscolari striate (normalmente quiescenti riprenderanno a proliferare)

Tutto ciò avviene grazie ai **fattori di crescita** che rappresentano il segnale che permette alle cellule in G0 di proliferare. Un esempio concreto è rappresentato dal *fegato* che, in seguito a resezione chirurgica, è in grado di riproliferare. Un ulteriore esempio è fornito dal *rene* che attua un meccanismo di iperplasia quando viene danneggiato o in seguito a resezione chirurgica.

Tali tessuti sono quindi in grado di ripararsi anche utilizzando meccanismi diversi.

In fine vi sono i **tessuti permanenti**:

- cervello

- cuore e quindi miocardio

In questo caso vi sono cellule completamente differenziate e specializzate che non possono più riprendere a proliferare. Questi tessuti verranno quindi **riparati tramite scarring** e quindi si assisterà all'intervento dei fibroblasti, i quali depositeranno collagene e genereranno **cicatrici**.

L'infarto del miocardio ad esempio è interessato da una sostituzione tissutale, nello specifico di tessuto contrattile con tessuto fibromatoso che possiede caratteristiche molto diverse.

Un caso particolare è rappresentato dal muscolo scheletrico: qui le cellule sono differenziate ma vi sono **cellule satelliti** adese ai *layer endomisiali* che conservano alcune capacità proliferative.

Tutti gli epitelii quindi sono in grado di ripararsi: alcuni organi parenchimatosi riescono ad autorigenerarsi; altri, come nel caso dell'infarto miocardico, devono ricorrere allo scarring e quindi alla sostituzione di tessuto differenziato diversamente rispetto a quello originario. Lo scarring in ogni caso non è un fattore negativo, esso dimostra l'esistenza di un tentativo di riparazione e sostituzione tissutale con un tessuto differenziato costituito da cellule che hanno delle funzioni diverse; il tessuto fibroso ad esempio mantiene comunque una certa contrattilità ma non possiede lo stesso grado di conduttanza e resistenza rispetto a quello muscolare.

Segnali che guidano la proliferazione cellulare

Questo tipo di segnali sono forniti dalla **matrice extracellulare** e dai **fattori di crescita**. Quest'ultimi possono derivare da cellule stimulate dall'infiammazione; i fattori di crescita vengono prodotti infatti in prossimità del danno. Le fonti più importanti sono rappresentate dai **macrofagi**, questi, nel caso di infiammazione cronica, sono presenti al posto dei neutrofili come era stato visto in precedenza. In particolare ci si riferisce ai macrofagi **M2** residenti che, congiuntamente all'ECM, producono i fattori di crescita.

Vi sono **fattori di crescita** specifici stimolanti la proliferazione a livello di epitelio, vasi (angiogenesi) e fegato. Di fatto ogni organo in grado di rigenerarsi ha un suo fattore di crescita: VEGF è il fattore di crescita implicato nell'angiogenesi ad esempio.

Questi fattori di crescita si legano a proteine della matrice extracellulare ed avviano le vie di trasduzione del segnale che, a loro volta, indurranno cambiamenti nell'espressione genica o espressione di nuovi geni. In questo modo viene supportata la divisione cellulare, permettendo alla cellula di passare da G0 ad uno stato di proliferazione e produzione degli organelli, per giungere infine alla divisione vera e propria.

Oltre a rispondere ai fattori di crescita, le cellule utilizzano le **integrine** per legarsi alle proteine dell'ECM e anche i segnali attivati dalle integrine possono stimolare la proliferazione cellulare.

Quindi vi sono due meccanismi che supportano tale processo: il primo legato alle cellule dell'injury, i macrofagi; il secondo alle cellule proprie degli epitelii che producono fattori di crescita e quindi cellule che si autoregolano tramite integrine e il contatto con l'ECM.

Meccanismi di rigenerazione tissutale

Le cellule staminali tissutali, cellule staminali adulte ovvero le cosiddette **nicchie**, garantiscono un rinnovo estremamente efficiente in presenza di una injury.

- Negli **epitelii**, in particolare quello intestinale e pelle vi è una rapida proliferazione cellulare, qualora vi sia una piccola lesione le cellule rimanenti saranno in grado di rigenerarsi. Se la lesione dovesse essere più severa interverrebbero le nicchie. Le cellule che rimangono non solo si divideranno ma produrranno a loro volta fattori di crescita che aumenteranno la capacità rigenerativa.
- Negli **organi parenchimatosi** come fegato, pancreas, tiroide, polmoni, viene conservata in ogni caso qualche piccola capacità rigenerativa (eccezion fatta per il fegato che è molto efficace nella rigenerazione).

Nel caso in cui si abbia resezione chirurgica di un rene per la presenza di un tumore, si avranno *ipertrofia* e *iperplasia* come risposta compensatoria a livello di cellule dei dotti prossimali. Tuttavia ipertrofia ed iperplasia non garantiscono un *restore* della funzione in maniera completa ma sono un meccanismo di difesa che fino ad un certo punto riesce a contenere il danno.

Vengono messi in comparazione un **tessuto sano** e un **tessuto danneggiato**. Il primo è un tessuto con un traffico neutrofilico e monocitico limitato e con una membrana basale intatta; nel secondo la perdita di epitelio comporta l'arrivo dei neutrofili e l'attivazione dei macrofagi residenti che inviano dei segnali, dei growth factors. Nel tessuto danneggiato si avrà quindi un reclutamento dei monociti con i mediatori dell'infiammazione, attivazione dei periciti e dei miofibroblasti (fibroblasti con capacità contrattile). Quest'ultimi permetteranno la chiusura della ferita consentendone la contrazione e quindi l'avvicinamento dei due lembi. A questo punto deve avvenire la rigenerazione tissutale: i macrofagi si attivano per riparare le ferite, vi è il rimodellamento della matrice extracellulare e, mentre il meccanismo di rigenerazione si sta attivando, vengono inviati dei segnali di differenziazione dei linfociti Treg che permetteranno di abbassare il segnale dell'infiammazione quando non più necessario. Sostanzialmente l'infiammazione inizialmente è acuta, sono presenti i neutrofili, vi è uno scatenamento di segnali di riparazione e mentre ciò avviene, vengono predisposti quei segnali che andranno a bloccare l'infiammazione.

Questo avviene nel caso in cui la lesione possa essere riparata velocemente.

Quando però il pattern infiammatorio è attivato continuamente vi è uno scarring eccessivo e quindi la ferita verrà chiusa tramite deposizione di fibroblasti e non attraverso rigenerazione del tessuto iniziale.

Un buon esempio di riparazione tissutale è fornito dal **fegato**. Esso si rigenera attraverso proliferazione degli epatociti che rimangono e si attivano passando da G0 a G1, questi producono fattori di crescita e se necessario si attinge alla nicchia staminale epatica. Qualora si abbia una resezione del fegato fino al 90%, questa può essere compensata dai residui epatocitici. A livello epatico assumono particolare importanza la citochina IL-6 prodotta dalle cellule di Kupffer e i fattori di crescita come HGF (*hepatocyte growth factor*) che è prodotto dalle cellule epatiche.

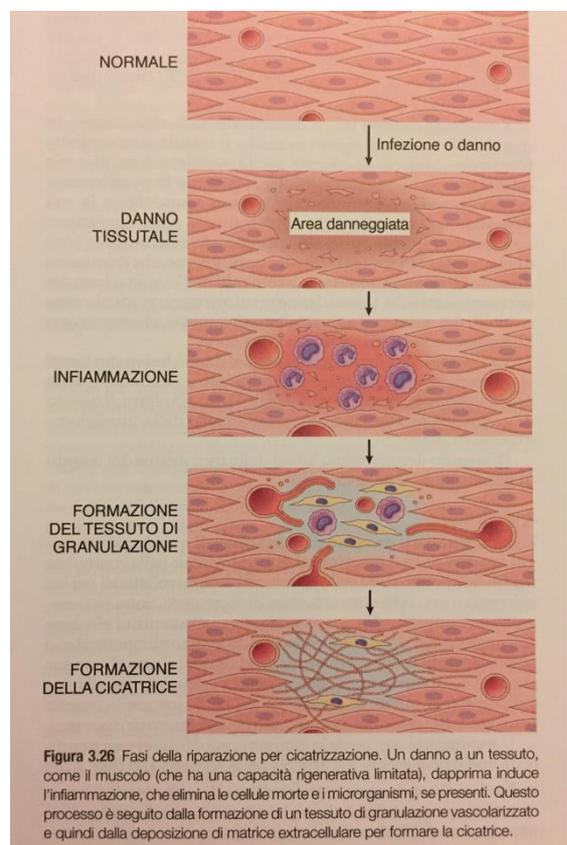
Le nicchie specializzate sono presenti a livello dei **canali di Hering** dove i canalicoli biliari si connettono con i dotti biliari più grandi; questi rappresentano la riserva di cellule staminali a livello epatico.

Le tappe nella formazione della cicatrice

1. Formazione di un **plug emostatico** (un "tappo"): le piastrine svolgono un ruolo fondamentale in quanto devono, attraverso la coagulazione, bloccare il sanguinamento e fornire dall'altro lato uno scaffold (uno "scheletro") per la deposizione del collagene e quindi lo scarring vero e proprio.

Per questo motivo è necessario non togliere le croste precocemente ma attendere che si levino. Nel caso della varicella non è essa stessa a provocare i segni caratteristici ma questi sono provocati dal bambino che toglie le croste a causa del prurito. Togliendo una crosta di una certa dimensione si può osservare che sotto vi saranno già una determinata quantità di fibrina e di fibrinogeno, inoltre più la crosta è matura e più si troveranno le "pellicine" che sono i depositi di collagene che iniziano a chiudere la crosta.

2. A questo punto vi è l'**infiammazione**. Vicino alla crosta si avranno rubor, calor, tumor ecc. – e quindi infiammazione acuta, attivazione del complemento, rilascio delle chemochine (rilasciate anche dalle piastrine attivate, le quali rilasciano immediatamente mediatori chimici per richiamare i neutrofili all'azione). Anche i macrofagi M1 raggiungono il sito infiammatorio ed esplicano la loro funzione fagocitando i microbi e i tessuti necrotici.
3. I macrofagi M2 residenti (detti anche $M\phi$) producono i **fattori di crescita** e stimolano la proliferazione, questi prendono parte al meccanismo di riparazione in un secondo momento. Dal punto di vista istologico questo fenomeno si può notare attraverso immunohistochemica, in quanto permette di



differenziare le membrane anche in seguito a citofluorimetria, ma non attraverso la classica ematosilina-eosina.

4. **Proliferazione cellulare** (nel caso della crosta il processo dura all'incirca 10 giorni): cellule epiteliali, endoteli, altre cellule muscolari, fibroblasti devono crescere e migrare in prossimità della ferita.
 - Gli epiteli rispondono a fattori di crescita locali e sono i primi che giungono nel sito della ferita in quanto la devono chiudere.
 - Gli endoteli dei tessuti vascolari devono formare nuovi vasi (**angiogenesi**).
È possibile percepire l'angiogenesi qualora si tolga una crosta. Si possono infatti osservare dei "filetti" e si ha un sanguinamento che a volte può risultare importante rispetto a quello della ferita iniziale; tutto ciò è proprio dovuto all'angiogenesi.
 - I fibroblasti proliferano e migrano, sono i responsabili della deposizione del collagene.
5. A questo punto la migrazione e proliferazione dei fibroblasti, la deposizione di tessuto connettivo, congiuntamente ai nuovi vasi sanguigni, consentono la formazione del **tessuto di granulazione** che di fatto consiste nel primo tentativo di riparo della ferita. In un processo di riparazione corretto poi questo tessuto dovrà essere riassorbito e sostituito con cellule del tessuto originario.

A livello di cute si distingue tra *rigenerazione per prima intenzione* e *rigenerazione per seconda intenzione*. La prima si riferisce ad una ferita superficiale, la seconda ad una più severa, in entrambi i casi vi è infezione e poi guarigione mediante deposizione di tessuto cicatriziale ma nel secondo caso la presenza di tessuto cicatriziale è molto maggiore.

Affinché il collagene prodotto dai fibroblasti si depositi in maniera corretta sono necessarie all'incirca 2-3 settimane, dopodiché questo tessuto cicatriziale è stabile. Quindi anche se viene riparato l'epitelio, prima che tutto torni alla normalità è necessario diverso tempo. In occasione di un taglio, sotto l'epitelio la pelle è più labile poiché è ancora presente il collagene deposto dai fibroblasti necessario a chiudere la ferita.

Angiogenesi

I vasi assumono diversa importanza in questo contesto come era già stato osservato in precedenza:

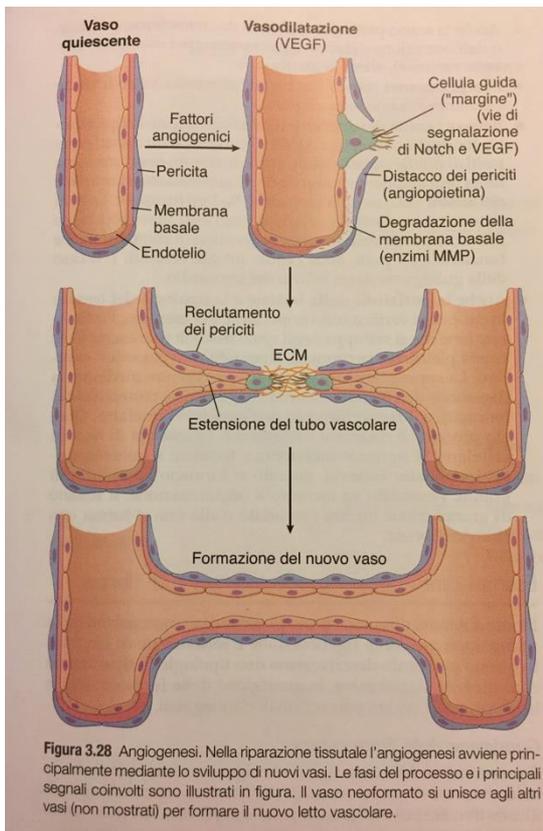


Figura 3.28 Angiogenesi. Nella riparazione tissutale l'angiogenesi avviene principalmente mediante lo sviluppo di nuovi vasi. Le fasi del processo e i principali segnali coinvolti sono illustrati in figura. Il vaso neofornato si unisce agli altri vasi (non mostrati) per formare il nuovo letto vascolare.

- Si ha **vasodilatazione** in risposta all'ossido nitrico e all'aumento di permeabilità indotta dal fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF);
- I **periciti** si separano;
- Migrazione delle cellule endoteliali verso il sito dell'injury;
- Proliferazione delle **cellule endoteliali**;
- Rimodellamento e formazione di tubi capillari;
- Reclutamento delle **cellule periendoteliali** per formare nuovi vasi;
- Segnali di soppressione della proliferazione endoteliale (nel momento in cui si sta chiudendo lo scaffold).

Nell'immagine si possono osservare: la vasodilatazione, i *fattori angiogenici*, i periciti che si separano grazie all'**angiopoietina**, le *metalloproteinasi* che degradano la membrana basale (che si apre), la segnalazione a partire dalla *via Notch* e da VEGF che stimolano la proliferazione, e in conclusione si ha la formazione del nuovo vaso.

Domanda: è sempre necessario l'incontro di due "tip" (cellula guida "margine") affinché ci sia angiogenesi?

Risposta: in realtà no perché l'incontro di due tip è

necessario solo per la formazione di una rete capillare ma nel nostro caso è proprio questo l'obiettivo.

Il processo di angiogenesi coinvolge varie vie di segnalazione tra cui: interazioni cellula-cellula, proteine dell'ECM ed enzimi tissutali.

- **Fattori di crescita:** VEGF-A in particolare induce vasodilatazione stimolando la produzione di ossido nitrico; FGF (fattore di crescita dei fibroblasti) stimola la proliferazione delle cellule endoteliali e la migrazione di macrofagi nell'area danneggiata. Anche i fattori di crescita TGF β (fattore di crescita trasformante β) e PDGF partecipano al processo di stabilizzazione: il PDGF richiama le cellule muscolari lisce e il TGF β sopprime la proliferazione endoteliale e quindi regola la fine del processo di scarring.
- **Il Notch signaling** (via di segnalazione Notch): regola la produzione di nuovi vasi.
- **Le proteine dell'ECM:** regolano a loro volta la gemmazione dei vasi attraverso l'interazione con i recettori delle **integrine** sulle cellule endoteliali.
- **Gli enzimi:** in particolare le **metalloproteinasi** (MMP), degradano l'ECM per permettere il rimodellamento e regolare l'estensione del nuovo vaso.

Deposizione del tessuto connettivo

La deposizione del tessuto connettivo avviene in due fasi:

- (1) La migrazione e la proliferazione dei fibroblasti nel sito della lesione e (2) la deposizione di proteine dell'ECM prodotte dai fibroblasti.

Il tutto è controllato da citochine che richiamano i fibroblasti; assieme al TGF β anche i macrofagi M2 attivati svolgono un ruolo importante.

Alcuni fibroblasti si differenzieranno in cellule chiamate **miofibroblasti**, cellule ricche di fibre di actina fondamentali nella chiusura della ferita.

TGF β

È la citochina più importante coinvolta nella sintesi e deposizione di connettivo e proteine del tessuto connettivo.

Dal punto di vista molecolare la produzione di TGF β risulta interessante: non avviene attraverso una via di trasduzione del segnale che aumenta l'espressione di TGF β a livello di mRNA, ma vi è un meccanismo di regolazione post traduzionale in cui TGF β viene prodotto normalmente ma il suo reclutamento dipende da fattori prodotti dalla matrice extracellulare e in particolare dalle integrine. Questo meccanismo permette di non sprecare vie di trasduzione del segnale e di sfruttare ciò che è già in atto: quando si è giunti quasi al termine dello scarring TGF β sarà richiamato attraverso l'ECM ed andrà a bloccare lo scarring.

Sbobina Patologia

29.04.19

2° ora

Sbobinatore: Giulia Pellizzari

Controllore: Federico Argentieri

Rimodellamento

La cicatrice neofornata dovrà essere forte, resistente e dovrà riuscire a contrarsi per resistere agli stress meccanici. Per fare questo produciamo prima collagene di tipo 3, che ha la funzione di riempimento, poi un collagene di tipo 1, che è più resiliente ed è in grado di stirarsi meglio. La contrazione della ferita all'inizio è legata ai miofibroblasti, dopo ci saranno le fibre muscolari striate lisce che garantiranno l'addossamento dei lembi. Poi dobbiamo eliminare ciò che non ci serve più, cioè collagene e altre proteine della matrice extracellulare, grazie anche alle metalloproteasi che dipendono da ioni metallici per esercitare la loro attività enzimatica. Le metalloproteasi entrano in gioco dopo il processo cicatriziale per togliere il collagene 3 e permettere la deposizione di quello nuovo grazie alle collagenasi metalloproteasi-dipendenti. Esistono diversi tipi di collagenasi (*che non è necessario sapere per l'esame*): interstiziali, gelatinasi, stromeolisine e molte altre che servono per degradare cose specifiche. Abbiamo inoltre dei TIMPs che sono degli inibitori tessuto specifici in grado di bloccare le metalloproteasi dopo la loro azione degradativa.

Fattori che rallentano la cicatrizzazione

Dal punto di vista istologico, osservando un campione cicatriziale, si nota uno strato di deposizione di

collagene e diversi vasi che sono la prova di un tessuto cicatriziale maturo. Impediscono la corretta riparazione tissutale:

- infezioni;
- infiammazioni croniche;
- malnutrizione;
- fattori meccanici;
- scarsa perfusione;
- corpi estranei

La ferita di un piede diabetico non guarisce perché c'è ipossia, necrosi e gangrena. Inoltre, anche alcuni farmaci, come glucocorticoidi, hanno effetti infiammatori estremamente validi, ma possono generare poco rimodellamento perché inibiscono la produzione di TGF beta e diminuiscono la fibrosi. I glucocorticoidi risultano comunque utili e quindi vengono prescritti per evitare la formazione del collagene che causerebbe un'opacità a livello corneale.

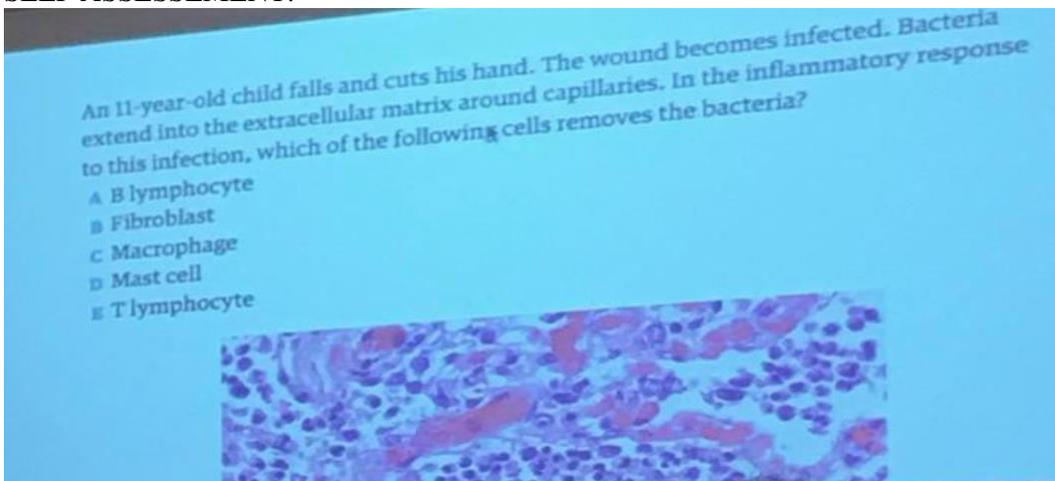
Ferite croniche

Il tipo e il luogo della ferita influiscono sul tempo di riparazione. Le ferite croniche possono essere legate:

- Alle vene varicose, quindi **ulcere venose** legate a stasi, ipossia e necrosi permanente;
- Alle **ulcere arteriose**, in cui gioca un ruolo importante l'aterosclerosi nelle arterie periferiche e il diabete con conseguente ischemia, atrofia e necrosi che complicano il processo di riparazione tissutale.
- Alle **piaghe da decubito**, quando si esercita una pressione costante su aree a contatto con l'osso in pazienti con scarso tessuto adiposo e muscolare.
- Alle **ulcere diabetiche** con area necrotica che presenta fibrina, ma il tessuto non è sufficiente a chiudere la ferita.
- All'**iper-cicatizzazione**, cioè al danno estetico e funzionale causato dall'accumulo di collagene che crea una granulazione esacerbata, si ha troppo tessuto di granulazione che non viene rimodellato e riassorbito e che quindi deve essere tolto chirurgicamente. La cicatrice grande è dovuta ad una deposizione sbagliata del collagene che causa una contrazione inadeguata della ferita.
- Al **cheloide**, che è un'iperproliferazione che passa il controllo dell'epidermide.
- Alla **fibrosi degli organi parenchimatosi** perché, se è eccessiva, porta danno all'organo stesso in quanto c'è un deficit di rimozione della matrice extracellulare con problemi a livello della sostituzione del collagene che causano una fibrosi permanente che ostacola le funzioni fisiologiche.

Se le lesioni sono limitate guariscono senza bisogno di infiammazione, macrofagi M1 e M2, citochine, TGF beta, reclutamento di fibroblasti che diventano miofibroblasti, matrice extra cellulare e fibrina.

SELF ASSESSEMENT:



Risposta corretta: C

In an experiment, peripheral blood cells are isolated and placed into a culture medium that preserves their metabolic activity. Interferon- γ is added to this culture, along with viable *Escherichia coli* organisms. Which of the following blood cell types in this medium is the most likely to have bactericidal activity against *E. coli*?

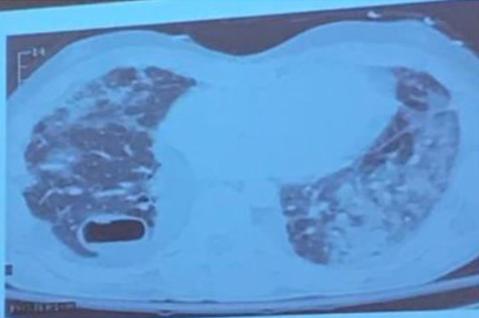
- A Basophil
- B B lymphocyte
- C CD4+ lymphocyte
- D CD8+ lymphocyte
- E Monocyte
- F Natural killer cell
- G Neutrophil

Risposta corretta: E

In an experiment, bacteria are inoculated into aliquots of normal human blood that have been treated with an anticoagulant. It is observed that the bacteria are either phagocytized by neutrophils or undergo lysis. Which of the following blood plasma components is most likely to facilitate these effects?

- A Complement
- B Fibrin
- C Kallikrein
- D Plasmin
- E Thrombin

Risposta corretta A



A 92-year-old woman is diagnosed with *Staphylococcus aureus* pneumonia and receives a course of antibiotic therapy. Two weeks later, she no longer has a productive cough, but she still has a temperature of 38.1° C. A chest radiograph shows the findings in the figure. Which of the following terms best describes the outcome of the patient's pneumonia?

- A Abscess formation
- B Complete resolution
- C Fibrous scarring
- D Chronic inflammation

Risposta corretta: A

An 87-year-old woman has had a cough productive of yellowish sputum for the past 2 days. On examination her temperature is 37° C. A chest radiograph shows bilateral patchy infiltrates. Her peripheral blood shows leukocytosis. A week later she is afebrile. Which of the following is the most likely outcome of her pulmonary disease?

- A Chronic inflammation
- B Fibrous scarring
- C Neoplasia
- D Resolution
- E Ulceration

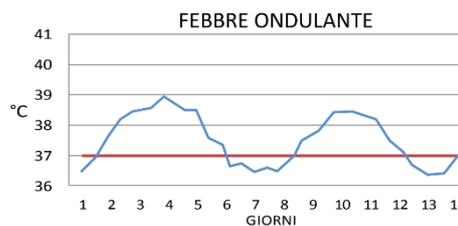
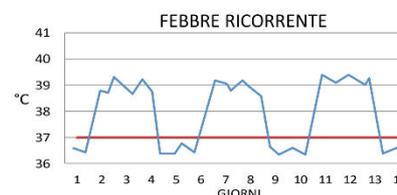
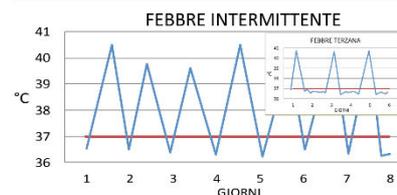
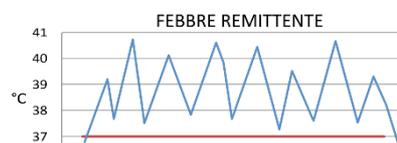
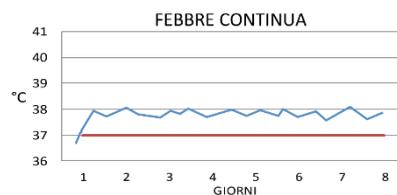
Risposta corretta: D

Nelle colture cellulari si mettevano antibiotici per non farle infettare, ma se non funzionavano o se la coltura era già infetta, non agiva più nulla e la coltura era da buttare. In clinica l'antibiotico aiuta, è specifico per un tipo di batterio, ma da solo non ce la fa, serve l'armamentario del nostro sistema immunitario che varia di individuo in individuo. L'inflammasoma produce l'IL1 che, a livello ipotalamico, determina il rialzo termico febbrile. Nell'attivazione dell'IL1 c'è un grande numero di componenti coinvolti. Geneticamente uno dei componenti può essere alterato e questo spiega perché i pazienti reagiscono in modo diverso agli antibiotici.

Febbre

Esistono diversi tipi di febbre:

- **Febbre continua:** rimane sopra i 37 gradi per diversi giorni. Essa può essere dovuta a lesioni cerebrali o metastasi che danneggiano il centro termoregolatore.
- **Febbre remittente:** Si hanno dei picchi febbrili periodici ma la temperatura non scende sotto i 37 gradi per giorni.
- **Febbre intermittente:** la febbre sale ogni giorno alla stessa ora, per esempio alle 16, poi scende e al mattino non è presente. È tipica di un'infezione purulenta, di un ascesso. Comprende la febbre terzana o malarica, in cui si ha il picco febbrile quando il parassita che infetta i globuli rossi causa emolisi con rilascio di mediatori infiammatori che scatenano la febbre. La malaria può presentarsi anche con febbre quartana o in modo continuo se si tratta di malaria perniciosa.
- **Febbre ricorrente:** tipica del morbo di Lyme, causato dalla borrelia.



- **Febbre ondulante:** il primo giorno si ha un rialzo febbrile che arriva a 39 gradi in tre-quattro giorni e poi lentamente scende, ci saranno poi alcuni giorni senza febbre e all'ottavo-nono giorno la temperatura torna a salire. Si può pensare che sia dovuta ad una ricaduta influenzale, ma non si possono avere delle ricadute, una volta guariti semmai può esserci l'avvio di una broncopolmonite post influenzale. Questo tipo di febbre fa molti morti perché **viene sottovalutata**, non ci sono altri sintomi specifici, se non una leggera astenia. Questo andamento però è tipico dell'**endocardite batterica** che, se non trattata, porta alla morte in 14 giorni. Un anziano, dopo l'influenza, spesso viene messo in terapia antibiotica per evitare di avere la broncopolmonite, però se non era influenza ma endocardite, non è detto che l'antibiotico sia quello giusto. Questa terapia può modificare e prolungare l'andamento ondulatorio fino a 25 giorni rendendo più difficile la diagnosi e più grave l'infezione. La cosa più giusta da fare, invece di dare un antibiotico a largo spettro, sarebbe fare una coltura cellulare. Un altro modo per capire la causa febbrile è fare degli esami del sangue; se c'è un'**infezione batterica** verrà riscontrato un aumento dei **neutrofili**, se invece la causa è **virale** ci sarà un aumento **linfocitario**. Nel caso si tratti di infezione batterica si eseguirà un'ecografia cardiaca per capire se è localizzata a livello dell'endocardio.

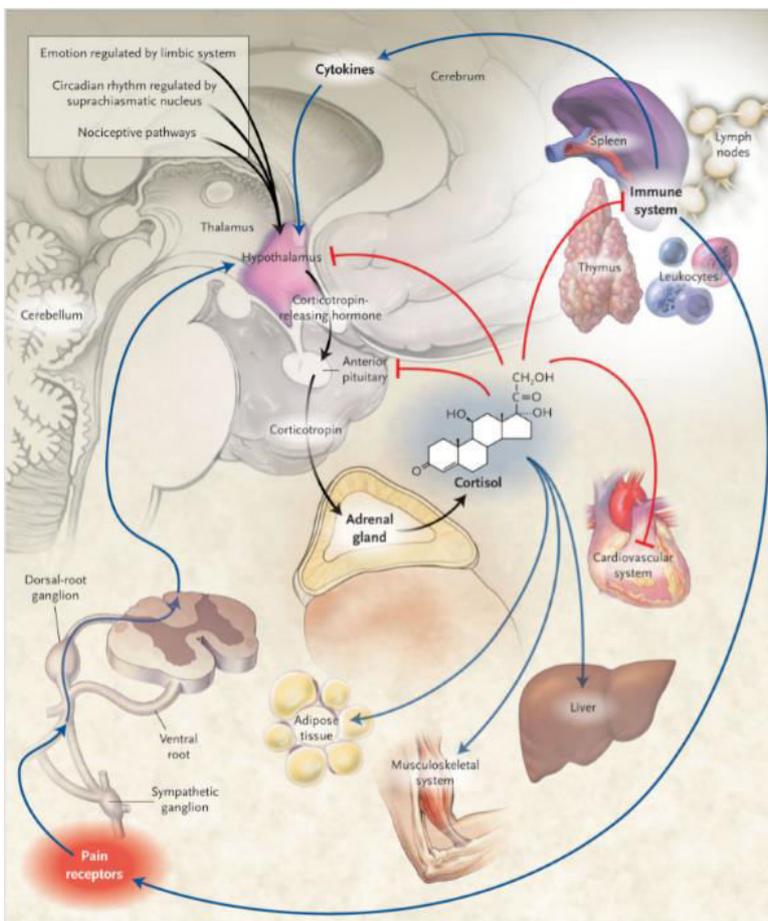
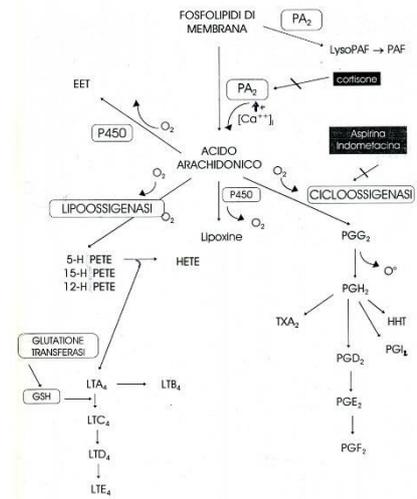
- **Febbre urosettica o biliosettica:** sale con brivido, talvolta squassante, evidente, e raggiunge i 39,5-40 gradi, poi ha una fase di plateaux più o meno lunga. È tipica di un'infezione delle vie urinarie o biliari, ad esempio per un calcolo, o in alcuni casi di broncopolmonite. Essa poi si risolve da sola, si dice "per lisi", cioè scende di colpo in pochi minuti, con profusa sudorazione. Se non ci fosse l'immunità naturale l'infezione progredirebbe e la temperatura continuerebbe a salire senza dare il plateau, se invece mancasse l'immunità secondaria la febbre aumenterebbe dopo il plateau, che in media dura 5-8 giorni.

Domanda del professore: perché la febbre urosettica scende così rapidamente?

Risposte degli studenti:

- può esserci una causa legata all'induzione da parte di IL1 che non viene più prodotta o viene bloccata smettendo così di stimolare l'ipotalamo a tenere alto il checkpoint ipotalamico.
- Può essere dovuto ad una vasodilatazione

*Risposta del professore: le vostre risposte non sono sbagliate ma deve esserci un altro sistema che riesca a controllare questo evento. La febbre si abbassa di colpo perché agisce il **cortisolo** che inibisce la fosfolipasi A2, quindi non ci sarà più acido arachidonico e di conseguenza il paziente defervescente e non farà più né ciclossigenasi, né lipossigenasi che rispettivamente portano alla produzione di prostaglandine e leucotrieni. Le varie citochine infiammatorie agiscono sull'ipotalamo causando la produzione di corticotropina che determinerà la produzione di cortisolo da parte delle ghiandole surrenali.*



Quando la febbre sale si ha vasocostrizione cutanea; ogni grado di aumento di temperatura corporea corrisponde a 7 battiti cardiaci in più al minuto perché il sistema simpatico che fa aumentare il livello di temperatura nel centro ipotalamico fa aumentare proporzionalmente anche il battito cardiaco.

Controllando la temperatura di un paziente bisogna tenere in considerazione la terapia che sta assumendo perché antipiretici, antinfiammatori e antibiotici possono far variare l'andamento piretico.

Sbobinatore: Giulia Boso

Controllore: Veronica Baldi

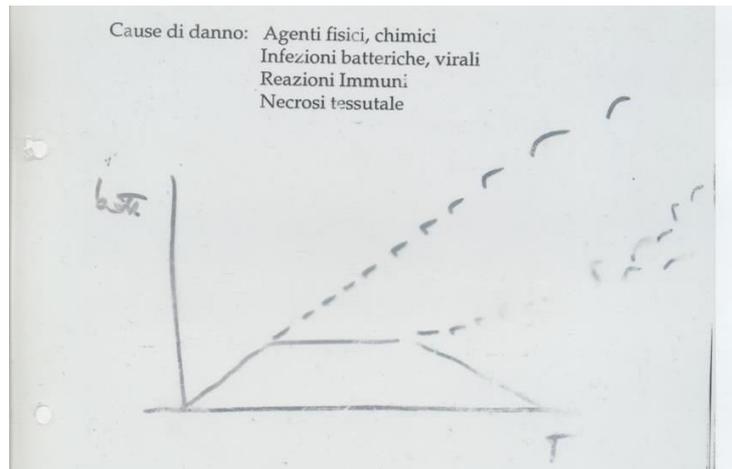
Flogosi

L'immunità innata e la secondaria sono fondamentali l'una per l'altra: in un grafico con numero di batteri e tempo, solamente quando le due collaborano si ha un andamento corretto, dove la curva prima sale, arriva ad un plateau e poi scende.

Nel caso sia attiva solo l'immunità secondaria, non ci sono i granulociti e si ha una curva che si blocca per un certo periodo di tempo all'inizio e poi riprende.

Invece se è presente solo l'immunità naturale l'infezione continua nel tempo. Questo

perché l'immunità innata serve a contenere temporaneamente l'infezione per dare il tempo (5-8 giorni) al sistema immunitario di produrre una risposta secondaria adatta ed esaustiva.



L'infiammazione, a seconda delle sue caratteristiche, può essere distinta in:

- **infiammazione acuta o angioflogosi**, che normalmente presenta un andamento di 2 giorni al massimo, essudazione e infiltrazione di polimorfonucleati. È sempre identica rispetto alla causa, cioè non è distinguibile se provocata da due cause differenti;
- **infiammazione cronica o istoflogosi**, caratterizzata da una durata indefinita (perché spesso non si riesce a stabilire un inizio preciso) con essudazione praticamente assente, ma **grande infiltrazione di linfociti e monociti** che poi nei tessuti diventano macrofagi. Si ha inoltre proliferazione connettivale contestuale, cioè che avviene contemporaneamente, e presenta caratteristiche istologiche specifiche in rapporto all'agente eziologico (quindi in base all'esame istologico di una lesione è possibile fare diagnosi). *(In realtà, i termini angioflogosi e istoflogosi sono usati molto poco in clinica)*
- **Infiammazione purulenta**: ha questa caratteristica proprio per la presenza di granulociti polimorfonucleati neutrofili. Poi una possibilità a partire da questa sarà la presenza dell'ascesso, che può esserci o meno, vedremo più avanti in base a cosa.

Mastcellule

Le mastcellule innescano l'infiammazione acuta. Questo perché rispondono a qualsiasi tipo di stimolo:

- agenti fisici (traumi, stimoli termici),
- complemento (C3a, C5a)
- Il-1
- proteine cationiche
- neuropeptidi (come per esempio la sostanza P)
- IgE.

Sono inoltre coinvolte anche nella ipersensibilità di I tipo perché una volta che vengono sensibilizzate contro un antigene, sulla loro superficie rimangono le IgE specifiche per quell'Ag legate ai recettori, in modo che in caso di una seconda esposizione allo stesso Ag il riconoscimento sia immediato e la degranulazione avvenga velocemente. Quando i mastociti vengono attivati rapidamente secernono il contenuto dei granuli (in particolare l'istamina, una vasodilatatrice, e l'eparina, un anticoagulante) e in più altre sostanze, quali l'ossido di azoto (NO), un secondo vasodilatatore, e i leucotrieni, che inducono la contrazione della

muscolatura liscia, intervenendo ad esempio nella broncocostrizione, cioè nella crisi asmatica. Inoltre i mastociti liberano interleuchine e altre sostanze chemiotattiche che richiamano leucociti.

Esempio di reazione delle mastcellule a stimoli termici:

Un individuo allergico è ricco di mastcellule, e per questo presenta i classici sintomi in presenza dell'allergene, dal semplice raffreddore da fieno alla più grave asma bronchiale (=broncocostrizione e aumento delle secrezioni bronchiali, per cui di fatto non respira più). In assenza di stimoli allergenici però le mastcellule nelle zone a contatto con l'esterno come le vie respiratorie, rispondono anche ad altri stimoli come quelli termici, per cui il paziente allergico potrebbe avere una crisi anche in caso di una giornata senza allergeni, ma magari con aria fredda. In questi casi le mastcellule innescano un'inflammatione che poi si risolve nel giro di poco tempo, anche solo 10 minuti: danno solo la reazione immediata.

Il fatto che le mastcellule possano essere stimolate anche da neuropeptidi suggerisce che si possa avere un'inflammatione determinata anche solo per via nervosa. L'esempio più chiaro è la presenza di macchie di flogosi sul torace nei momenti di ansia, dovute ad uno stimolo che origina dalla corteccia cerebrale e arriva alle terminazioni nervose. Queste poi rilasciano la sostanza P, che si lega ai recettori sulle mastcellule, e così facendo le attiva, in modo che reagiscano localmente e diano questo fenomeno che viene detto *urticaria factitia*.

Eosinofili

I granulociti eosinofili svolgono un'azione di mediatori nelle reazioni allergiche (dell'ipersensibilità di I tipo) e di fagociti nella difesa da parassiti ed elminti. La loro percentuale nella formula leucocitaria è circa 1-3%.

I loro granuli contengono quindi mediatori delle reazioni allergiche, come l'istaminasi (che inibiscono l'istamina) e l'arilsulfatasi (che inibisce i leucotrieni) e fattori per la risposta antiparassitaria, quali mieloperossidasi (200 volte più potente della perossidasi nei neutrofili), proteina cationica, fosfolipasi.

Gli eosinofili reagiscono a stimoli dati dai fattori di migrazione come immunocomplessi o prodotti di mastcellule e di linfociti.

Rispetto ai granulociti neutrofili, hanno diversi meccanismi più efficaci per la distruzione di parassiti (difesa contro l'infestazione), e grazie a questi sono cellule molto efficienti e pericolose: si è anche studiato il fenomeno di diminuzione in linea di massima della presenza di tumori in individui allergici, proprio per l'aggressività di queste cellule immunitarie.

Nell'infezione allergica, le mastcellule sono deputate a produrre mediatori infiammatori dell'allergia, mentre gli eosinofili determinano una detossificazione, cioè sono i modulatori dell'ipersensibilità di I tipo.

Cellule endoteliali dell'inflammatione

Le cellule endoteliali dell'inflammatione sono le stazioni di fermata delle cellule del sangue, perché su di essa transitano i linfociti che percorrono il vaso. Queste cellule producono ossido nitrico (NO) e prostaglandine (PGI₂), che causano vasodilatazione e aumento permeabilità, ed inoltre producono IL1 e IL6 che causano gli effetti sistemici della flogosi.

Queste cellule poi esprimono molecole di adesione per i leucociti, molecole di attivazione di PAF e IL8, ma soprattutto esprimono MHC II. Questo è il modo per esporre l'antigene ai linfociti, in modo da farli specializzare ed è presente su queste cellule perché è necessario alla migrazione dei linfociti verso la zona di infezione, in modo da attivare la risposta di tipo secondario. Le cellule endoteliali dell'inflammatione sono stimulate da svariate molecole, come IL1, PAF, prostaglandine o istamina.

Un circolo capillare periferico è formato da un'arteriola afferente, un capillare preferenziale e la restante trama capillare ed una venula efferente. Specialmente all'inizio del letto capillare abbiamo una serie di meccanismi sfinteriali che permettono una pressione costante nel circolo capillare, qualunque sia la pressione arteriosa sistemica. Questo perché sono proprio le arteriole che con la loro vasodilatazione e vasoconstrizione determinano l'aumento pressorio, ma modificando il loro diametro modificano anche la quantità di sangue che entra nel circolo capillare, e così la pressione resta costante. Poi ci sono anche altri meccanismi sfinteriali, che fanno sì che normalmente se l'individuo è steso il sangue passi nel capillare preferenziale, lasciando la rete praticamente vuota.

Sindrome di Raynaud

La sindrome è caratterizzata dal fatto che quando il paziente passa in un ambiente più freddo, ha a livello delle mani una prima **vasocostrizione** che rende le mani praticamente bianche e che può durare più o meno a lungo, seguita nella forma più completa da una fase di **iperemia attiva** in cui le mani diventano rosse e poi da una fase di **iperemia passiva** in cui le mani diventano blu. Durante la fase di ischemia data dalla vasocostrizione, la sindrome è talvolta molto dolorosa.

La sindrome è dovuta ad una serie di possibilità:

- è per esempio una malattia professionale di chi usa i martelli pneumatici,
- oppure è caratteristica degli individui che hanno una costa cervicale (cioè delle estroflessioni di C7 che vanno a comprimere la succlavia)
- oppure più banalmente è su base ormonale (un tipo di risposta alterata, più frequente nelle donne).

Una ragazza di 17 anni che soffriva di questa patologia era andata da diversi medici, che dato che si tratta di un vasospasmo avevano prescritto dei vasodilatatori, che però non funzionavano. Di notte la ragazza non dormiva a causa della gravità della sindrome, aveva delle lesioni necrotiche alle dita molto gravi e aveva lasciato la scuola. Quando il professore ha diagnosticato questa patologia, ha compreso che la causa primaria era stato uno spasmo muscolare, ma che poi era subentrato un fenomeno infiammatorio e che perciò i mediatori vasocostrittori erano rilasciati dai leucociti. Dopo aver prescritto il cortisone, il problema è stato risolto velocemente, segno del fatto che in quel momento il problema non era dato dalla vasocostrizione, ma dall'infiammazione.

Meccanismi di adesione leucocitari e LAD

I meccanismi di adesione leucocitari sono quei meccanismi che **determinano lo stravasamento dei leucociti circolanti**. Ci sono proteine collocate sulla superficie cellulare, e sono specifiche per i vari tessuti.

La molecola di adesione CD11/CD18 è stata la prima molecola di adesione individuata, e da allora si sono cominciate a ricercare le molecole e le varie molecole intercellulari importanti a livello clinico, come le caderine che formano i desmosomi o le integrine, molecole di adesione alla matrice cellulare.

Tutta la conoscenza di queste molecole è partita dallo studio di paziente con la **LAD (=leucocytes adherence deficiency o CD11/CD18 deficienza)**. Questa patologia riguarda fundamentalmente l'incapacità di extravasare dei granulociti, che restano perciò in circolo. Alla fine quindi i bambini soffrono di leucocitosi con neutrofilia, cioè in occasione di qualsiasi minima infezione hanno moltissimi leucociti nel sangue (si arriva anche a 20000 quando il valore normale è attorno ai 6000). Per questo i bambini che soffrono di questa patologia, entro i 10-11 anni muoiono di infezione, malgrado le terapie antibiotiche.

Le caratteristiche cliniche di questa patologia sono:

- ritardato distacco del cordone ombelicale
- infezioni ricorrenti dei tessuti molli, che diventano necrotico-emorragiche
- stomatiti, pericolose per pazienti con trattamenti con cortisone o in immunodepressi
- polmoniti
- alterazioni nella guarigione delle ferite

Questo perché sono tutti fenomeni in cui i neutrofili sono fra i protagonisti.

Le **stomatiti** sono **infiammazioni acute del cavo orale**. Questo suggerisce che c'è un continuo pattugliamento della nostra cavità orale da parte dei granulociti neutrofili, che, ad esempio, eliminano e digeriscono alcuni piccoli pezzi che restano fra i denti dopo i pasti. Sono frequenti in pazienti immunodepressi o in bambini sottoposti alla chemioterapia, e sono molto dolorose. Anche i pazienti sottoposti a terapie con il cortisone possono soffrire di questa patologia, e per prevenire questo spesso a questi trattamenti si associano il bicarbonato o alcuni antimicotici. In svariati progetti di ricerca, compreso uno al Burlo, in alcuni pazienti le stomatiti vengono trattate con il laser, che ha potere antisettico e capacità locale di rigenerazione dei tessuti.

Questo è uno schema di funzionamento della **NADPH ossidasi**, un sistema battericida ossigeno-dipendente che trasforma l'ossigeno in anione superossido, il quale poi con la superossido dismutasi diventa acqua ossigenata. Questa potrà essere degradata dalla catalasi o utilizzata dalla mieloperossidasi, con il famoso

meccanismo perossidante dei granulociti neutrofilici.

Il meccanismo invece più rapido è il ciclo del glutatione, che comprende una glutatione perossidasi e una glutatione reduttasi NADPH-dipendenti, che recuperano NADPH dallo shunt. Se manca uno degli enzimi, il sistema antiossidante non funziona più dopo un certo punto, perché esso è già pronto e viene poi ricostituito man mano che viene usato.

C'è un farmaco anche che influisce su questo sistema che è la acetilcisteina o flumucil, che è praticamente un precursore del glutatione, come un antiossidante.

L'acqua ossigenata nella via invece della mieloperossidasi è usata in presenza di un alogeno che di solito è il cloro, a formare sodio ipoclorito, cioè varechina, un antibatterico.

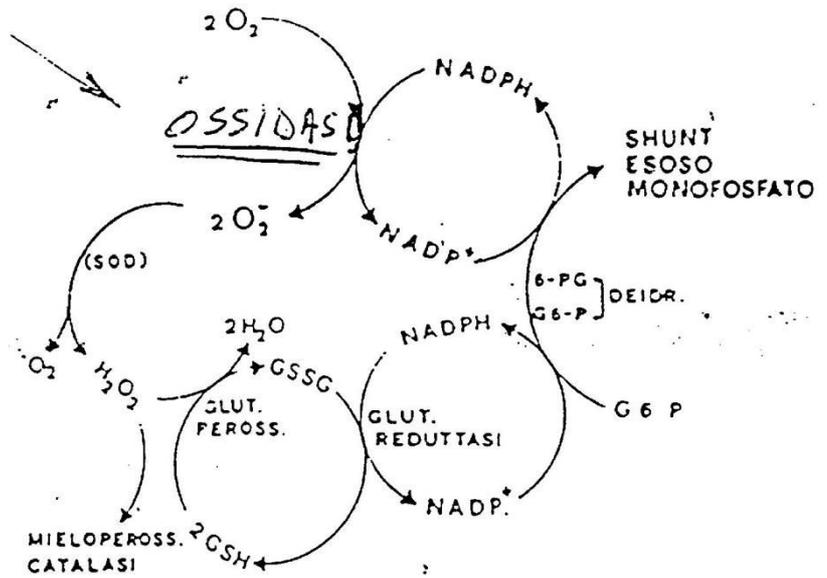


Fig. 1 - Interrelazioni metaboliche nei leucociti polimorfonucleati in fagocitosi