

COME FANNO LE CELLULE SOFFERENTI AD ATTIVARE IL PROCESSO INFIAMMATORIO?

Quando le cellule sono dai danneggiate reversibilmente possono ancora decidere se suicidarsi (morire per apoptosi, che ha comunque un costo in termini energetici) senza compromettere il tessuto circostante o lasciarsi morire passivamente per necrosi ed innescare il processo infiammatorio.

In tutti i tessuti ischemici c'è sempre sovrapposizione tra necrosi e apoptosi.

Nel danno ischemico le cellule che stanno per morire mettono in moto un ultimo adattamento a livello superiore: innescare il processo infiammatorio, il quale anche se amplificherà il danno ischemico, porterà alla guarigione (rigenerazione e/o riparazione).

Definizione di processo infiammatorio (in una prospettiva benefica): *portare in qualsiasi distretto dell'organismo con rapidità ed efficienza un numero sufficiente di fagociti (neutrofili, monociti ed eosinofili,) il cui scopo è quello di eliminare i frammenti di tessuto necrotico ed iniziare il processo di guarigione (rigenerazione e/o riparazione in dipendenza del tessuto e dei tipo di danno).*

COME FANNO LE CELLULE SOFFERENTI AD ATTIVARE IL PROCESSO INFIAMMATORIO?

I meccanismi che innescano il processo infiammatorio iniziano già durante la fase reversibile e si

scatenano dopo la necrosi. Vengono Rilasciate molecole che possiedono le caratteristiche di veri e propri mediatori infiammatori (= far esprimere molecole di adesione, fattori chemiotattici e attivare i fagociti).

FATTORI PRODOTTI DALLE CELLULE SOFFERENTI

Tutti i tessuti finora esaminati durante la fase di sofferenza cellulare reversibile producono due **CITOCHINE**:

- **IL-1** iniziano a far esprimere all' endotelio le molecole di adesione
- **IL-8** fattore chemiotattico per i neutrofili

FATTORI RILASCIATI DOPO LA NECROSI: «ALLARMINE»

Dopo la necrosi dall'interno delle cellule escono :

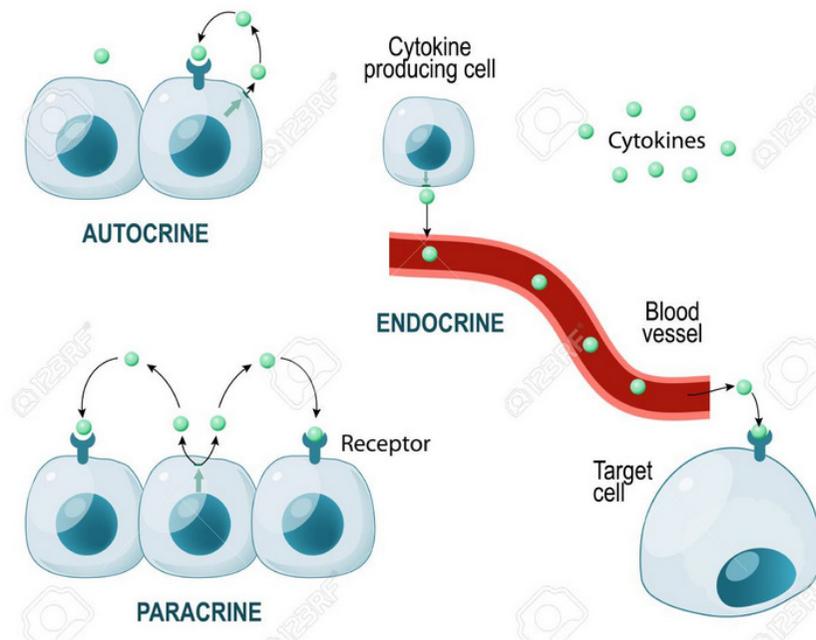
- **ACIDO URICO** dal metabolismo totale dell'ATP, ATP, DNA...
- **HPSs**
- **High-mobility-group box 1 (HMGB1)** proteina non istonica della cromatina.
- Proteine S100
- **Enzimi lisosomiali** che degradano i proteoglicani (ac. ialuronico ed eparansolfato) e le proteine della **matrice** producendo diversi **frammenti (frammaneti ialuronano)**.

CITOCHINE

Le citochine sono polipeptidi prodotti da molti tipi cellulari (ma soprattutto linfociti e MΦ attivati) che modulano la funzione di altri tipi cellulari.

Le citochine possono agire

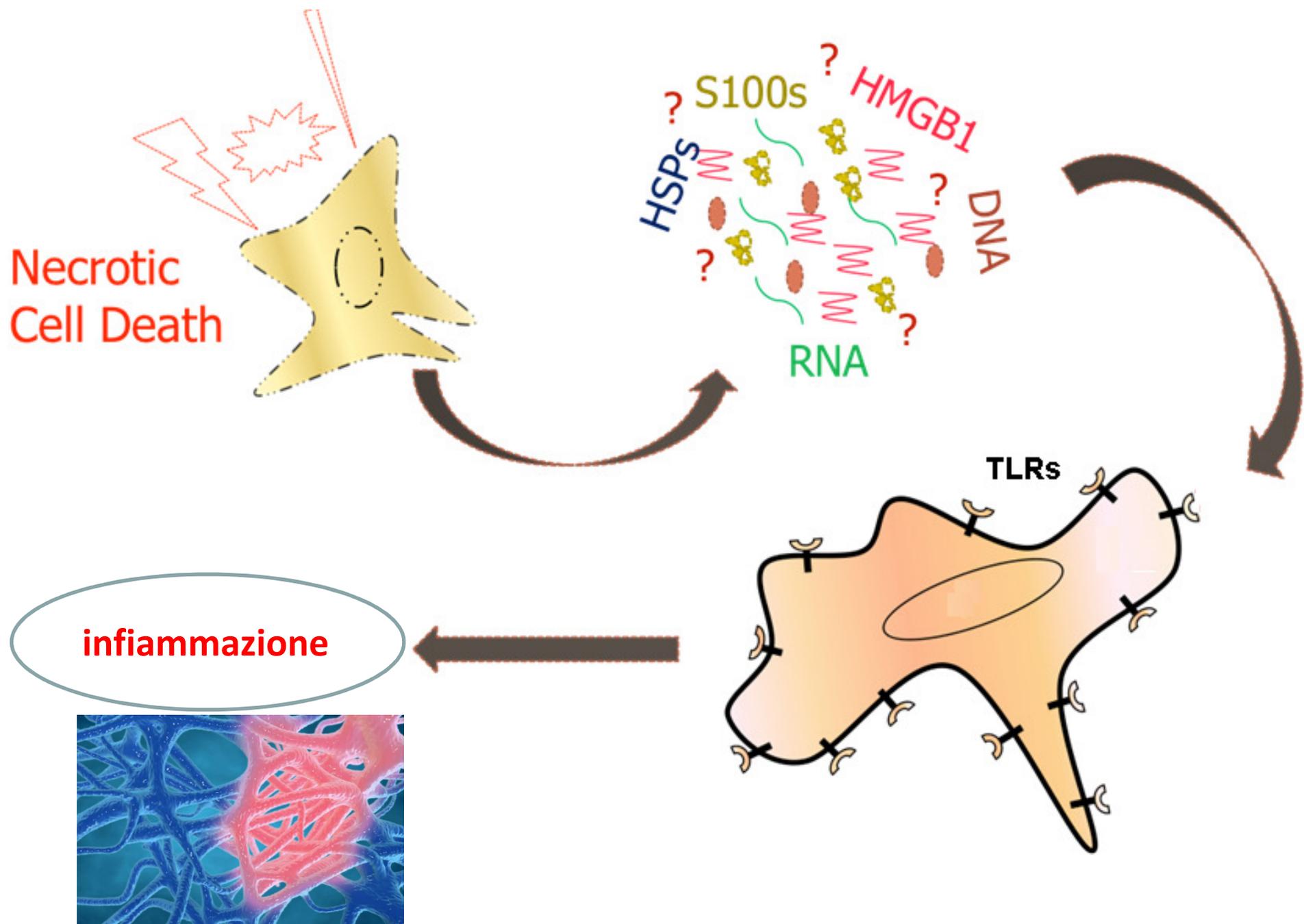
- sulla stessa cellula che le ha prodotte
- su altre cellule nelle immediate vicinanze
- o **sistemicamente**

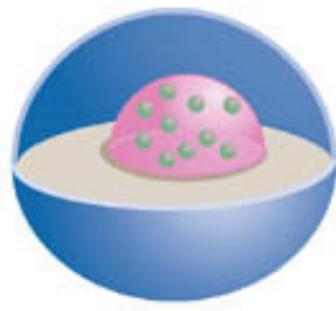


ALLARMINE E DAMPS



- **ALLARMINE** (HMGB1 e altre...) sono **danger-associated molecular patterns (DAMPs)**, che vengono attivamente secrete dalle cellule infiammatorie o passivamente rilasciate dalle cellule necrotiche.
- Una volta nell'ambiente extracellulare le allarmine attivano le cellule bersaglio attraverso il legame con recettori come i TLR.



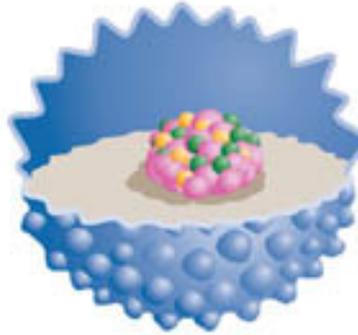


Any cell

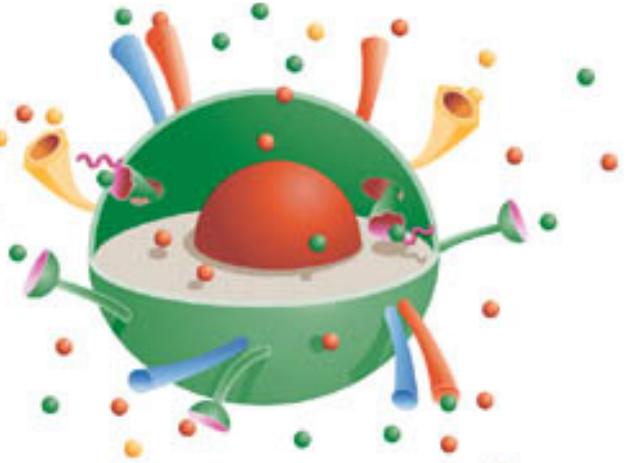
Injuries



Necrosis



Apoptotic cell



Target cell

Al contrario HMGB1 si lega irreversibilmente alla cromatina delle cellule apoptotiche.

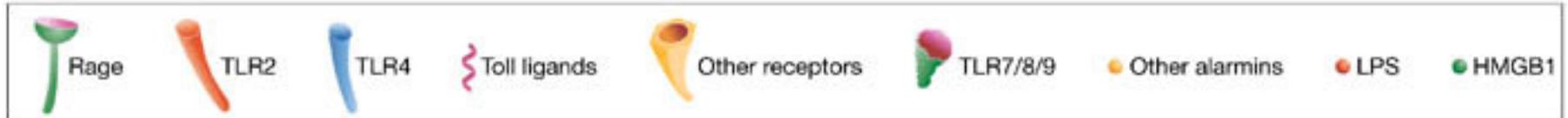
Inflammatory cell



Activation



Active secretion





TLR (=Toll Like Receptor) riconoscono i DAMPse i PAMPs

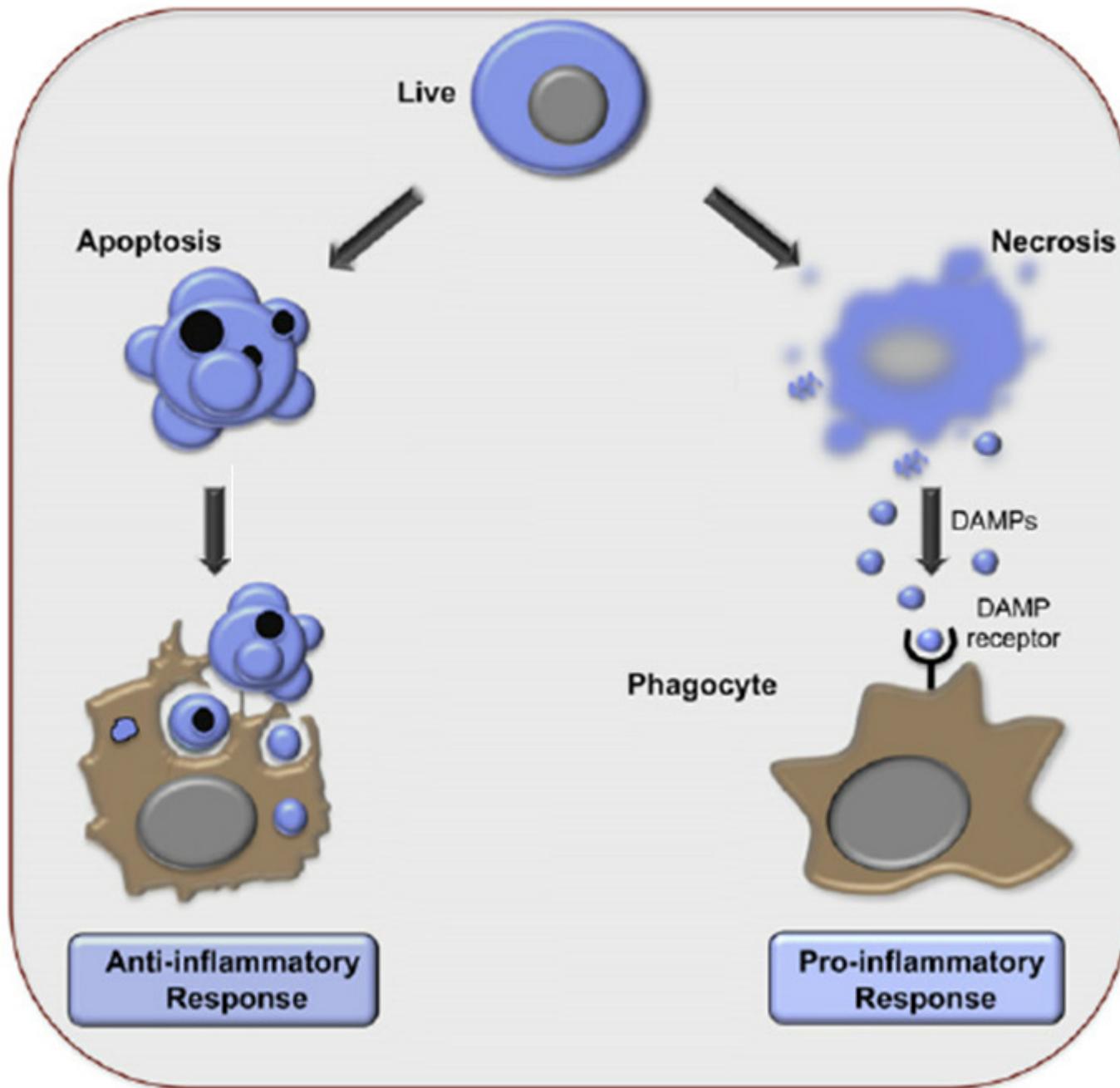


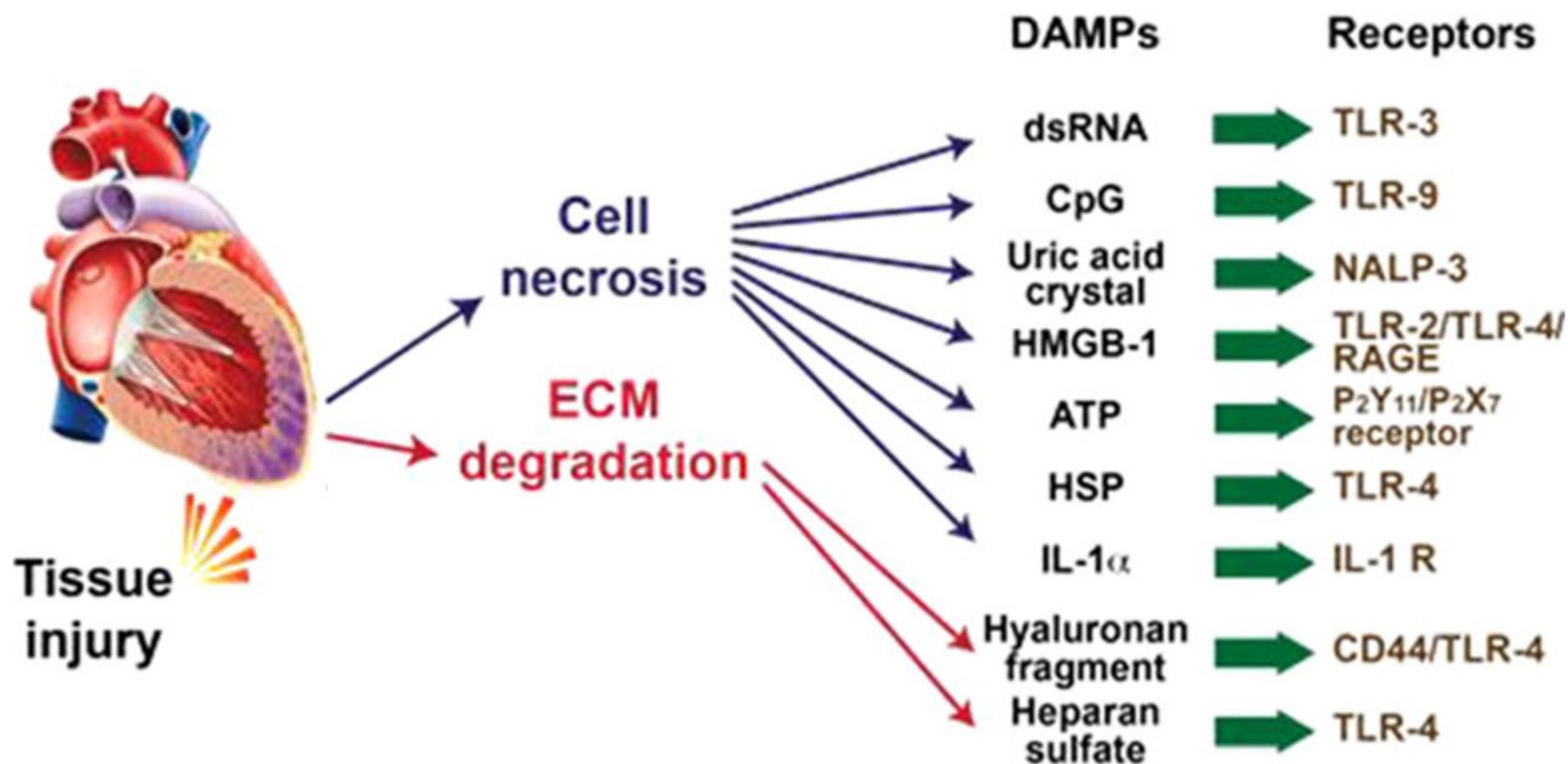
Questi fattori vengono riconosciuti da recettori presenti sui fagociti tra cui i **TLR (=Toll Like Receptor)**.

Nell'uomo sono stati finora individuati **una decina** di TLRs che rappresentano **la più numerosa famiglia di recettori dell'immunità innata**.

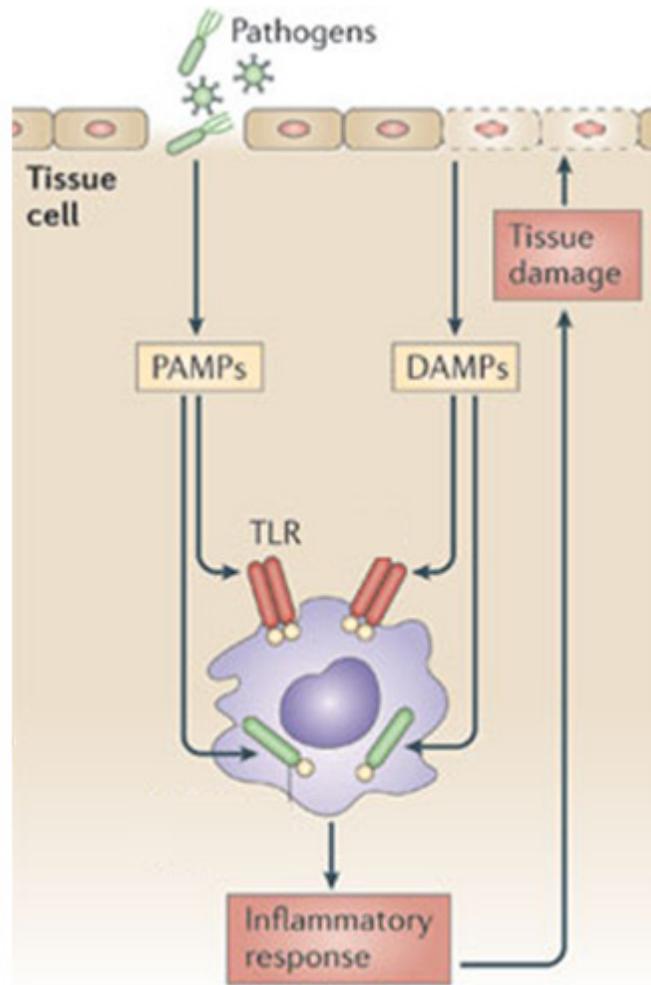
I TLRs percepiscono la presenza di un evento necrotico (riconoscendo le HSPs, i frammenti di eparansolfato, acido ialuronico, fibronectina = DAMPs), ma anche di componenti microbiche: RNA virale, DNA batterico, parete batterica., [Pathogen-associated molecular pattern (PAMPs)] e inducono l'espressione di numerosi geni per mediatori infiammatori (IL-1, IL-8, MCP, TNF,...).

I TLR sono ubiquitari, presenti sulle mast cells o mastociti (MC), cellule epiteliali, cellule infiammatorie, dendritiche (CD)...

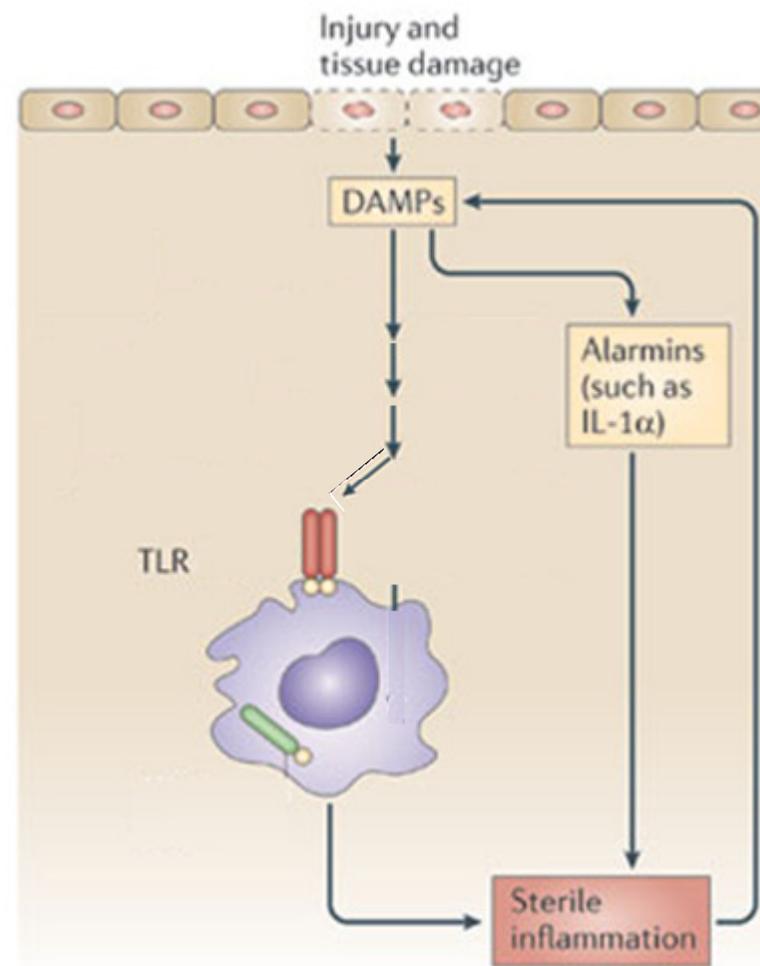




a Infection (PAMPs)



b Tissue damage (DAMPs)



Pathogen-associated molecular pattern

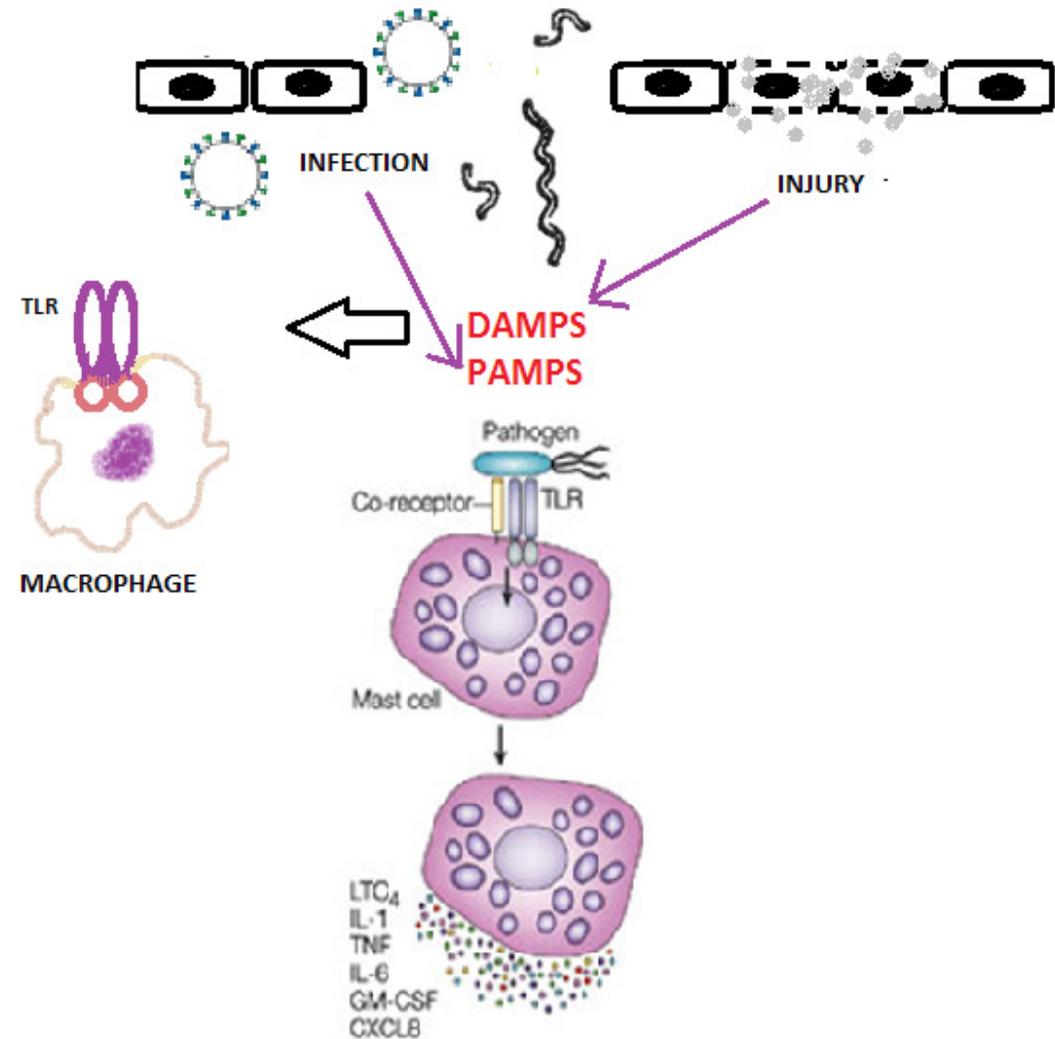
(PAMPs):

- RNA virale
- DNA batterico
- parete batterica
- fimbrie
- HSPs batteriche
- ...

Damage-associated molecular pattern

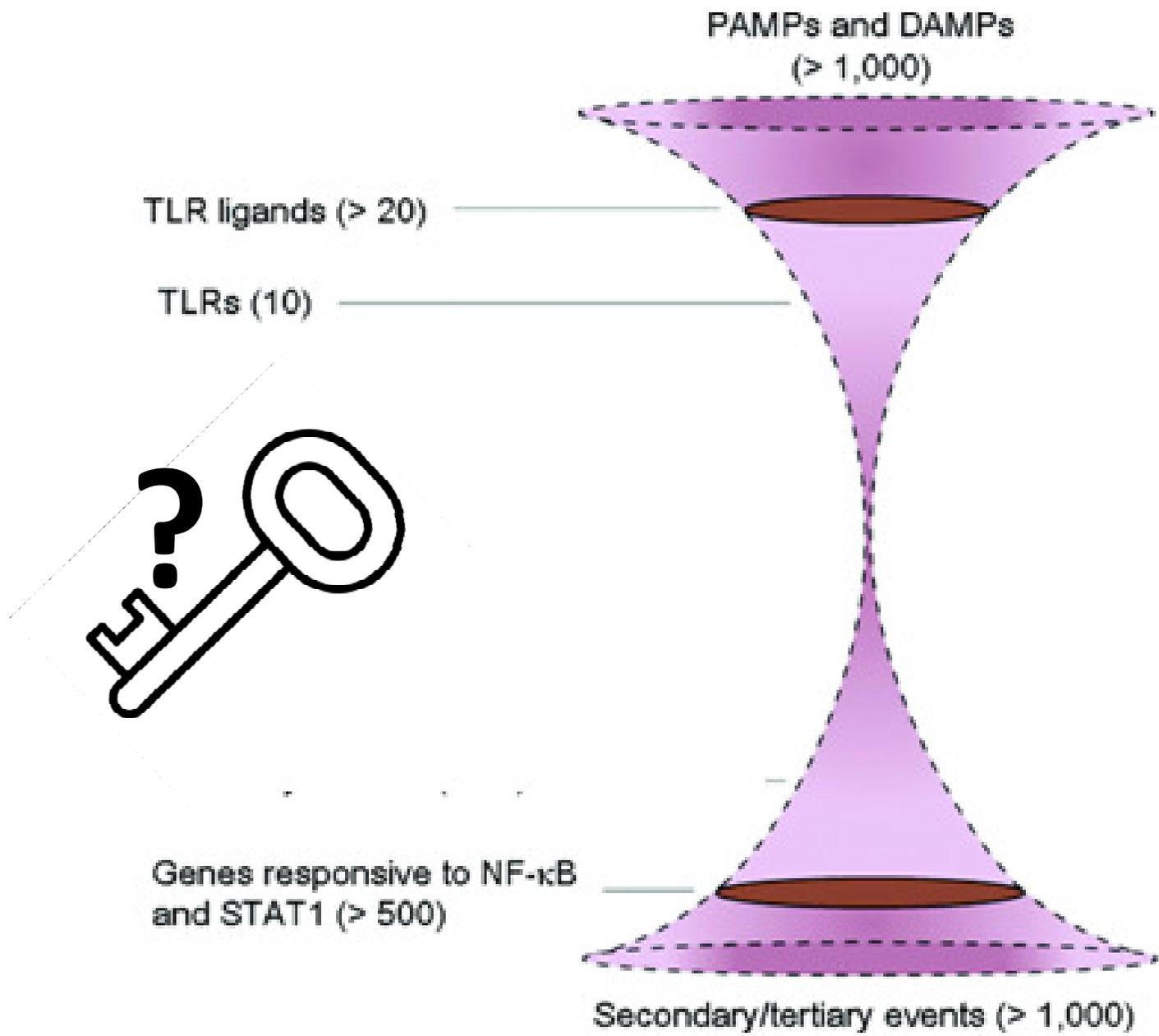
(DAMPs)

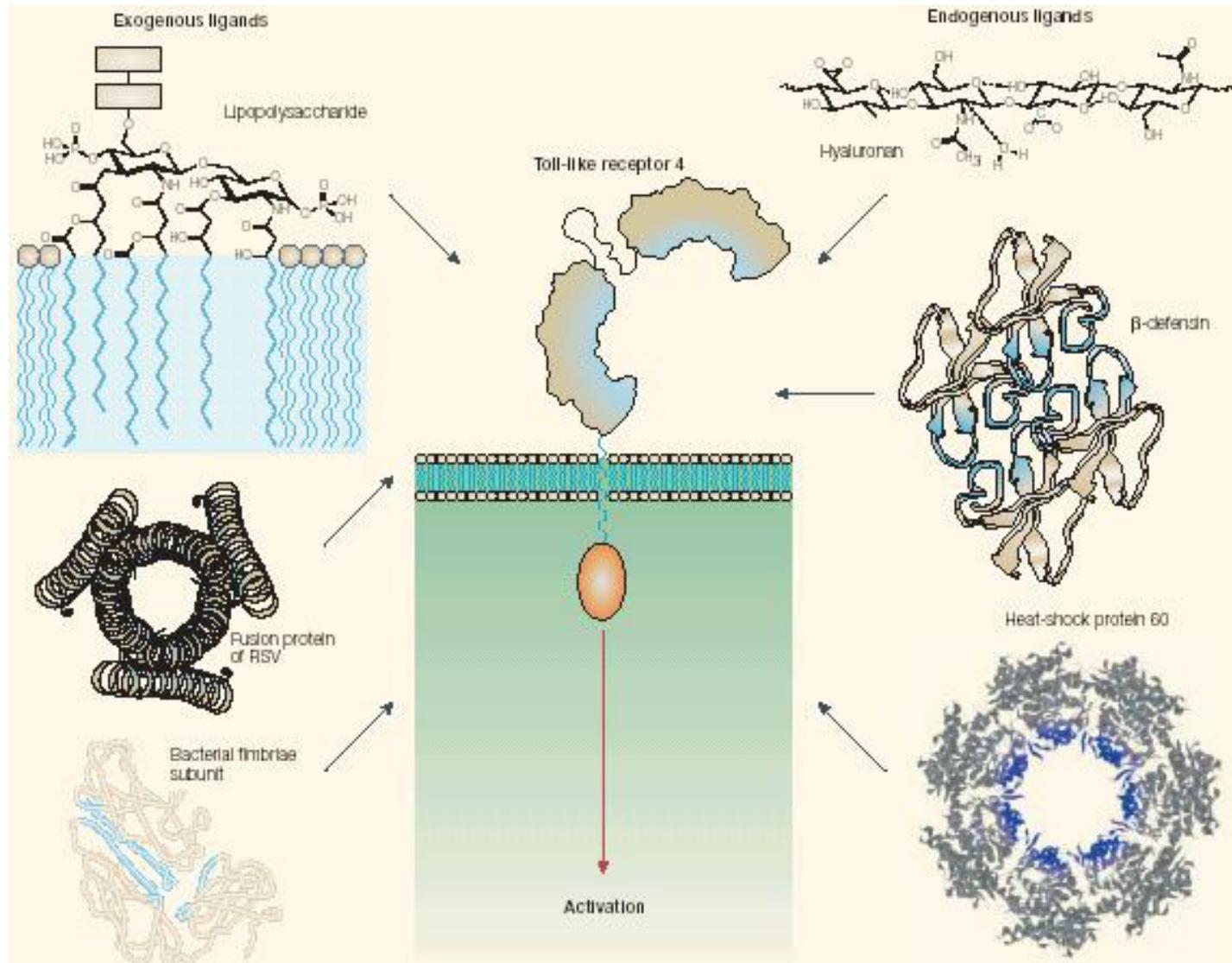
- acido urico
- HSPs
- HMGB1
- frammenti matrice



Damage-associated molecular pattern (DAMPs) Pathogen-associated molecular pattern (PAMPs)

TLR	Ligand DAMP	Ligand PAMP
TLR1		Triacyl lipoproteins
TLR2	Heat Shock proteins	Peptidoglycan
	HMGB1 (high mobility group box 1—amphoterin)	Lipoprotein
		Lipoteichoic acid
		Zymosan
TLR3	Self dsRNA	Viral dsRNA
TLR4	Heat shock proteins	Heat shock proteins
	Fibrinogen	Lipopolysaccharides
	Heparan sulfate	RSV fusion protein
	Fibronectin	MMTV (Mouse mammary tumor virus) envelope proteins
	Hyaluronic acid	Paclitaxel
	HMGB1	
TLR5		flagellin
TLR6		Lipoteichoic acid
		Triacyl lipoproteins
		zymosan
TLR7/TLR8	Self ssRNA	Viral ssRNA
TLR9	Self DNA	Bacterial and viral DNA
TLR10		
TLR11		Profilin





Ligands for TLR4 include both exogenous ligands, such as LPS, the fusion protein of RSV and bacterial fimbriae, and endogenous ligands, such as hyaluronan, b-defensin and HSP60.

These ligands do not seem to have common structural motifs. Blue colouration indicates hydrophobicity. (hypos=hydrophobic portions of molecules).

hyppos

hyppos=hydrophobic portions of molecules

Molti dei recettori che attivano l'immunità innata si sono evoluti per riconoscere e reagire alle porzioni idrofobiche (*hyppos*) delle molecole, non appena queste vengono esposte.



Gli organismi hanno un gran da fare per prevenire l'aggregazione delle *hyppos*, che per questo motivo sono raramente esposte in condizioni normali.

Lo diventano invece in condizioni di:

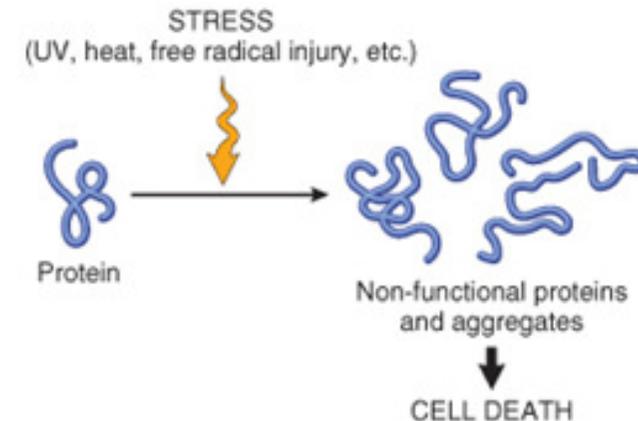
- **Danno cellulare:** possono essere rilasciate diverse specie di *hyppos*, compresi lipidi di membrana, molecole integrali di membrana e peptidi nascenti o denaturati.
- **Esposizione di *hyppos* anche in patologie da *misfolding* e in seguito a modificazioni della matrice extracellulare indotte da enzimi tissutali o derivati dai patogeni.**

L'improvvisa esposizione delle *hyppos* è quindi un segnale di danno e recettori specifici per le *hyppos* sono comparsi precocemente nell'evoluzione per percepire ed innescare la risposta cellulare a danno e promuovere la rigenerazione/riparazione.

Rewind



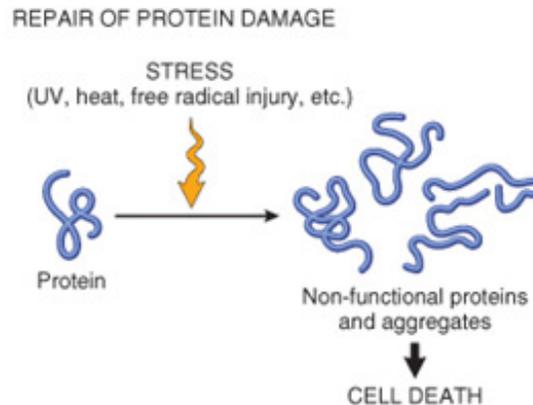
REPAIR OF PROTEIN DAMAGE





Molti dei recettori che innescano l'inflammation hanno ligandi che sono endogeni (self) ed esogeni (non-self), in ogni caso

è l'esposizione delle *hyppos* che fa di un ligando esogeno o endogeno un segnale di pericolo.



Conclusioni: induttori

ESOGENI:

Microbici:

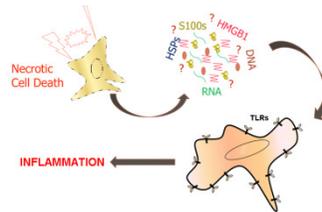
- pathogen-associated molecular patterns (PAMPs): rappresentano una classe altamente conservata di pattern molecolari condivisi da TUTTI (anche i commensali!) microrganismi, cui corrisponde un set di recettori (pattern-recognition receptors).

Non microbici:

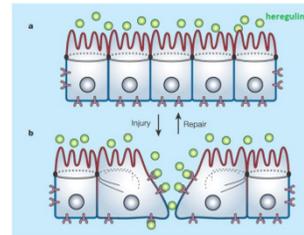
- allergeni (loro sensori ancora piuttosto sconosciuti), irritanti, composti tossici e corpi estranei [es. fibre di amianto, fagocitosi frustrata]; incapsulati da granuloma, cellule giganti...].

ENDOGENI prodotti da tessuti *stressati*, danneggiati o malfunzionanti.

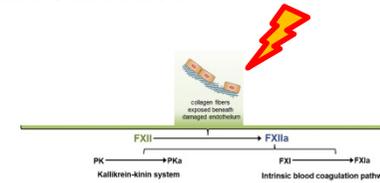
- Indotti dalla *desequstrazione* di cellule o molecole che nei tessuti intatti sono mantenute separate: necrosi: *unscheduled* danno vascolare



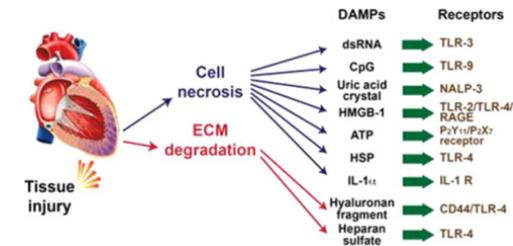
unscheduled



danno vascolare

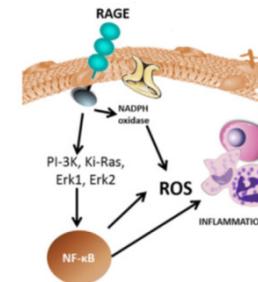


- Prodotti di degradazione della matrice prodotti nei tessuti danneggiati



- Un'altra classe di induttori endogeni coinvolti nella risposta infiammatoria al danno sono

AGEs
(Advanced Glycation End-products)



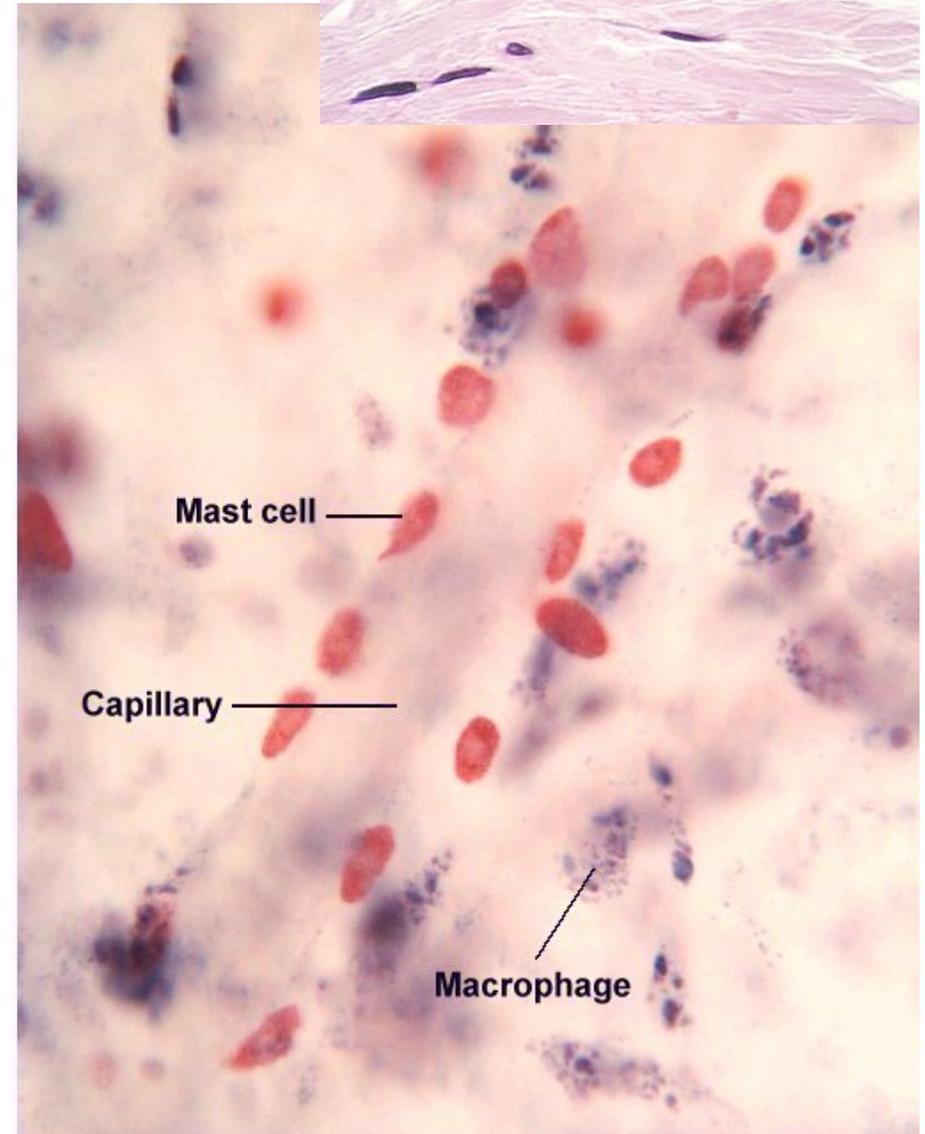
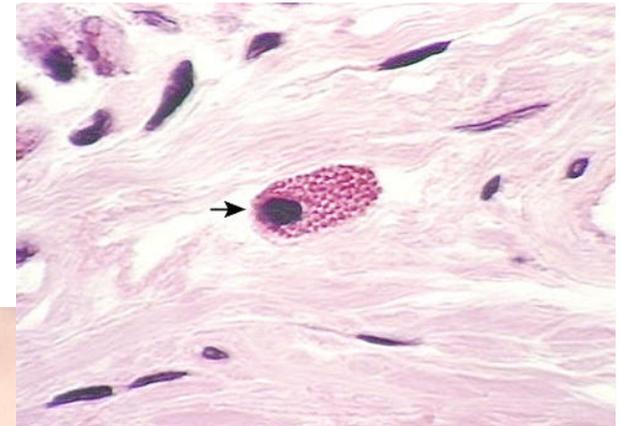
e i sensori???

MAST CELLULE (MC)

Le mast cellule derivano dal midollo osseo e sono ampiamente distribuite nei tessuti, principalmente nei pressi dei vasi sanguigni e dei nervi al di sotto degli epitelii (su mucose e sierose es. peritoneo). Il citoplasma delle mast cellule contiene granuli che contengono diversi mediatori biologicamente attivi.

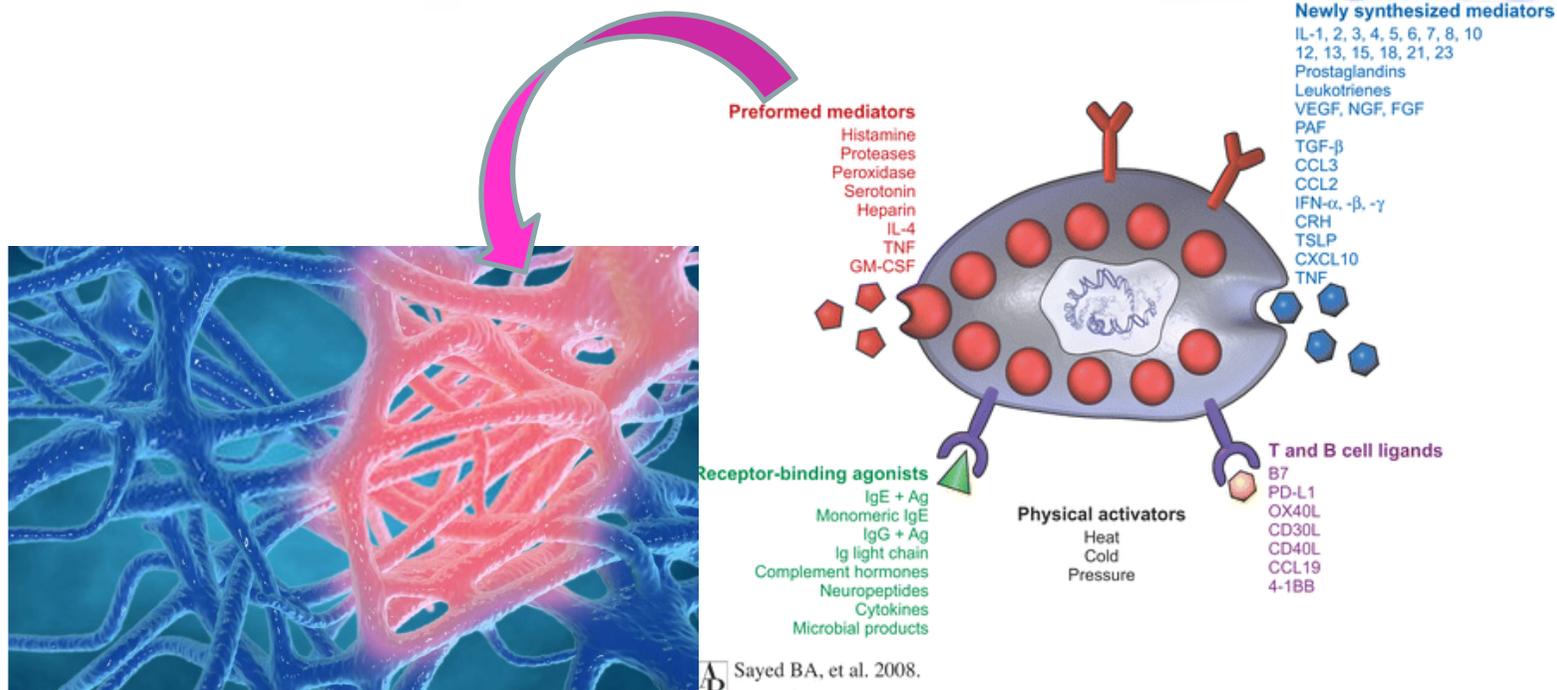
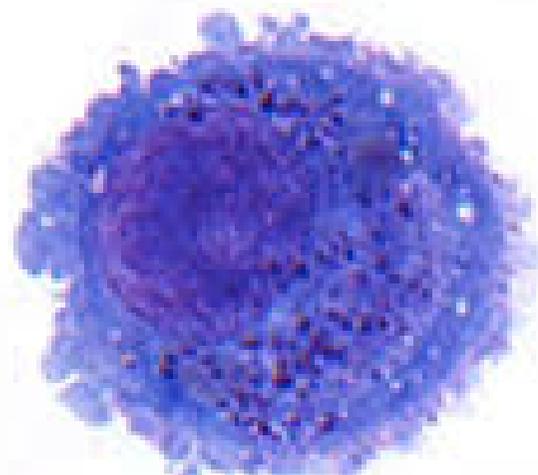
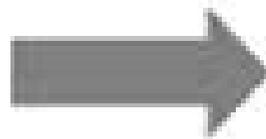
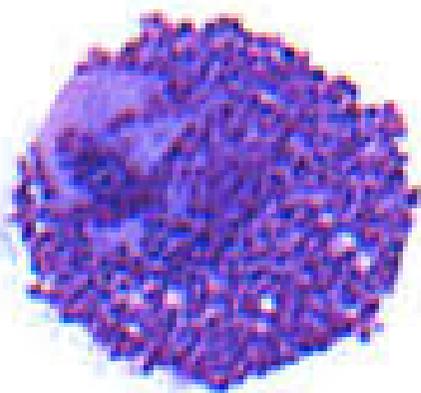
Le MC sono estremamente sensibili alle variazioni ambientali →
Attivatori delle MC:

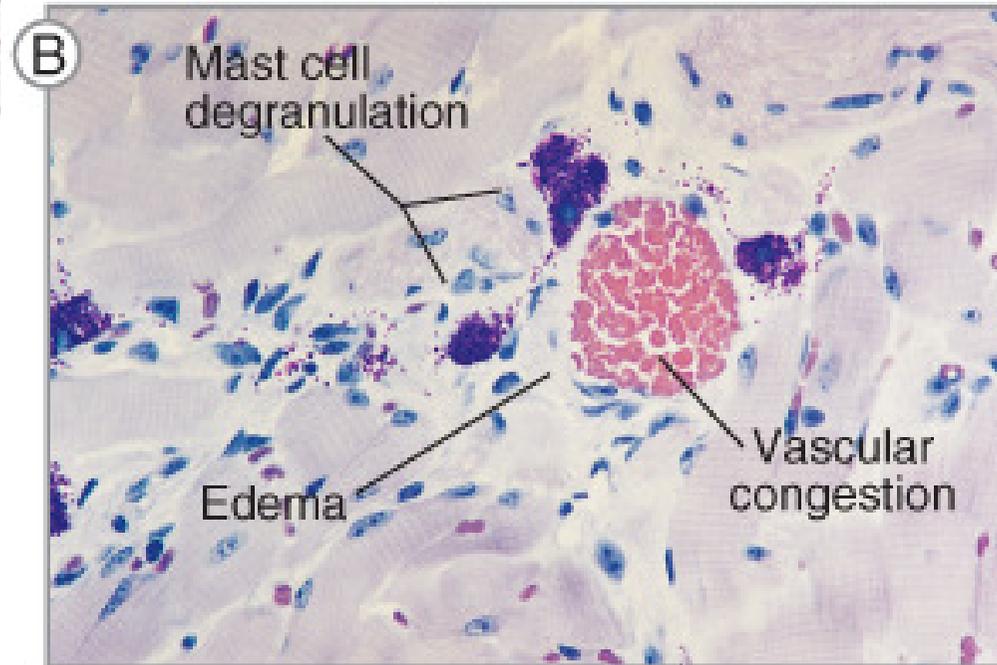
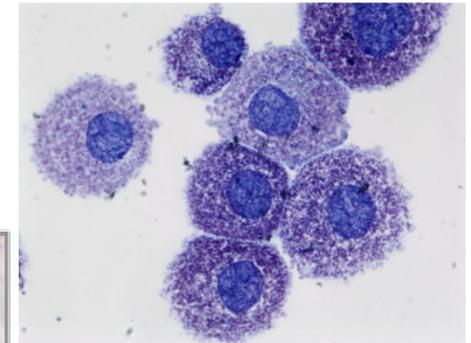
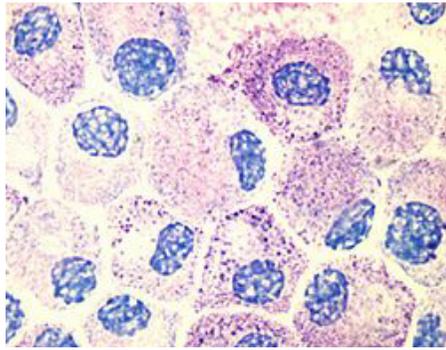
- UV
- CALORE/FREDDO
- TRAUMA MECCANICO
- LPS
- FRAMMENTI DEL COMPLEMENTO (C3a e C5a)
- TUTTI I LIGANDI DEI TLRs
- Anticorpi IgE e IgG con i loro antigeni.



Resting mast cell

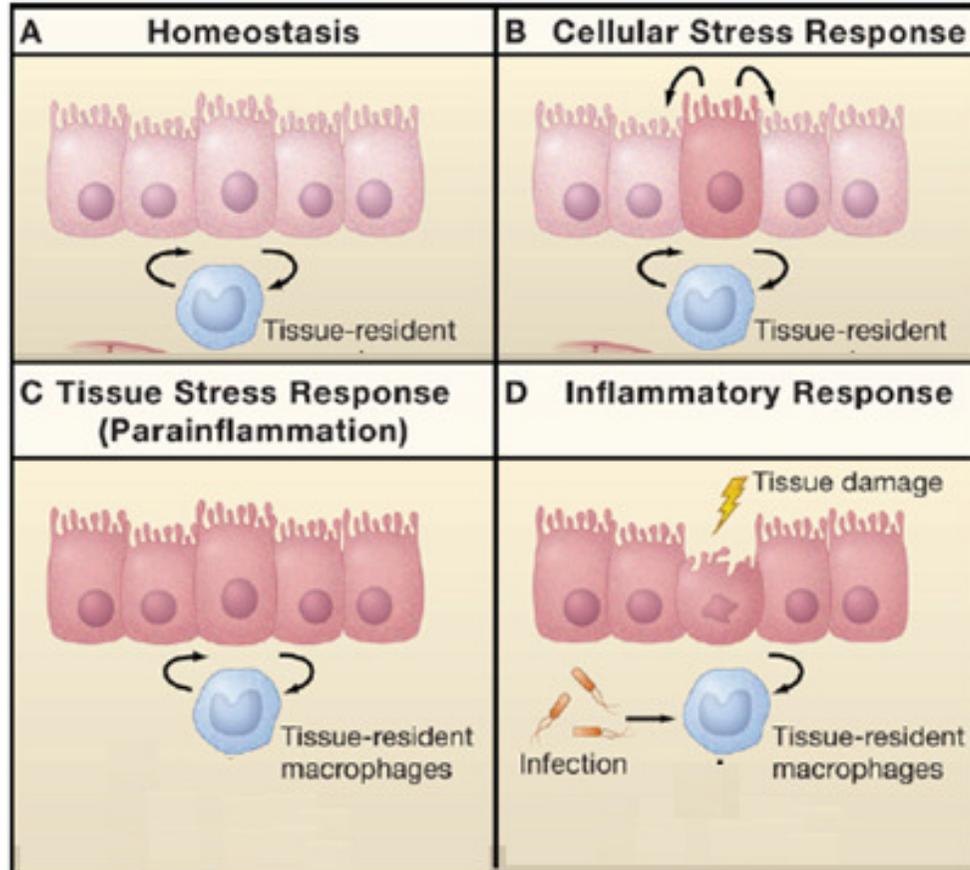
Activated mast cell





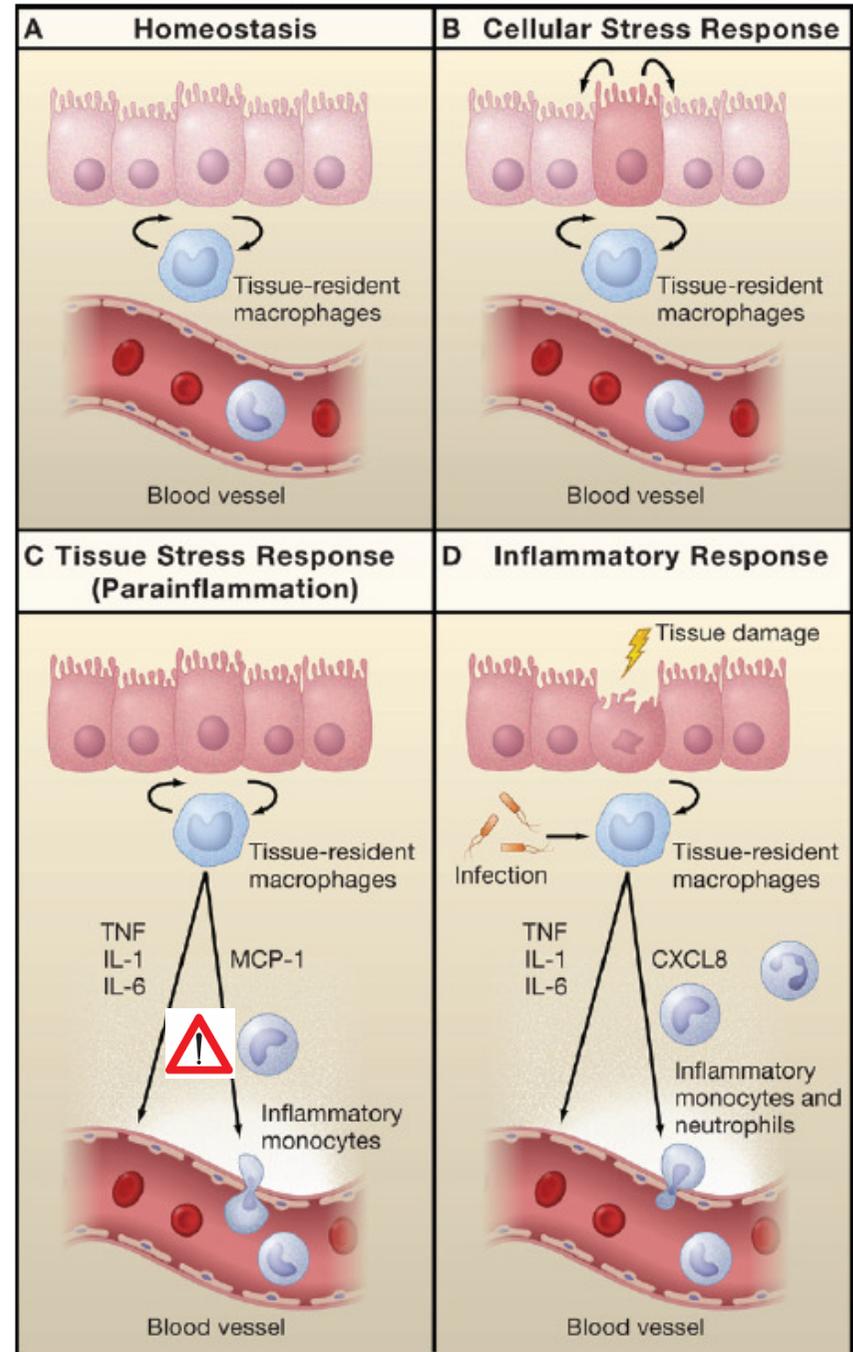
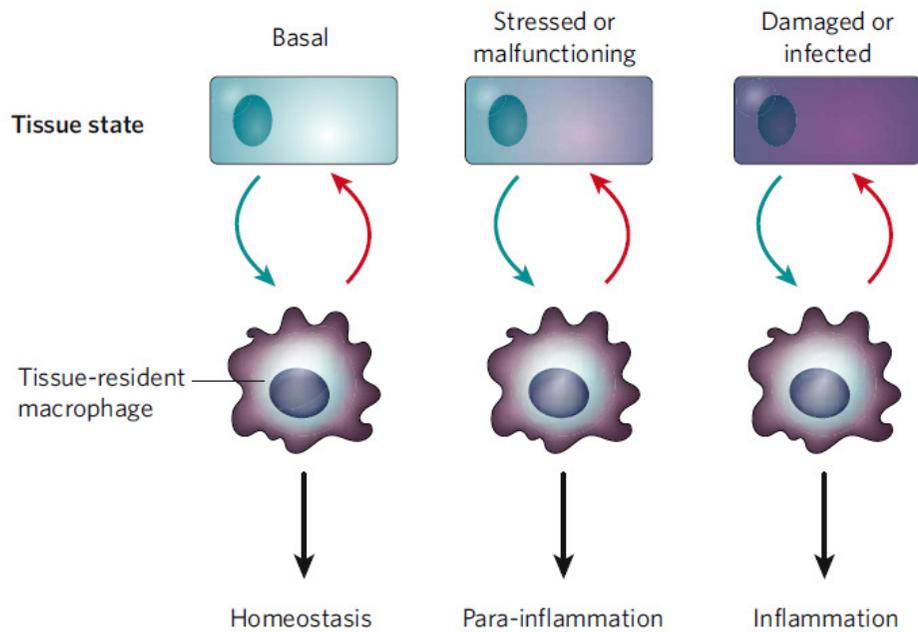
© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com

Sensori... non solo *mast cells*



Lo stato delle cellule e dei tessuti è probabilmente monitorato principalmente dai macrofagi residenti (e, in alcuni tessuti, anche mastociti)





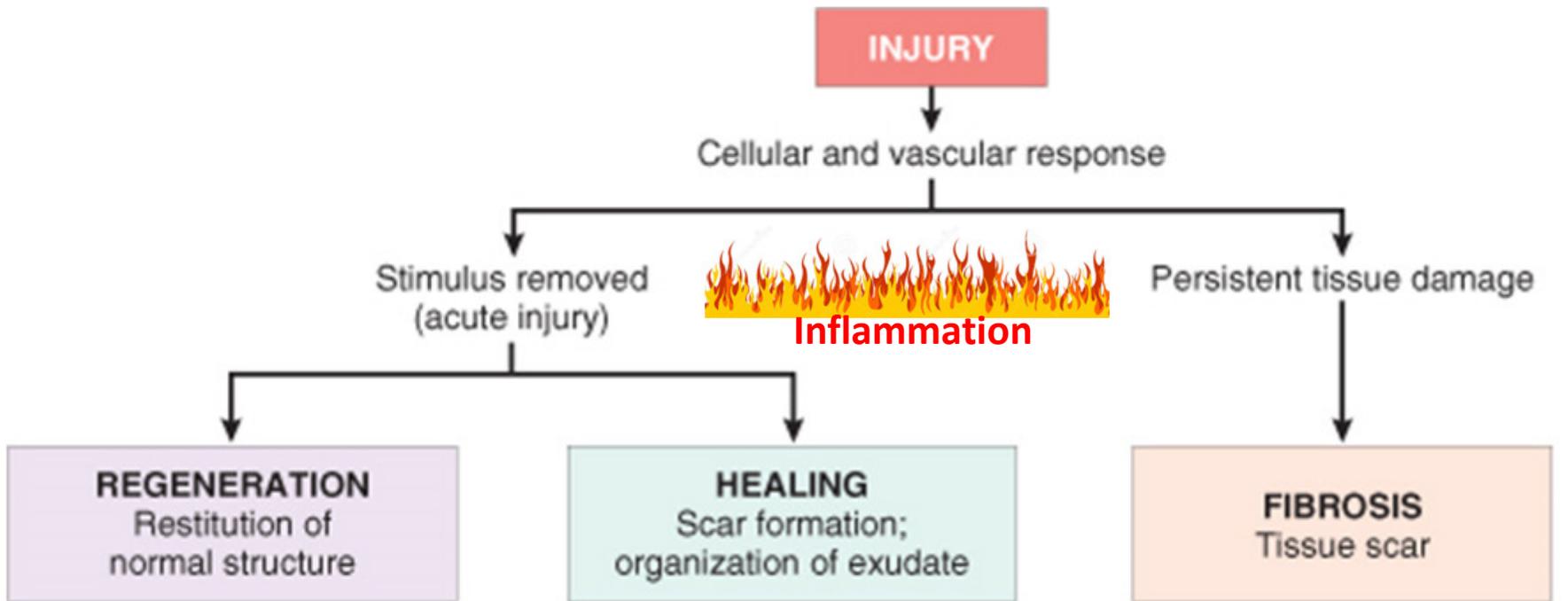
Inflammation and the Stress Response

L'INFIAMMAZIONE

Vari stimoli esogeni ed endogeni possono causare danno cellulare, gli stessi stimoli possono innescare nel tessuto connettivo vascolarizzato un complesso di reazioni che nel loro insieme prendono il nome di INFIAMMAZIONE



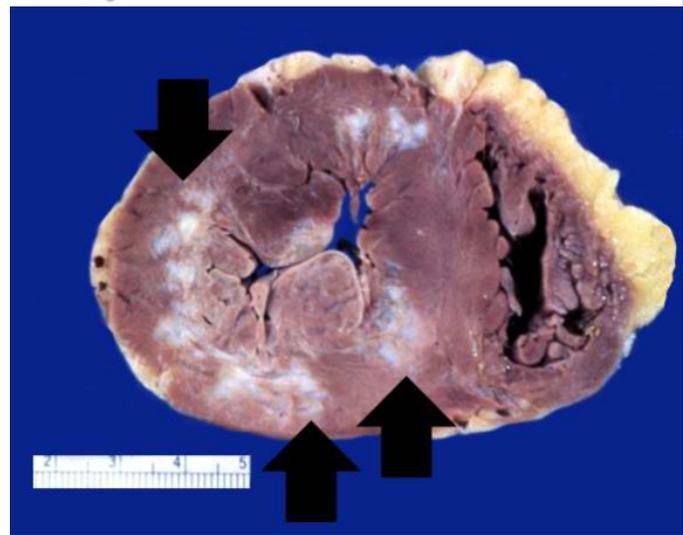
L'infiemmazione (I) è essenzialmente una risposta protettiva il cui obiettivo finale è l'eliminazione della causa iniziale di danno cellulare (es. microrganismi o tossine) sia delle sue conseguenze (es. cellule e tessuti necrotici).



Examples:
Superficial skin wounds
Resorption of exudate in lobar pneumonia



Examples:
Deep excisional wounds
Myocardium infarction



Examples:
cirrhosis, chronic pancreatitis



L'INFIAMMAZIONE

L'infiammazione è strettamente connessa ai processi di guarigione: la risposta infiammatoria diluisce, distrugge o isola gli agenti causali, e mette in moto una sequenza di eventi che, per quanto possibile, producono la guarigione e la sostituzione del tessuto danneggiato.

La guarigione inizia già durante le fasi iniziali dell'infiammazione ma, di norma, raggiunge il suo **completamento** quando (**e solo se**) lo stimolo lesivo è stato **neutralizzato**.

Durante la riparazione il tessuto danneggiato

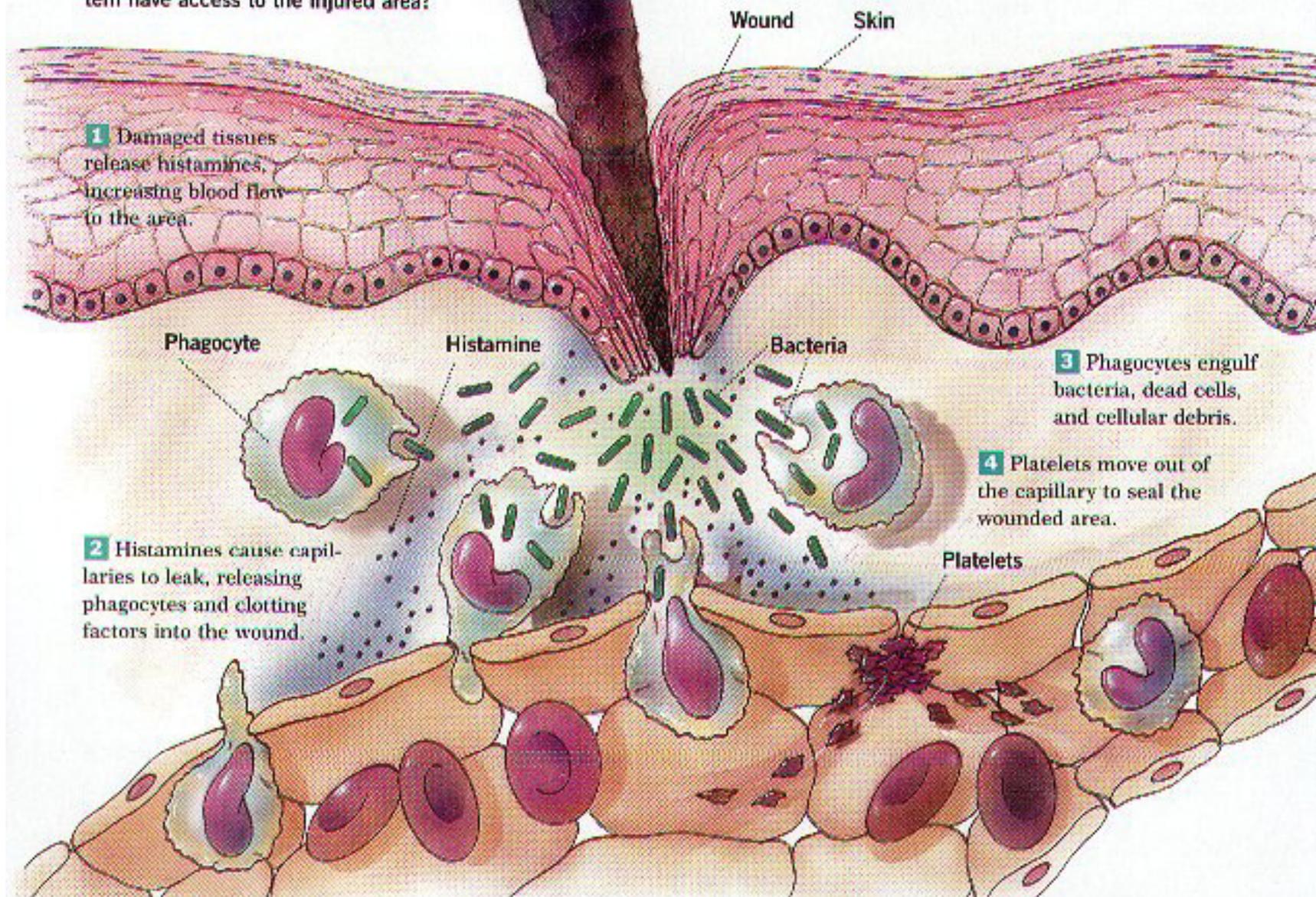
- viene sostituito dalla rigenerazione delle cellule parenchimali native,
- o con tessuto connettivo prodotto dai fibroblasti (tessuto cicatriziale)
- o più comunemente si ha la combinazione di questi due processi.

Sebbene l'infiammazione aiuti ad eliminare il danno/l'infezione e renda possibile la guarigione delle ferite, **rappresenta comunque un potenziale danno**.

Farmaci anti-infiammatori mirano a potenziare gli effetti benefici dell'infiammazione controllandone le pericolose conseguenze.

Steps of the Inflammatory Response

The inflammatory response is a body's second line of defense against invasion by pathogens. Why is it important that clotting factors from the circulatory system have access to the injured area?



INFIAMMAZIONE ACUTA (I.A.) e INFIAMMAZIONE CRONICA (I.C.)

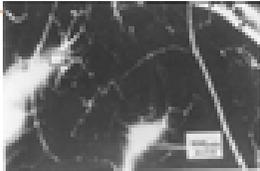
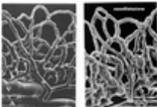
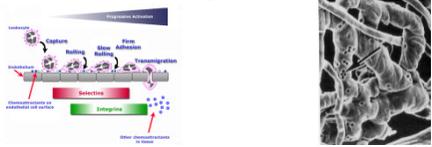
L'infiammazione si distingue in:

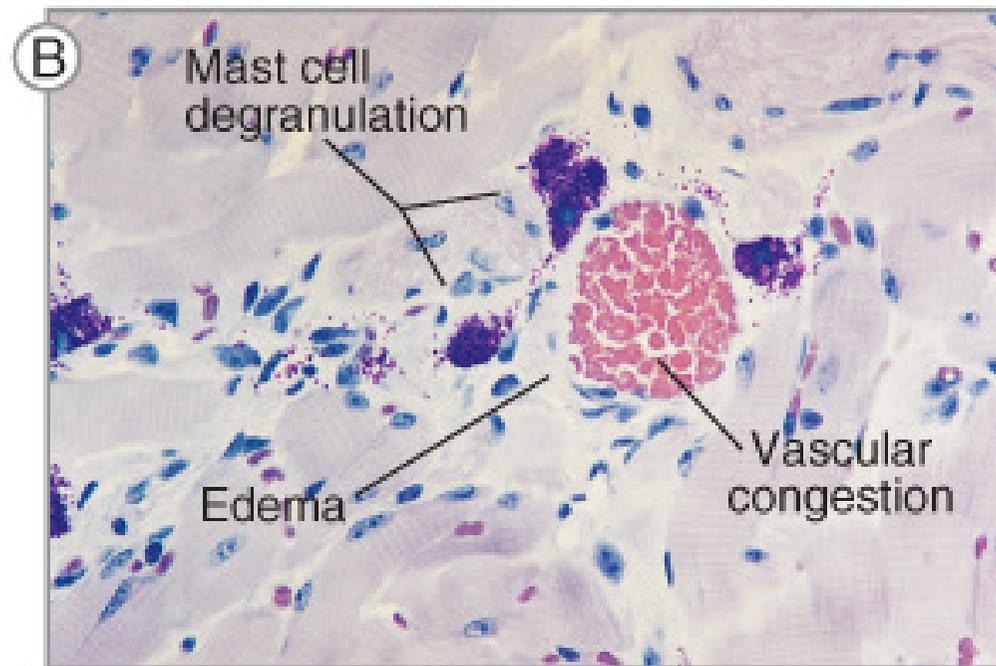
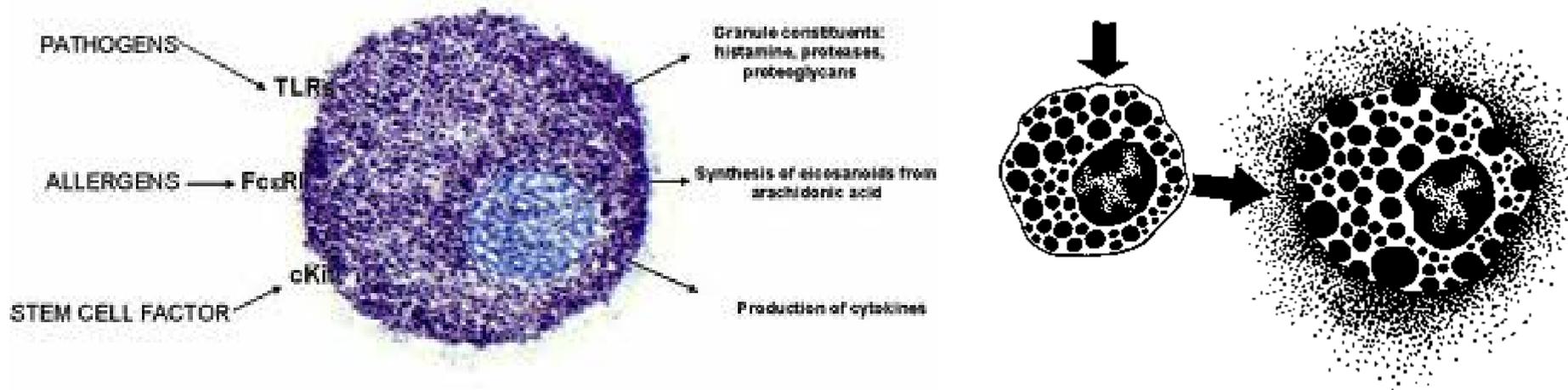
L'**I.A.** è di durata relativamente breve (da pochi minuti a pochi giorni) ed è caratterizzata dalla formazione di un essudato composto da liquidi e proteine plasmatiche e da un accumulo di leucociti, prevalentemente di **NEUTROFILI**.

L'**I.C.** è di durata > (giorni o anni) ed è caratterizzata dalla persistenza del danno, dalla presenza di linfociti e **MACROFAGI (M ϕ)**, da proliferazione di vasi sanguigni, da fibrosi e necrosi tessutale.

Mediatori infiammatori

Uno stimolo infiammatorio iniziale innesca il rilascio di mediatori chimici, di derivazione plasmatica o cellulare (liberati, attivati o prodotti dal plasma o dalle cellule), i quali regolano le conseguenti risposte vascolari e cellulari.

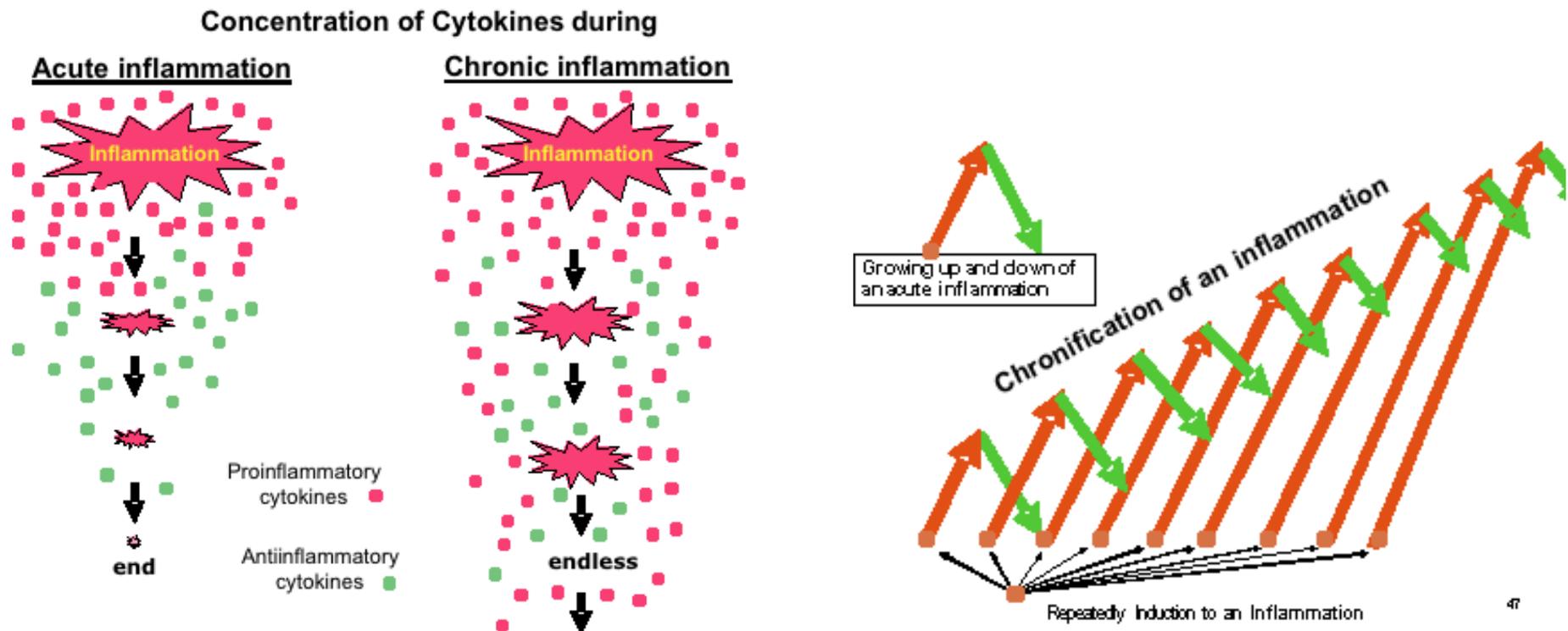
Symptom	Mediators
<p><i>Vascular permeability</i></p> 	<p>Vasoactive amines Bradykinin Leukotrienes C₄, D₄, E₄ PAF Complement (C3a and C5a) Substance P Nitric oxide</p>
<p><i>Vasodilatation</i></p> 	<p>Nitric oxide PGI₂, PGE₁, PGE₂, PGD₂ Hydrogen peroxide</p>
<p><i>Chemotaxis and leukocyte adhesion</i></p> 	<p>Chemokines LTB₄, HETE, lipoxins Complement (C5a) Bacterial antigens Superoxide</p>
<p><i>Pain</i></p>	<p>Bradykinin Prostaglandins Superoxide</p>
<p><i>Fever</i></p>	<p>IL-1; TNF; IL-6 Prostaglandins</p>
<p><i>Tissue and endothelial damage</i></p>	<p>Reactive oxygen species Nitric oxide (iNOS) Lyzosomal enzymes</p>



Mediatori infiammatori

Tali mediatori chimici, agendo insieme o in sequenza, amplificano la risposta infiammatoria iniziale e ne influenzano l'evoluzione.

La risposta infiammatoria termina quando lo stimolo dannoso viene rimosso e i mediatori infiammatori vengono catabolizzati o inibiti.



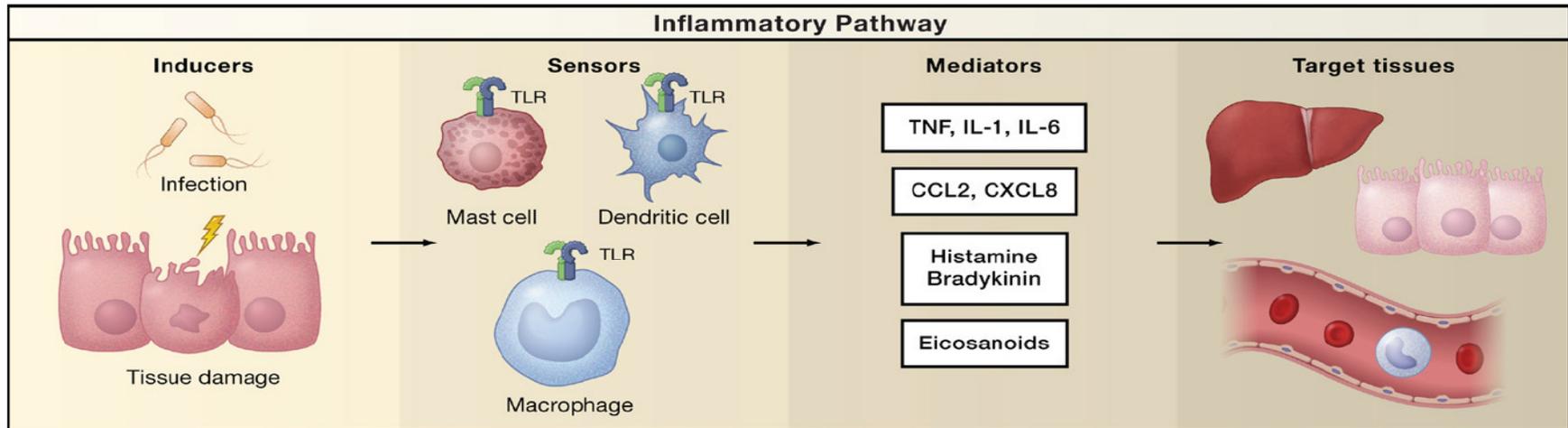
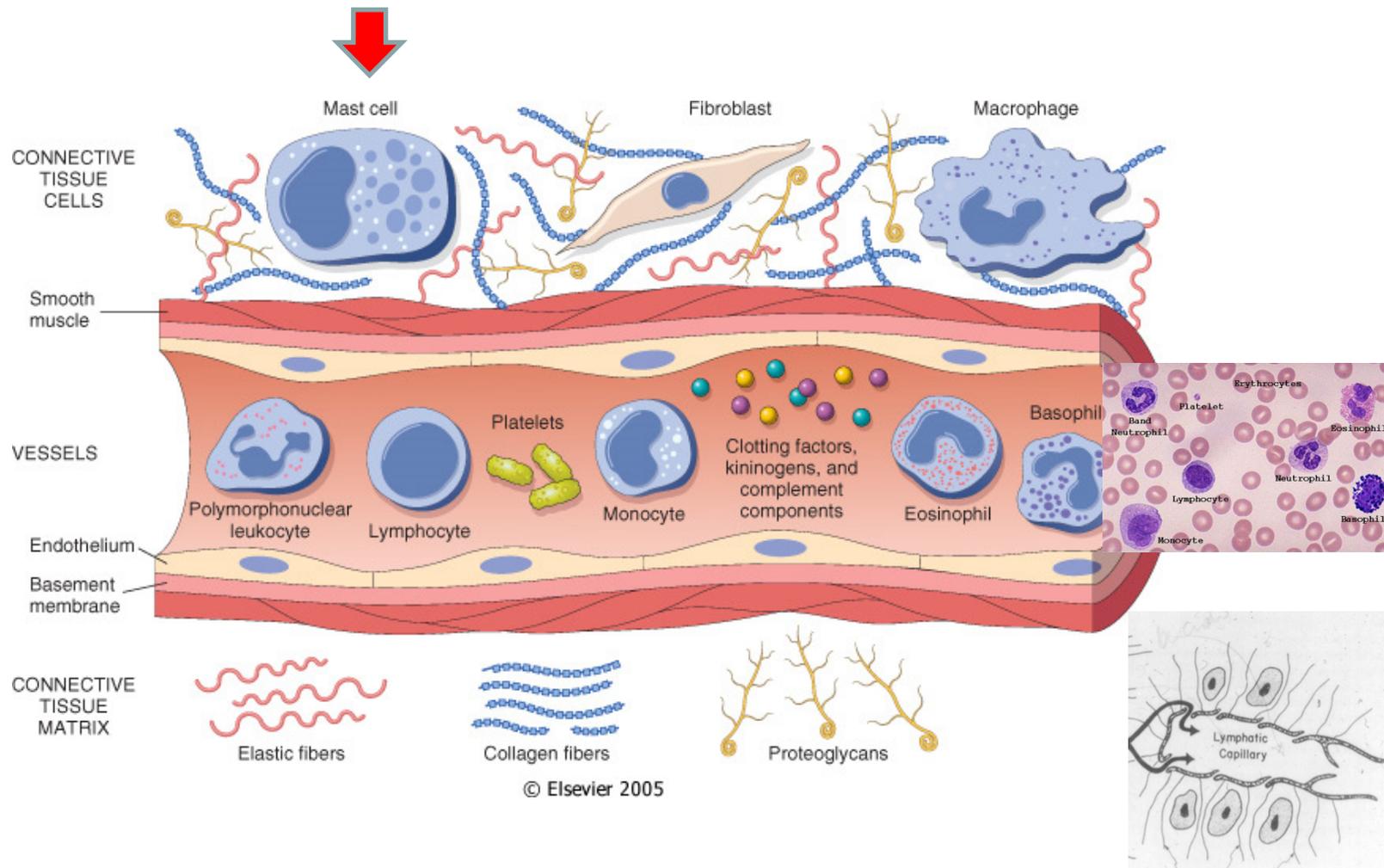


Figure 1. Inflammatory Pathway Components

The inflammatory pathway consists of inducers, sensors, mediators, and target tissues. Inducers initiate the inflammatory response and are detected by sensors. Sensors, such as Toll-like receptors (TLRs), are expressed on specialized sentinel cells, such as tissue-resident macrophages, dendritic cells, and mast cells. They induce the production of mediators, including cytokines, chemokines, bioactive amines, eicosanoids, and products of proteolytic cascades, such as bradykinin. These inflammatory mediators act on various target tissues to elicit changes in their functional states that optimize adaptation to the noxious condition (e.g., infection or tissue injury) associated with the particular inducers that elicited the inflammatory response. The specific components shown represent only a small sample of the myriad different sensors, mediators, and target tissues involved in the inflammatory response.



La risposta infiammatoria ha luogo nel tessuto connettivo vascolarizzato, che comprende il **plasma**, le **cellule circolanti**, i **vasi sanguigni**, i **componenti cellulari ed extracellulari del tessuto connettivo**.

INFIAMMAZIONE ACUTA

L'I.A. è la risposta immediata e precoce al danno.

- Una sua funzione critica è il portare i leucociti nel sito di danno dove essi potranno eliminare l'agente infettivo e degradare il tessuto necrotico conseguente al danno.
- Sfortunatamente gli stessi leucociti possono prolungare l'infiammazione e danneggiare essi stessi il tessuto rilasciando enzimi, mediatori chimici o RL.

L'I.A. ha 3 maggiori componenti:

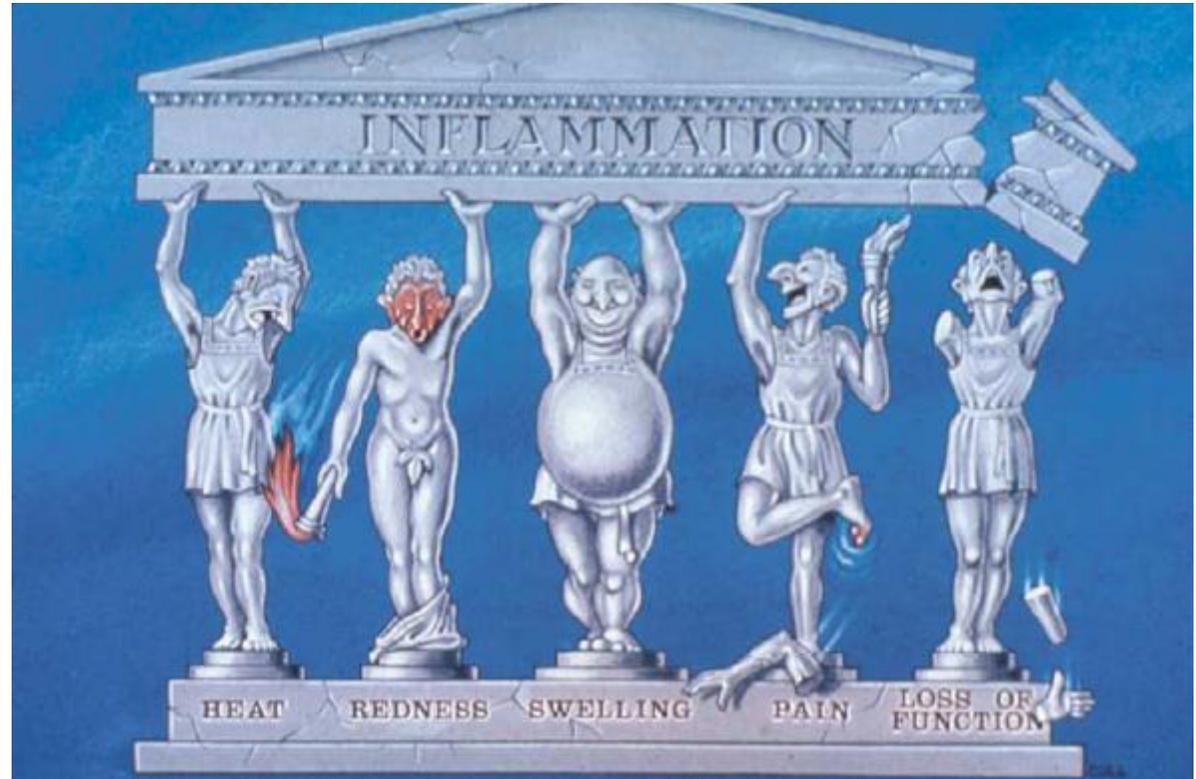
- alterazioni vascolari che portano ad un aumento locale del flusso sanguigno (**vasodilatazione**);
- cambiamenti strutturali dei vasi del microcircolo che permettono alle proteine plasmatiche e ai leucociti di lasciare la circolazione (**aumento permeabilità vasale**);
- **migrazione leucocitaria** e accumulo nel sito di danno.

5 principali segni dell'infiammazione acuta

Tali componenti sono responsabili dei 3 dei 5 principali segni dell'infiammazione acuta:

- il calore (**calor**)
- il rossore (**rubor**)
- il rigonfiamento (**tumor**).

Gli altri 2, il dolore (**dolor**) e la perdita funzionale (**functio lesa**), avvengono come ulteriore conseguenza dell'elaborazione di mediatori e della migrazione leucocitaria.



Tumor, rubor, calor, dolor (A. C. Celsus, De re medica, 30 DC) e functio lesa (Galeno, 2° secolo dopo Cristo)

Cambiamenti vascolari

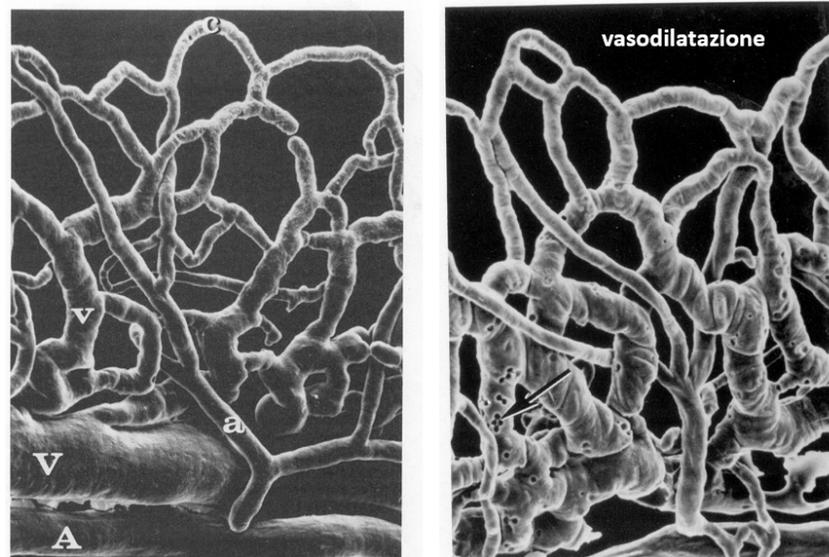
Cambiamenti nel flusso e calibro vascolare (avvengono relativamente presto e possono essere di diversa entità seconda della natura e intensità dello stimolo iniziale):

➤ VASODILATAZIONE

Dopo una incostante e transitoria vasocostrizione delle arteriole (secondi) avviene la **vasodilatazione** → **eritema e calore**.

La vasodilatazione interessa inizialmente le arteriole e si traduce in un aumento del flusso ematico, che è causa di calore e arrossamento.

La durata della vasodilatazione dipende dallo stimolo e **ad essa segue l'evento successivo: la riduzione del flusso**.

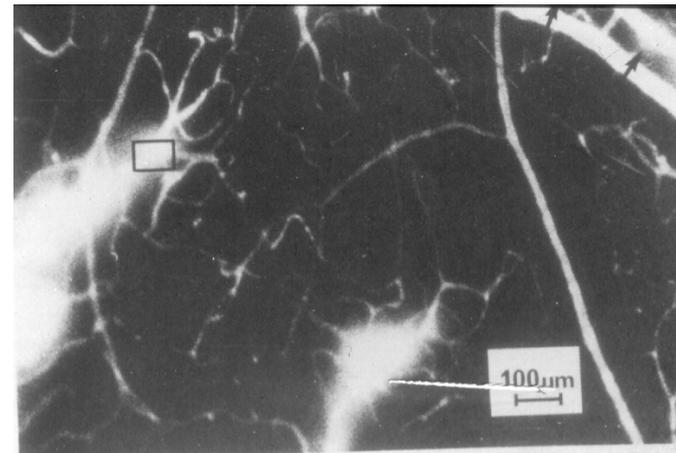


Cambiamenti vascolari

➤ AUMENTO DI PERMEABILITA' VASCOLARE

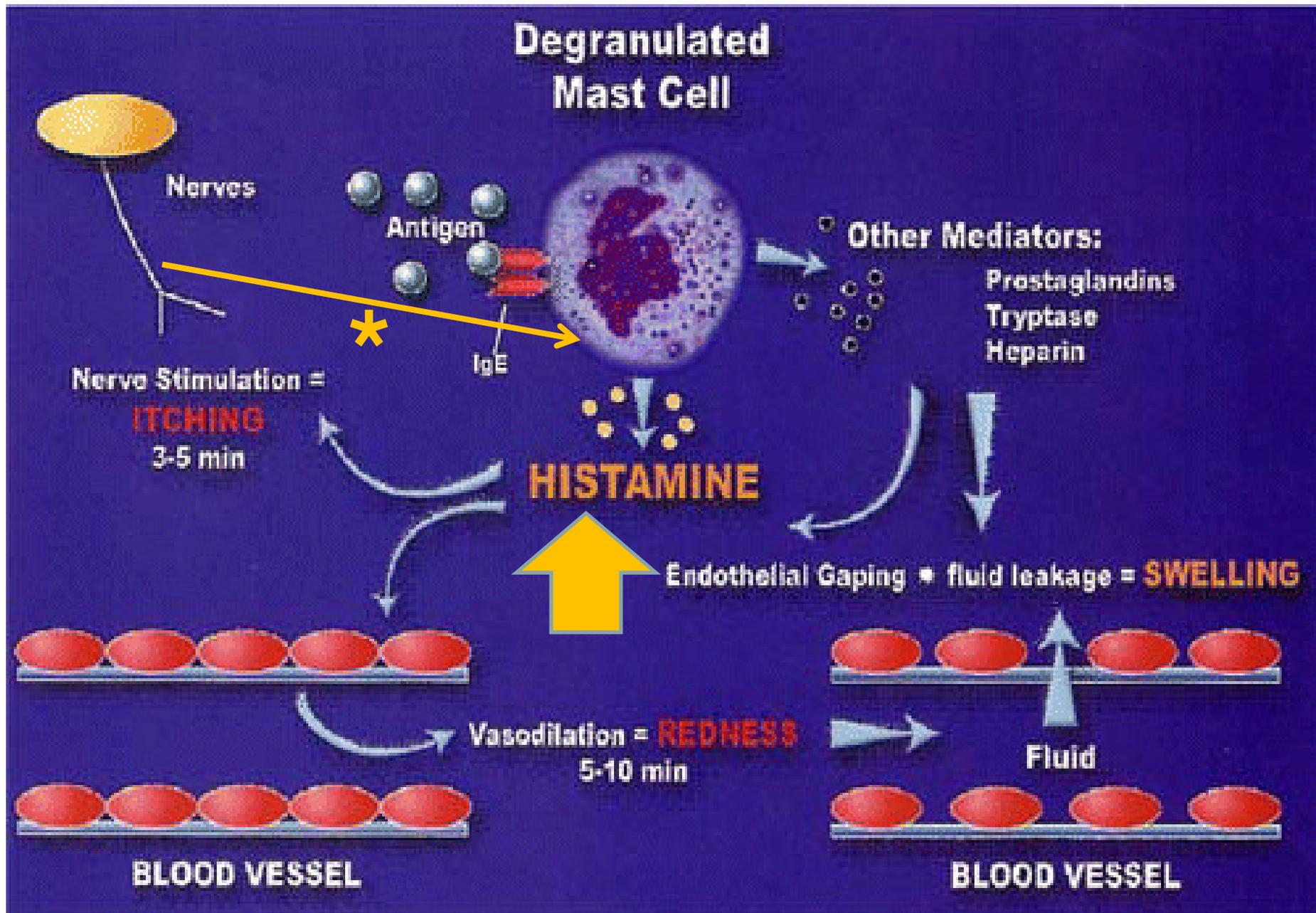
La riduzione del flusso dipende dall'aumento della permeabilità vascolare del microcircolo.

Il microcircolo diviene più permeabile con conseguente fuoriuscita di liquido ricco di proteine all'esterno dei vasi, nei tessuti.



Questo determina un aumento della concentrazione dei globuli rossi, **umentando la viscosità del sangue** e rallentando la circolazione. Questi cambiamenti si manifestano morfologicamente con numerosi piccoli vasi dilatati, pieni di eritrociti, condizione nota come **STASI**.

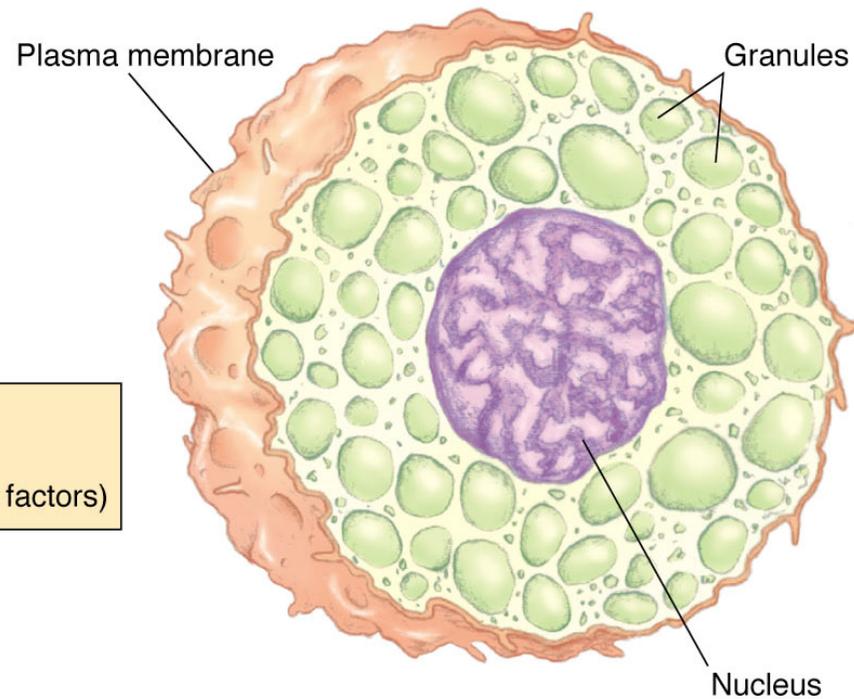
All'instaurarsi della stasi i leucociti si accumulano sulla superficie vascolare dell'endotelio (marginazione) e dopo aver aderito alle cellule endoteliali, migrano attraverso la parete vascolare nel tessuto interstiziale (MIGRAZIONE).



Cause: Mast cell stimulated by:

- Physical injury (e.g., trauma, radiation, temperature extremes)
- Chemical agent (e.g., toxin, venom, enzyme, neutrophil-produced protein)
- Immunologic process (e.g., allergic reaction/IgE antibody, activated complement)

• **La stimolazione dei nocicettori (sostanza P)!**



Result: Degranulation

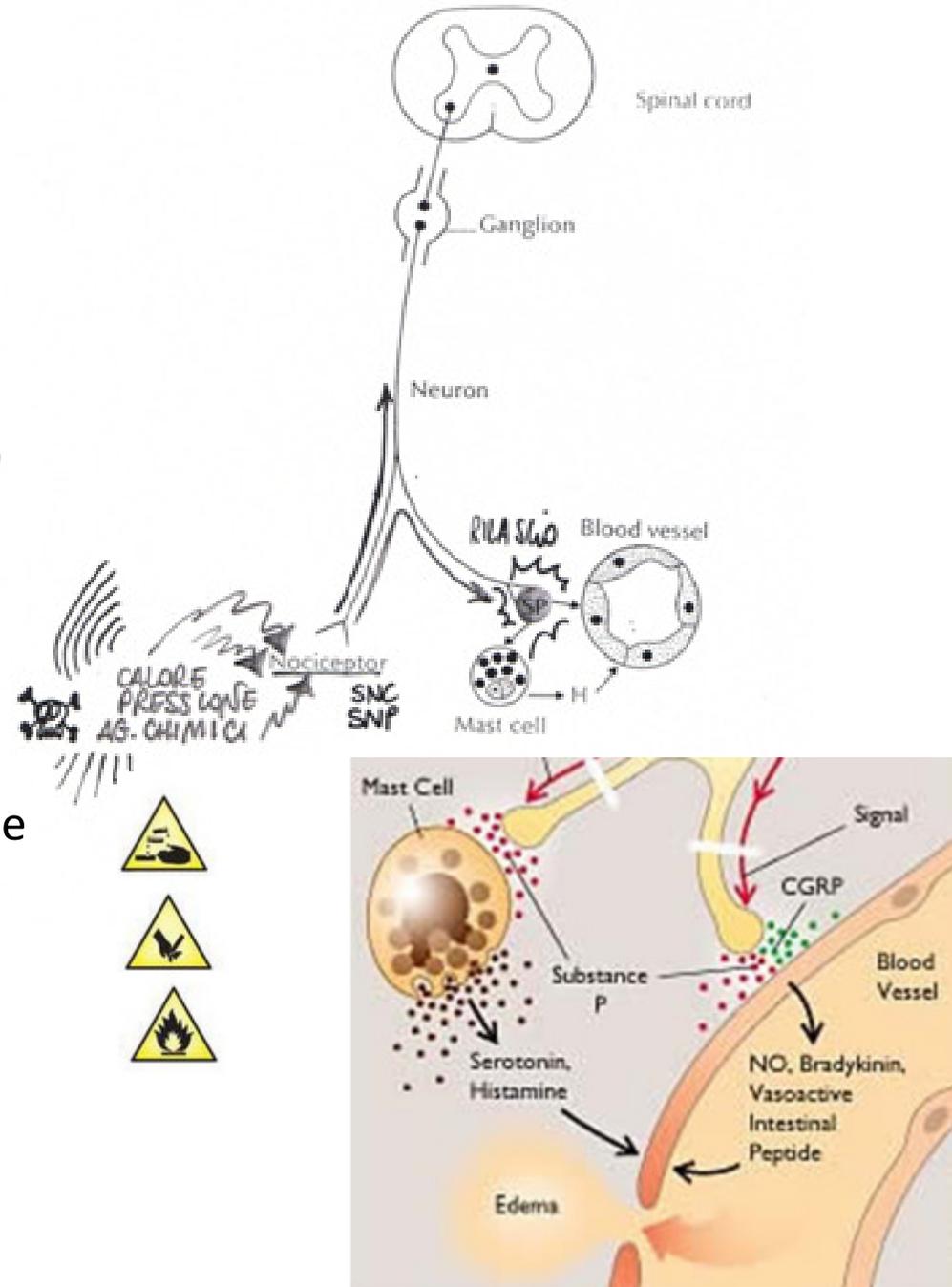
(release of histamine, serotonin, and chemotactic factors)

Result: Synthesis

(construction of leukotrienes and prostaglandins)

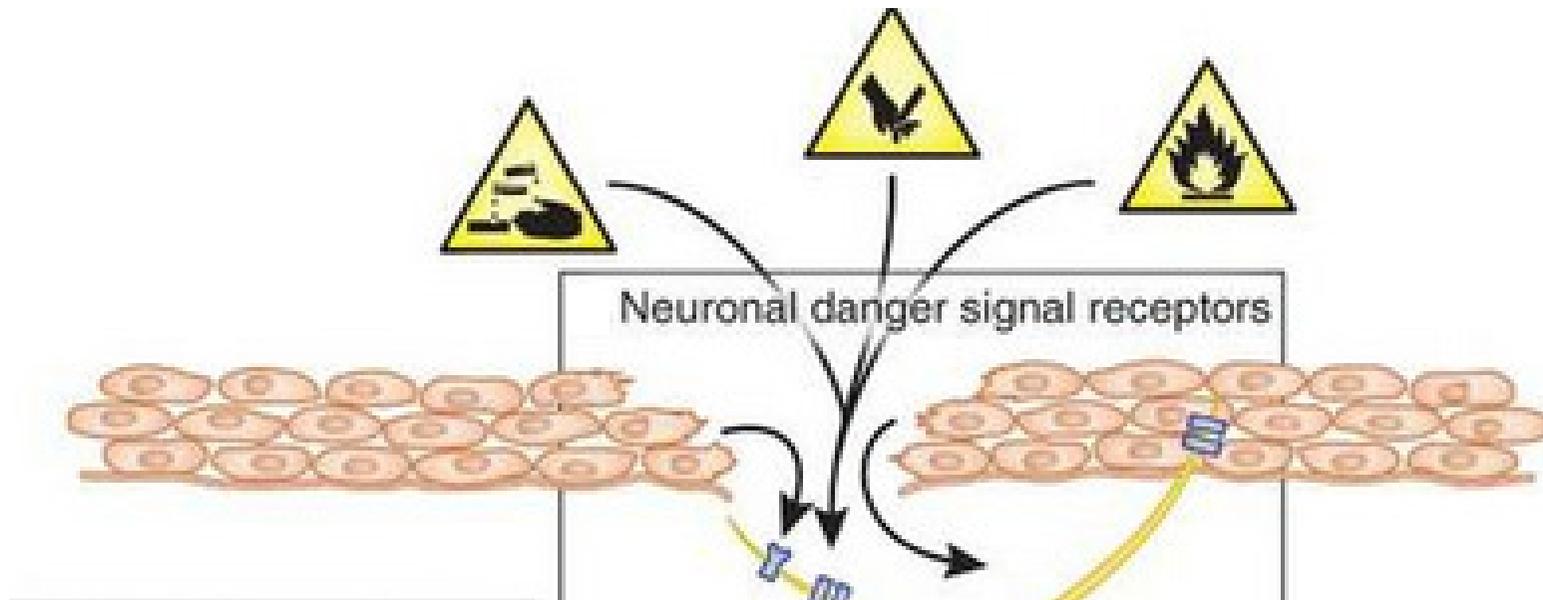
Neurogenic Inflammation

La stimolazione dei nocicettori (calore, pressione o agenti chimici) genera un impulso che viene trasmesso vs il midollo spinale, ma che al punto di biforcazione del neurone ritorna indietro verso l'organo effettore, dove determina il rilascio di sostanza P (e altri...) che agisce direttamente o indirettamente (via mast cells-istamina) sui vasi sanguigni.

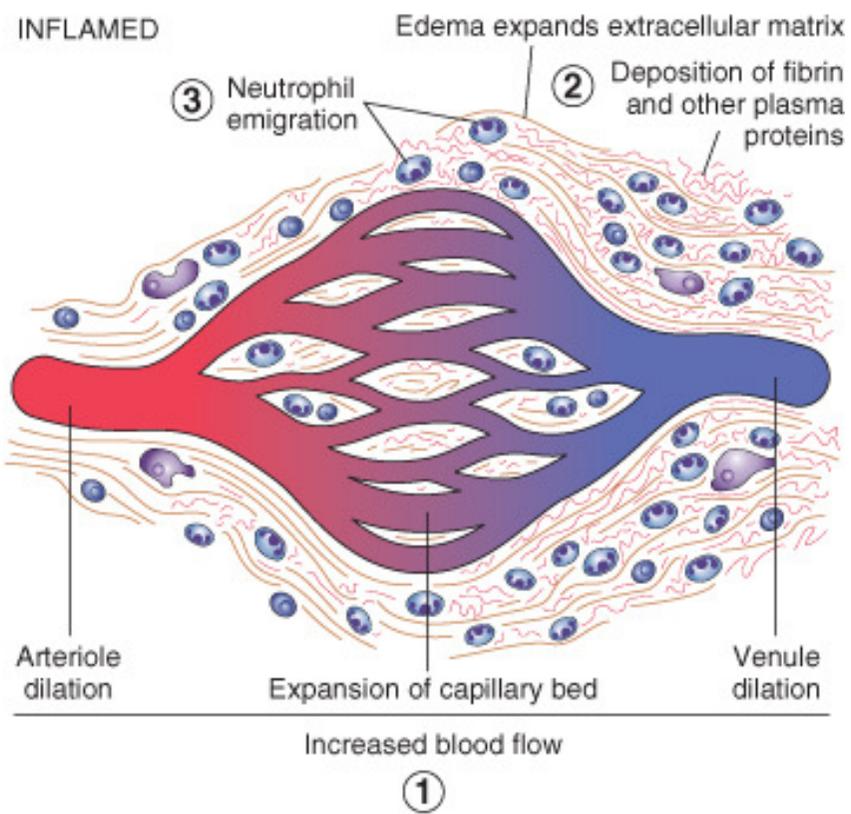
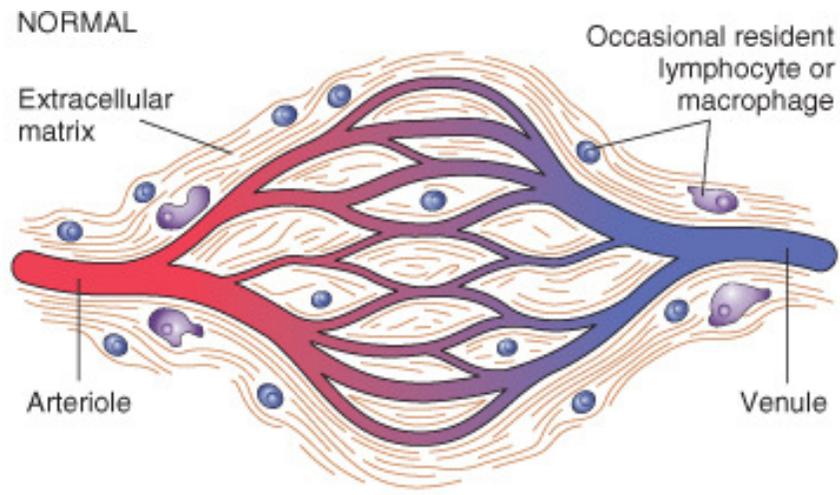


NEUROPEPTIDI*

*piccoli peptidi come la sostanza P, presenti nel SNCentrale e nel SNPeriferico.



La **sostanza P** oltre alla trasmissione dei segnali dolorifici, la regolazione della pressione sanguigna... è importante anche nell'infiammazione essendo un **mediatore dell'aumento della permeabilità vascolare**.



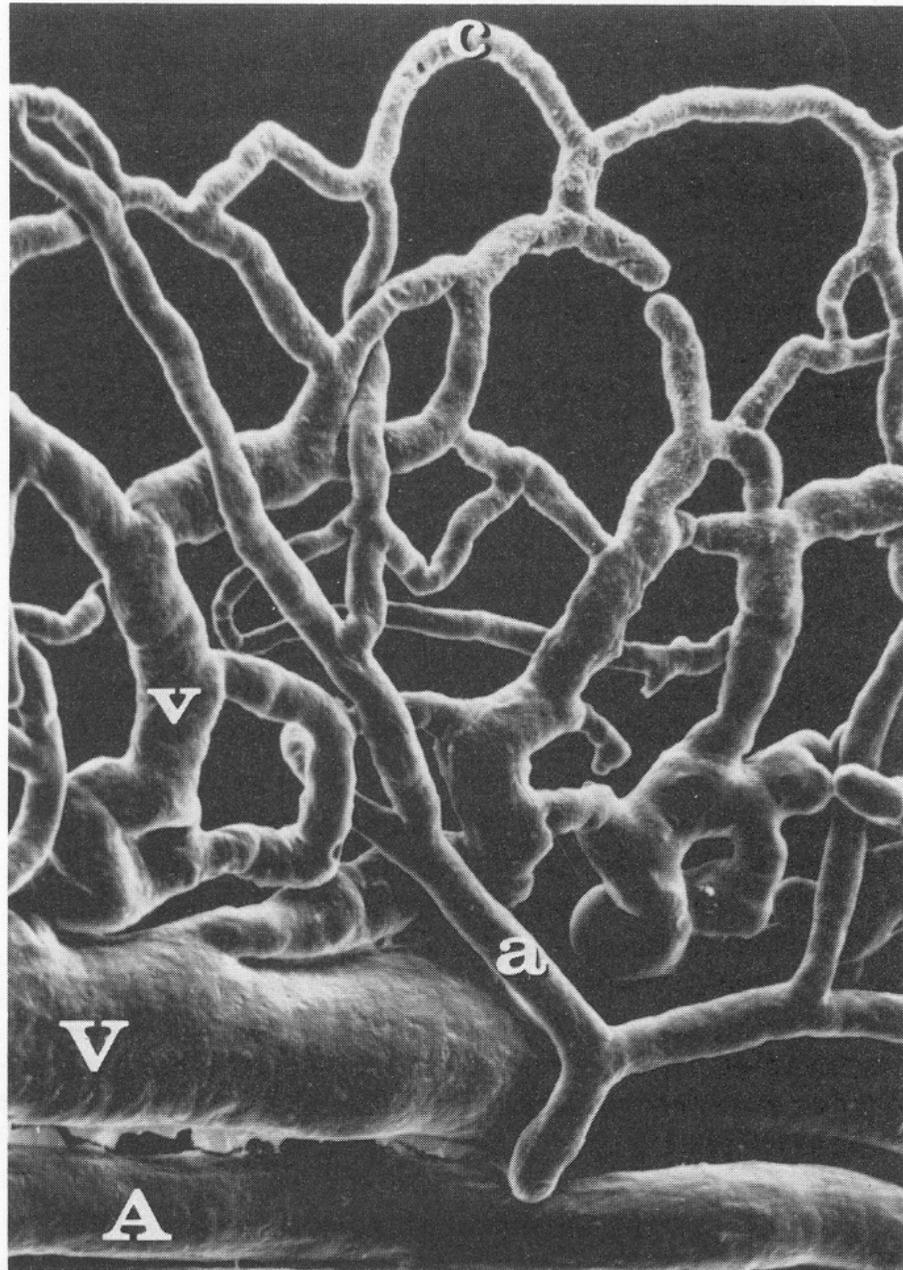


FIG. 2. As viewed from its posterior aspect in control animal, pericorneal vascular complex includes artery (A), arteriole (a), capillaries (c), venules (v), and two veins. Only one vein (V) is illustrated. $\times 310$.

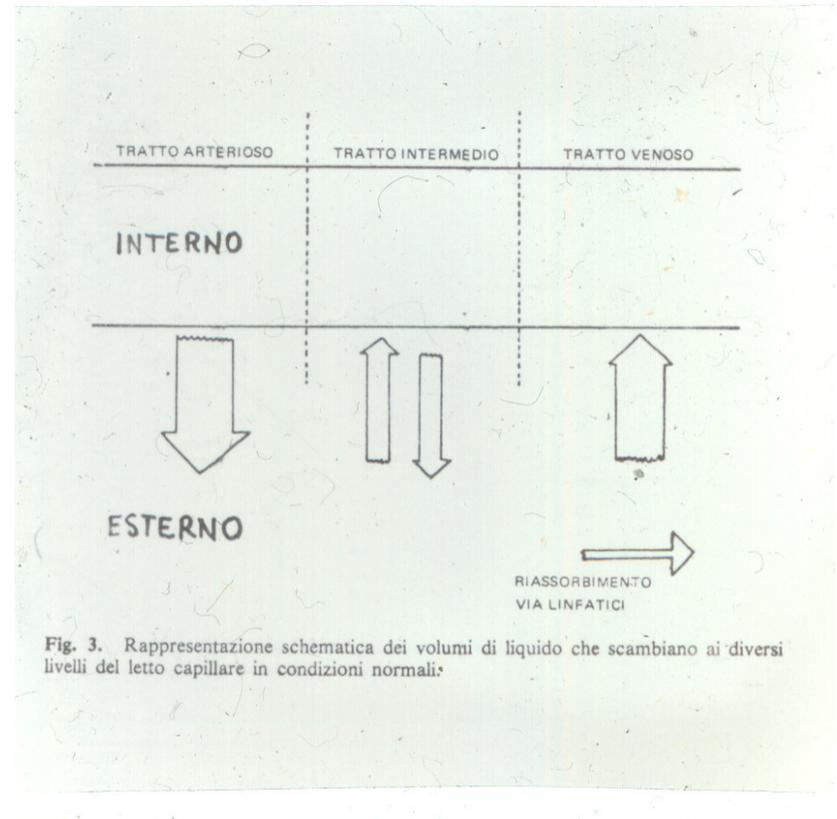


Fig. 3. Rappresentazione schematica dei volumi di liquido che scambiano ai diversi livelli del letto capillare in condizioni normali.

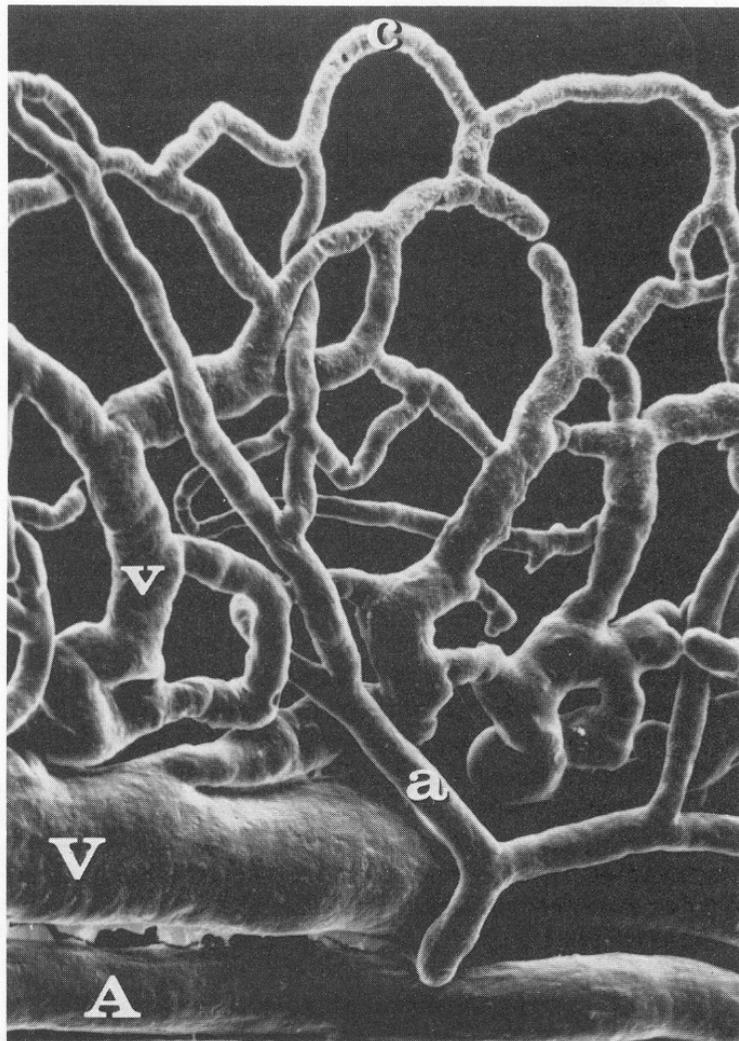


FIG. 2. As viewed from its posterior aspect in control animal, pericorneal vascular complex includes artery (A), arteriole (a), capillaries (c), venules (v), and two veins. Only one vein (V) is illustrated. $\times 310$.

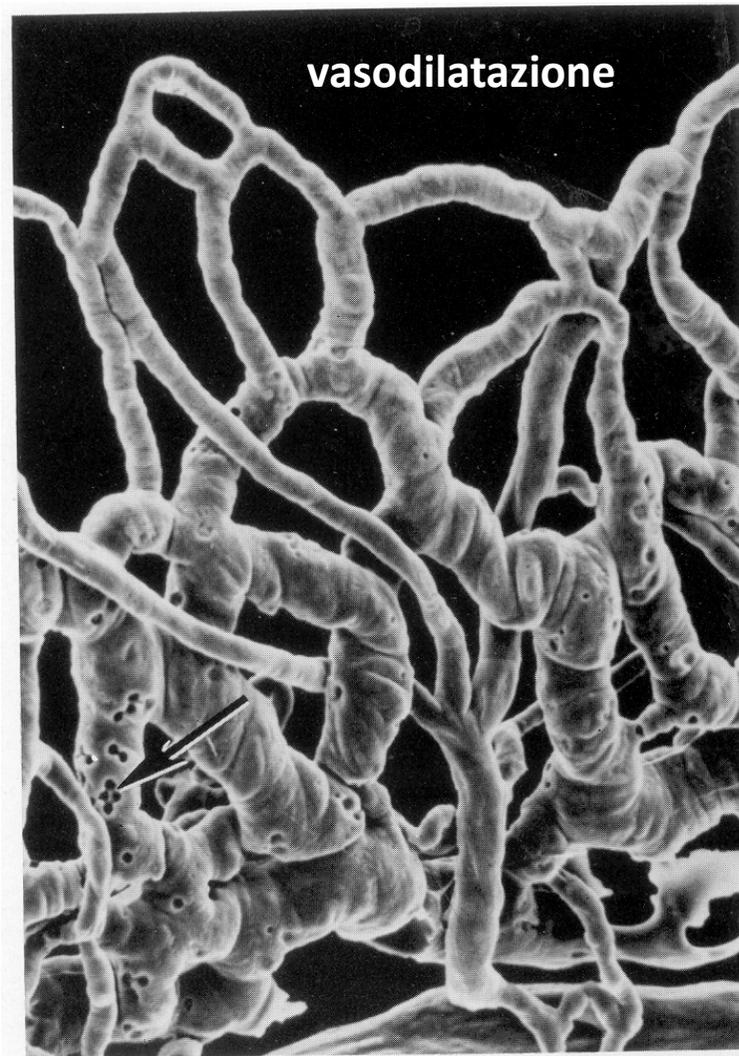
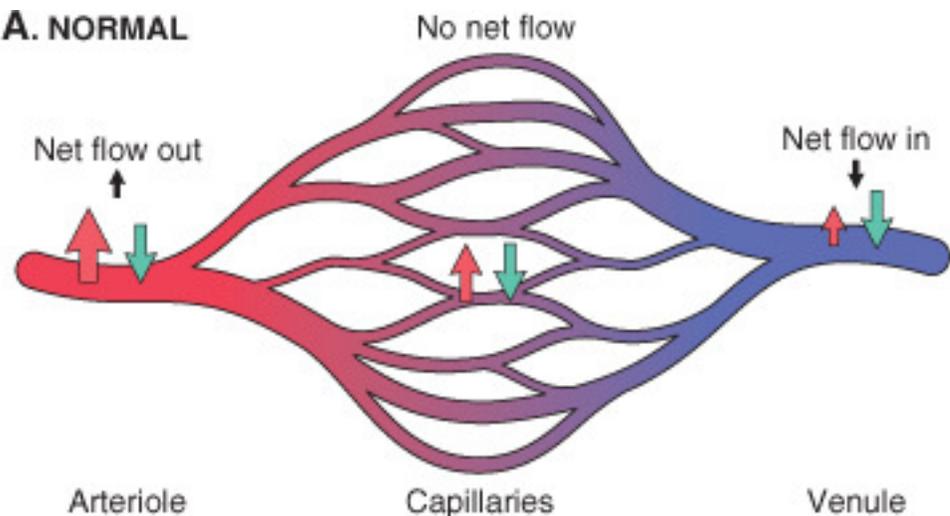


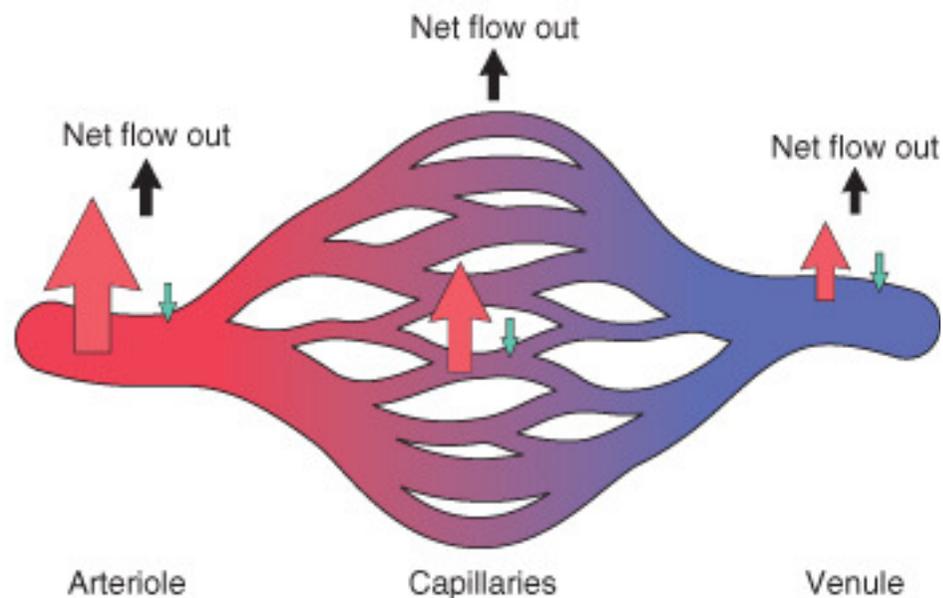
FIG. 4. Initial vascular response to chemical cautery was vasodilation which is apparent here as venular and capillary ectasia 18 hours after injury. There are prominent indentations in walls of venules and pericorneal vein (arrow) but none in arterioles or capillaries. $\times 310$.

A. NORMAL



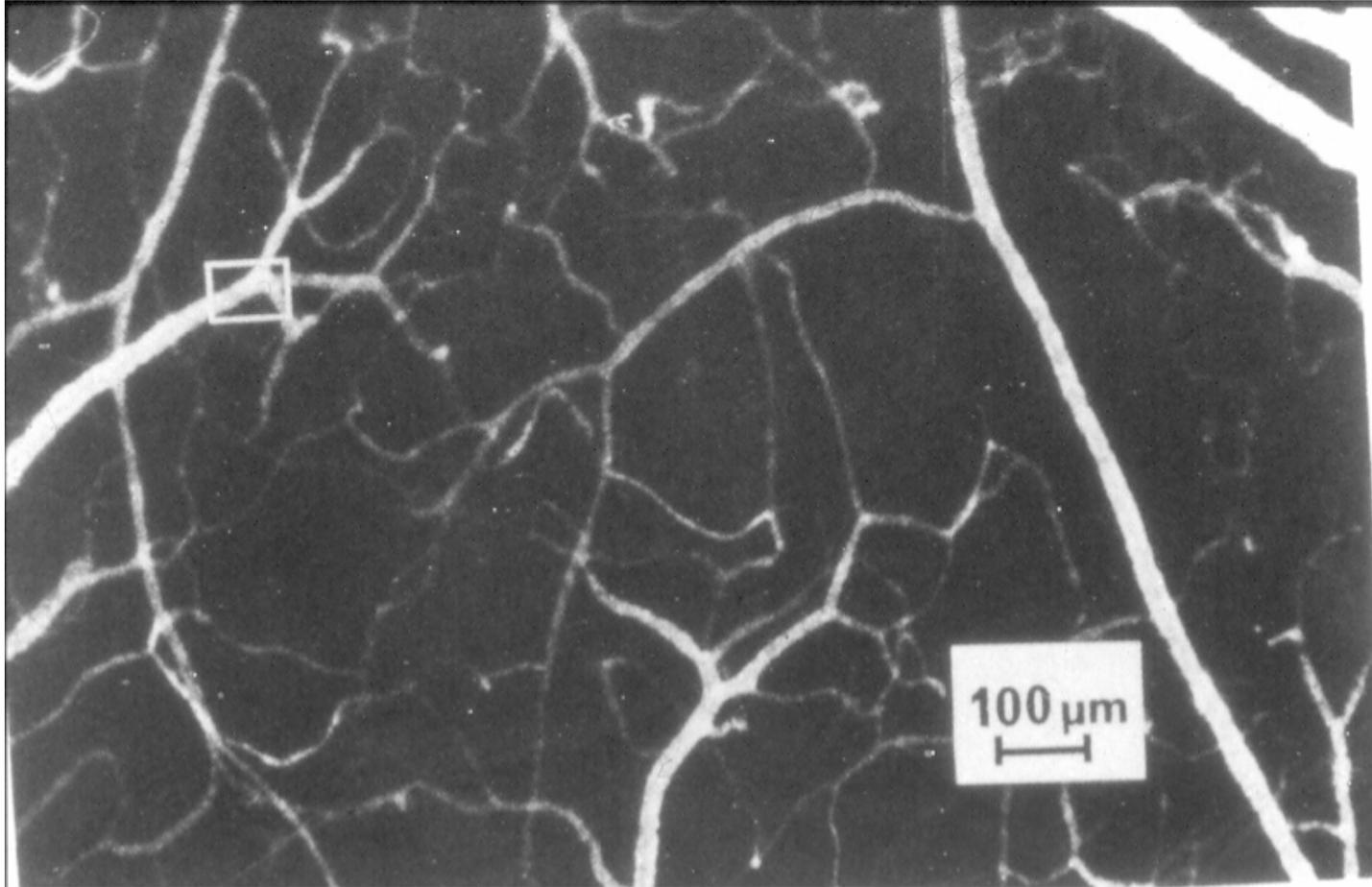
© Elsevier 2005

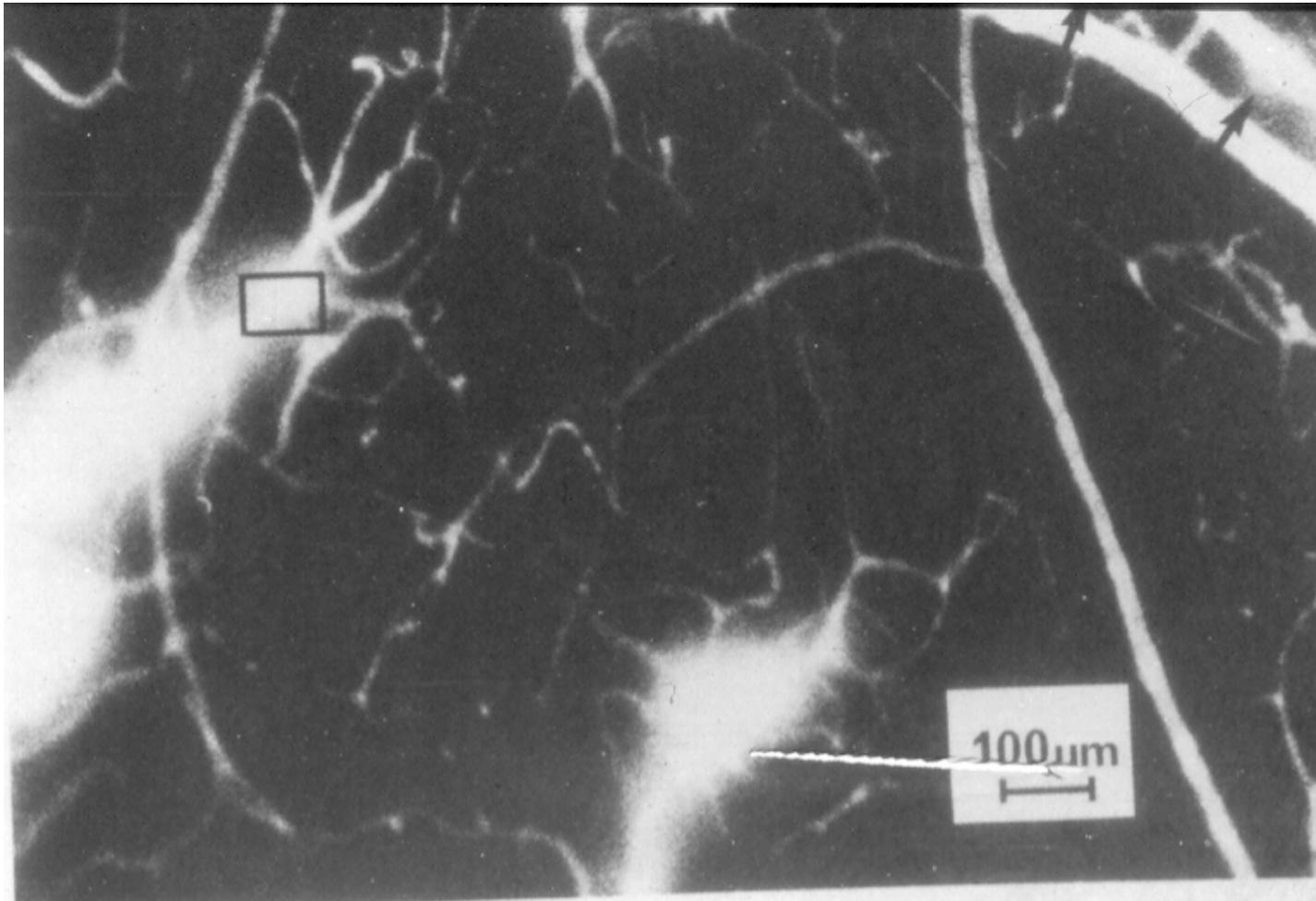
B. ACUTE INFLAMMATION



- ↑ Hydrostatic pressure
- ↓ Colloid osmotic pressure

© Elsevier 2005





LEUCOCITI

Il sangue circolante contiene da **4.000 a 11.000 globuli bianchi per microlitro (μL)**.

Da un punto di vista morfologico e funzionale si distinguono tre diverse popolazioni di globuli bianchi:

- granulociti
- linfociti
- monociti

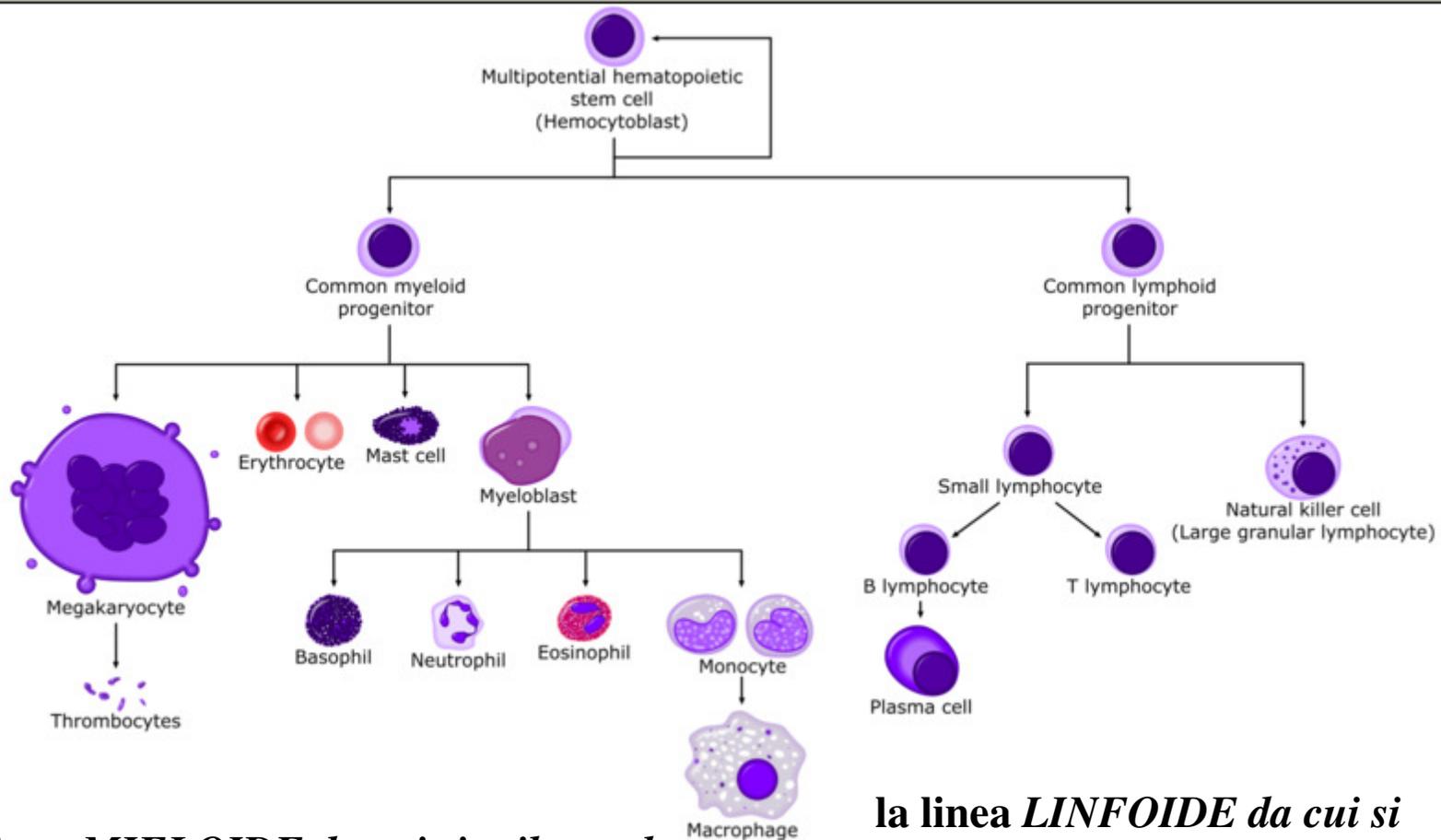
anche una piccola % di globuli bianchi non completamente maturi.

Queste cellule si distinguono morfologicamente le une dalle altre in base alle:

- dimensioni
- caratteristiche morfologiche del nucleo
- caratteristiche tintoriali del citoplasma (affinità per i diversi coloranti).

Il loro **numero assoluto** e la loro abbondanza relativa (**conteggio differenziale** dei globuli bianchi misura la percentuale dei differenti tipi cellulari che costituiscono la popolazione leucocitaria totale) possono fornire importanti informazioni sul processo morboso in atto

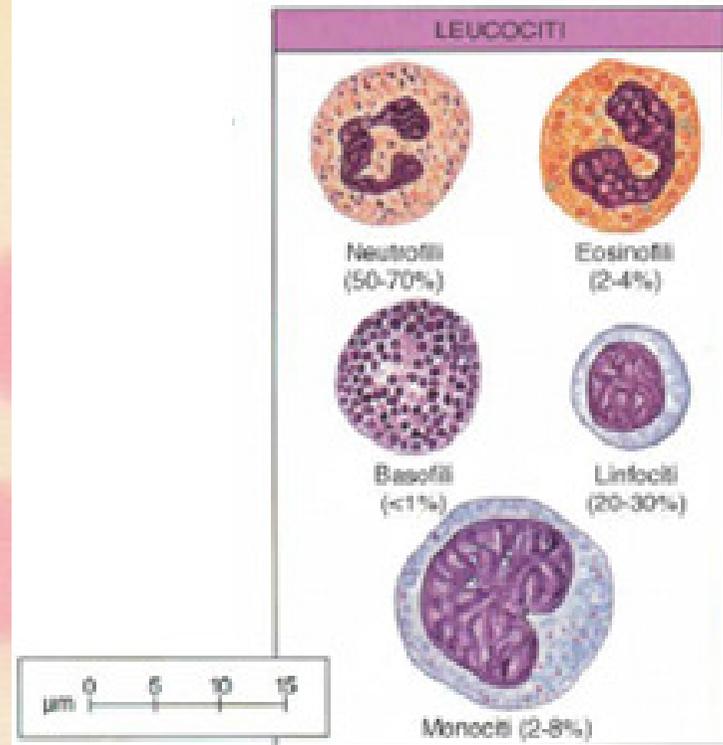
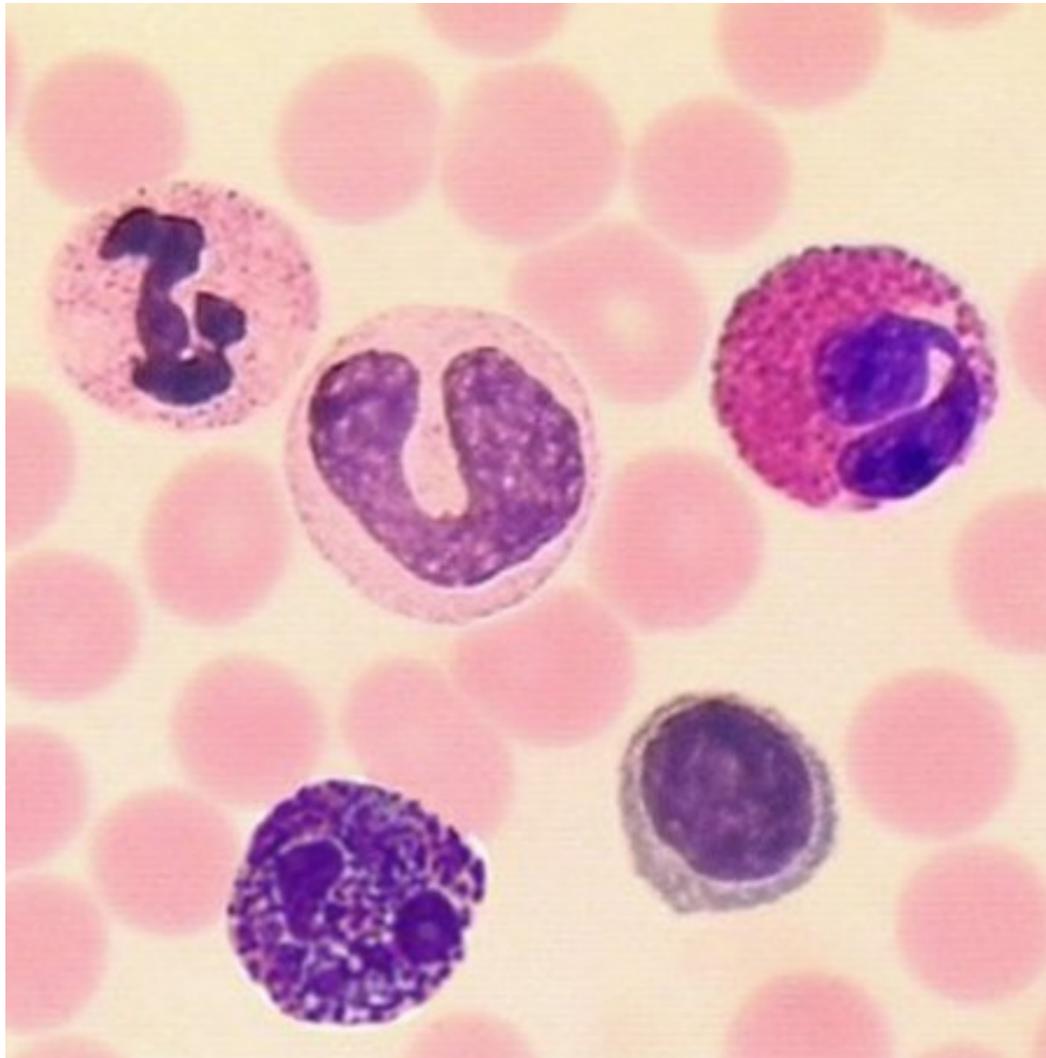
Hematopoiesis in humans



La linea MIELOIDE da cui si sviluppa la mielopoiesi (granulociti, monociti), l'eritropoiesi e la produzione di piastrine.

la linea LINFOIDE da cui si avvia la linfopoiesi (linfociti B, T ed NK)

STRISCIO DI SANGUE



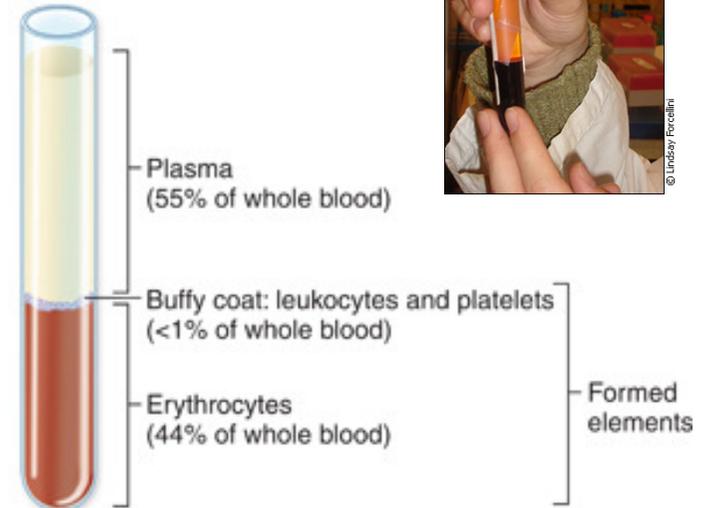
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



① Withdraw blood into a syringe and place in a glass tube.



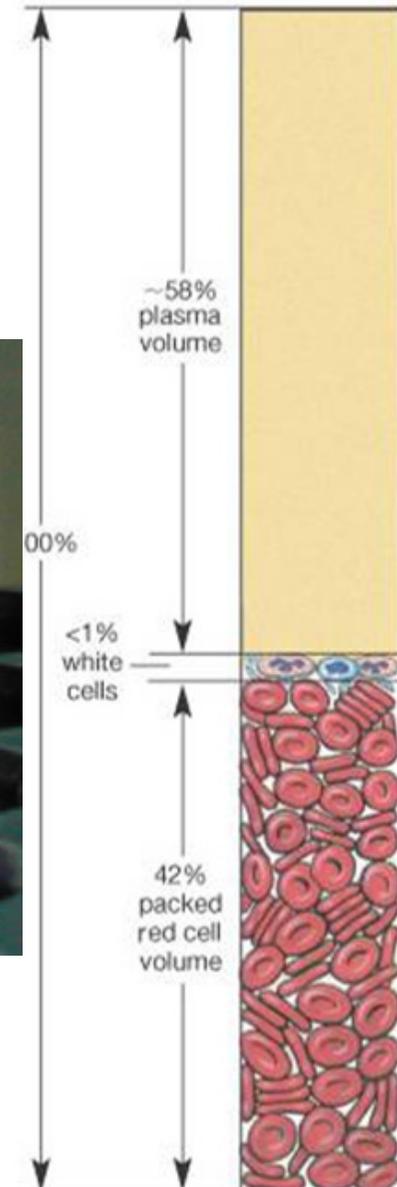
② Place the tube into a centrifuge and spin for about 10 minutes.

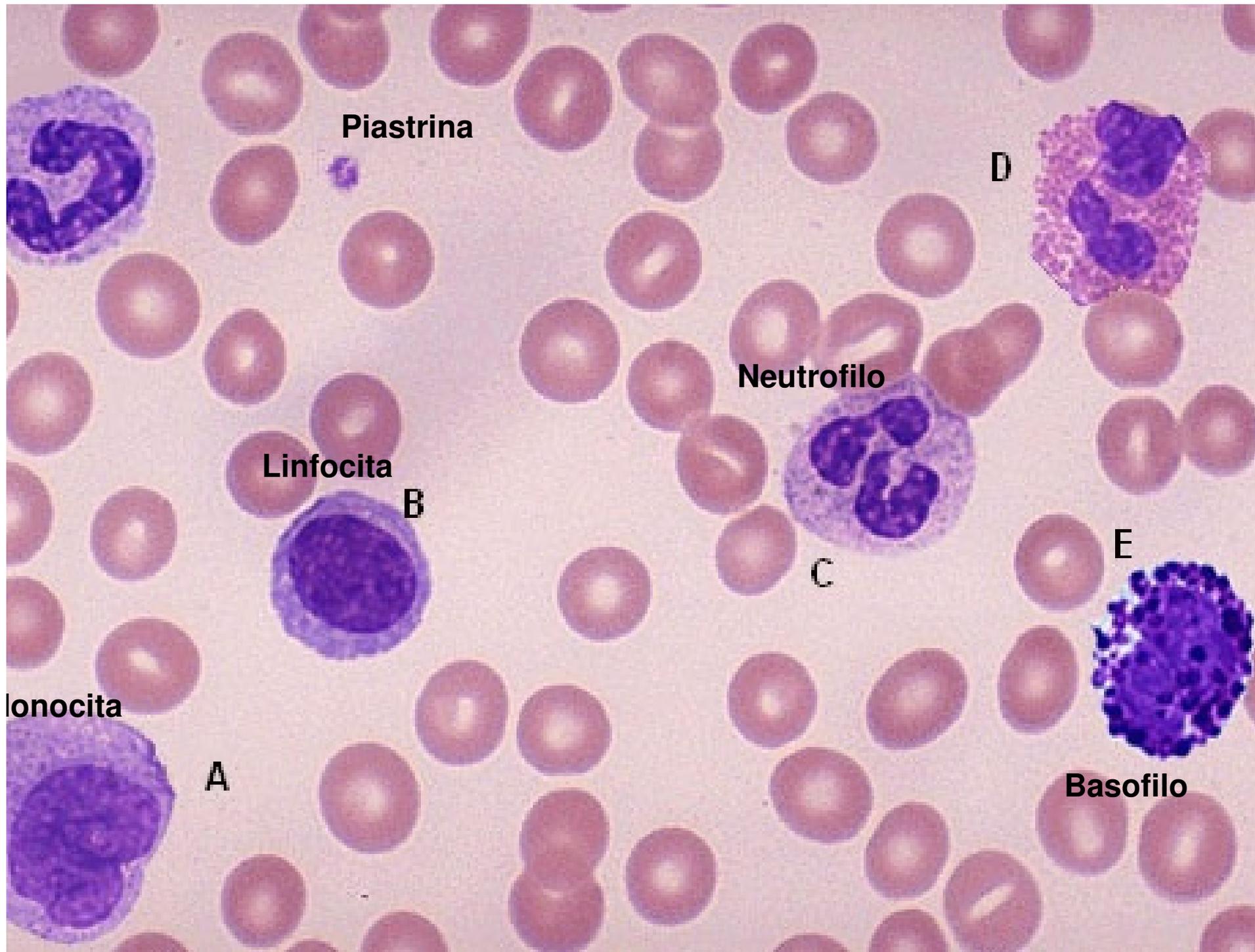


③ Components of blood separate during centrifugation to reveal plasma, buffy coat, and erythrocytes.

BUFFY COAT

- Il loro numero assoluto varia da 4.000 a 11.000 per μl di sangue.
- Quando il sangue viene posto in una provetta a sedimentare si collocano in uno strato biancastro posto superiormente agli eritrociti.
- Formula leucocitaria = rapporto % tra 1 diversi tipi di leucociti:
 - **Neutrofili** **60-70%**
 - **Linfociti** **20-30%**
 - **Monociti** **2-8%**
 - **Eosinofili** **2-4 %**
 - **Basofili** **<1 %**





Piastrina

D

Neutrofilo

Linfocita

B

C

E

Eosinocita

A

Basofilo

Leucociti

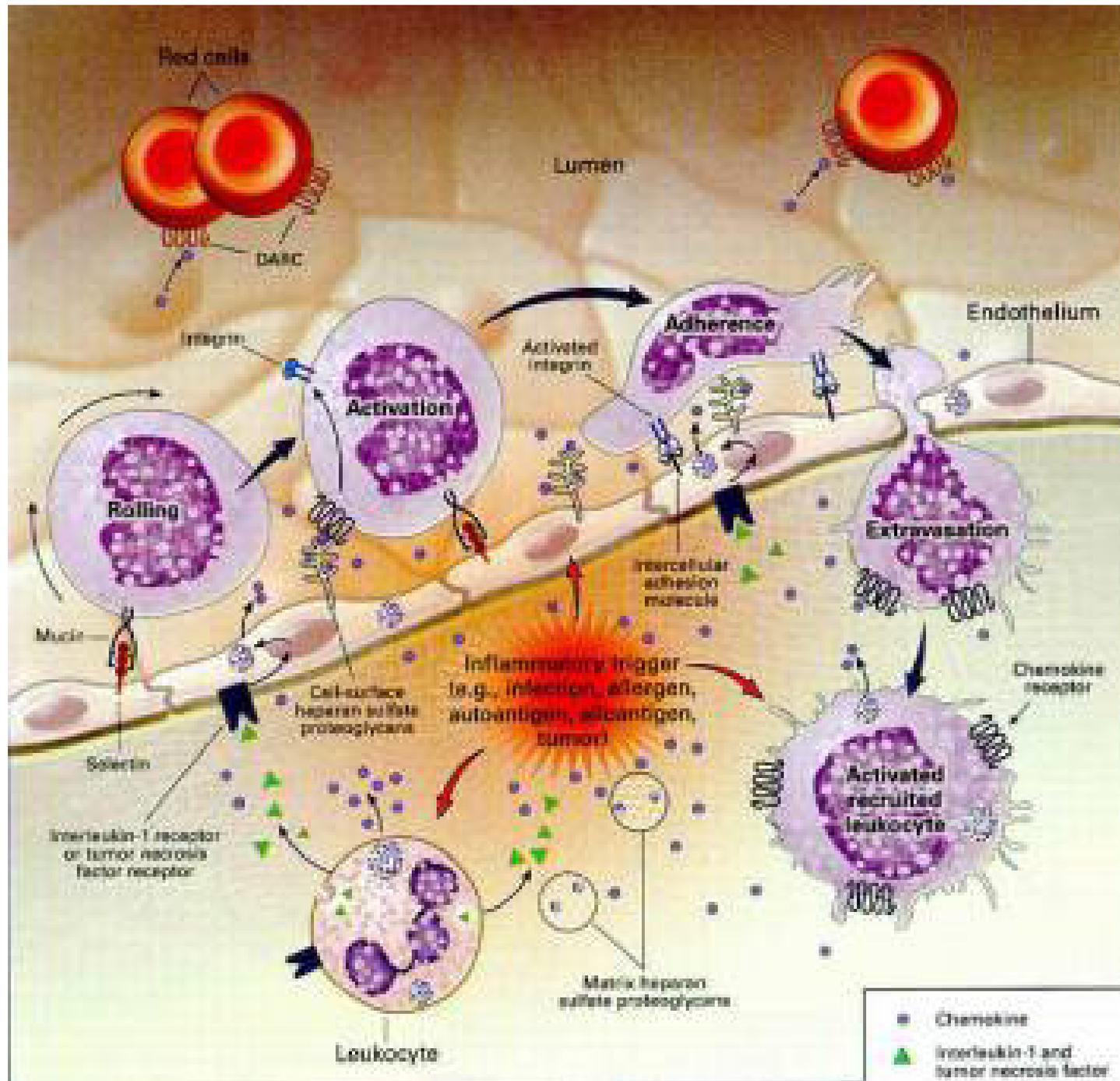
Una funzione fondamentale dell'inflammation è di permettere ai leucociti di giungere nella sede del danno.

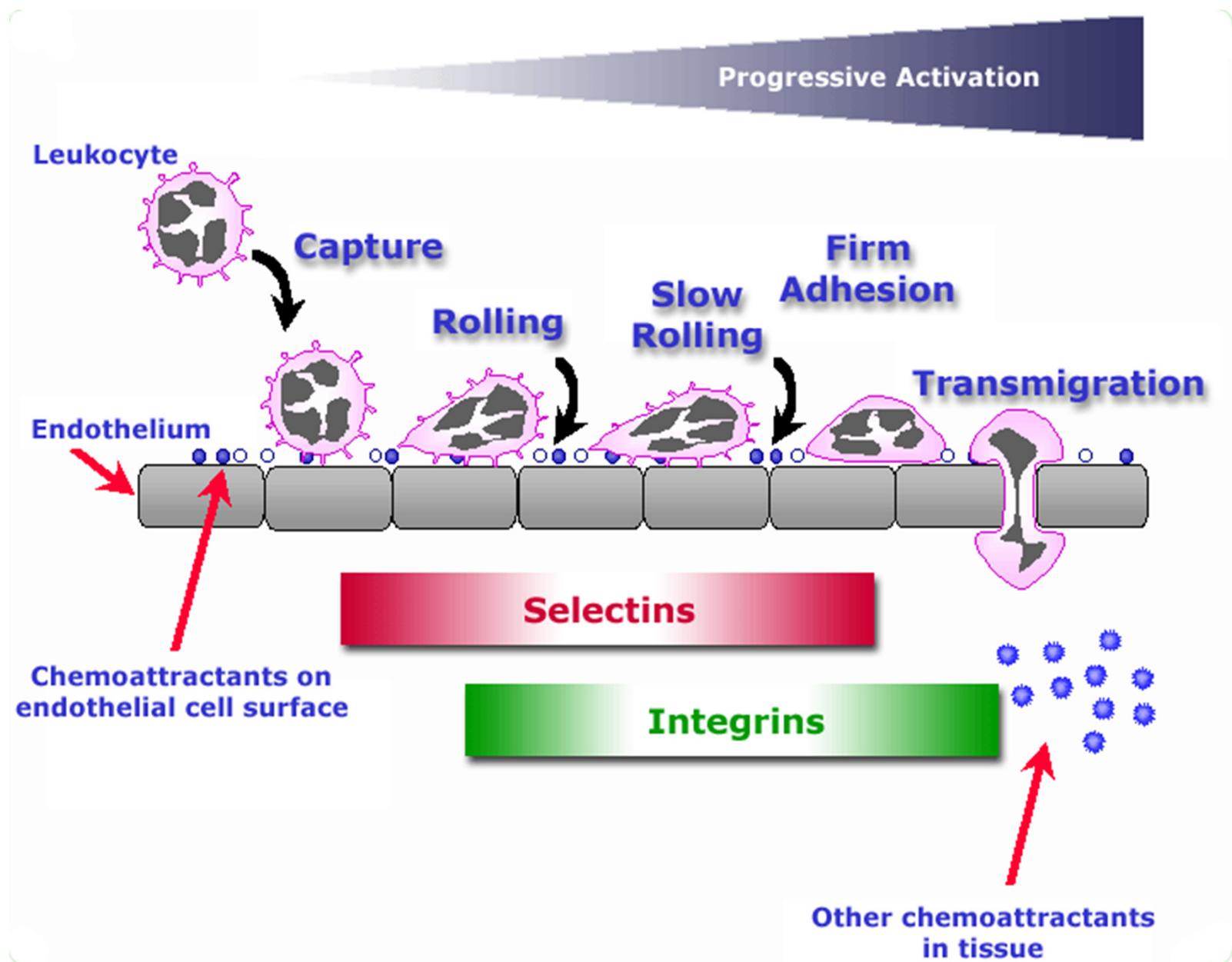
I leucociti inglobano gli agenti lesivi, uccidono batteri e altri microrganismi e degradano il tessuto necrotico.

I leucociti possono anche prolungare l'inflammation e indurre danno tessutale attraverso il rilascio di enzimi, mediatori chimici e RL dell'ossigeno.

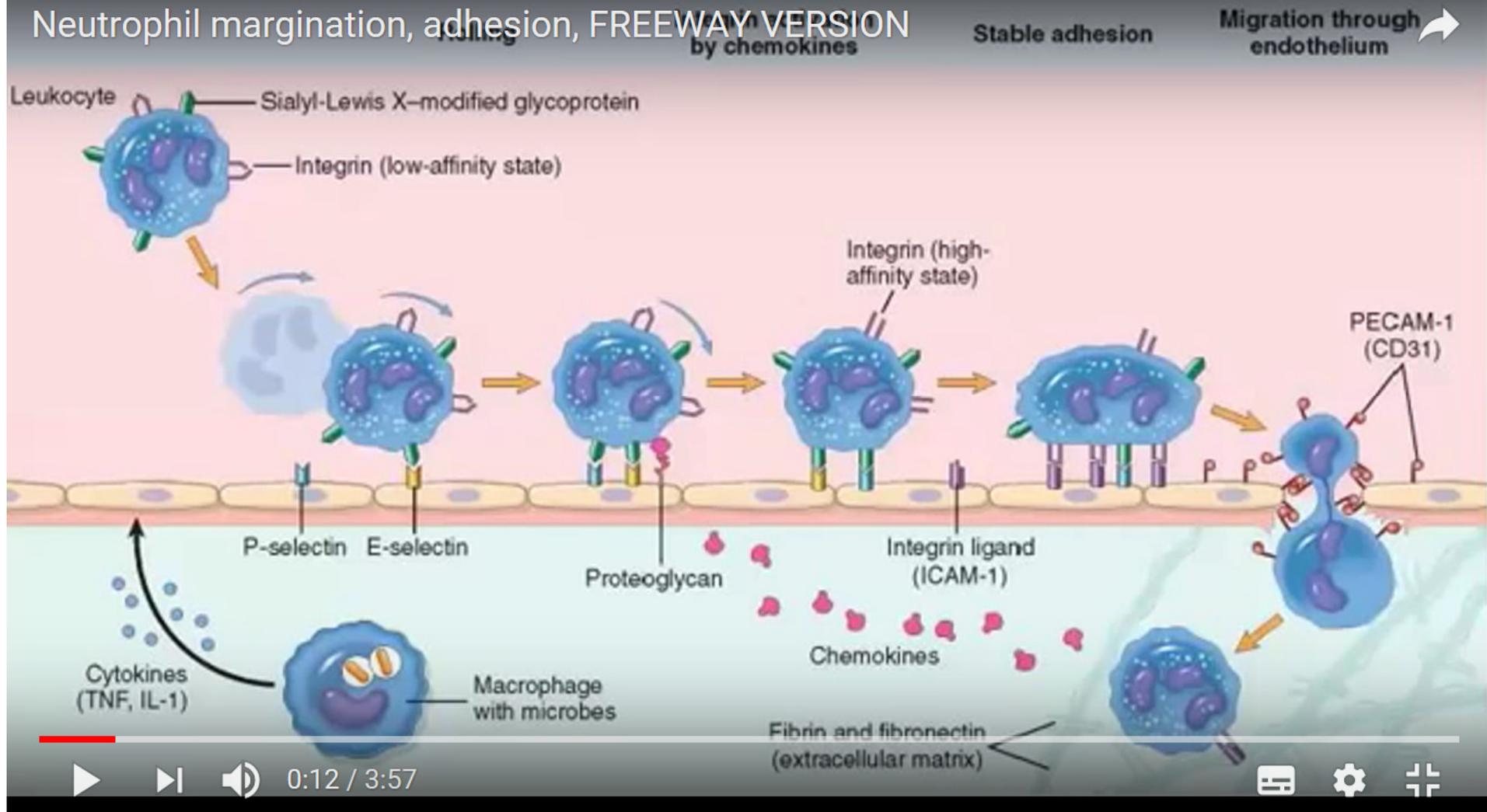
La sequenza di eventi che si osserva durante il viaggio dei leucociti dal lume del vaso al tessuto interstiziale può essere suddivisa nelle seguenti fasi:

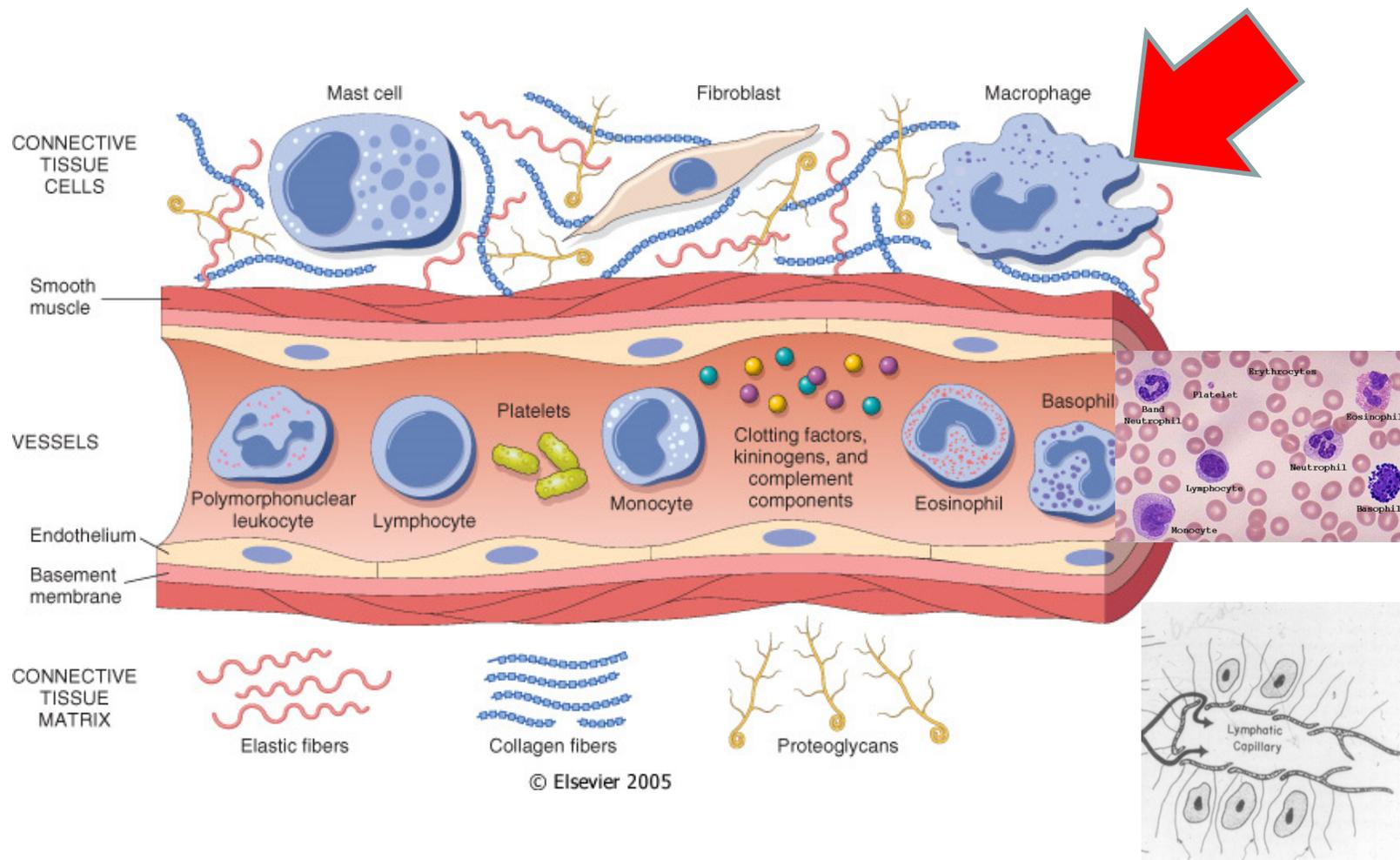
- 1) marginazione, rotolamento (*rolling*) e adesione
- 2) passaggio attraverso l'endotelio (diapedesi)
- 3) migrazione nello spazio interstiziale verso uno stimolo chemiotattico.





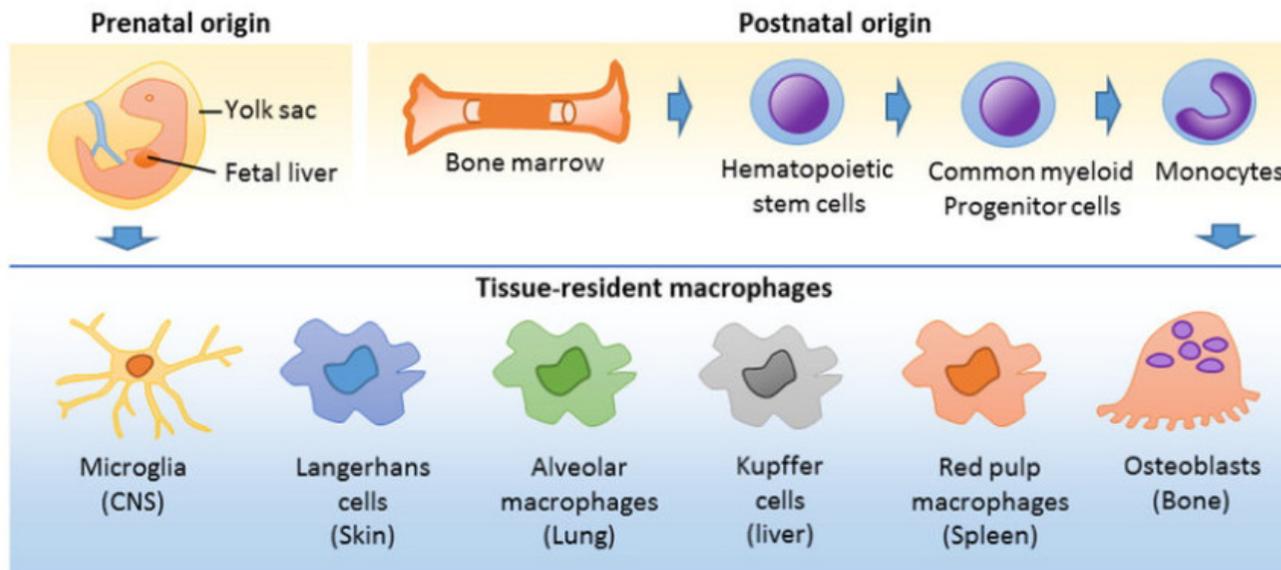
Neutrophil margination, adhesion, FREEMAN VERSION





La risposta infiammatoria ha luogo nel tessuto connettivo vascolarizzato, che comprende il **plasma**, le **cellule circolanti**, i **vasi sanguigni**, i **componenti cellulari ed extracellulari del tessuto connettivo**.

Monociti-macrofagi

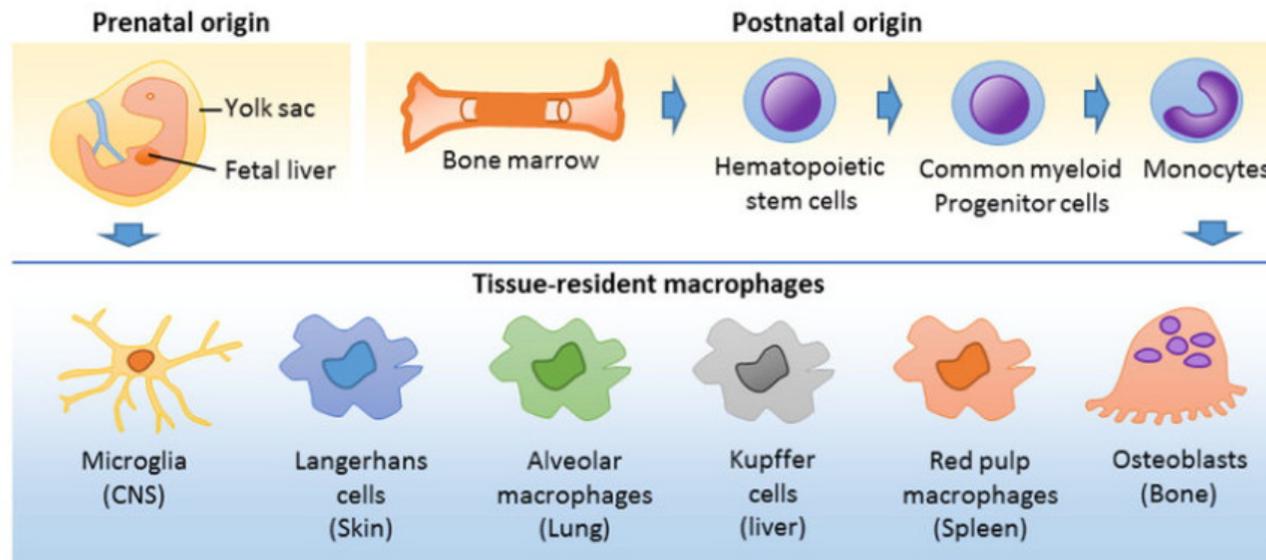


I macrofagi sono cellule tissutali derivati dalle cellule staminali emopoietiche nel midollo osseo o da progenitori del sacco vitellino embrionale e del fegato fetale durante le prime fasi dello sviluppo.

Le cellule circolanti di questa linea sono i monociti.

I macrofagi sono normalmente disseminati nella maggior parte dei tessuti connettivi. Inoltre si trovano localizzati in posizioni specifiche all'interno di organi quali il fegato (cellule di Kupffer), la milza (macrofagi splenici), i linfonodi (istiociti dei seni), il sistema nervoso centrale (cellule microgliali) e i polmoni (macrofagi alveolari).

Collettivamente queste cellule costituiscono il SISTEMA DEI FAGOCITI MONONUCLEATI (ex SISTEMA RETICOLENDOTELIALE).



I monociti circolanti (emivita 1g) migrano nei vari tessuti e si differenziano in macrofagi (sopravvivenza di mesi-anni).

Questo processo di differenziazione è tipico dei macrofagi infiammatori e in alcuni tessuti (cute e tratto intestinale).

La maggior parte degli altri macrofagi che si trovano nei tessuti (cellule di Kupffer, microglia, macrofagi alveolari, della milza, del tessuto connettivo...) possono originare dal sacco vitellino o dal fegato fetale precocemente durante l'embriogenesi, popolare i tessuti, rimanere per un lungo tempo in uno stato stazionario ed essere arricchiti per proliferazione delle cellule residenti.

I macrofagi residenti nei tessuti esplicano funzioni diverse a seconda delle posizioni anatomiche.

- Cellule di Kupffer nel fegato sono principalmente coinvolti nel processo di smaltimento dei rifiuti, come la rimozione di microrganismi e detriti cellulari dal sangue
- I macrofagi alveolari nei polmoni fungono da prima linea di difesa nei confronti delle particelle inalate.
- I macrofagi della polpa rossa nella milza sono responsabili per la rimozione degli eritrociti senescenti e della regolazione del metabolismo del ferro.

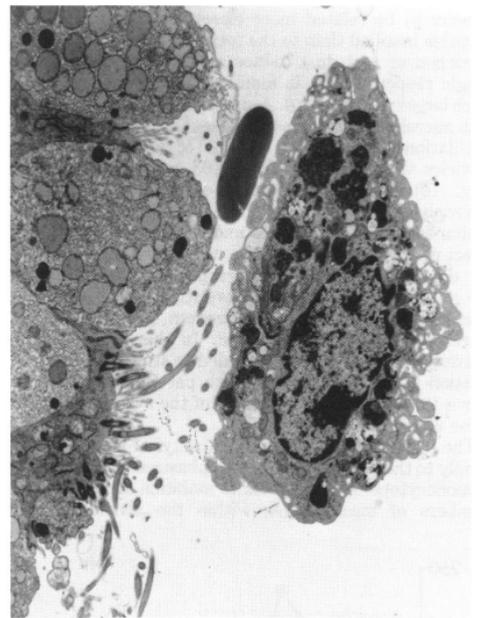
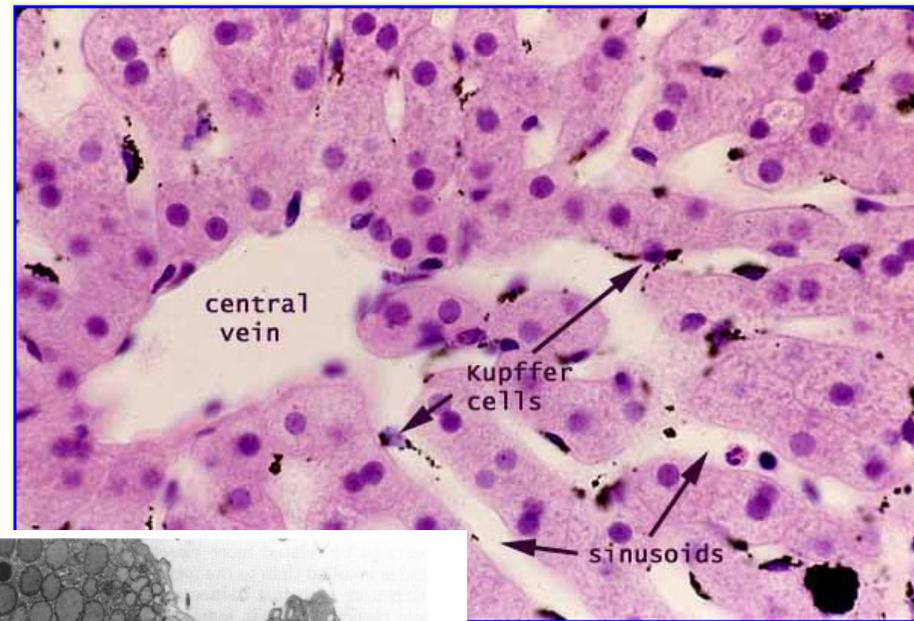
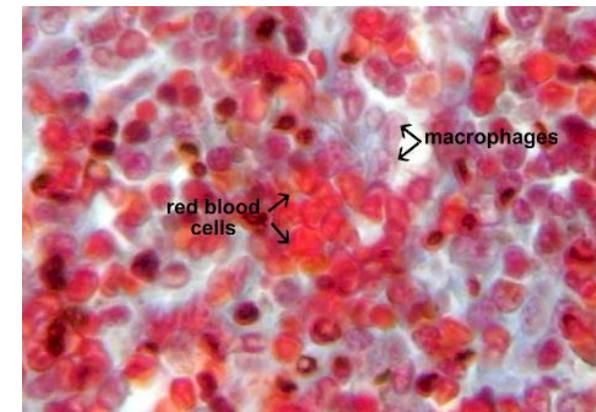
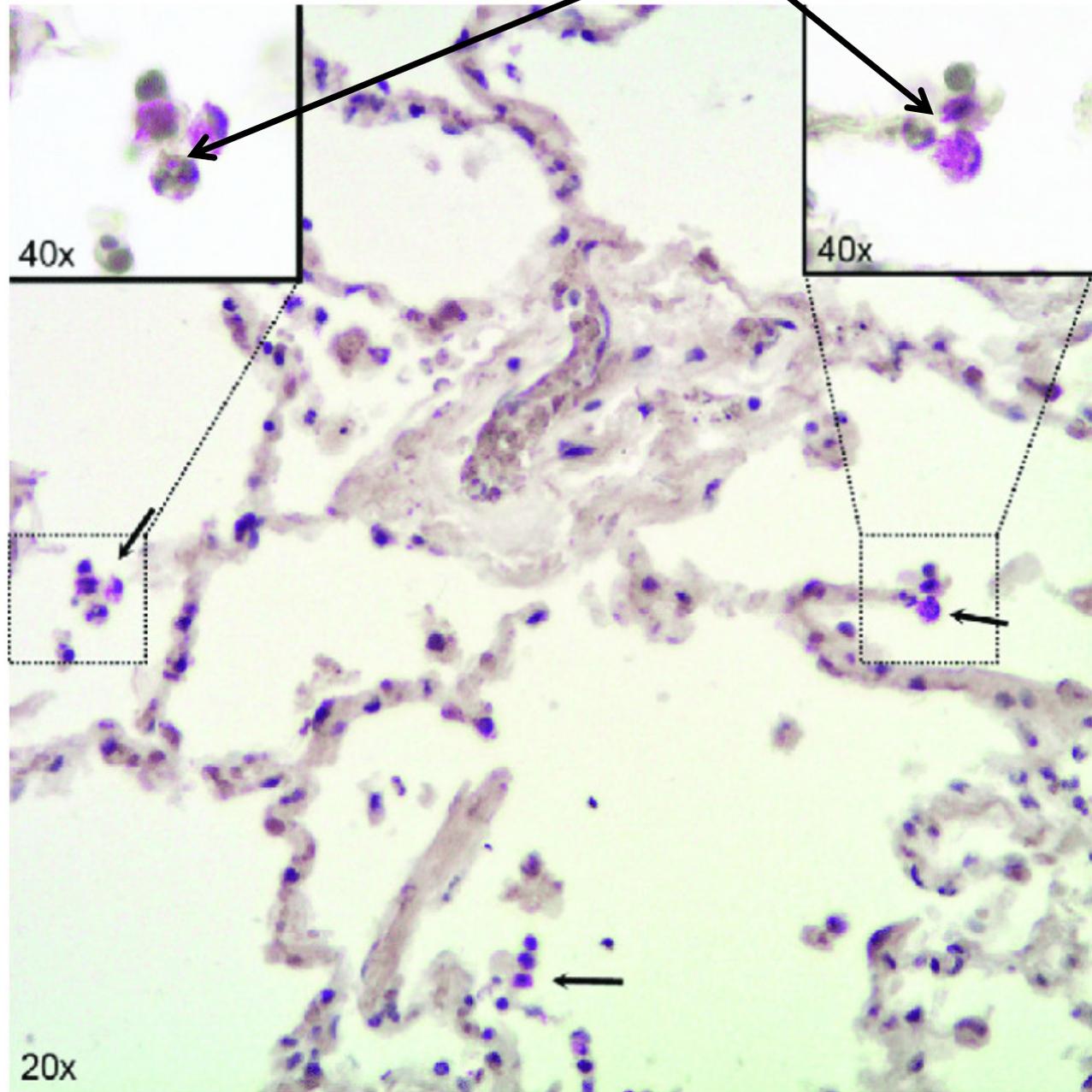


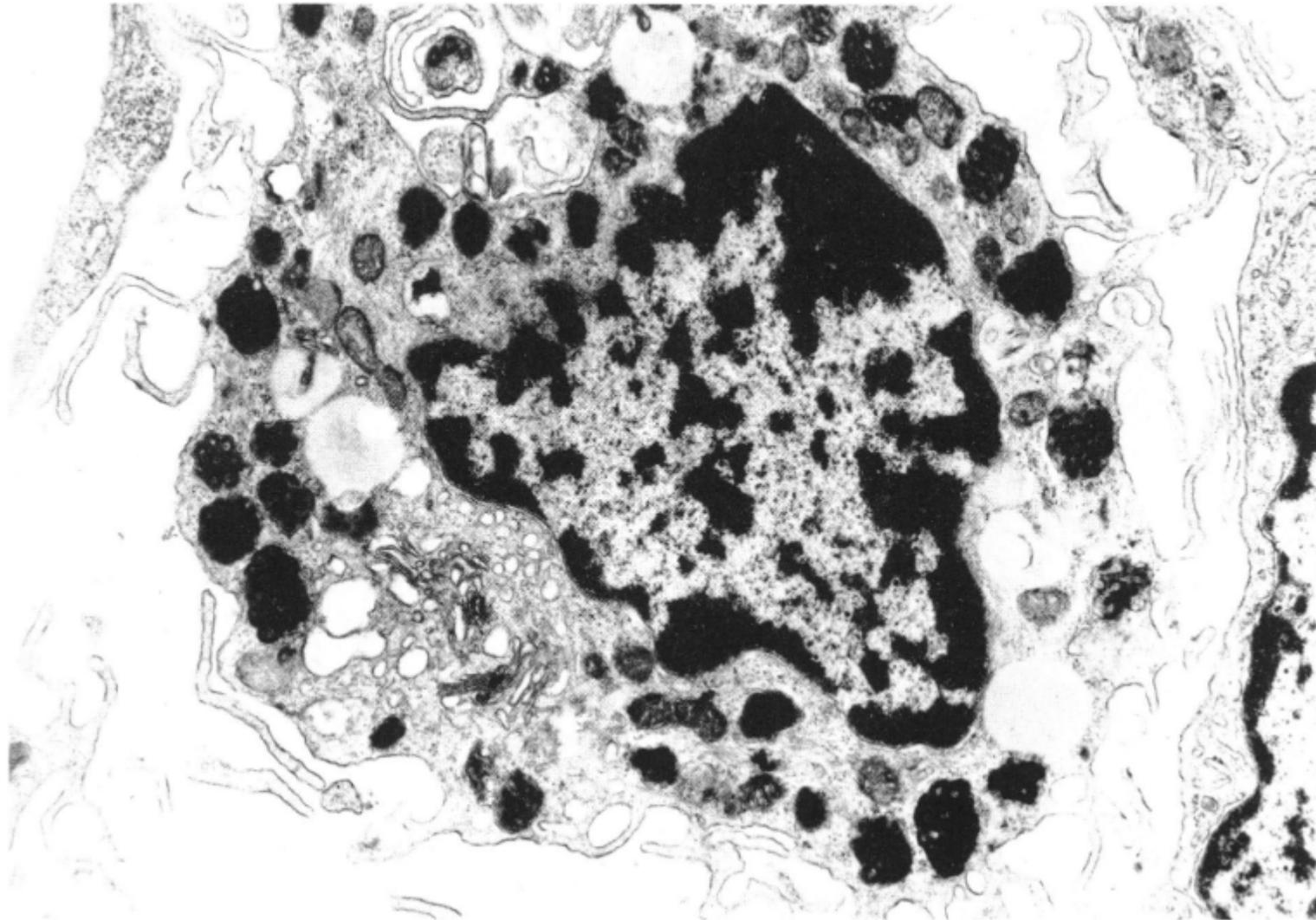
FIGURE 12. Surface of bronchiolar epithelium showing a macrophage laden with phagocytosed material.



***Mycobacterium tuberculosis* (purple) in alveolar macrophages (AM) in infected human lung tissue**



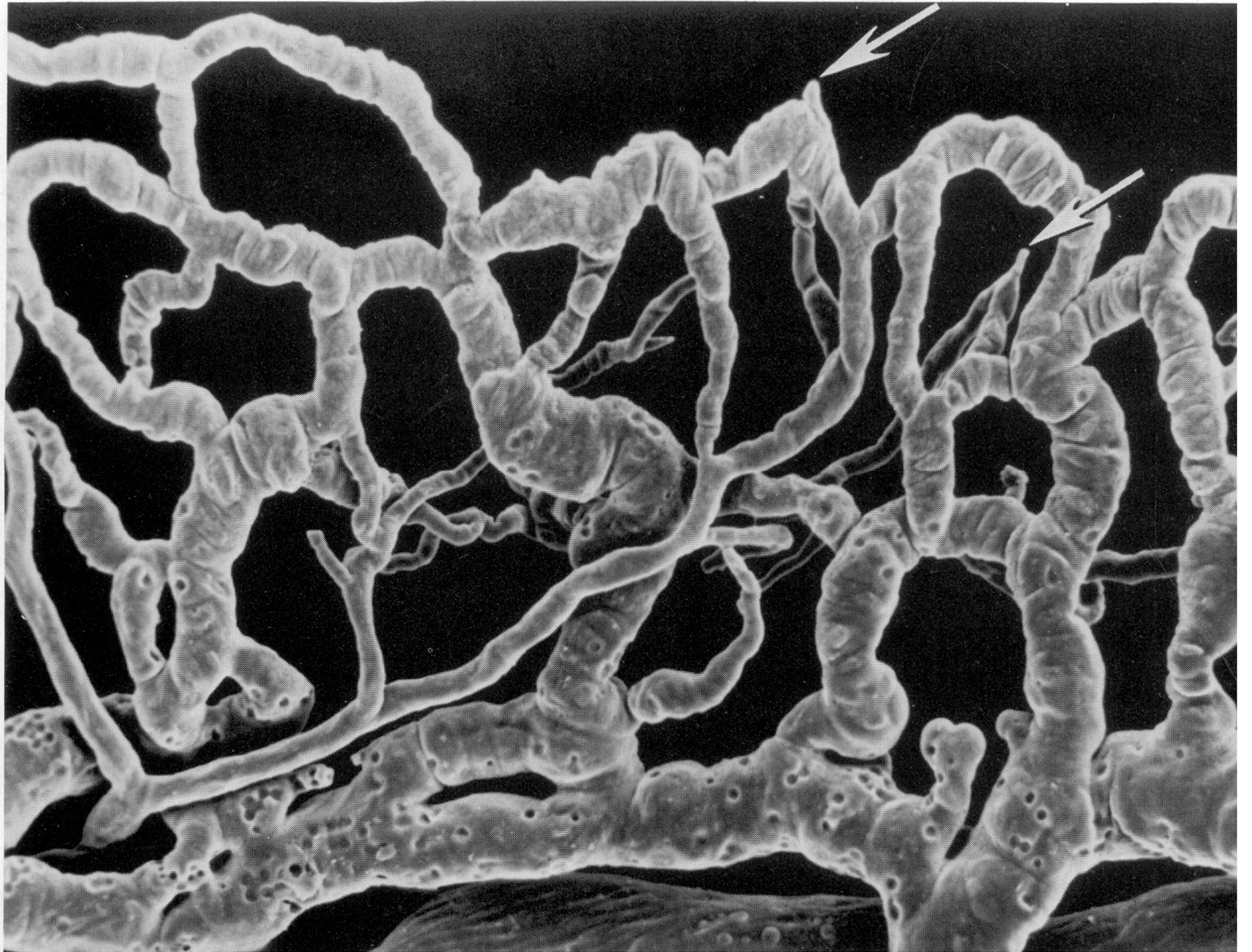
THE ALVEOLAR MACROPHAGE



Alveolar macrophage seen in the alveolus of a "smoker's" lung. The cytoplasm exhibits a well-developed Golgi and many large, dense phagolysosomes.



FIG. 5. At higher magnification 18 hours after injury, impressions in walls of venules consist of round, 6- to 10- μ m, hemispherical or flattened defects consistent with imprints of marginating leukocytes. $\times 750$.



Marginazione e rolling

Nelle venule, in condizioni di flusso sanguigno normale gli eritrociti (globuli rossi e leucociti), generalmente **viaggiano lungo l'asse centrale**, lasciando una rima di plasma povero di cellule in contatto con l'endotelio.

Come aumenta la permeabilità vascolare nell'infiammazione precoce **il flusso sanguigno rallenta**.

Come risultato il leucociti **abbandonano la colonna centrale** e si marginano alla periferia dei vasi.

Successivamente i leucociti cominciano a *rotolare* sulla superficie endoteliale, attaccandosi momentaneamente lungo la via: **rolling**.

Il **rolling** è mediato dal legame a molecole di **adesione complementari** presenti sull'endotelio e sui leucociti.

L'adesione debole e momentanea responsabile del *rolling* è dovuta ad una famiglia di molecole: **selectine**.

Le **selectine** sono espresse sull'endotelio (e sui leucociti*).

Le selectine sono caratterizzate da un dominio extracellulare che lega specifici zuccheri, in particolare **oligosaccaridi sialilati** (... il complementare) a loro volta legati covalentemente a varie glicoproteine mucina-simili.

ADESIONE E TRANSMIGRAZIONE

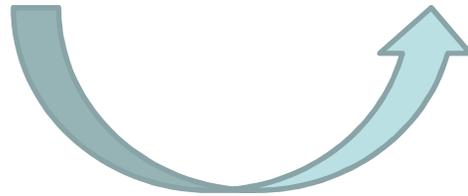
Successivamente i leucociti aderiscono stabilmente (**adesione**) alla superficie endoteliale, prima di farsi strada attraverso le cellule endoteliali e passare attraverso la membrana basale nello spazio extravascolare (**diapedesi**).

L'adesione è mediata da molecole di adesione endoteliali, le quali si legano a molecole chiamate **integrine presenti sulla superficie dei leucociti.**

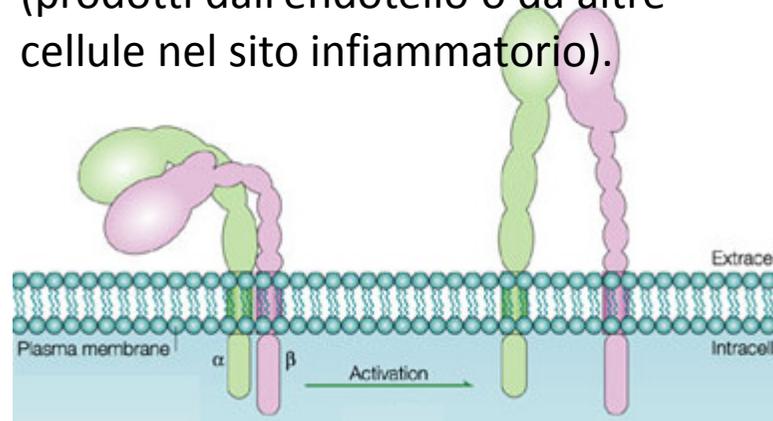
La prova più evidente dell'importanza delle molecole di adesione è l'esistenza di **sindromi cliniche ereditarie legate a deficienza di proteine di adesione leucocitarie**, caratterizzate da alterazioni dell'adesione leucocitarie e infezioni ricorrenti.

Attivazione delle integrine

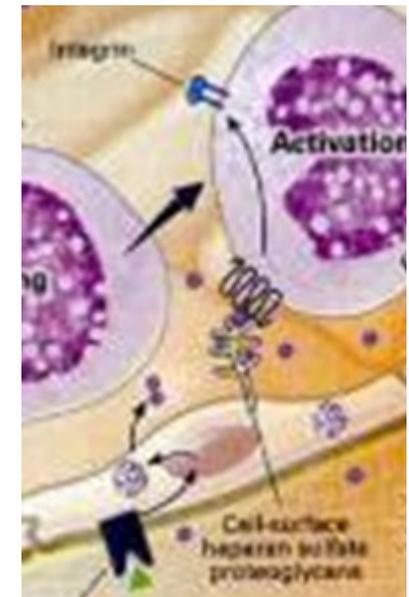
1) Le integrine sono **normalmente espresse sulla plasmamembrana** dei leucociti, ma **NON aderiscono** al loro ligando....



2) ...fintantoché i leucociti non vengono attivati principalmente da **agenti chemiotattici** (es IL-8) provenienti dalla sede della lesione (prodotti dall'endotelio o da altre cellule nel sito infiammatorio).



3) Solo allora le integrine vanno incontro a cambiamenti conformazionali che conferiscono loro elevata affinità per le molecole di adesione endoteliale (**=aumento dell'avidità di legame**).

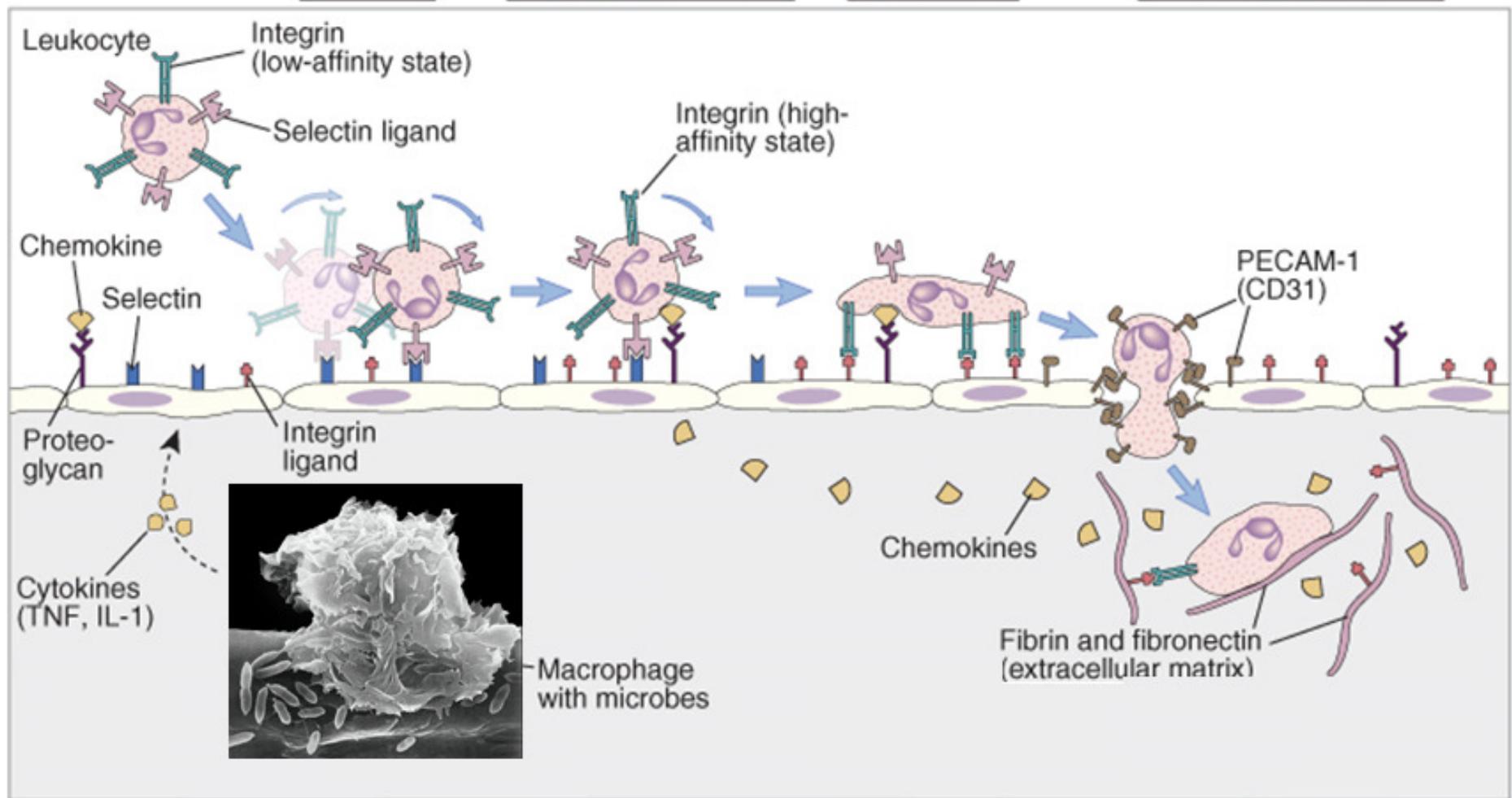


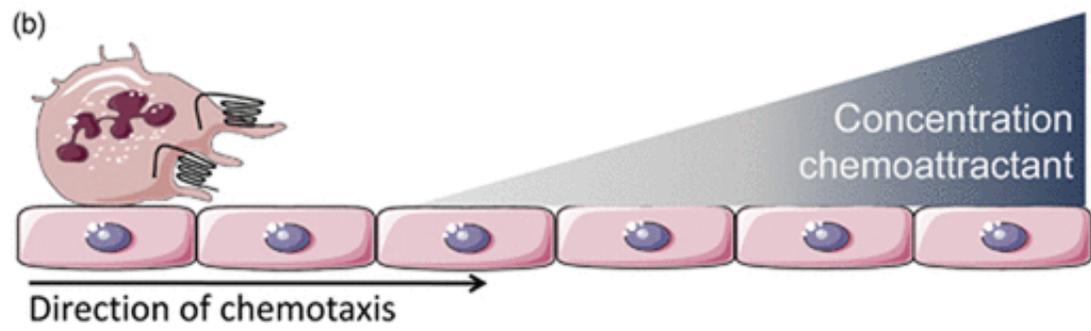
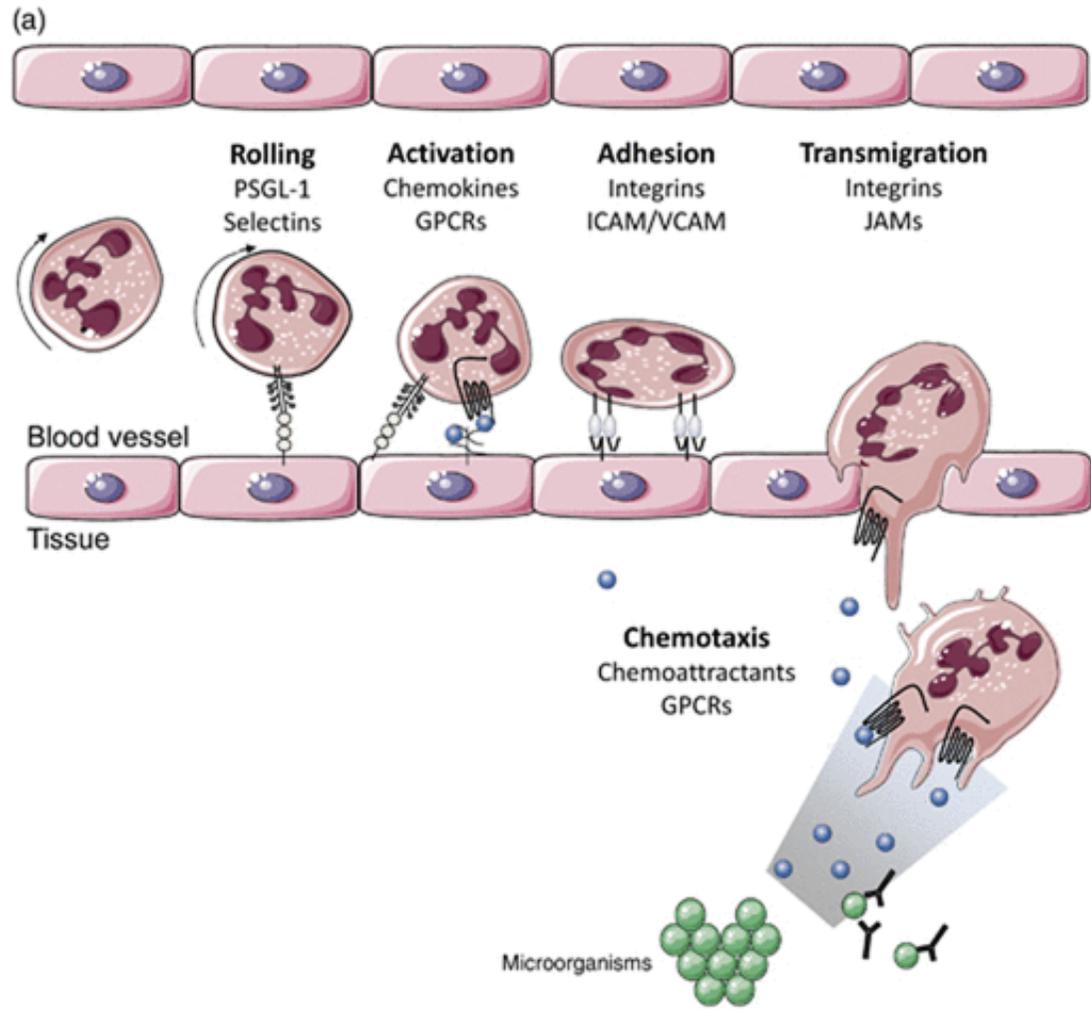
Rolling

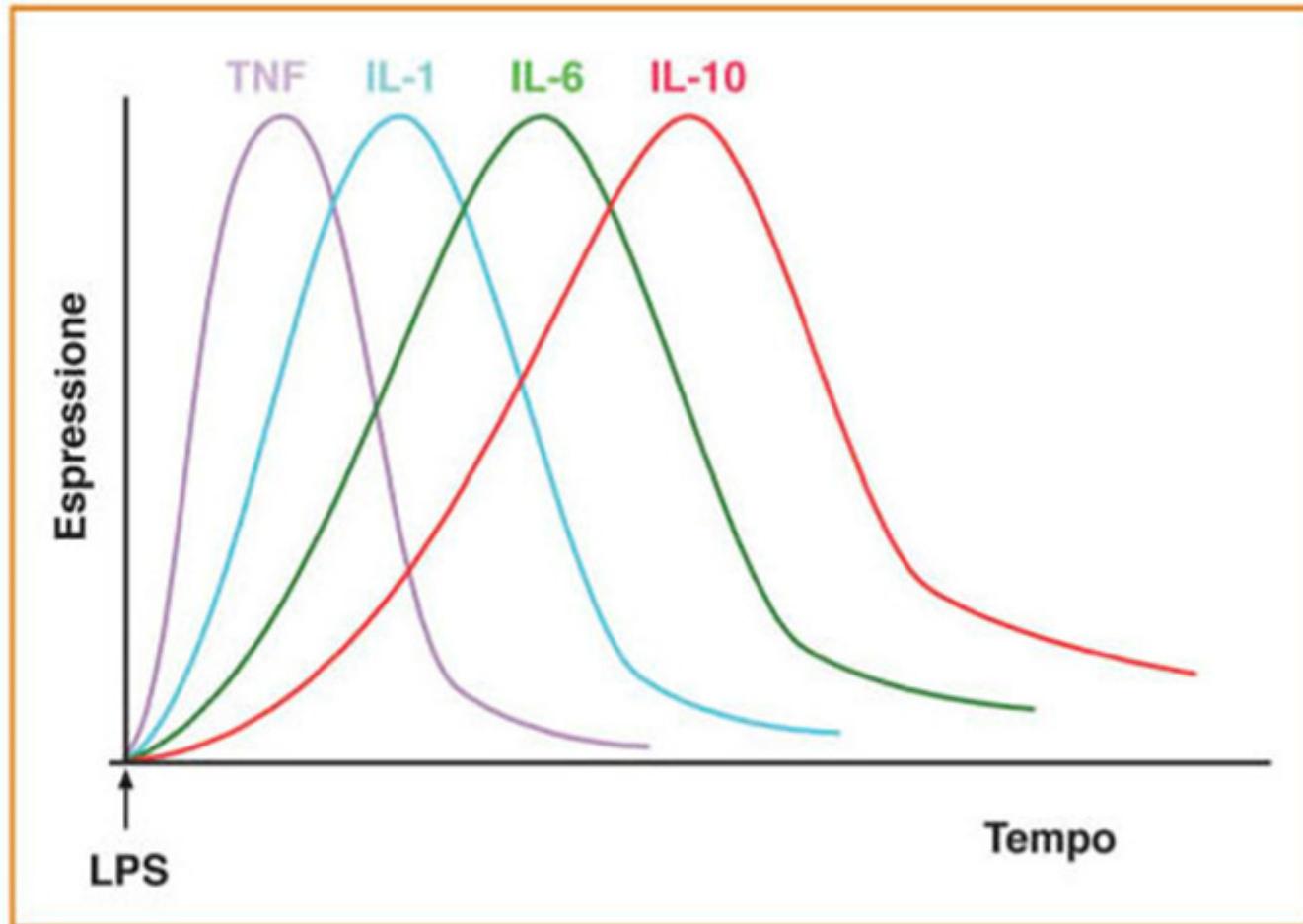
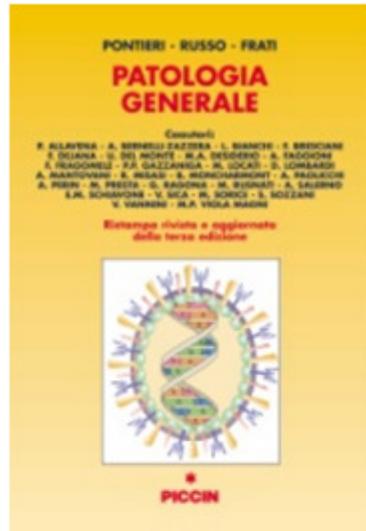
Integrin activation by chemokines

Stable adhesion

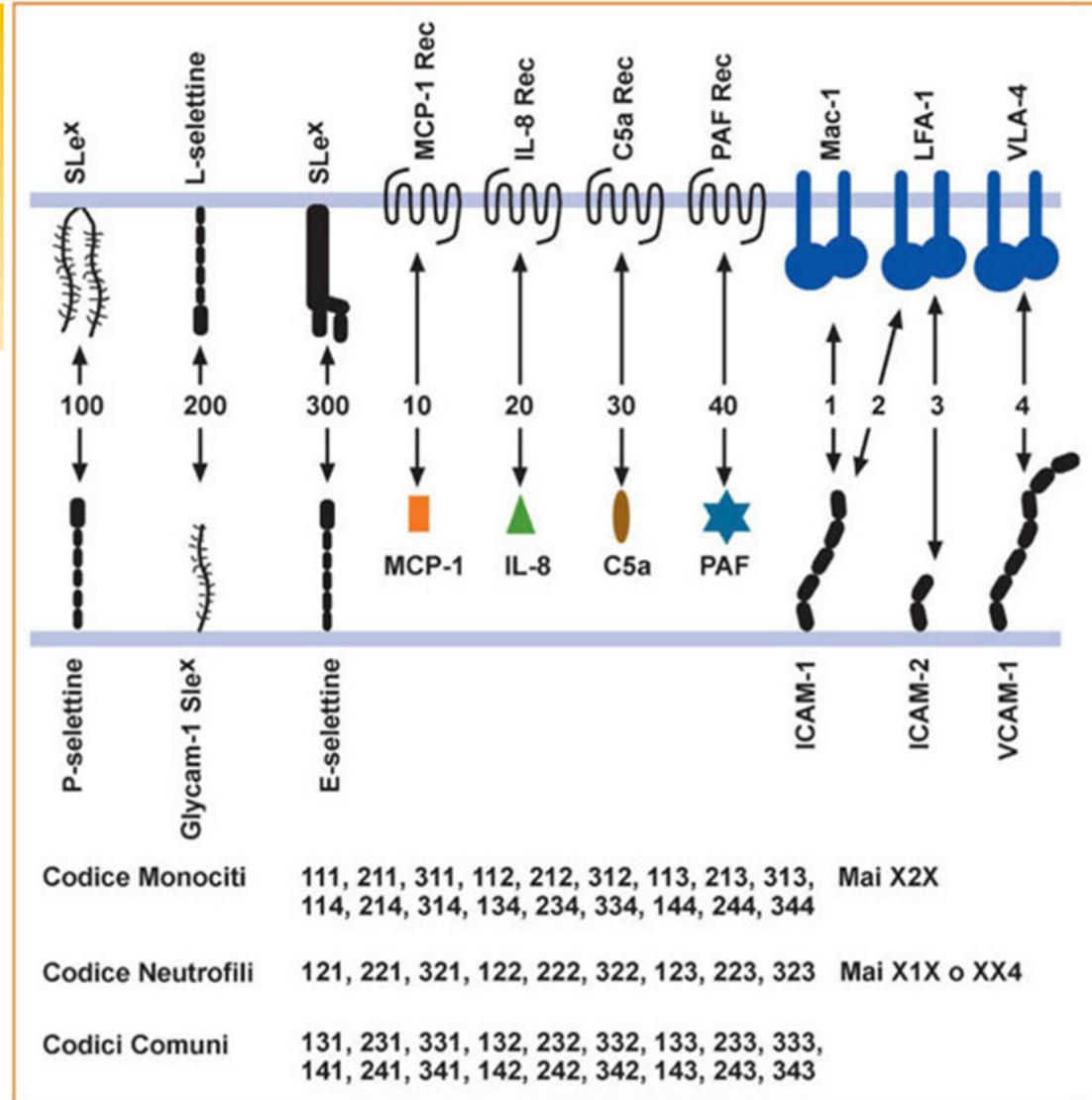
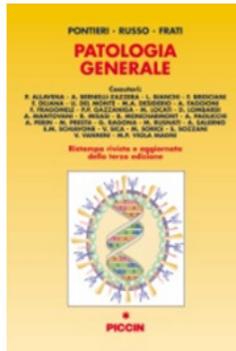
Migration through endothelium





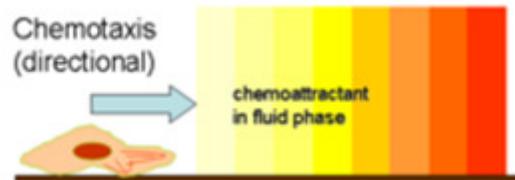


■ Figura 13.12 - La cinetica di produzione delle citochine infiammatorie in risposta a uno stimolo "modello" (LPS).



■ **Figura 13.23 - Modello del codice a tre cifre.** Per uscire dai vasi i leucociti devono riconoscere un codice di almeno tre cifre. L'utilizzo combinato di differenti molecole nei vari stadi del reclutamento genera un ampio numero di codici, dove la prima cifra è il tipo di selettina utilizzata, la seconda il fattore chemiotattico e la terza il tipo di integrina. Poiché i leucociti possono utilizzare molecole adesive e fattori chemiotattici diversi, possono esserci codici distinti per alcune sottopopolazioni leucocitarie.

CHEMIOTASSI E ATTIVAZIONE

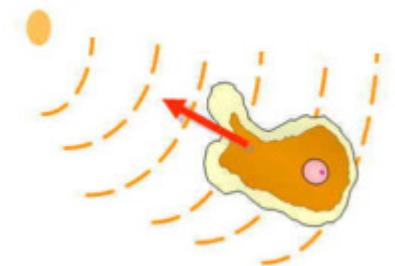


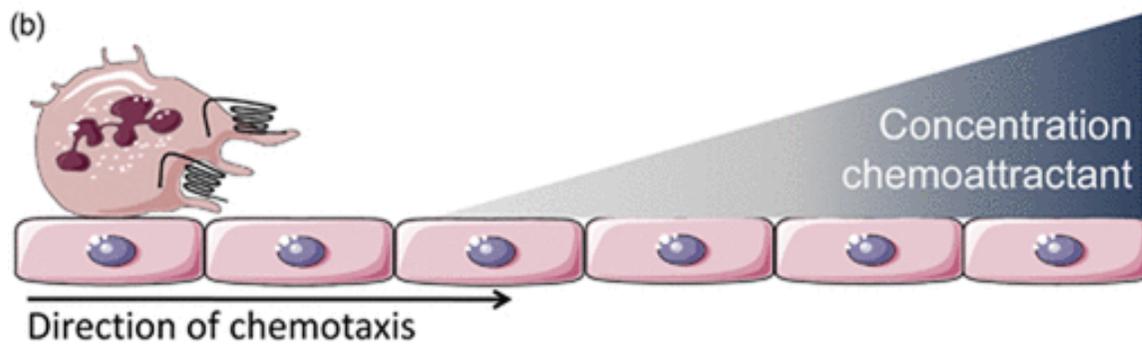
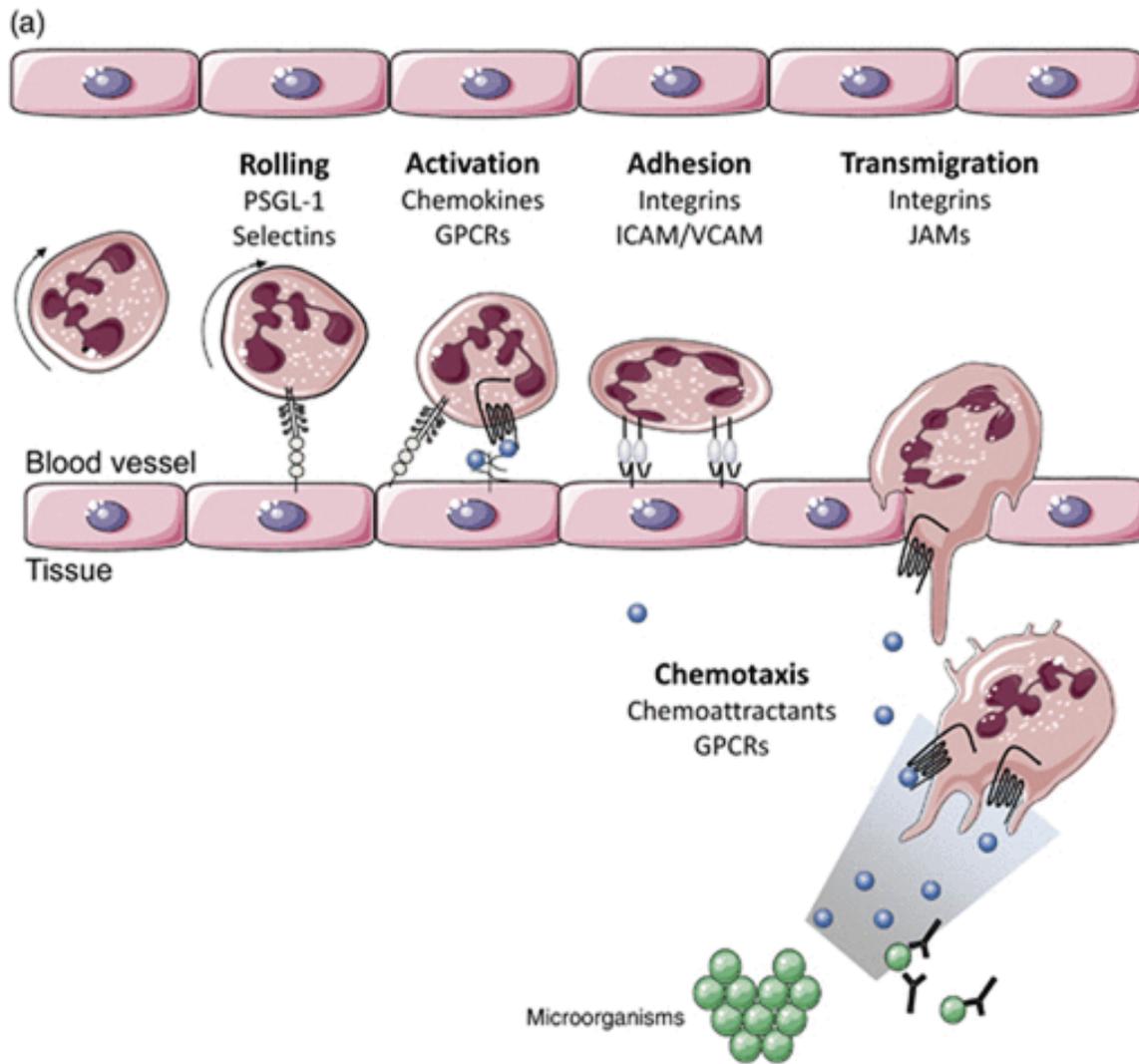
Dopo l'extravasazione i leucociti migrano verso il sito di infiammazione lungo un gradiente chimico, in un processo chiamato **chemiotassi**.

I fattori chemiotattici sono importanti nell'attivare l'adesività delle integrine e nel direzionare la migrazione dei leucociti.

I fattori chemiotattici sono in genere molecole solubili che diffondono dal sito di produzione, dove la loro concentrazione è maggiore

(i leucociti possono percepire una differenza di concentrazione dell'1% lungo il loro diametro e muoversi verso il fattore chemiotattico!).





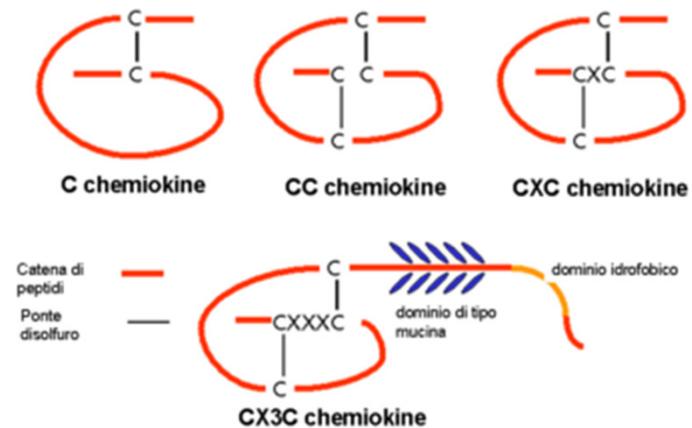
Fattori chemiotattici

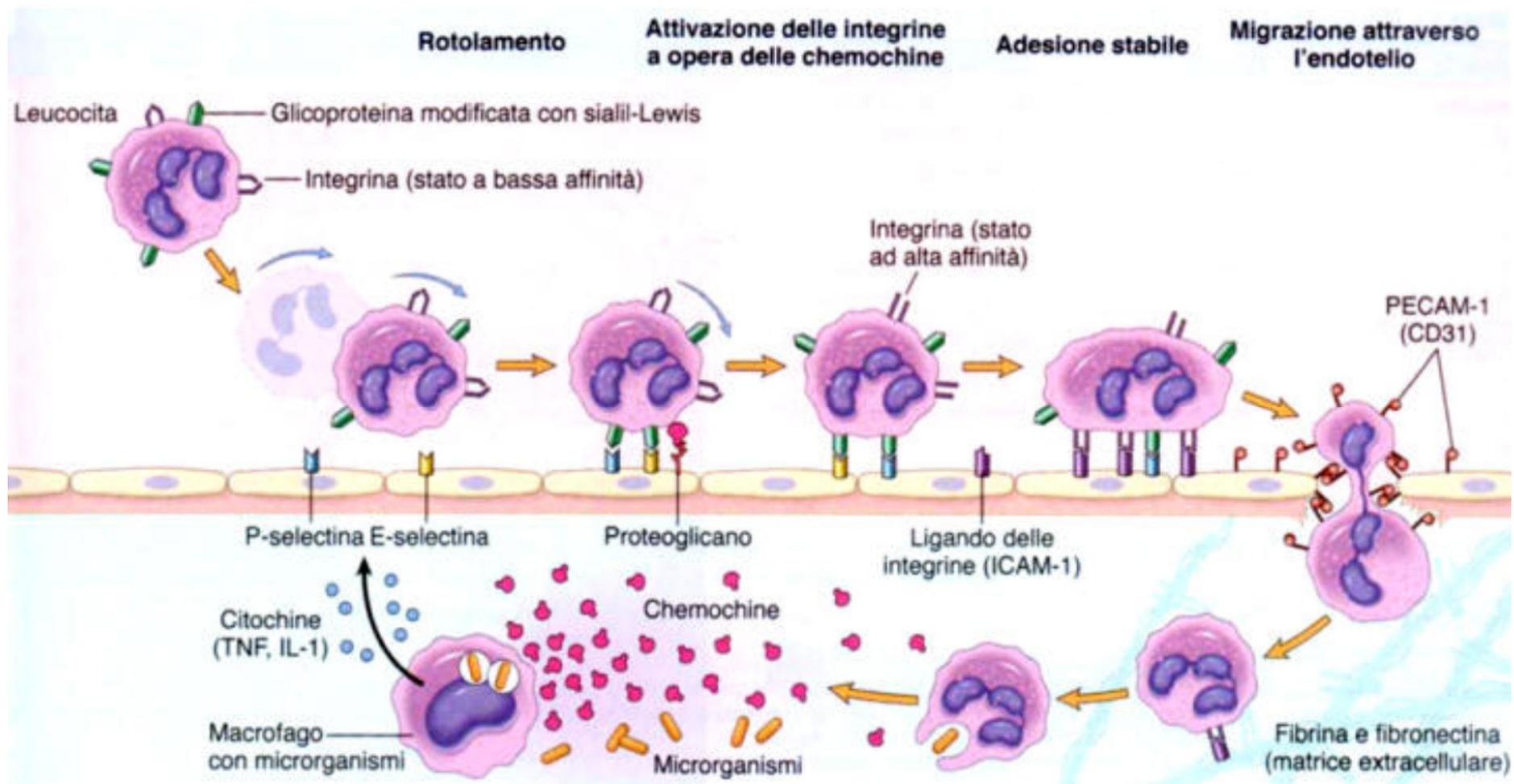
Sia sostanze esogene che sostanze endogene possono fungere da agenti chemiotattici per i leucociti:

- famiglia delle **chemochine** (es. **IL-8**);
- **prodotti batterici solubili** (soprattutto peptidi che terminano in N-formil-metionina);
- **componenti del sistema del complemento** (soprattutto C5a);
- **prodotti del metabolismo dell'acido arachidonico (AA)** in particolare il LTB₄.



Struttura delle classi di chemiochine

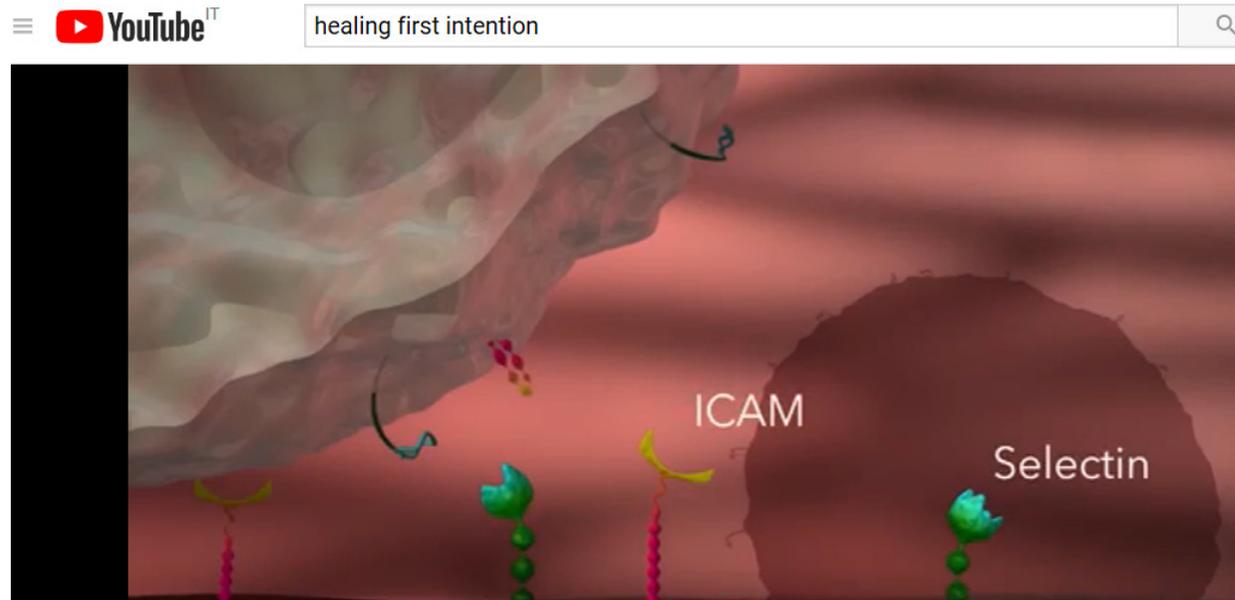


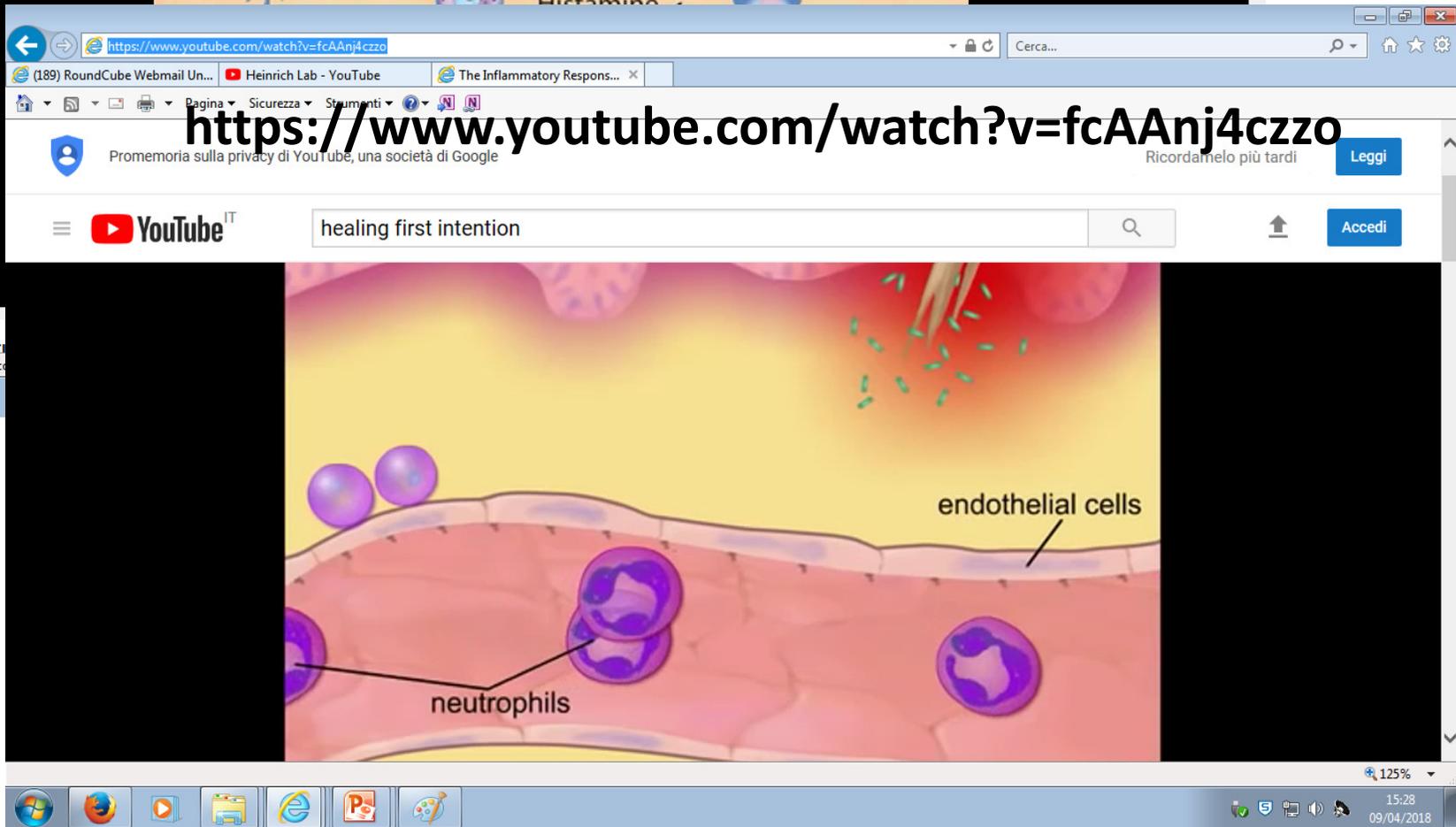
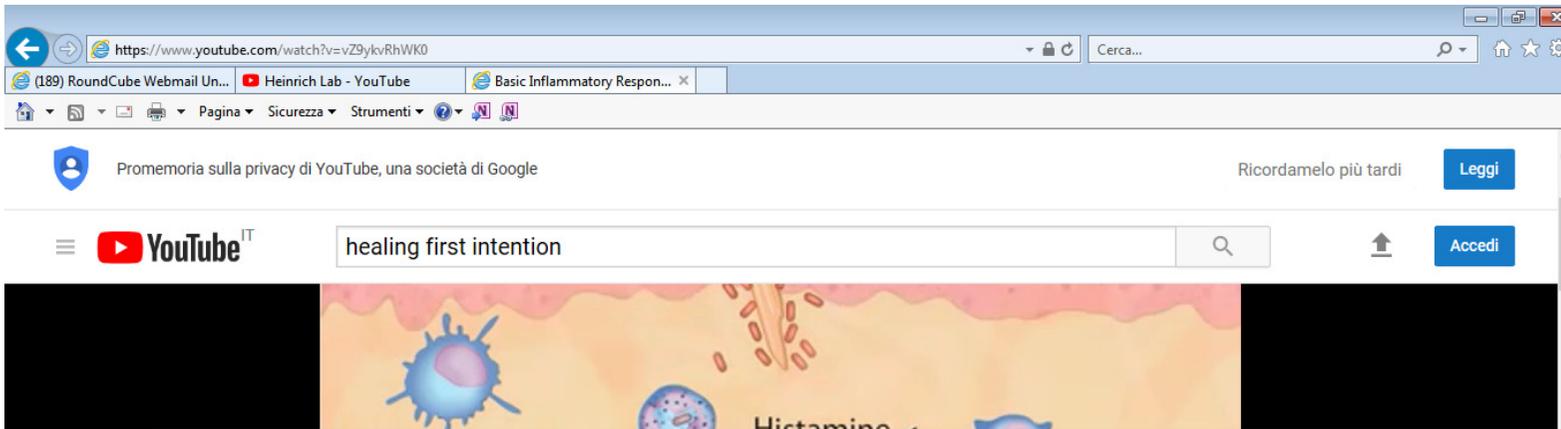


<https://www.youtube.com/user/HeinrichLab>

The image shows a screenshot of a YouTube channel page for "Heinrich Lab". At the top, the YouTube logo is visible on the left, and a search bar with the text "Cerca" is in the center. To the right of the search bar is a magnifying glass icon and a blue "Accedi" button. Below the search bar is a large banner image showing a laboratory setting with a petri dish containing a glowing blue liquid, and a pipette tip on the left. The channel name "Heinrich Lab" is displayed below the banner, with a red "Iscriviti" button and the number "46" next to it. Below the channel name are navigation tabs: "Home page" (underlined), "Video", "Playlist", "Canali", "Discussione", and "Informazioni". Below the navigation tabs is a video thumbnail titled "Signaling in immune cells: A cross-disciplinary view" showing green fluorescent cells. To the right of the video is a "Canali popolari" section with two entries: "SCIENZIATI subito" with an "Iscriviti" button, and "NumberSeven". At the bottom of the screenshot, a Windows taskbar is visible with various icons and a system tray showing the time "12:2" and a zoom level of "125%".

https://www.youtube.com/watch?v=6qU-0ETo5_s

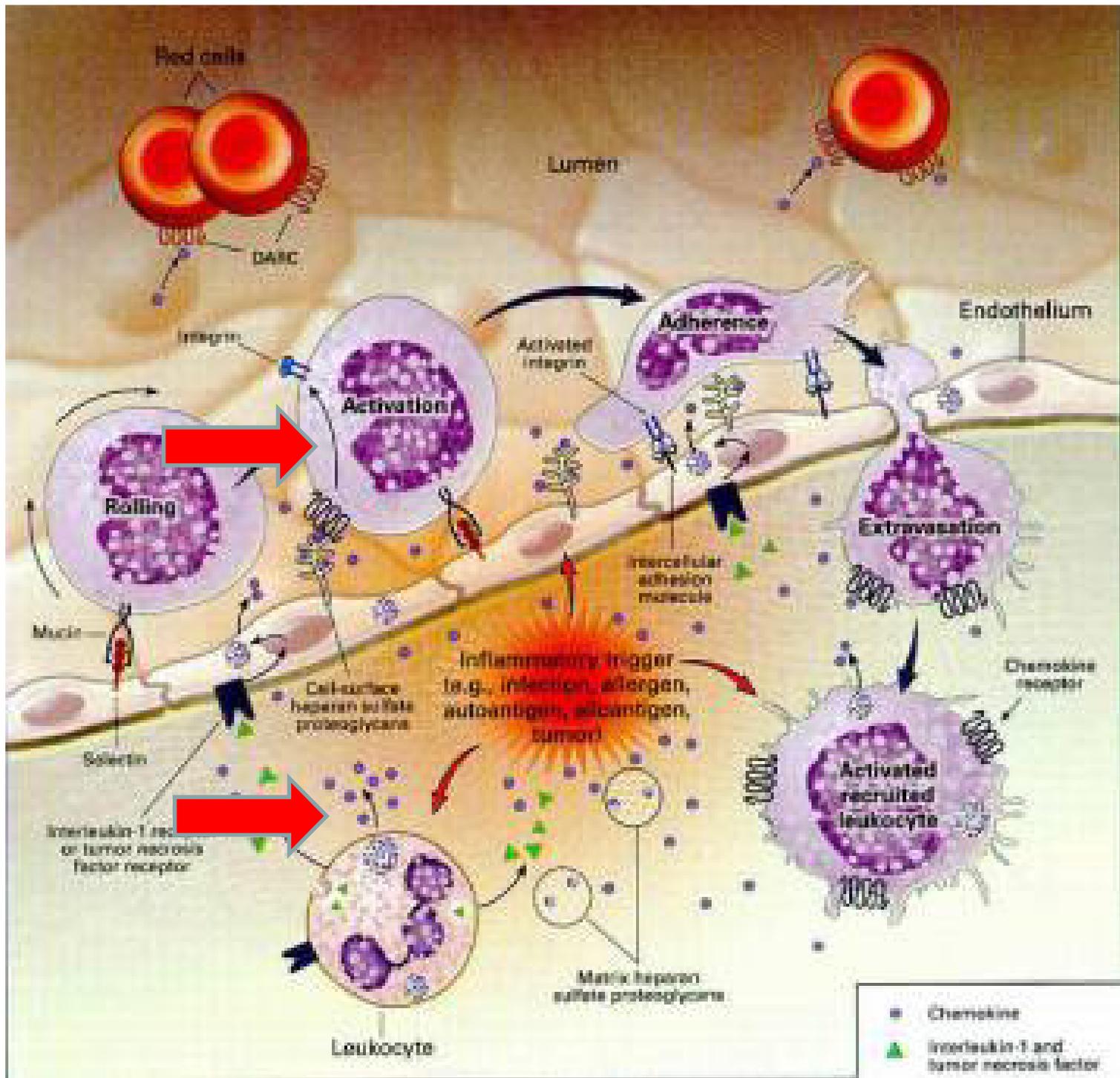




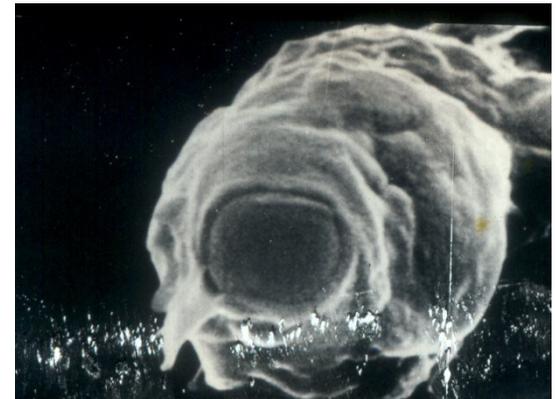
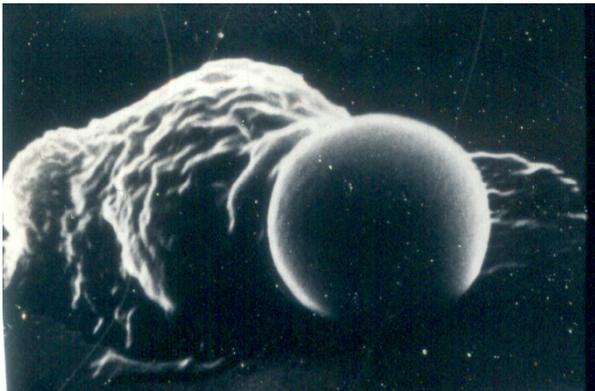
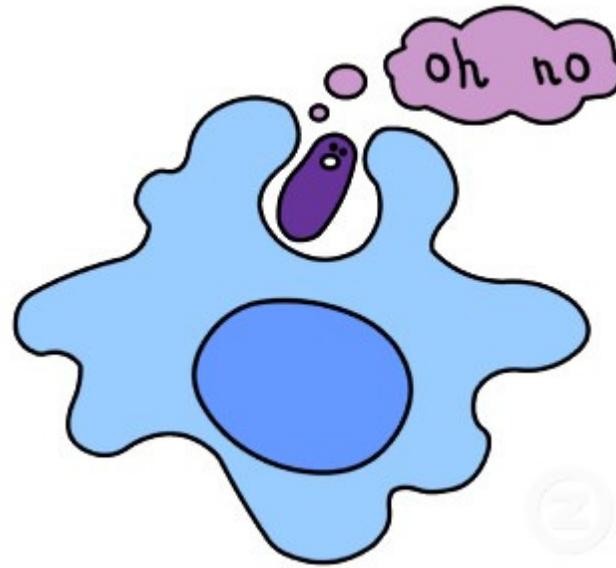
Ruolo dei fattori chemiotattici - parte 1

I fattori chemiotattici si legano a specifici recettori sulla superficie leucocitaria ed inducono:

- **modulazione delle molecole di adesione leucocitarie:** affinità per la controparte endoteliale (es. integrina LFA-1)
- **l'assemblaggio degli elementi citoscheletrici** contrattili necessari per il movimento.
- **la direzione del movimento** viene specificata dall'aumento di densità di reazione recettore-ligando su un lato della superficie cellulare.

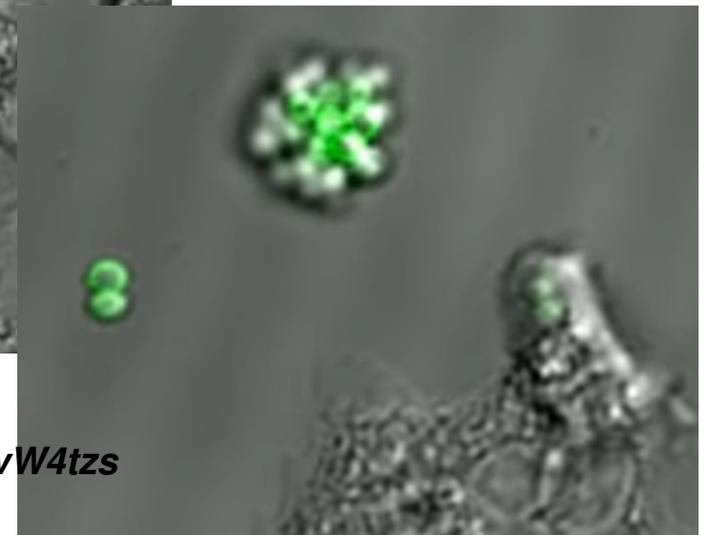
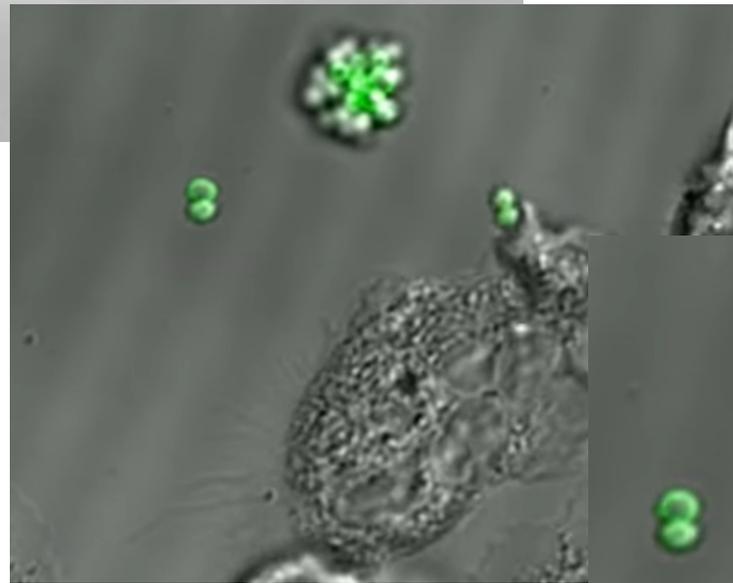


Fagocitosi



09/11/05 21:27:20
2.62 cm H2O

<https://www.youtube.com/watch?v=IL2qDnVVj5s>
Neutrophil Phagocytosis of a 4.6 μ m Bead



<https://www.youtube.com/watch?v=438EovW4tzs>

FAGOCITOSI E DEGRANULAZIONE

La fagocitosi ed il rilascio di enzimi lisosomali sono i due maggiori benefici risultanti dall'accumulo di leucociti nel sito infiammatorio.

La fagocitosi consiste di tre passaggi:

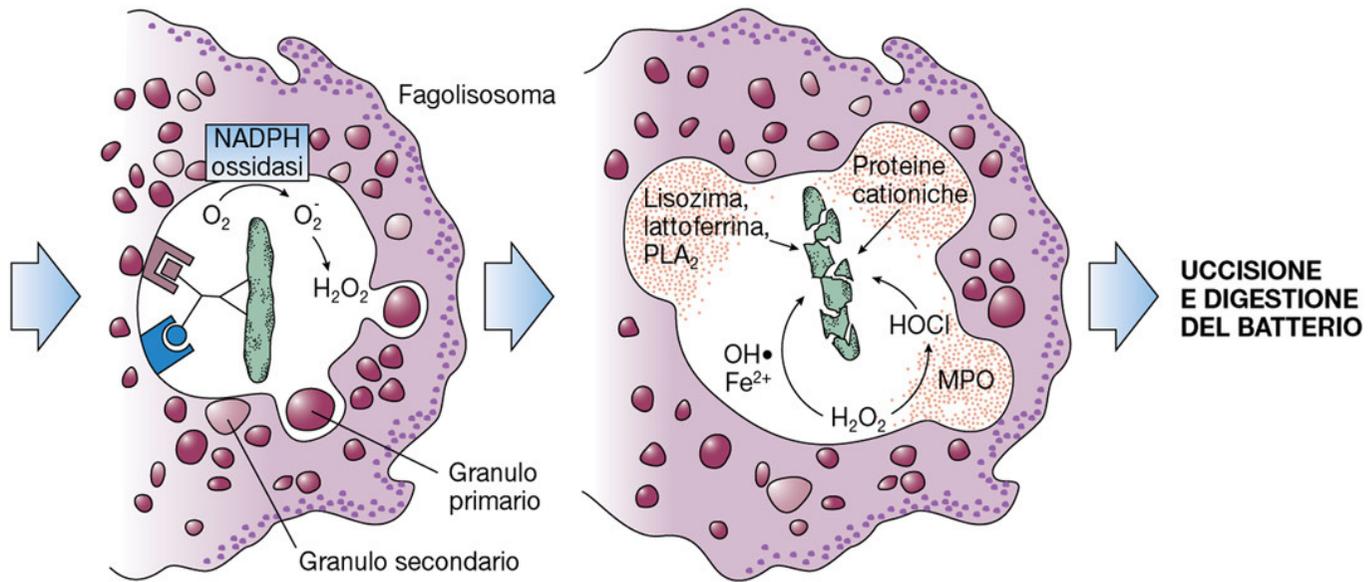
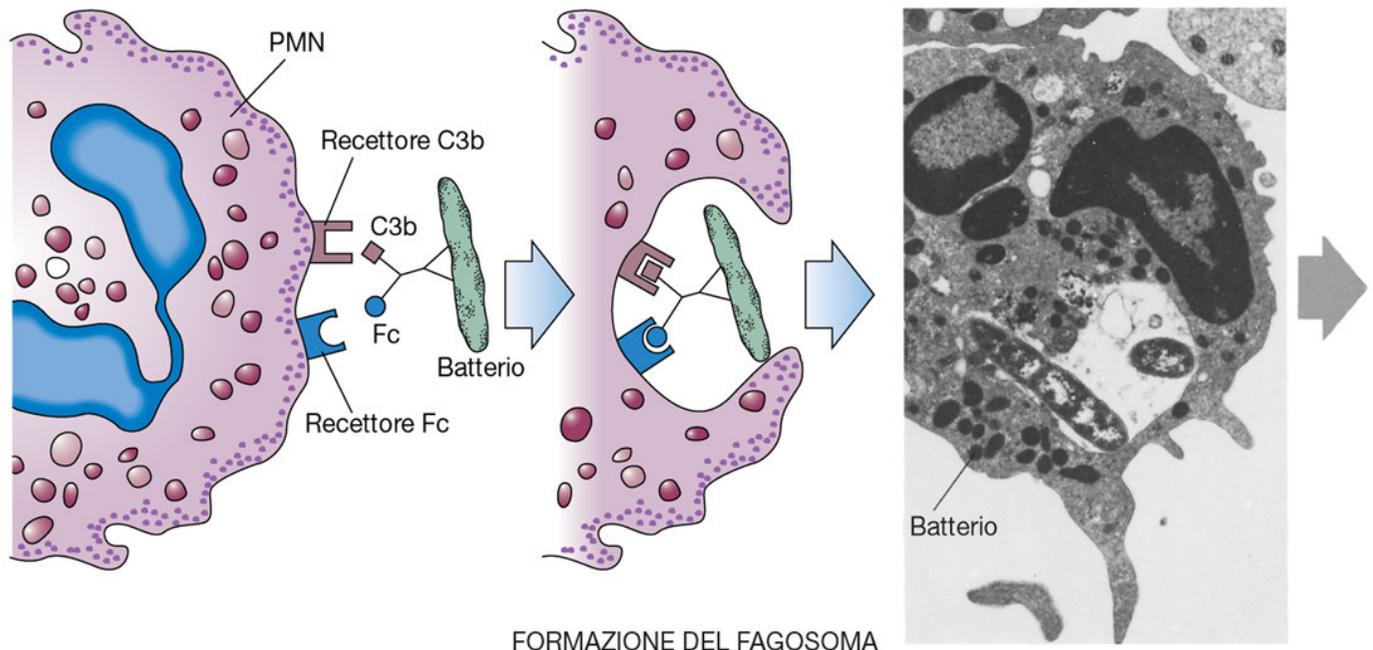
- **Riconoscimento e attacco** della particella da ingerire da parte del leucocita. Il riconoscimento e l'attacco della > parte dei microrganismi viene facilitato rivestendoli con proteine seriche, genericamente chiamate opsonine, che si legano a specifici recettori sui leucociti= opsonizzazione.

Le più importanti opsonine sono le immunoglobuline G (IgG), il frammento C3b del complemento.

In entrambe i casi i corrispondenti recettori sui leucociti sono il recettore per la parte Fc della molecola anticorpale, i recettori complementari CR1, 2 e 3.

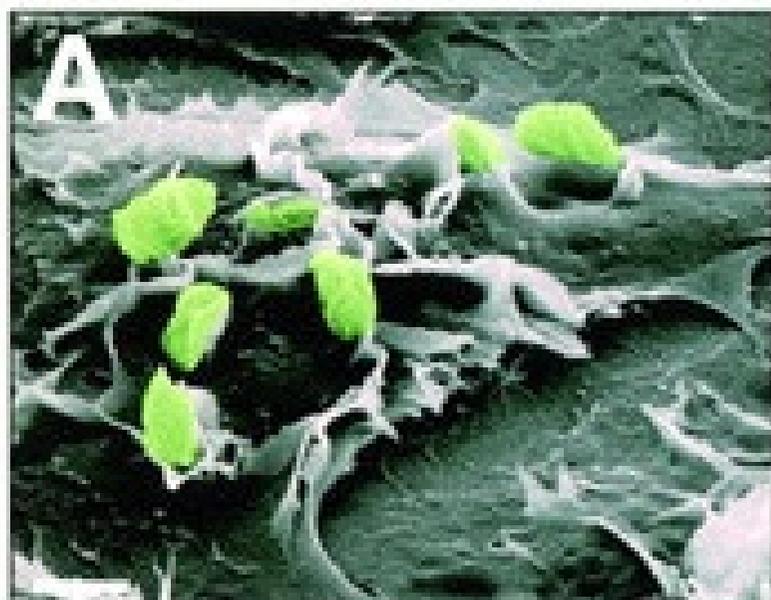
- **L'inglobamento e formazione del vacuolo di fagocitosi.** Il legame della particella opsonizzata innesca il suo inglobamento. I pseudopodi avvolgono la particella fino ad inglobarla, formando un vacuolo di fagocitosi. La membrana di questo vacuolo si fonde con quella dei lisosomi, con conseguente scarico del contenuto granulare nel fagolisosoma risultante (degranulazione).
- **Uccisione e degradazione** del materiale ingerito. L'ultimo stadio del processo di fagocitosi è l'uccisione del microrganismo e la sua degradazione. L'uccisione dei microrganismi coinvolge la produzione di RL dell'ossigeno.



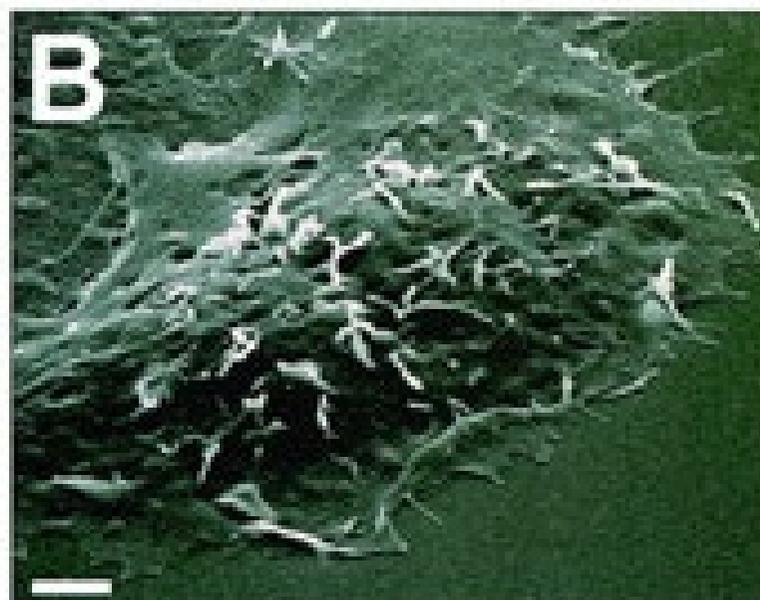


DEGRANULAZIONE E ATTIVAZIONE DI NADPH OSSIDASIS

15 min



45 min



Meccanismi battericidi ossigeno-dipendenti

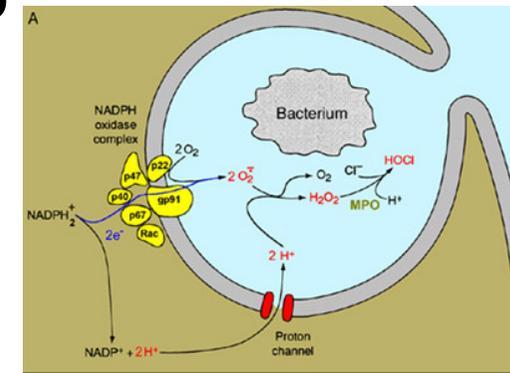
La fagocitosi stimola: l'esplosione del consumo di ossigeno= respiratory burst \Rightarrow produzione di specie reattive dell'ossigeno.

Questa è dovuta all'attivazione di una ossidasi dei leucociti, la NADPH ossidasi, la quale ossida l'NADPH riducendo l'ossigeno ad anione superossido ($O_2^{\cdot-}$):



Il superossido è rapidamente convertito (per dismutazione spontanea e grazie all'attività della superossido dismutasi =SOD) in H_2O_2 : $O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + 2O_2$

ma le concentrazioni di H_2O_2 sono insufficienti ad uccidere la > parte dei batteri.

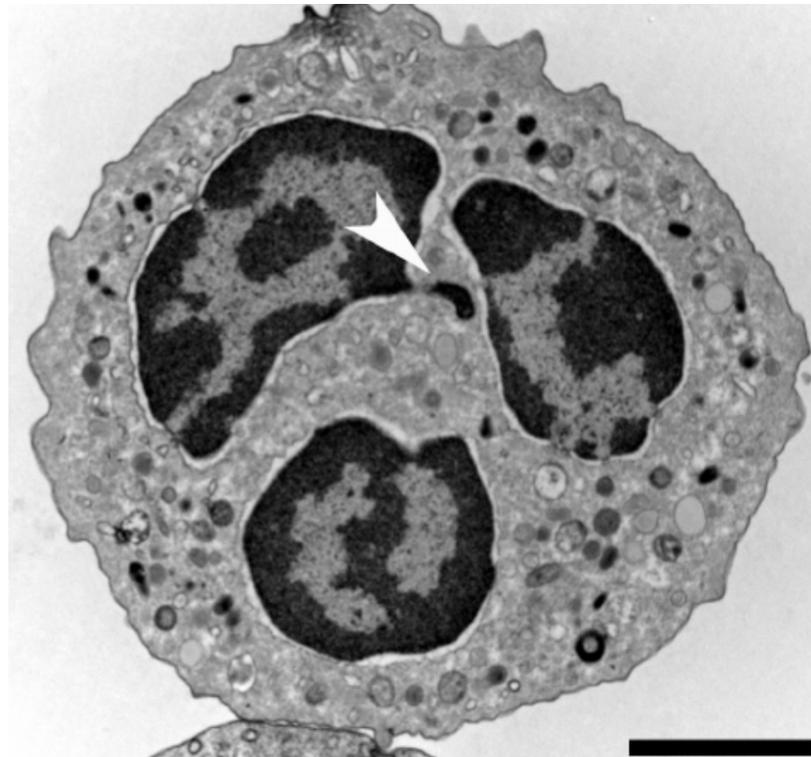


Meccanismi battericidi ossigeno-dipendenti

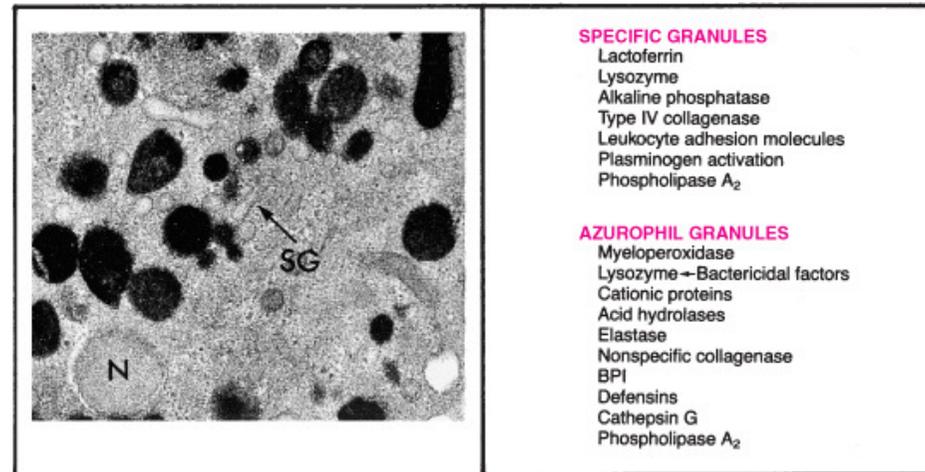
Tuttavia i lisosomi dei neutrofili (granuli azurofili) contengono un enzima, la **MIELOPEROSSIDASI (MPO)**, la quale in presenza di **alogenuri (es. il cloruri)**, converte l' H_2O_2 in **$HOCl\bullet$** , che è un potente ossidante e agente antimicrobico.

Il sistema alogenuro-MPO- H_2O_2 è il sistema battericida più efficiente dei neutrofili.

Dopo il consumo di ossigeno l' H_2O_2 viene convertita in acqua e O_2 dall'azione della **CATALASI**.



Meccanismi battericidi ossigeno indipendenti

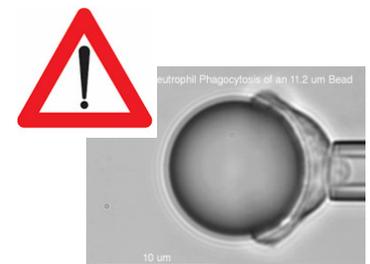
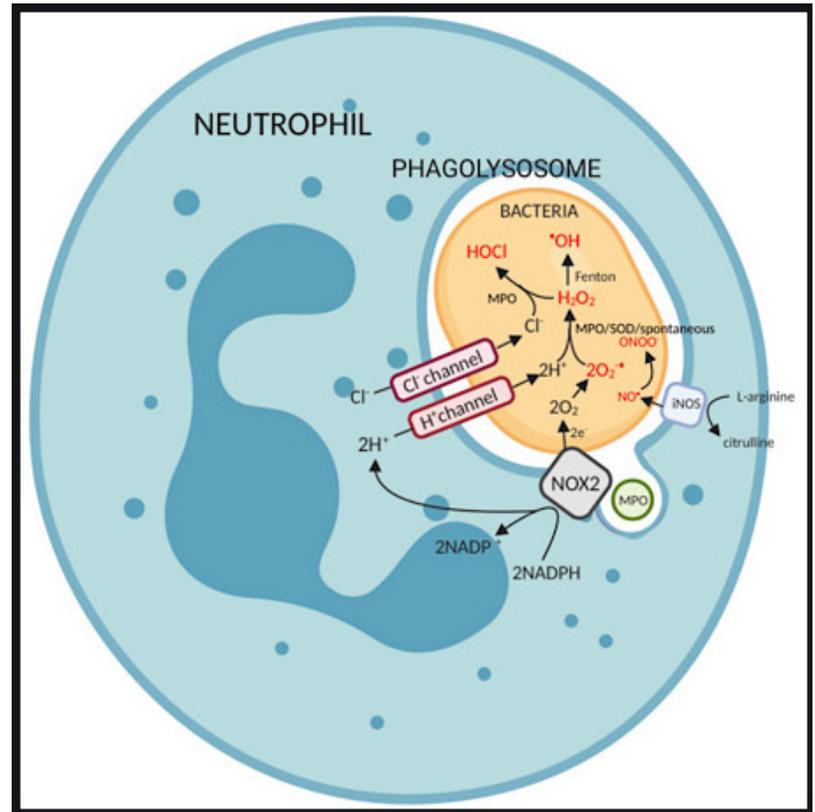
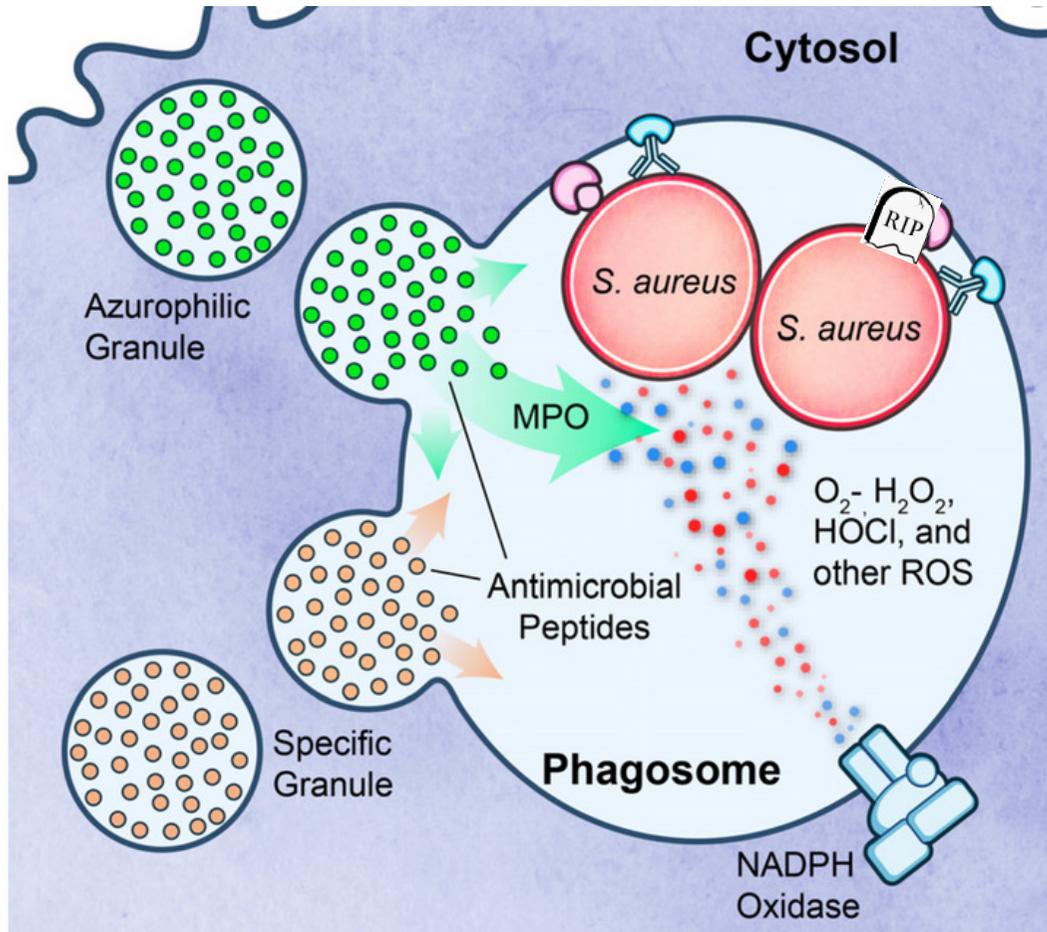


© Elsevier 2005

Anche in assenza di respiratory burst altri componenti dei granuli leucocitari possono uccidere batteri ed altri agenti infettivi.

Questi includono:

- la proteina **BPI** (Bactericidal Permeability Increasing Protein che determina l'attivazione di fosfolipasi con conseguente degradazione dei fosfolipidi e aumento della permeabilità della membrana esterna dei microrganismi)
- il **lisozima** (idrolizza il rivestimento peptidoglicanico dei batteri),
- la **lattoferrina** (una proteina che lega il ferro, presente nei granuli specifici dei neutrofili),
- la **MBP** (=proteina basica maggiore, una proteina cationica degli eosinofili che citotossica per molti parassiti),
- le **defensine**, un gruppo di peptidi che uccidono i microrganismi creando dei **pori** sulle loro membrane.



Ruolo dei fattori chemiotattici-parte 2

Oltre a stimolare la locomozione, i fattori chemiotattici inducono altre risposte leucocitarie che vengono genericamente indicate come **attivazione leucocitaria**:

- **degranolazione e secrezione** degli enzimi lisosomiali e dell'esplosione ossidativa
- produzione di **metaboliti dell'AA** dai fosfolipidi.

[METABOLITI DELL'AA...

METABOLITI DELL'AA (EICOSANOIDI): PROSTAGLANDINE E LEUCOTRIENI

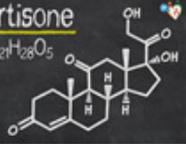
I prodotti del metabolismo dell'AA influenzano un gran numero di processi biologici, inclusa **l'infiammazione e l'emostasi**.

Essi possono essere immaginati come una sorta di **ormoni a corto raggio** d'azione che agiscono localmente, nel sito dove vengono generati, e rapidamente decadono spontaneamente o vengono distrutti enzimaticamente.

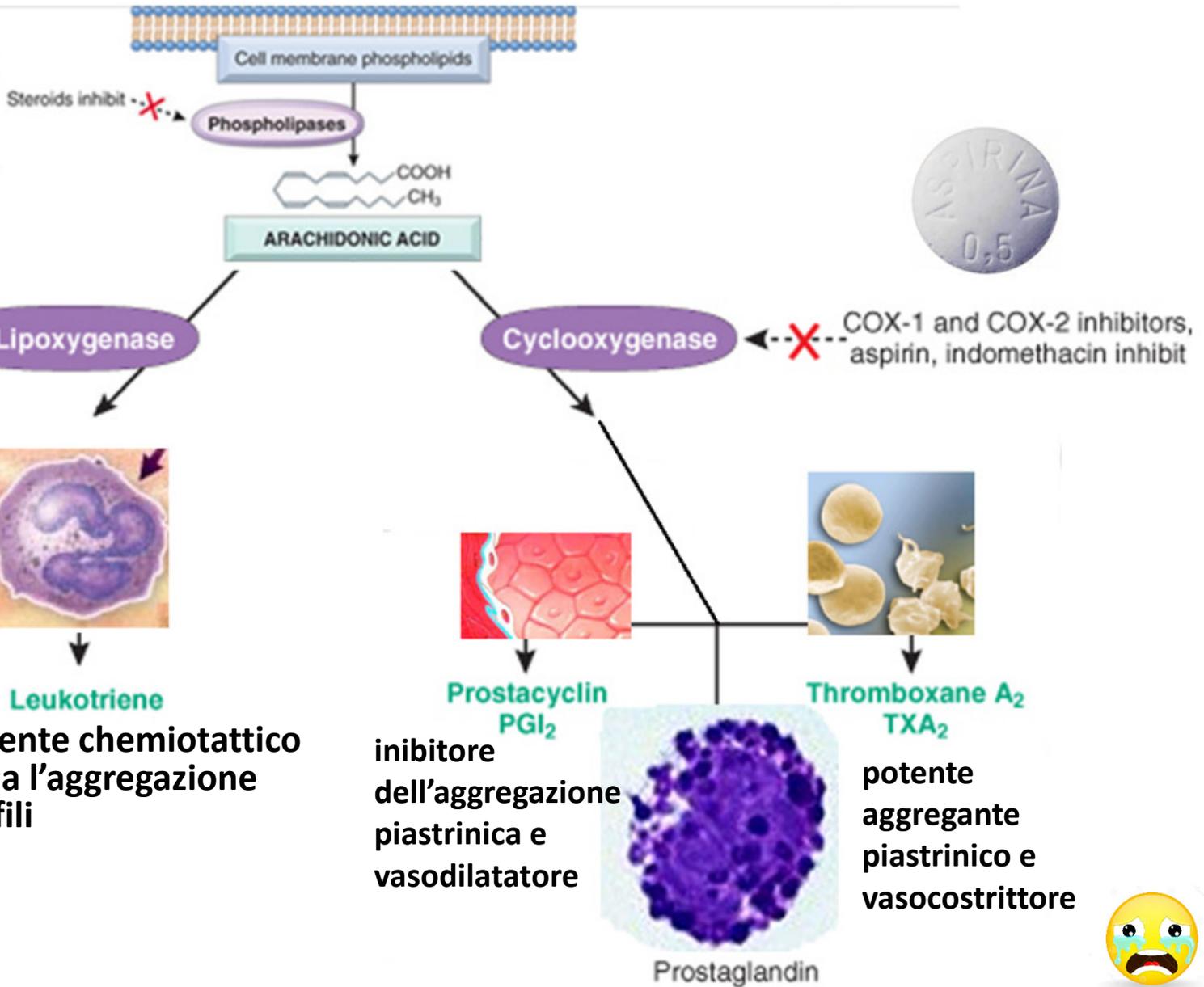
L'acido arachidonico (AA) è un acido grasso polinsaturo (4=) derivato dall'acido linoleico (dalla dieta) e presente nel corpo solo in forma esterificata come **componente dei fosfolipidi di membrana**.

Esso viene rilasciato da questi fosfolipidi per mezzo di **fosfolipasi cellulari** attivate da **stimoli meccanici, chimici, fisici o da mediatori infiammatori (es. C5a)**.

Cortisone
 $C_{21}H_{38}O_5$



Farmacii - Pillole

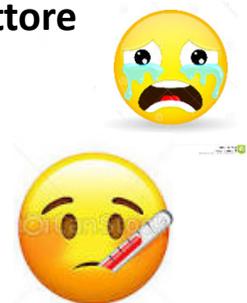


potente agente chemiotattico e determina l'aggregazione dei neutrofili

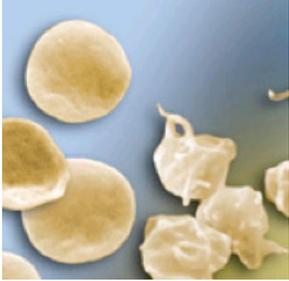
inibitore dell'aggregazione piastrinica e vasodilatatore

potente aggregante piastrinico e vasoconstrictore

Vasodilatazione (eritema) e potenzia la formazione di edema.
 Dolore e febbre



Il metabolismo dell'AA procede lungo 2 vie (che prendono il loro nome dagli enzimi che iniziano la reazione):



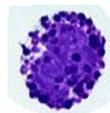
-Via della cicloossigenasi (COX).

Dall'azione di diversi enzimi (alcuni dei quali hanno una distribuzione tissutale ridotta) derivano: prostaglandine (PGD), PGI₂ (prostaciclina) e trombossano (TXA):

- **Nelle piastrine:** Trombossano sintetasi → **TXA₂**, un potente **aggregatore piastrinico e vasocostrittore.**



- **Nell'endotelio:** Prostaciclina sintetasi (ma non trombossano sintetasi) → **PGI₂**, un **inibitore dell'aggregazione piastrinica e un vasodilatatore.**



- **Nelle mast cellule** il > metabolita della via ciclossigenasica è PGD₂ che insieme a PGE₂ e PGF 2 α (più ampiamente distribuiti) causano **vasodilatazione e potenziano la formazione di edema.**



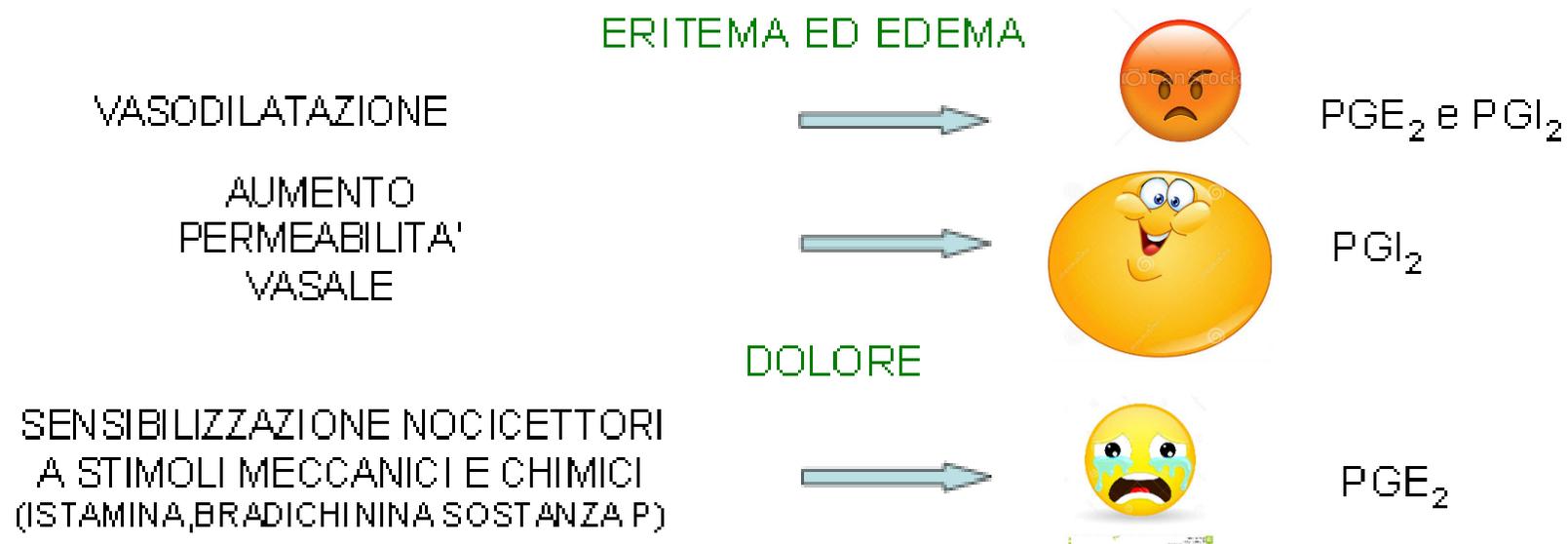
-Via della lipossigenasi (LPO).

La 5-lipossigenasi è il **principale enzima metabolizzante l'AA nei neutrofil** e produce una famiglia di prodotti chiamati **leucotrieni (LT).**

LTB₄ è un potente **agente chemiotattico e determina l'aggregazione dei neutrofil**

LTC₄ ed i suoi metaboliti: LTD₄ e LTE₄ causano **vasocostrizione, broncospasmo e ↑permeabilità vascolare.**

EFFETTI PRO-INFIAMMATORI DELLE PROSTAGLANDINE



INFEZIONI
DANNO TISSUTALE
INFIAMMAZIONE
RIGETTO
TUMORI



LIBERAZIONE DI PIROGENI



PRODUZIONE DI CITOCHINE

(IL-1 β , IL-6, TNF- α ect)

Area preottica ipotalamo



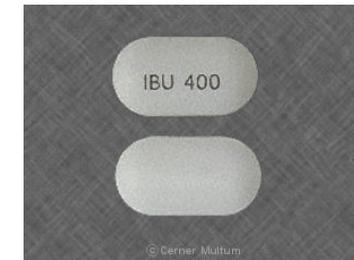
PRODUZIONE DI PGE₂



IPERTERMIA



Anti-infiammatori



Gli eicosanoidi partecipano quindi a tutti gli aspetti dell'infiammazione, compresi la febbre ed il dolore.

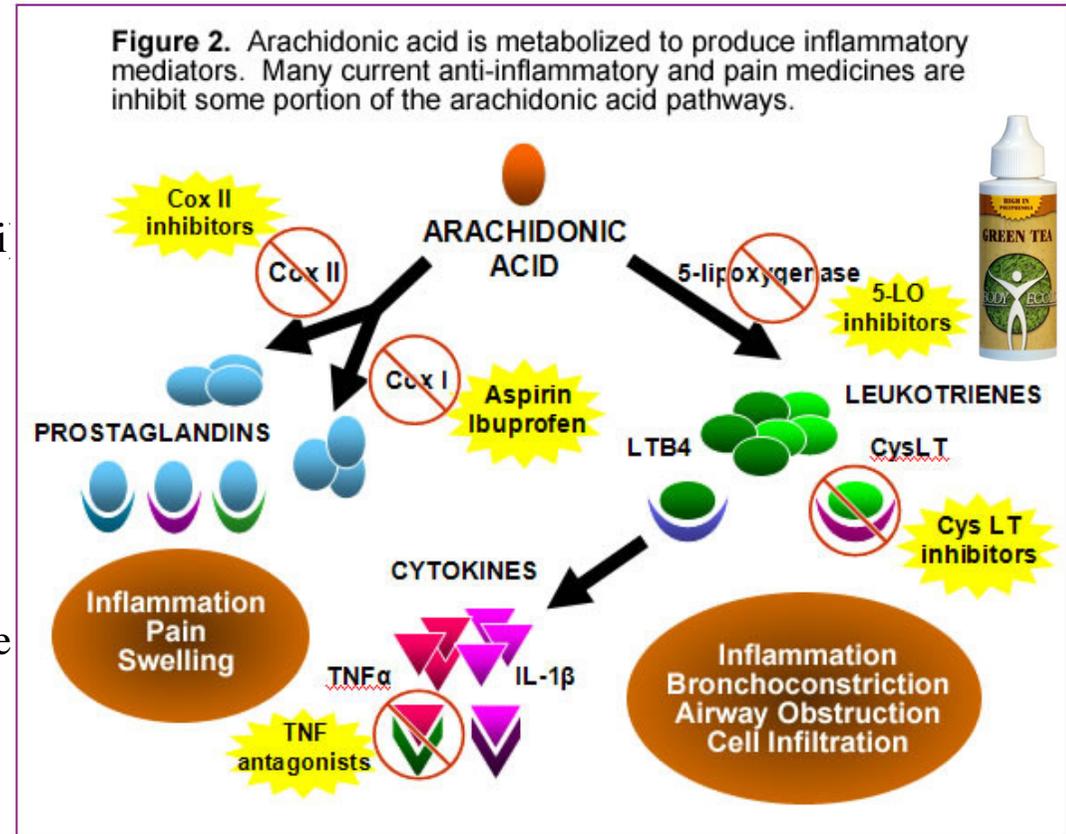
Da ciò deriva l'utilità clinica di agenti anti-infiammatori in grado di bloccarne la produzione.

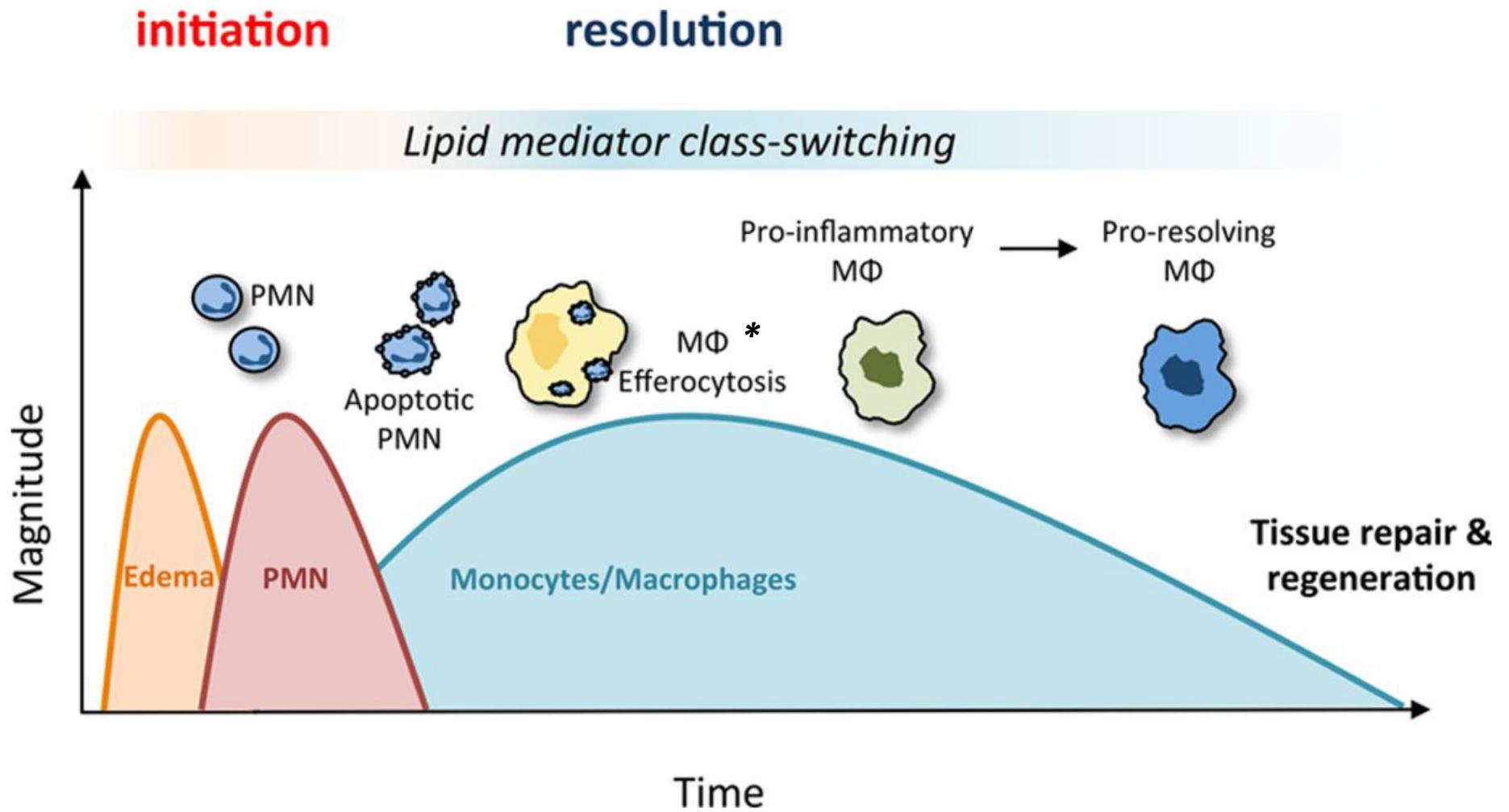
- **L'aspirina e l'ibuprofen** (agenti anti-infiammatori non steroidei) **inibiscono** l'attività della **COX** (non della lipossigenasi) → **inibiscono la sintesi delle prostaglandine.**

Esistono **2 forme di COX:**
COX-1 e COX-2.

COX-1 è espressa nella mucosa gastrica (COX-2 no) dove esplica azione protettiva prevenendo il danno indotto dall'acido. Mentre l'inibizione delle COX da parte di aspirina e ibuprofen riduce l'infiammazione bloccando la sintesi di prostaglandine, allo stesso tempo predispongono all'ulcera gastrica.

- **I glucocorticoidi**, potenti agenti anti-infiammatori, agiscono in parte bloccando la fosfolipasi A2.





*Efferocytosis is the process by which apoptotic cells are removed by phagocytic cells

...METABOLITI DELL'AA]

DANNO TISSUTALE INDOTTO DAI LEUCOCITI

Le sostanze più importanti dei neutrofili nell'indurre il danno tissutale sono:

- **enzimi lisosomiali;**
- **metaboliti attivi dell'ossigeno;**
- **prodotti del metabolismo dell'Acido Arachidonico (AA).**

La fagocitosi risulta nel rilascio di enzimi lisosomiali non solo nel fago-lisosoma, ma anche potenzialmente nello spazio extracellulare, dove di conseguenza si verifica danno cellulare e degradazione della matrice extracellulare.

Questo può accadere durante

- il cosiddetto fenomeno del ***rigurgito durante il pasto*** (incompleta chiusura del fago-lisosoma),
- durante la **fagocitosi frustrata** (tentativo di fagocitare particelle troppo grandi e quindi impossibilità di chiudere il fago-lisosoma)

Inoltre i leucociti attivati rilasciano specie reattive dell'ossigeno e prodotti del metabolismo dell'AA, che sono potenti mediatori in grado di causare danno endoteliale danno tissutale e amplificano l'effetto dello stimolo infiammatorio iniziale.

Dopo la fagocitosi **neutrofili** vanno incontro a morte cellulare per **apoptosi** e sono **ingeriti dai macrofagi** o eliminati attraverso i vasi linfatici.

DIFETTI NELLA FUNZIONE LEUCOCITARIA

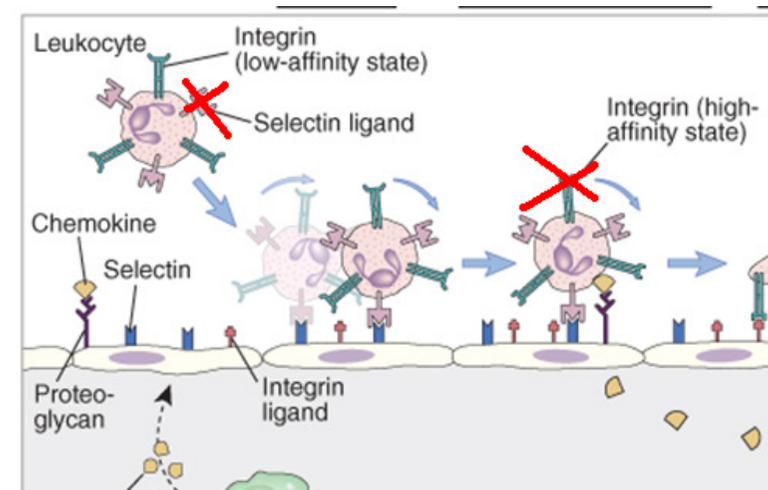
Visto il ruolo centrale dei leucociti nei meccanismi di difesa, non sorprende che difetti nella funzione leucocitaria (genetici o acquisiti) portino ad una > **suscettibilità alle infezioni**.

DIFETTI GENETICI

➤ Difetti nell'adesione cellulare.

Nella **LAD (= Leukocyte Adhesion Deficiency)**, la sintesi /attivazione difettosa delle integrine leucocitarie, e del ligando per le selectine porta alla mancata adesione endoteliale → **Assenza di pus nei siti di infezione**

- **Lad I e III** difetto nelle integrine (gravi infezioni batteriche ricorrenti dalla nascita)
- **Lad II** difetto nel recettore per le selectine (infez. raramente gravi, bassa statura, ritardo mentale...)



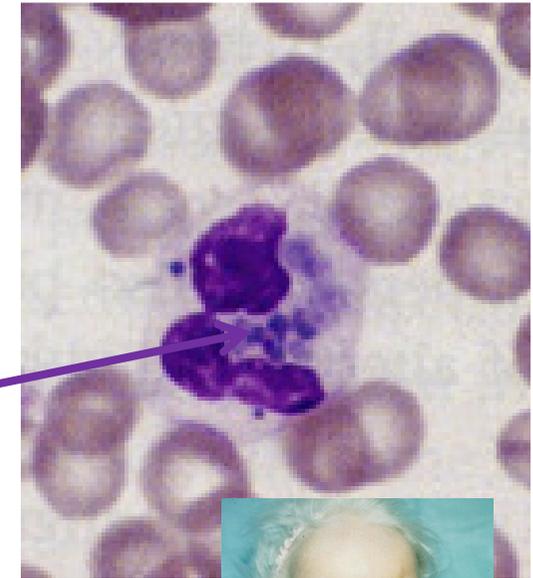
■ ■ ■ ■ ■

➤ **Difetti nella fagocitosi.**

Es. la sindrome di **Chédiak Higashi** (autosomica recessiva).

In questa **sindrome** si osserva una riduzione del trasferimento degli enzimi lisosomiali nei fagosomi con conseguente < resistenza alle infezioni.

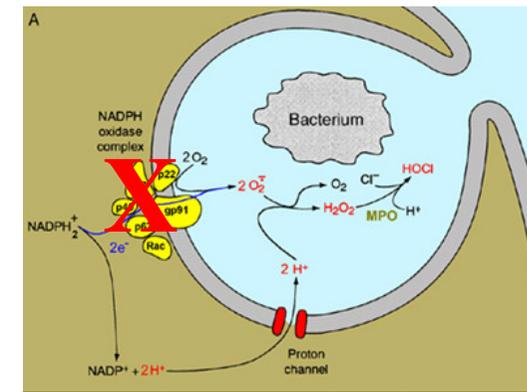
La presenza dei granuli abnormi (che derivano dall'anomala fusione dei granuli azurofili con quelli specifici) causa una ritardata e incompleta degranulazione e una ritarda fusione con i fagosomi a formare i fagolisosomi.

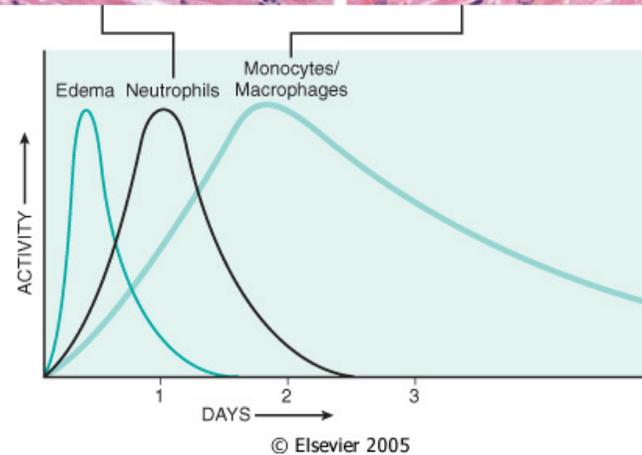
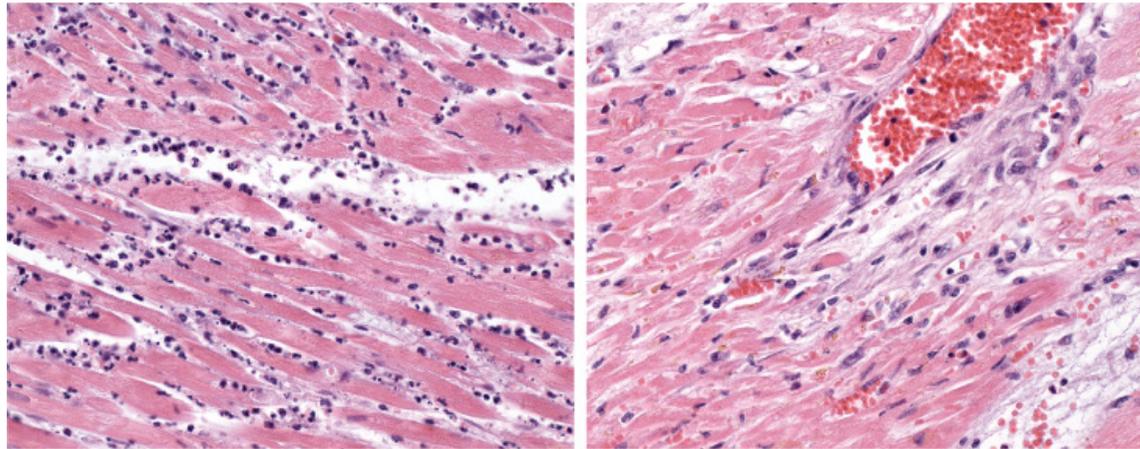


melanociti

➤ **Difetti nell'attività microbica.** Es. malattia granulomatosa cronica (**CGD**), una **deficienza genetica in una delle componenti della NADPH ossidasi** è responsabile della mancata produzione di anione superossido.

In questi pazienti la fagocitosi del microrganismo non induce l'attivazione dei meccanismi di uccisione ossigeno dipendenti con conseguenti infezioni ricorrenti.





Per quanto riguarda **l'identità dei leucociti che escono**, essa varia a seconda della natura dello stimolo iniziale e **cambiano man mano che il sito infiammatorio invecchia**, tuttavia nella > parte delle infiammazioni

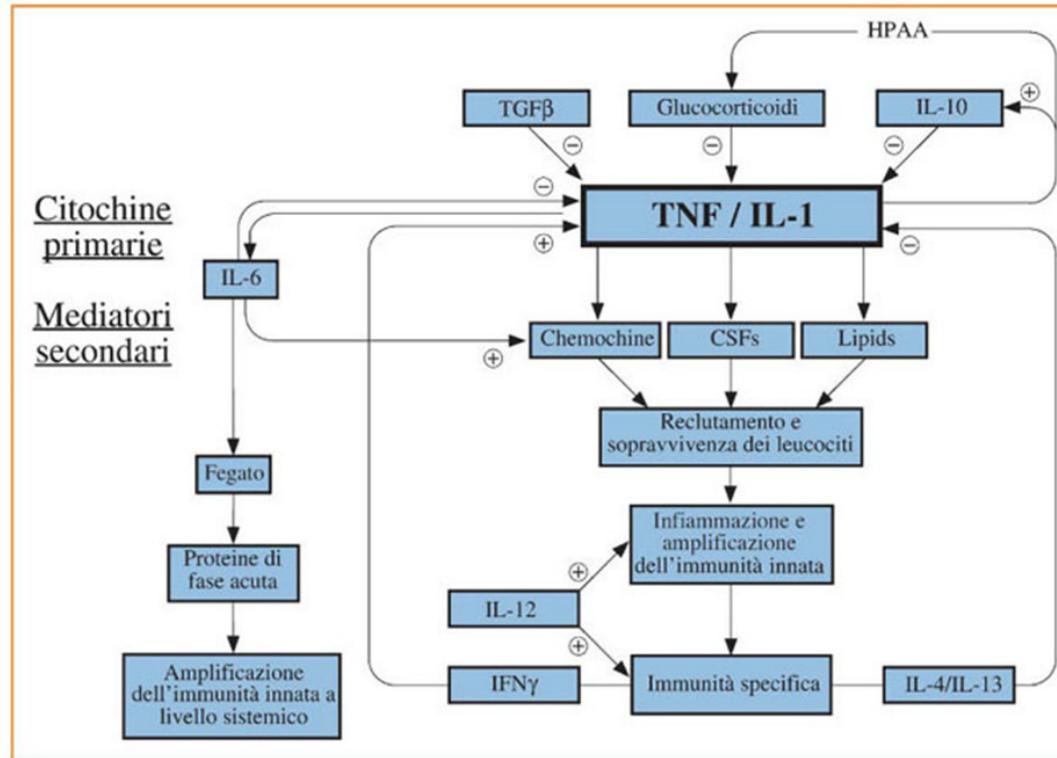
- **i neutrofili sono predominanti** nelle prime 6-24 ore (a sinistra, miocardio infartuato)
- **e sono seguiti dai monociti** nelle successive 24-48 ore (a destra).

Mentre i neutrofili hanno vita breve e vanno in apoptosi scomparendo dopo 24-48 ore, i monociti sopravvivono a lungo e possono persistere come tessutali per lunghi periodi.

Eccezioni:

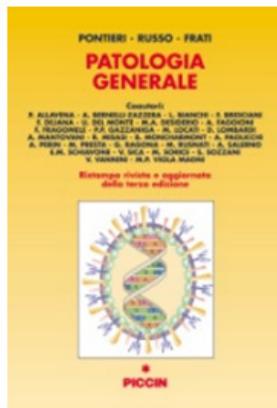
-infezioni virali: le prime cellule a giungere possono essere i linfociti

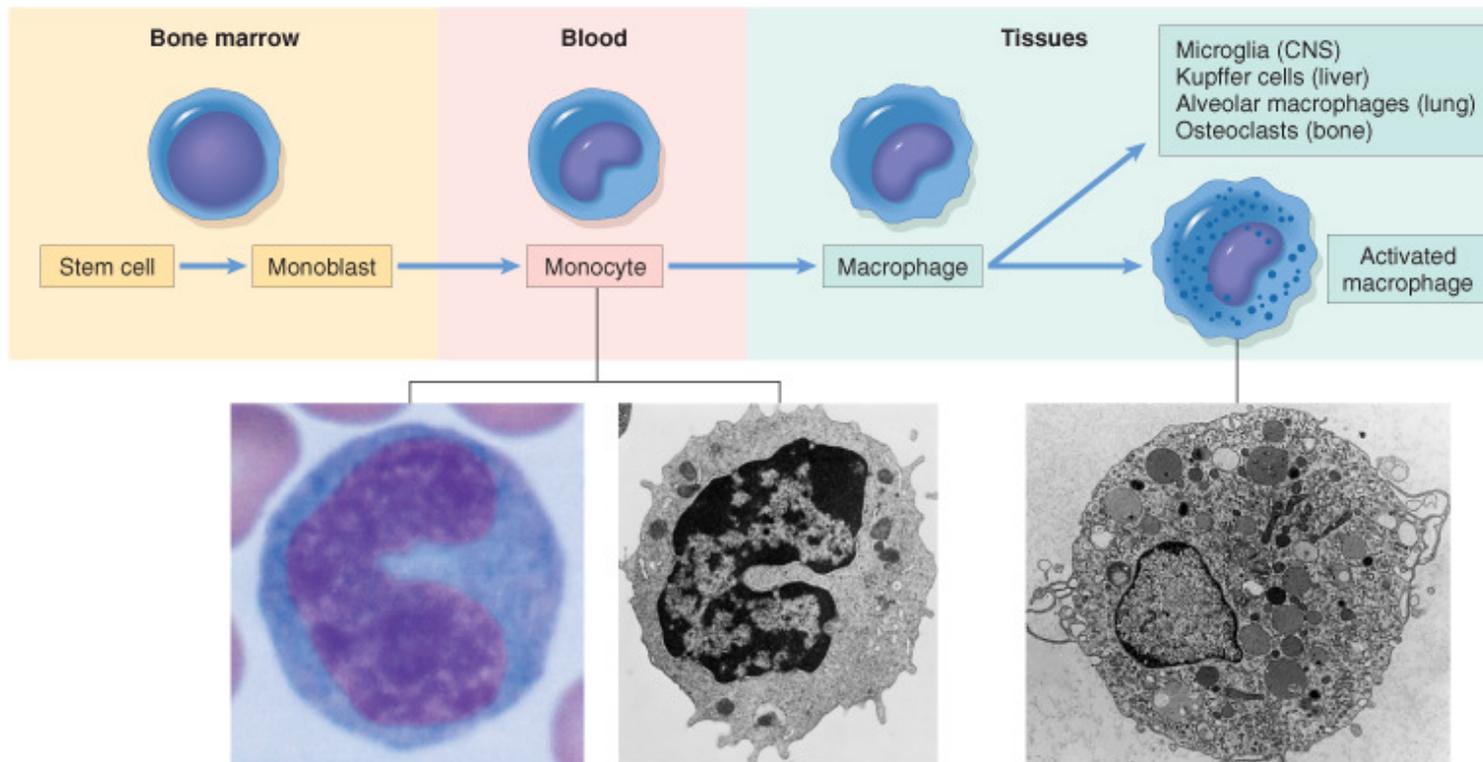
...



■ Figura 13.13 - La cascata delle citochine infiammatorie.

Le citochine dell'immunità innata, o citochine infiammatorie, sono messaggeri poliproteici che attivano e sostengono le risposte dell'immunità innata e dell'infiammazione. È utile classificarle in citochine infiammatorie primarie, prototipi delle quali sono IL-1 e TNF, e i mediatori secondari. Queste molecole agiscono a livello sistemico inducendo la produzione di IL-6 che agendo sul fegato attiva la risposta di fase acuta. Componente essenziale della risposta di fase acuta è la produzione di pentrossane corte, in particolare nell'uomo, di proteina C reattiva. Localmente, le citochine infiammatorie primarie inducono la produzione di mediatori secondari, quali ad esempio le chemochine, che amplificano il reclutamento dei globuli bianchi e la loro sopravvivenza nei tessuti e preparano lo scenario per l'attivazione dell'immunità specifica. Inoltre, amplificano i meccanismi di resistenza innata locali. La cascata delle citochine infiammatorie è regolata da segnali negativi, quali la citochina antiinfiammatoria IL-10 e gli ormoni glucocorticoidi.





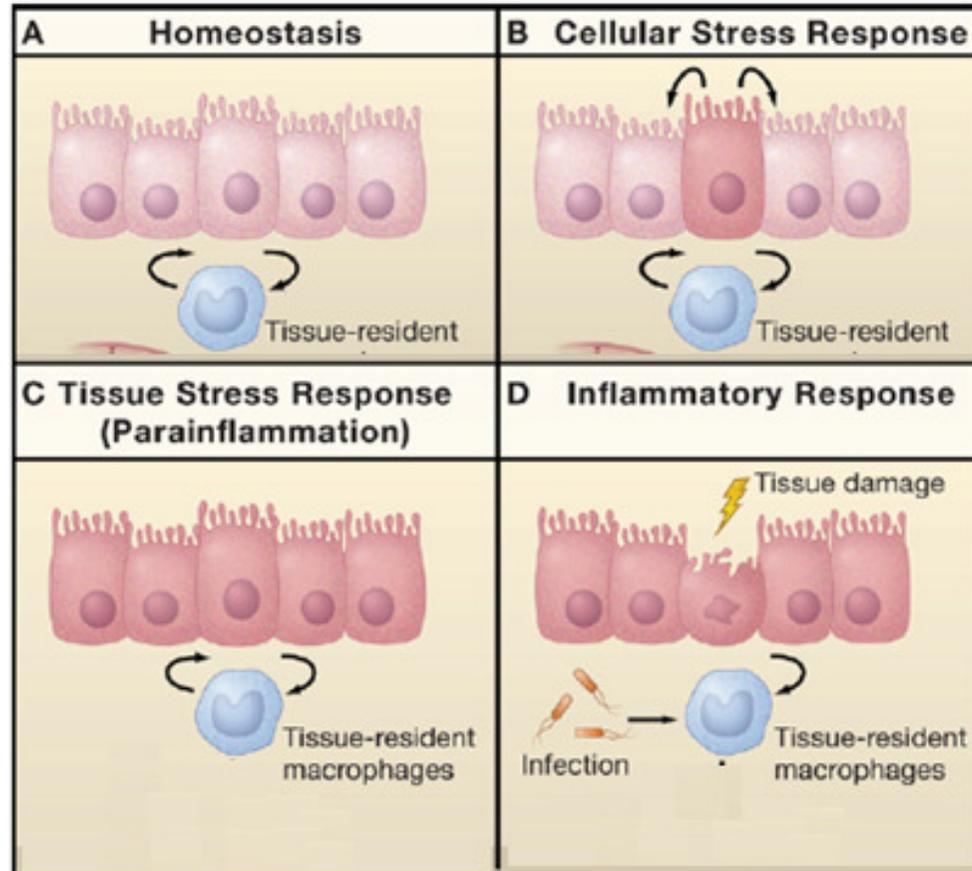
© Elsevier 2005

La vita media dei monociti circolanti è di circa 1 giorno, sotto l'influenza di molecole di adesione e fattori chemiotattici **essi cominciano a migrare nei siti di danno entro le prime 24-48 ore dopo l'insorgenza della infiammazione acuta.**

Nel tessuto extravascolare si trasformano in $M\phi$, questi possono diventare $M\phi$ **attivati/infiammatori** (\uparrow dimensioni, \uparrow contenuto enzimi lisosomiali, aumentato metabolismo, $>$ capacità di uccidere i microrganismi ingeriti e alcune cellule tumorali).

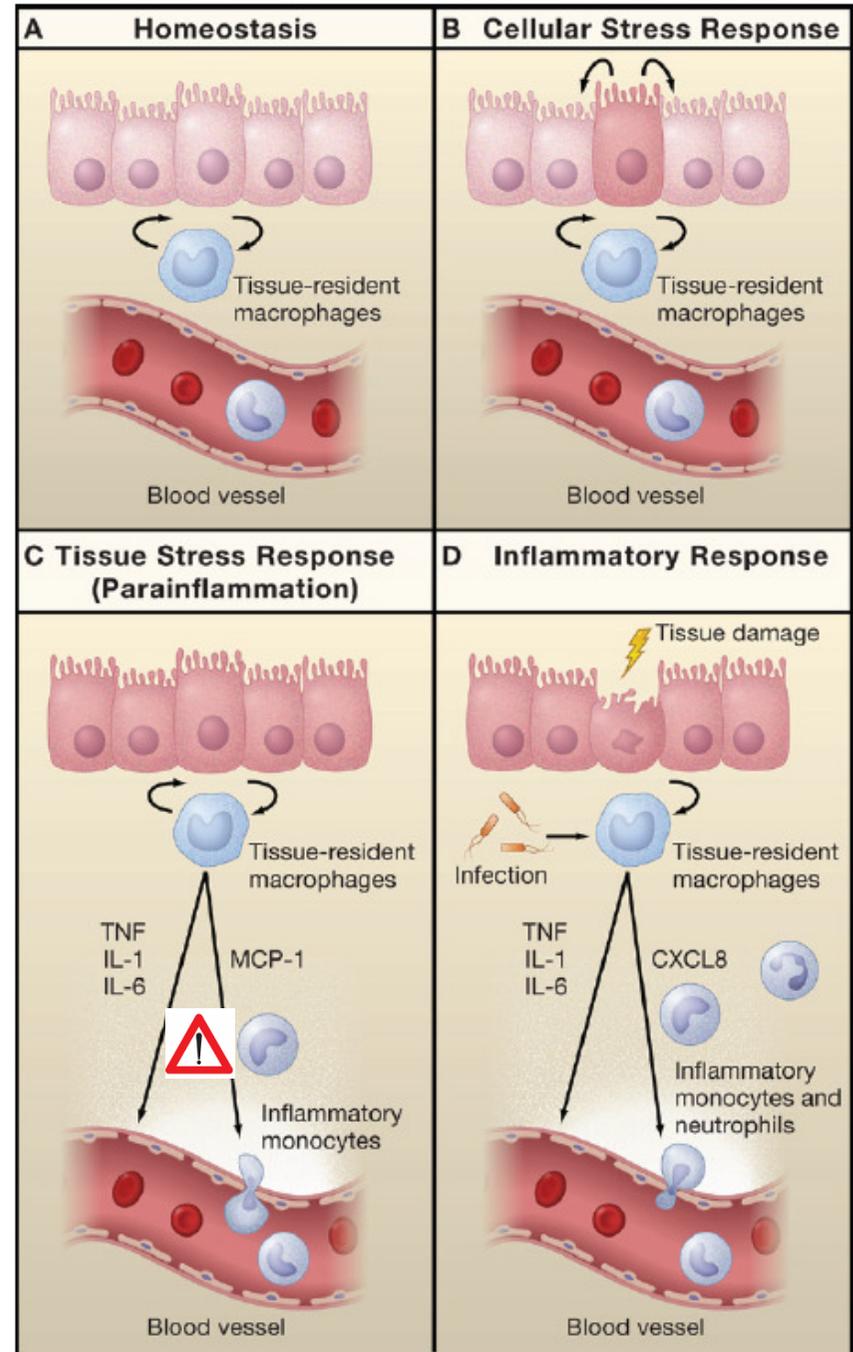
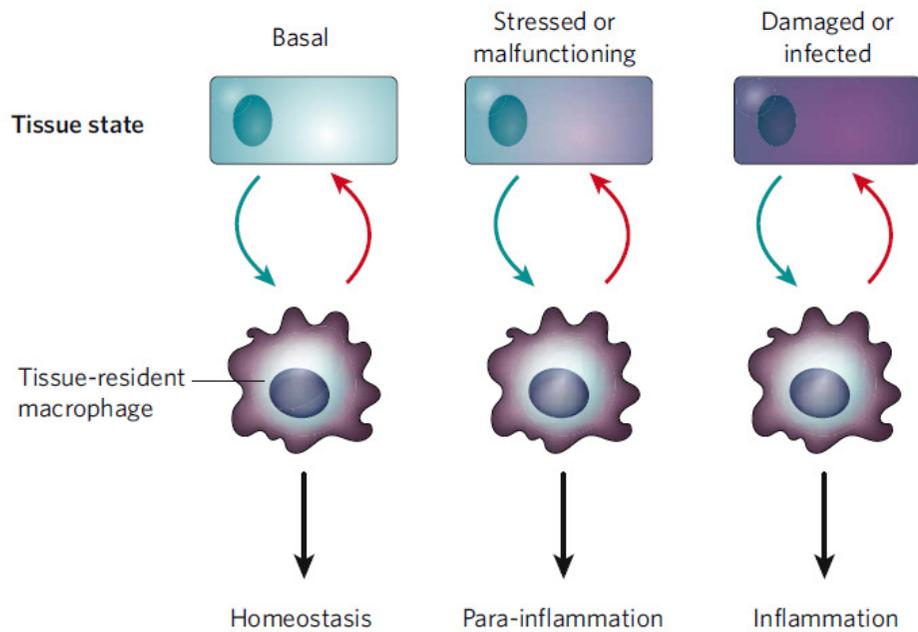
I segnali di attivazione includono citochine secrete dai linfociti T, in particolare l'**IFN- γ** , endotossine batteriche, vari mediatori prodotti durante l'infiammazione acuta, proteine della matrice extracellulare (es. fibronectina).....

Stati tissutali... non solo *mast cells*



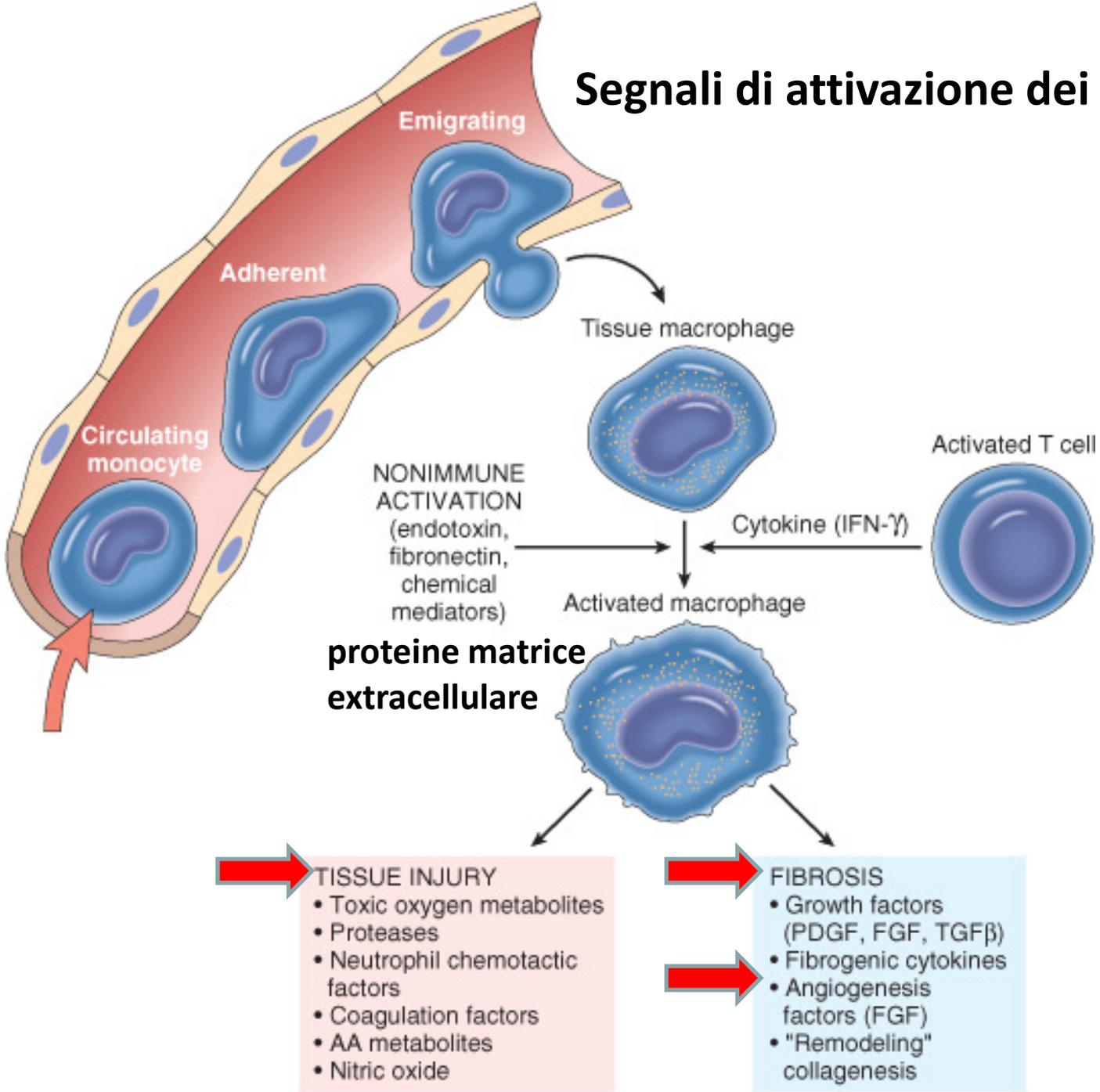
Lo stato delle cellule e dei tessuti è probabilmente monitorato principalmente dai macrofagi residenti (e, in alcuni tessuti, anche mastociti)

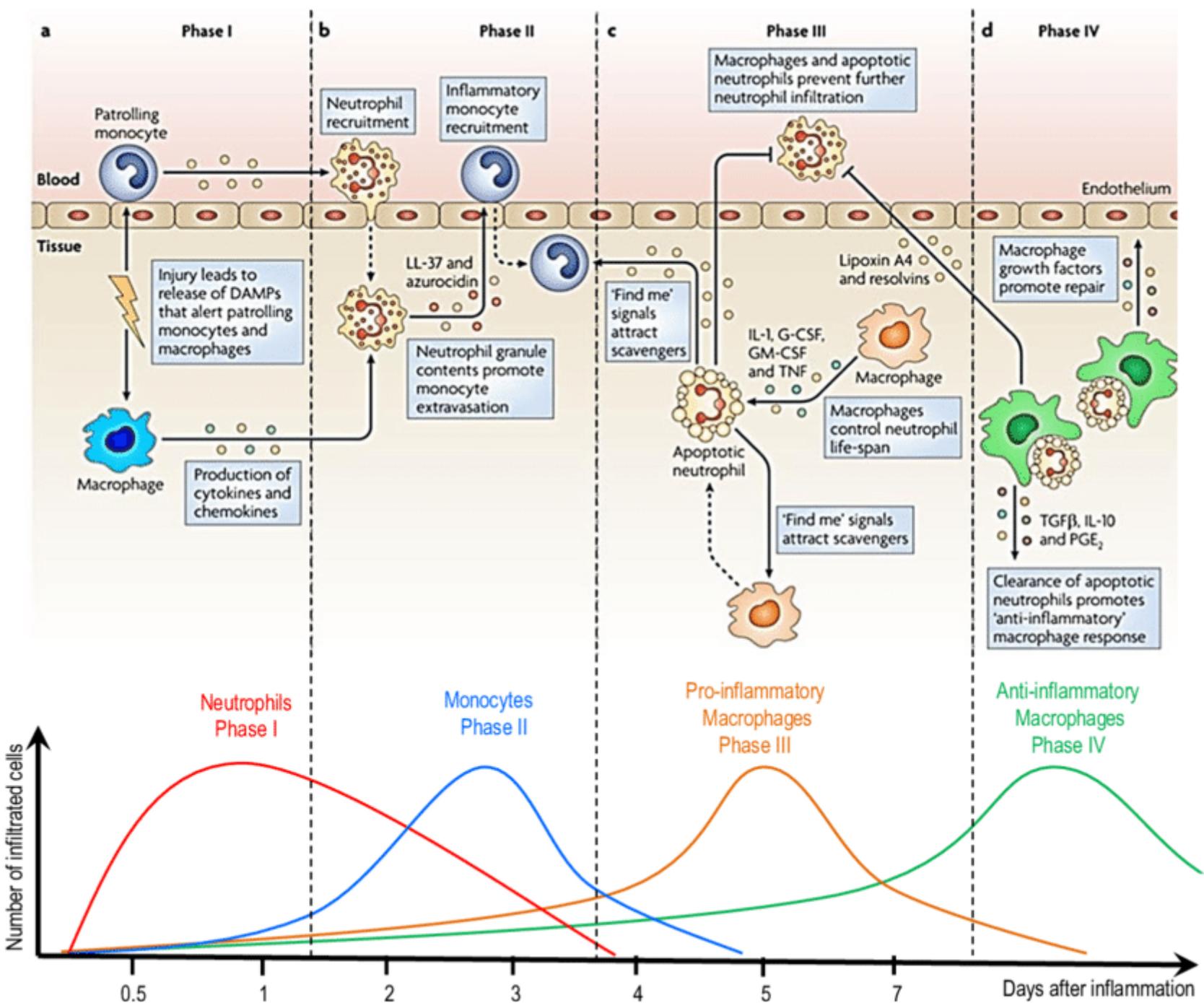




Inflammation and the Stress Response

Segnali di attivazione dei Mφ





MONOCITI/MACTROFAGI (M ϕ) prodotti di secrezione

Dopo l'attivazione secernono un'ampia varietà di prodotti biologicamente attivi:

- **Proteasi acide e neutre** (mediatori del danno tissutale anche nell'I.A.)
- **Componenti del complemento e fattori della coagulazione.**

Sebbene gli epatociti siano la > fonte di queste proteine plasmatiche, i M ϕ attivati possono produrre localmente quantità significative di queste proteine nella matrice extracellulare.

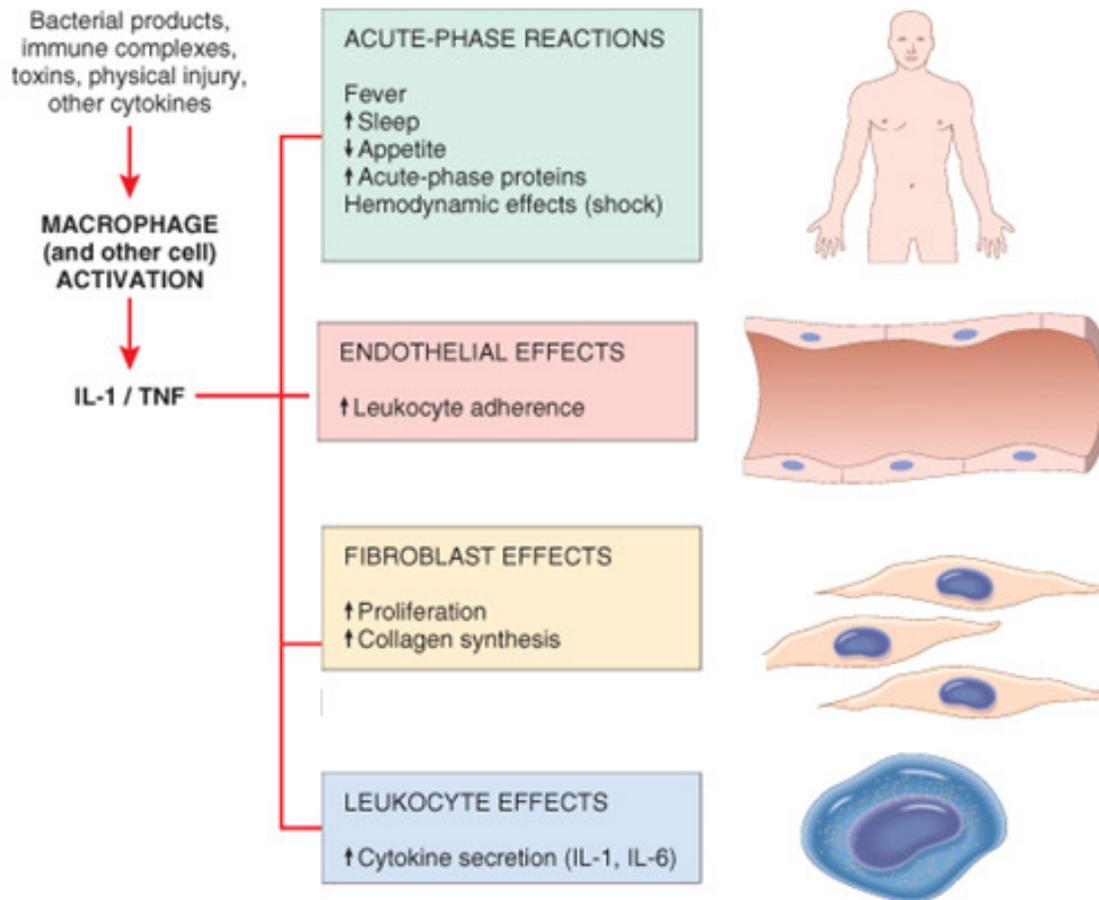
- **Specie reattive dell'ossigeno (ROS) e NO.**

Questo impressionante arsenale di mediatori dei M ϕ premette di difendere l'organismo contro invasori indesiderati, ma possono indurre una considerevole distruzione tissutale, se l'attivazione dei M ϕ avviene in modo improprio.

Perciò la distruzione tissutale è uno dei segni caratteristici dell'I.C.

- **Citochine come IL-1 e TNF**, ed una quantità di fattori di crescita (GF) che influenzano la proliferazione di cellule muscolari lisce, fibroblasti e la produzione di matrice extracellulare.

IL-1 e TNF

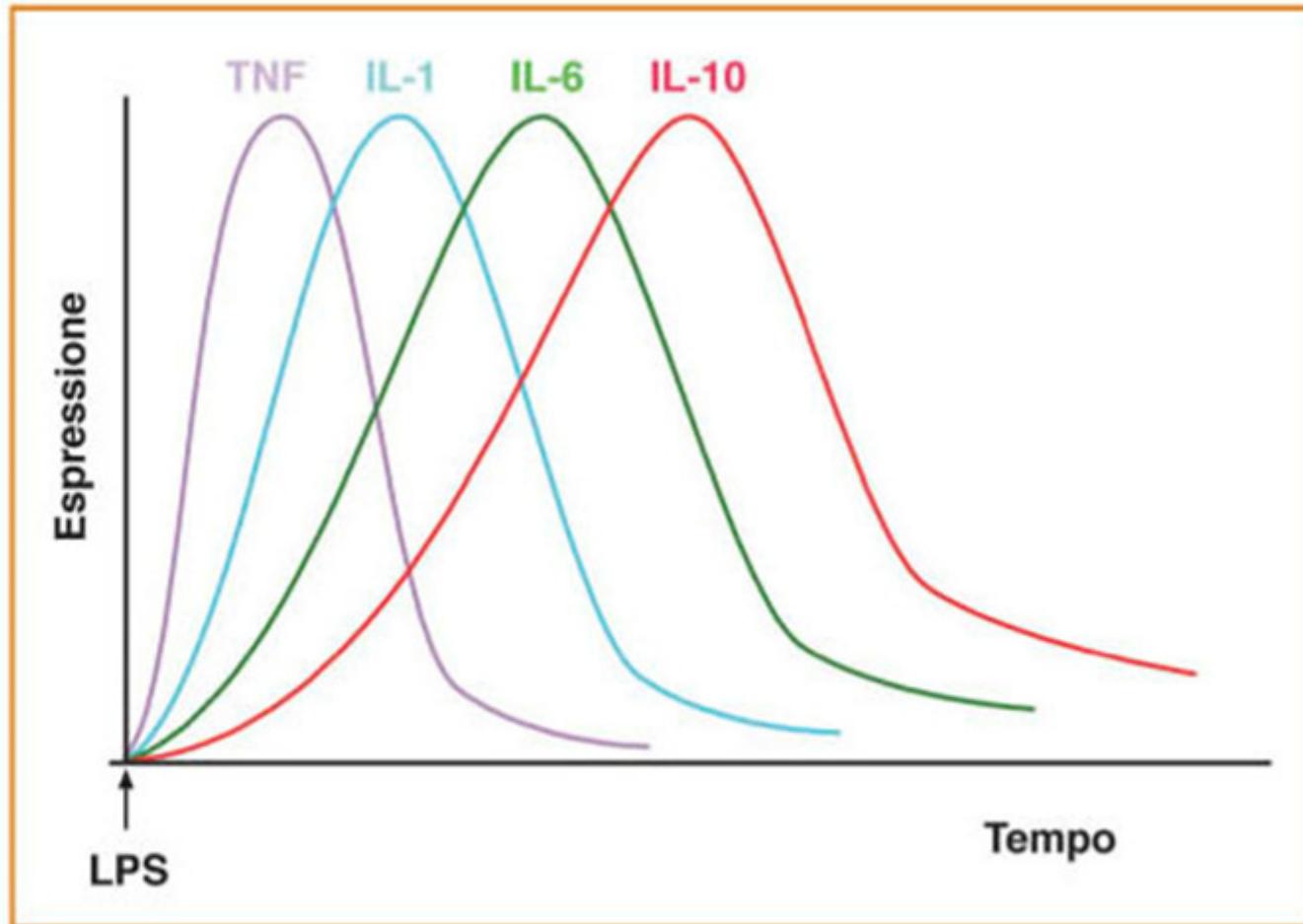
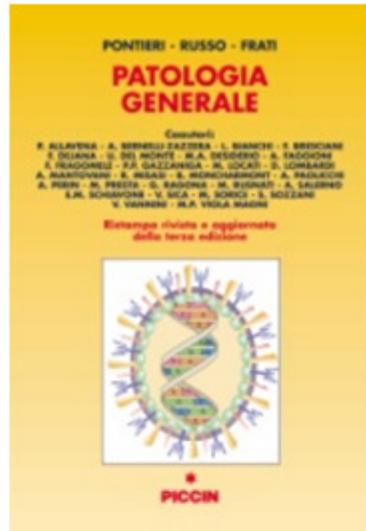


© Elsevier 2005

Le principali citochine dell'infiammazione sono l'IL-1 e il **TNF** (α e β) e che condividono molte proprietà biologiche.

- **TNF- α** e IL-1 e il sono prodotti dai **M Φ attivati**, (l'IL-1 anche da altri tipi di cellule)
- TNF- β è secreto dai linfociti T.

Gli effetti più importanti nell'infiammazione sono quelli sulle cellule endoteliali, sui leucociti, sui fibroblasti e l'induzione delle risposte sistemiche dell'infiammazione (della fase acuta).



■ Figura 13.12 - La cinetica di produzione delle citochine infiammatorie in risposta a uno stimolo "modello" (LPS).

➤ Sia i **LINFOCITI T** che i **B** migrano nel sito infiammatorio mediante molecole e chemochine simili a quelle che reclutano i monociti.

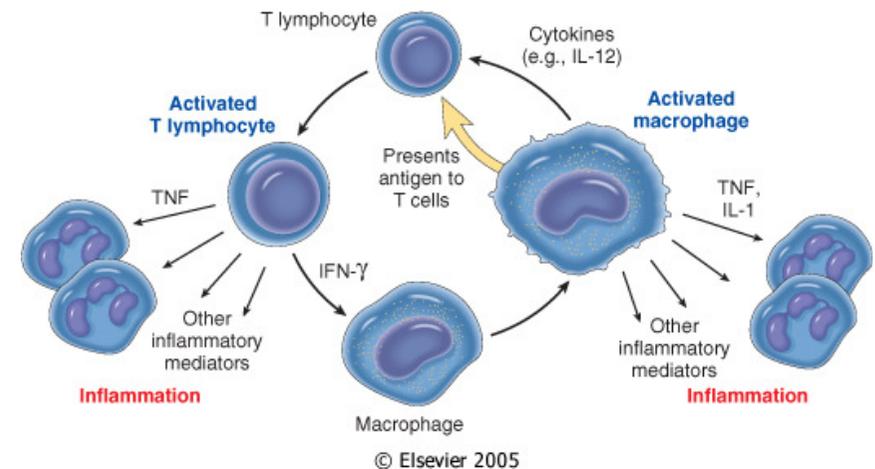
➤ I linfociti T hanno una relazione reciproca con i **Mφ** nell'I.C.

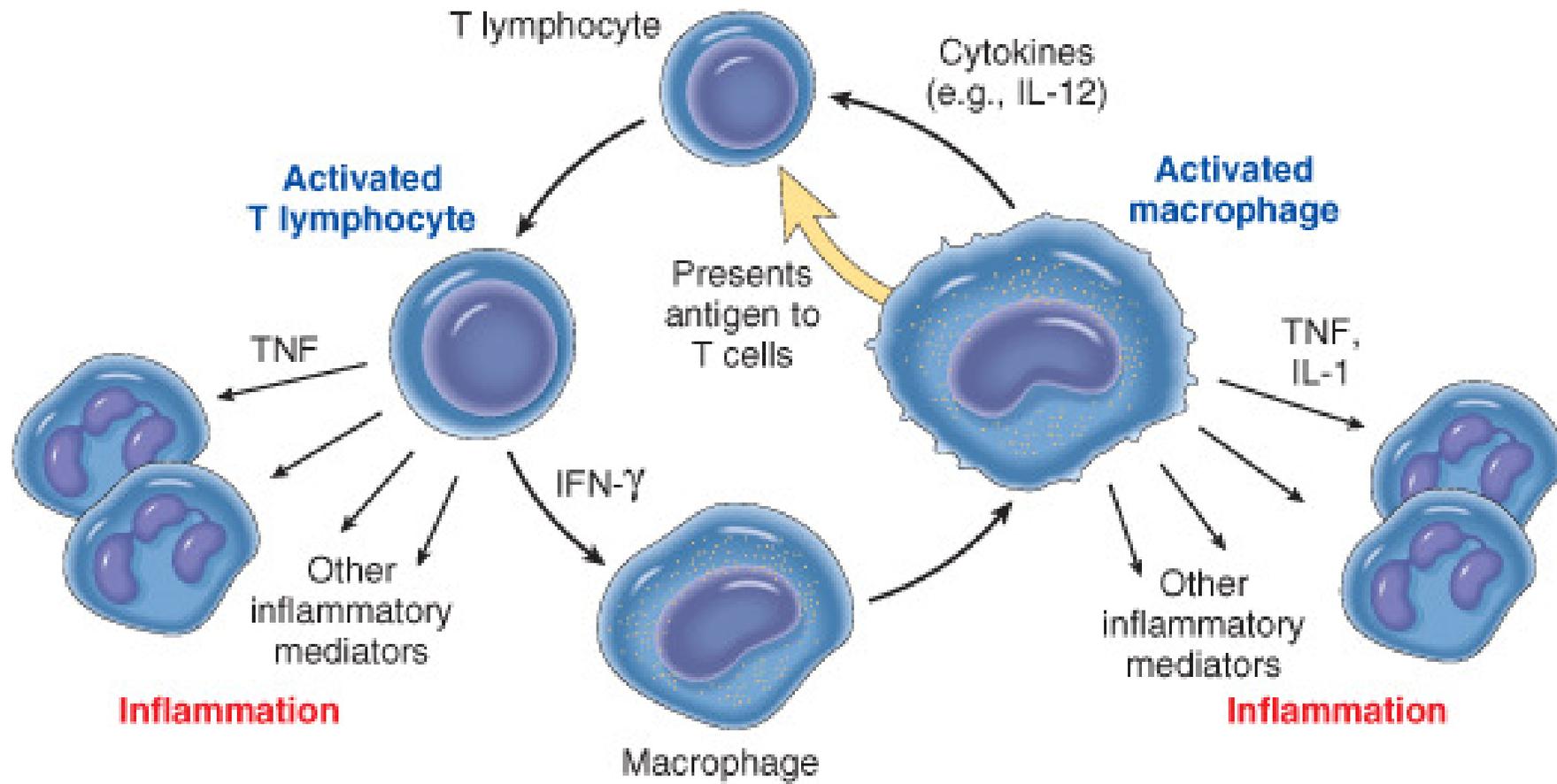
Essi vengono attivati dall'interazione con cellule presentanti l'antigene (soprattutto Mφ e cellule dendritiche), che esprimono frammenti parzialmente degradati sulla loro superficie in associazione con gli antigeni di istocompatibilità (MHC).

➤ I linfociti T attivati a loro volta producono citochine, incluso **l'IFN-γ**, uno dei >i stimolatori per Mφ e monociti.

Il risultato finale è

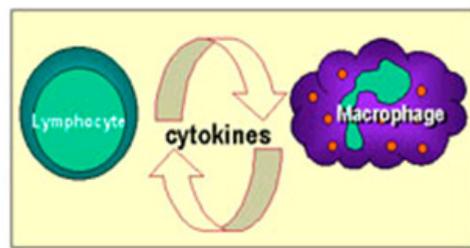
un sito infiammatorio dove Mφ e linfociti T si stimolano continuamente l'un l'altro finché lo stimolo iniziale non viene rimosso o avvengono alcuni eventi modulatori.





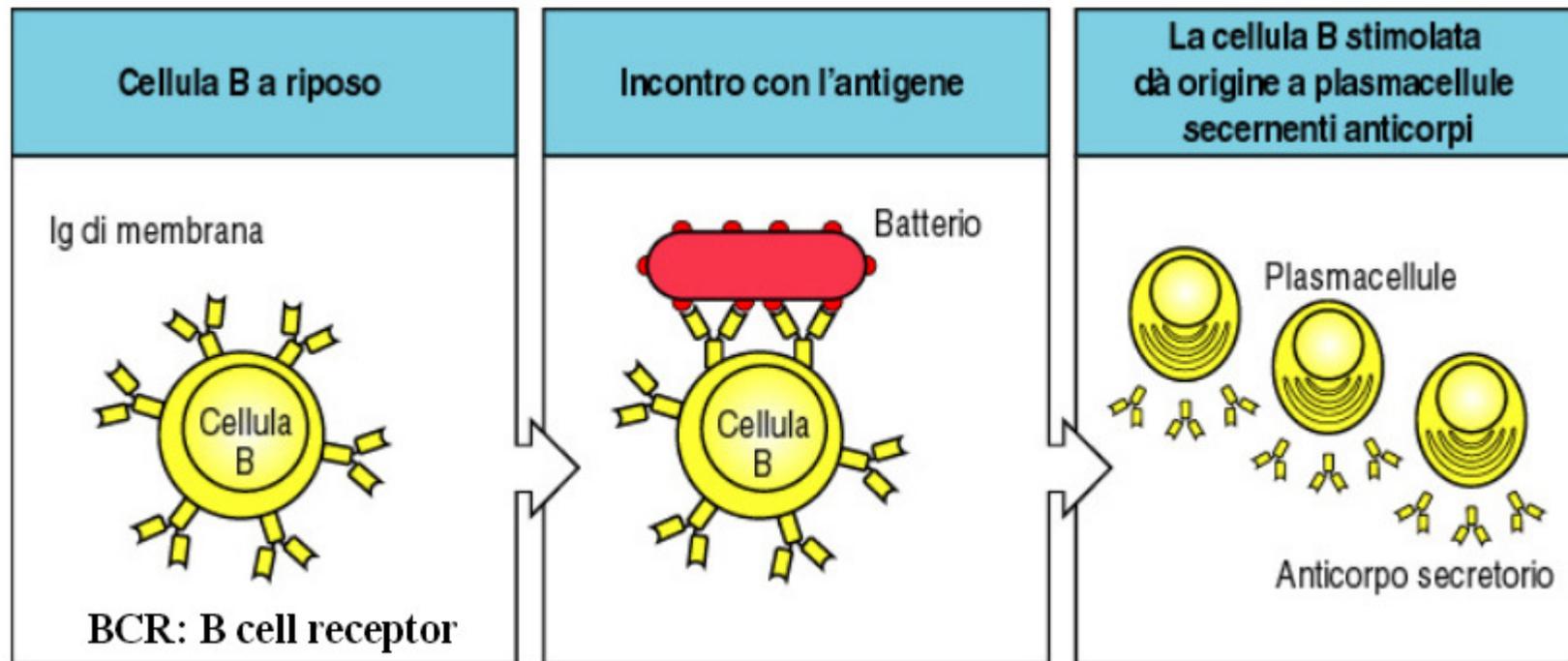
IFN- γ

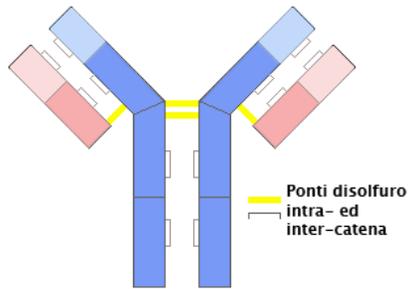
IFN- γ , secreto dai linfociti T, è un potente attivatore di macrofagi (M Φ) e neutrofili, *up-regolando* gli enzimi responsabili del *burst* ossidativo e quindi rendendoli capaci di uccidere i microbi fagocitati.



.... LE PLASMACELLE....

- Le plasmacelle sono il prodotto finale dell'attivazione dei linfociti B; esse producono anticorpi diretti contro antigeni nel sito infiammatorio e qualche volta contro componenti tessutali alterate.

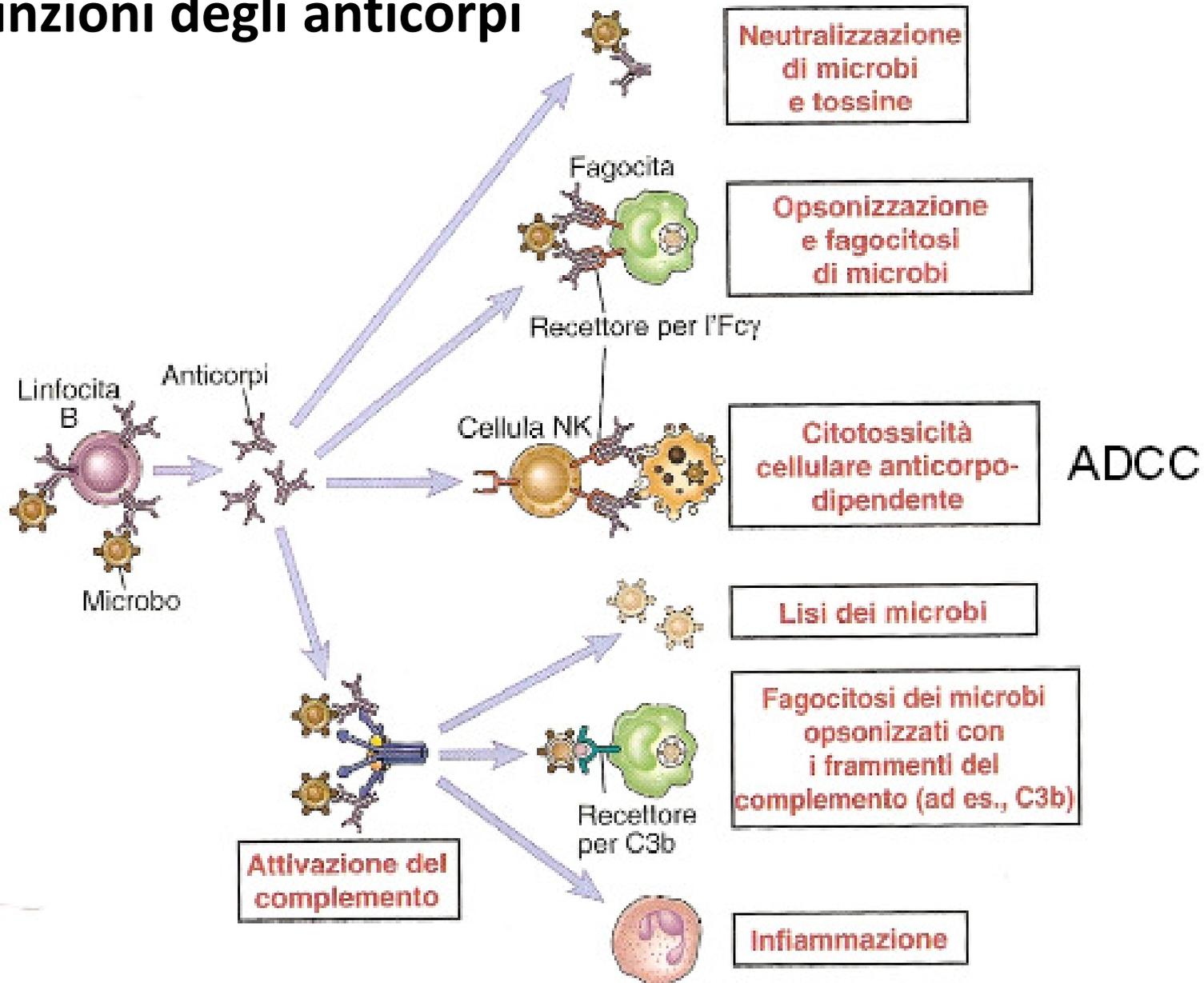




Struttura degli anticorpi. La figura mostra in rosa le due catene leggere, in azzurro le due catene pesanti. I domini più scuri corrispondono alle regioni costanti, quelli chiari indicano, invece, le porzioni variabili, responsabili del riconoscimento con l'antigene.

CLASS	GENERAL STRUCTURE	LOCATION	FUNCTION
IgG	Monomer 	Free in blood plasma; about 80 percent of circulating antibodies	Most abundant antibody in primary and secondary immune responses; crosses placenta and provides passive immunization to fetus
IgM	Pentamer 	Surface of B cell; free in blood plasma	Antigen receptor on B cell membrane; first class of antibodies released by B cells during primary response
IgD	Monomer 	Surface of B cell	Cell surface receptor of mature B cell; important in B cell activation
IgA	Dimer 	Saliva, tears, milk, and other body secretions	Protects mucosal surfaces; prevents attachment of pathogens to epithelial cells
IgE	Monomer 	Secreted by plasma cells in skin and tissues lining gastrointestinal and respiratory tracts	When bound to antigens, binds to mast cells and basophils to trigger release of histamine that contributes to inflammation and some allergic responses

Funzioni degli anticorpi



[IL SISTEMA DEL COMPLEMENTO...]

IL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

Il sistema del complemento consiste di una cascata di proteine plasmatiche che giocano un ruolo importante

- **nella immunità:** generando un complesso di attacco alla membrana=MAC che perfora le membrane dei microrganismi... e non solo.
- **e nell'infiammazione** nel processo in cui viene generato il MAC vengono prodotti un gran numero di frammenti: opsonine (C3b) e frammenti che contribuiscono alla risposta infiammatoria aumentando la permeabilità vascolare e la chemiotassi leucocitaria.

I componenti complementari (numerati da C1 a C9) sono presenti nel plasma in forma inattiva.

Il passaggio più critico nell'elaborazione delle risposte mediate dal complemento è l'attivazione del suo terzo componente il C3. La sua rottura può avvenire attraverso l'attivazione di 3 vie:

- **via classica**, innescata dalla fissazione del C1 a complessi antigene-anticorpo;
- **la via della lectina legante il mannosio (MBL)** (analogo alla via classica, ma utilizza il mannosio come sito di attacco alle membrane dei patogeni e la MASP al posto del complesso C1r/C1s);
- **via alternativa**, innescata da polisaccaridi batterici (es. endotossina), polisaccaridi complessi o aggregati di IgA.

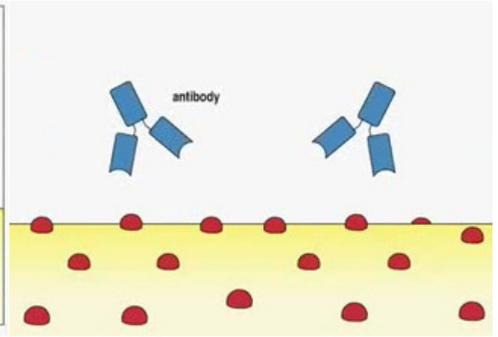
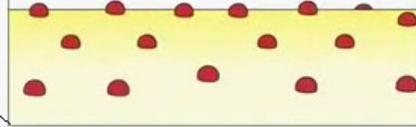
Qualunque via sia attivata, una C3 convertasi taglia C3 in C3a e C3b.

- Il C3a viene rilasciato, mentre il C3b si lega al complesso C3 convertasi per formare la C5 convertasi, che a sua volta taglia il C5 per generare C5a ed iniziare le fasi finali di assemblaggio del MAC fino a C9.

https://www.youtube.com/feature=player_embedded

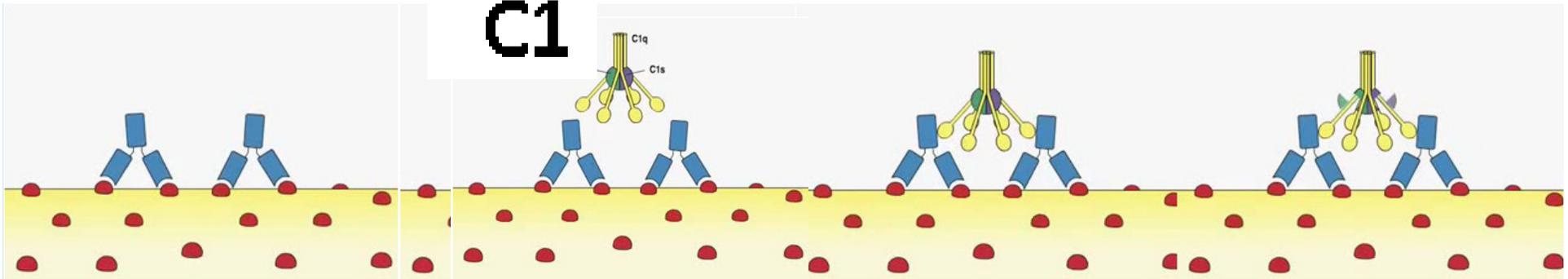
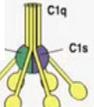


bacterium

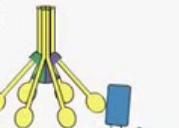


antibody

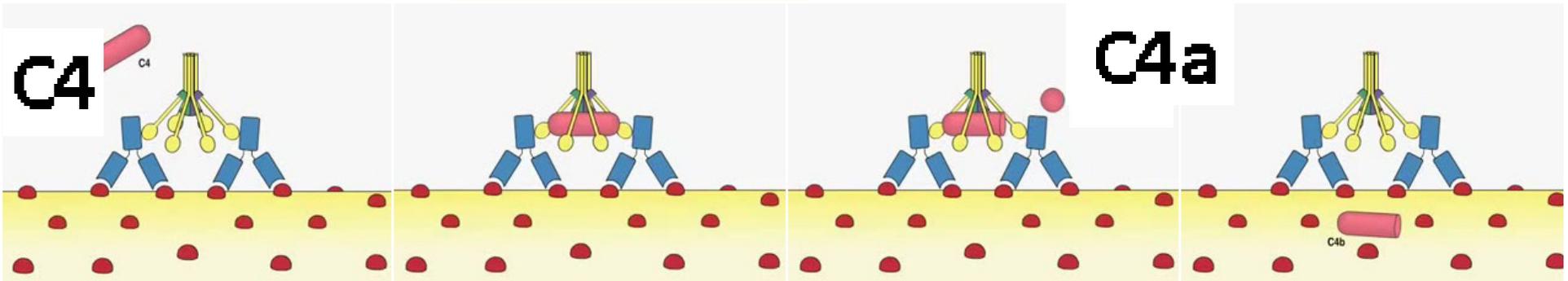
C1



C4

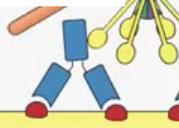


C4a

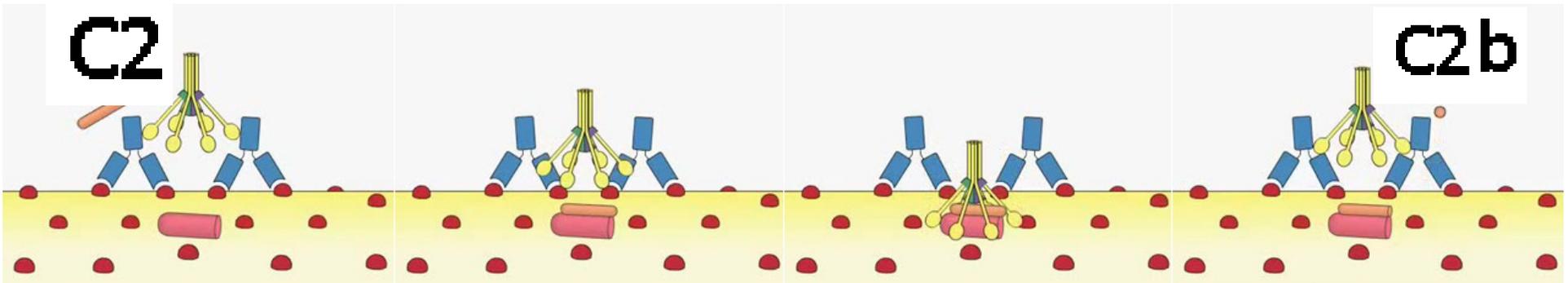


C4b

C2



C2b



C4bC2a

C3

C3a

C3a
anafilotossina!

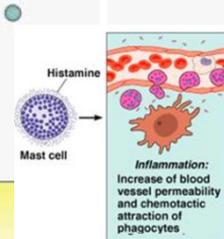


C3b

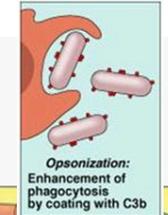


C4bC2aC3b

C4bC2aC3b



Inflammation:
Increase of blood vessel permeability and chemotactic attraction of phagocytes



Opsonization:
Enhancement of phagocytosis by coating with C3b

C3b

C3b

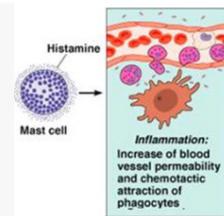
C3b

C3b

C5



C5



Inflammation:
Increase of blood vessel permeability and chemotactic attraction of phagocytes

C5a

C5a

C5a
anafilotossina!

C5b



C6

C7



C8



C8



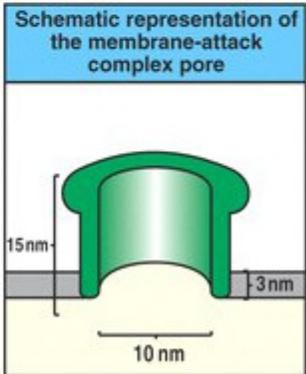
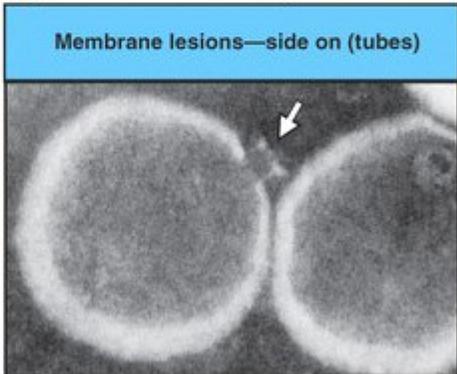
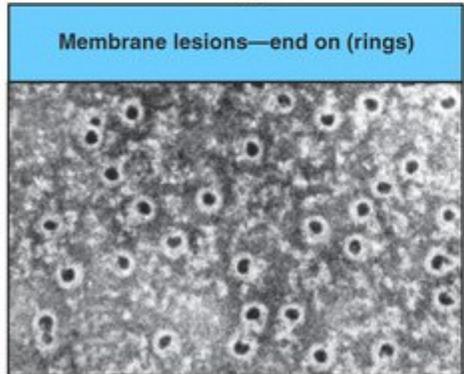
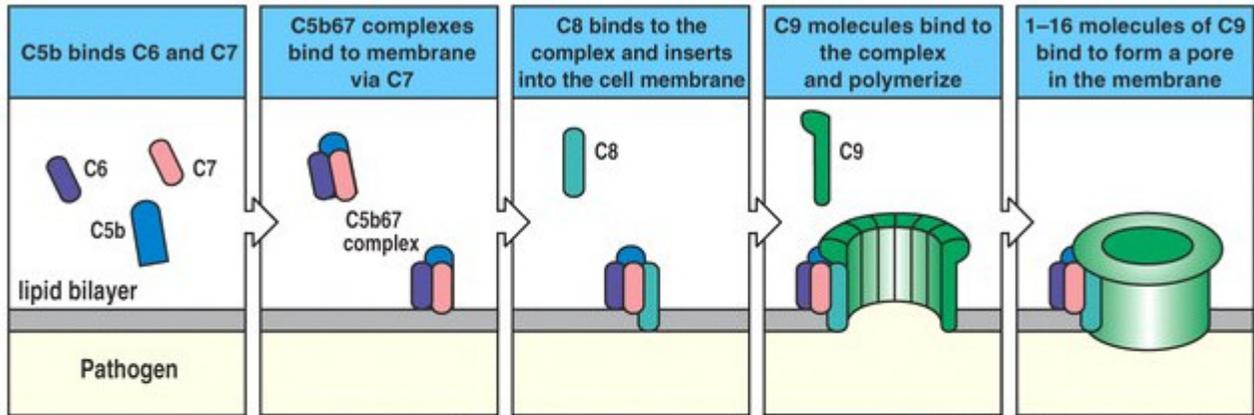
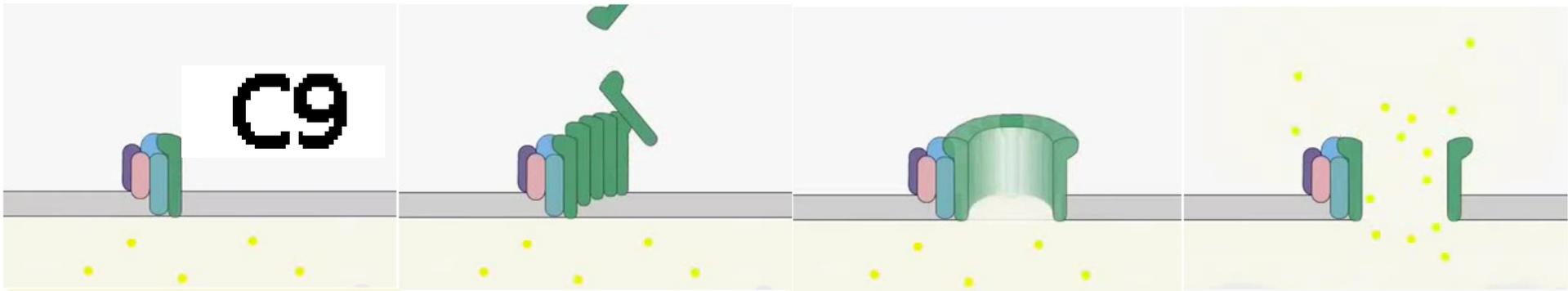
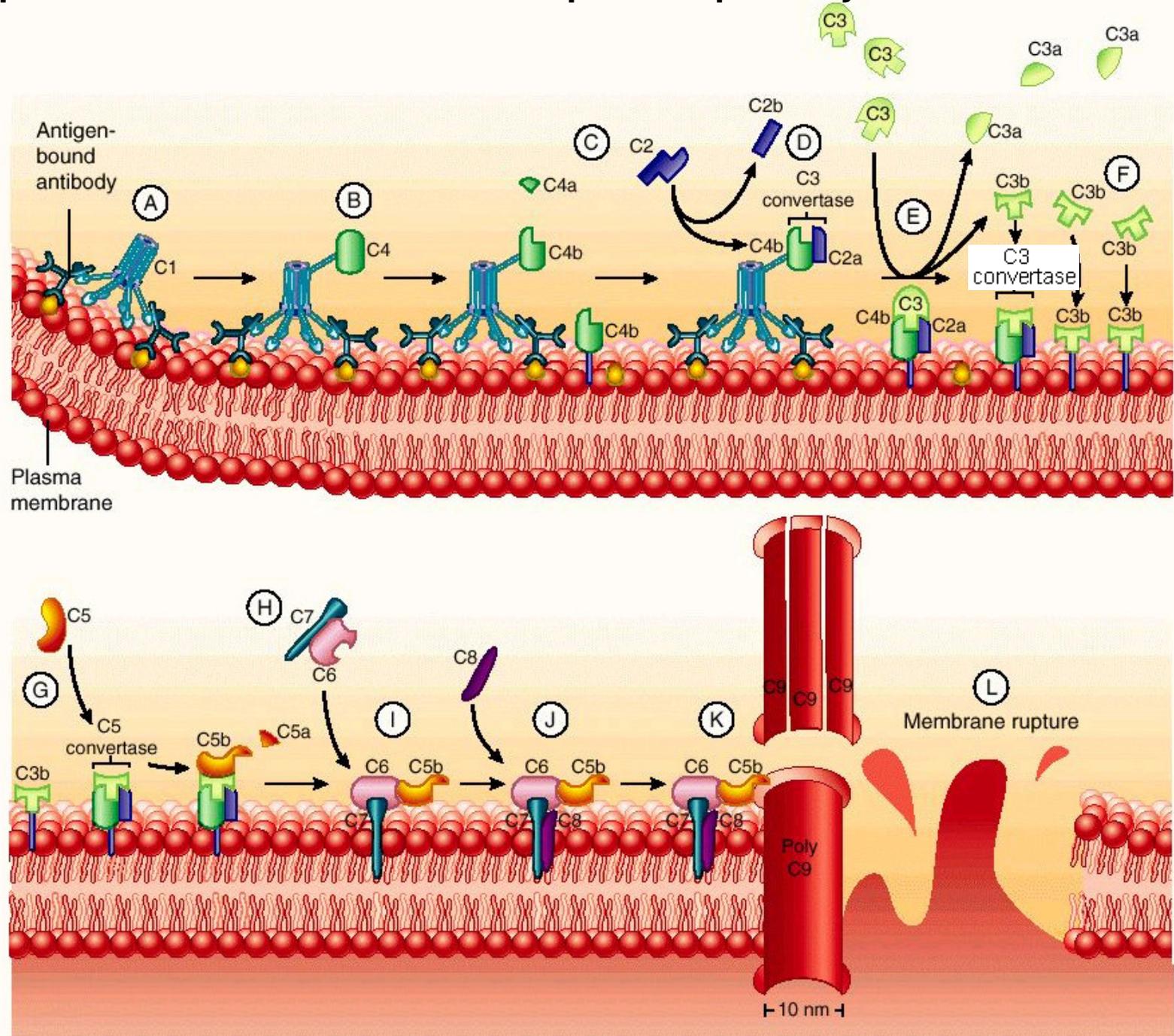
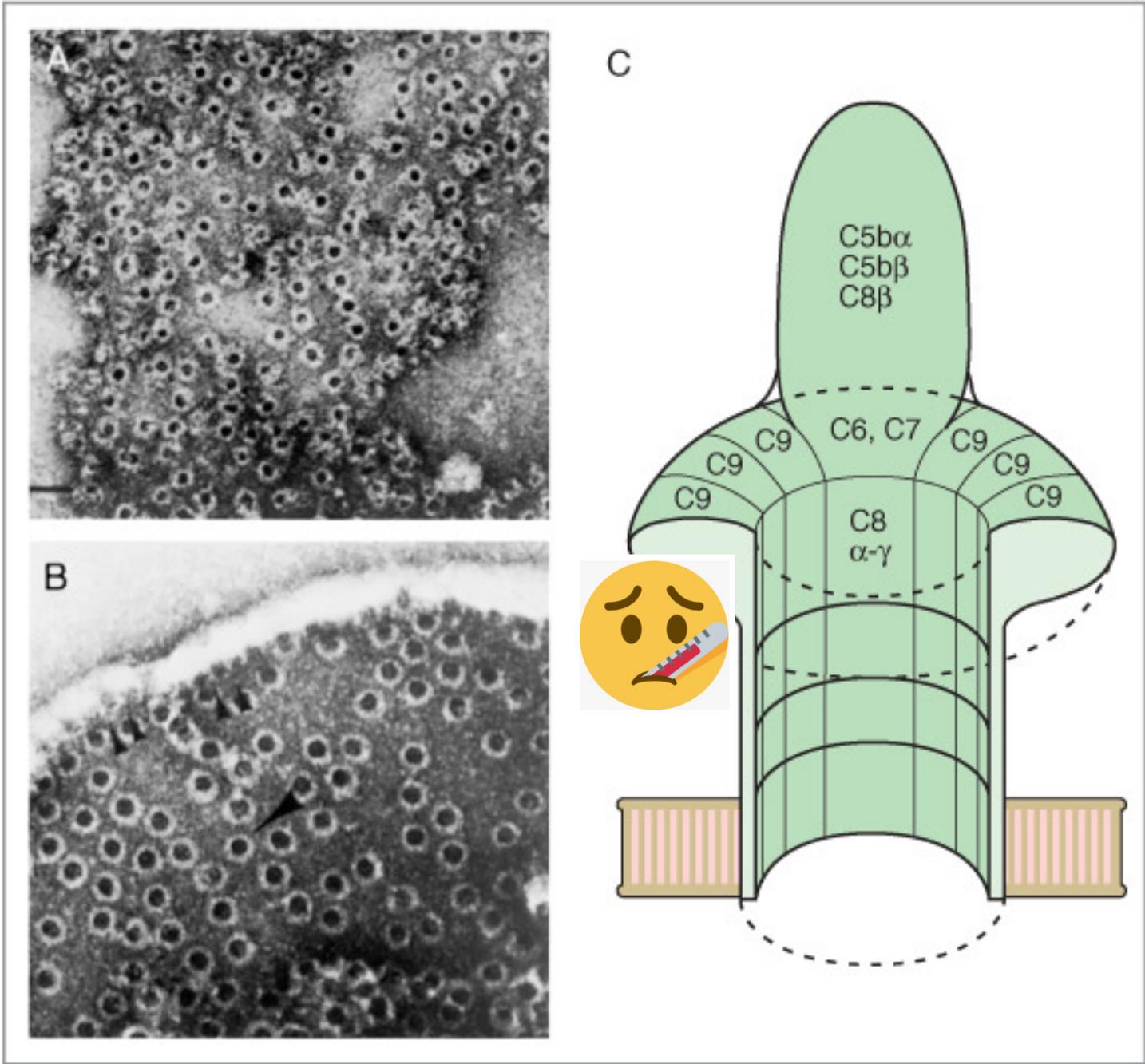


Figure 2-25 Immunobiology 6/e © Garland Science 2005

Schematic representation of the classical complement pathway





I vari fattori generati lungo questa via influenzano alcuni fenomeni nell'infiammazione acuta.

➤ **EFFETTI VASCOLARI**

- **C3a e C5a** (detti anche **anafilotossine**) aumentano la permeabilità vascolare e causano vasodilatazione **inducendo le mast cells a rilasciare istamina.**

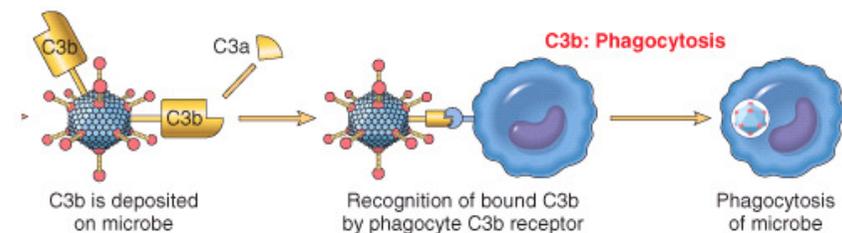
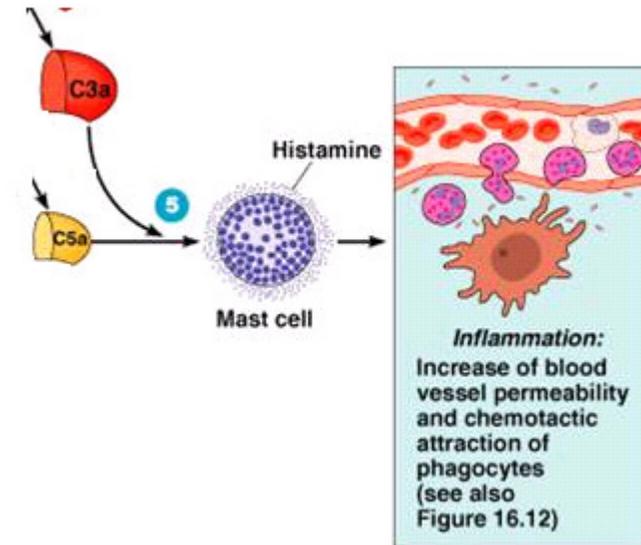
➤ **ATTIVAZIONE LEUCOCITARIA, ADESIONE E CHEMIOTASSI.**

- **C5a** attiva i leucociti e **aumenta l'avidità delle loro integrine** → aumentando l'adesione all'endotelio. C5a è inoltre un potente agente **chemiotattico** per neutrofili, monociti, eosinofili e basofili.

➤ **FAGOCITOSI**

- Quando si fissa ad una superficie microbica il **C3b** agisce **da opsonina**, aumentando la fagocitosi da parte delle cellule (neutrofili e macrofagi) che portano i recettori per C3b.

- Il **C5a** attiva anche la via della **lipossigenasi** del metabolismo dell'**AA** in neutrofili e monociti → **ULTERIORE RILASCIO DI MEDIATORI INFIAMMATORI.**



.... IL SISTEMA DEL COMPLEMENTO]

EFFETTI SISTEMICI DELL'INFIAMMAZIONE



La febbre è solo uno dei più ovvi effetti sistemici dell'inflammazione, chiamati collettivamente **reazioni della fase acuta**.

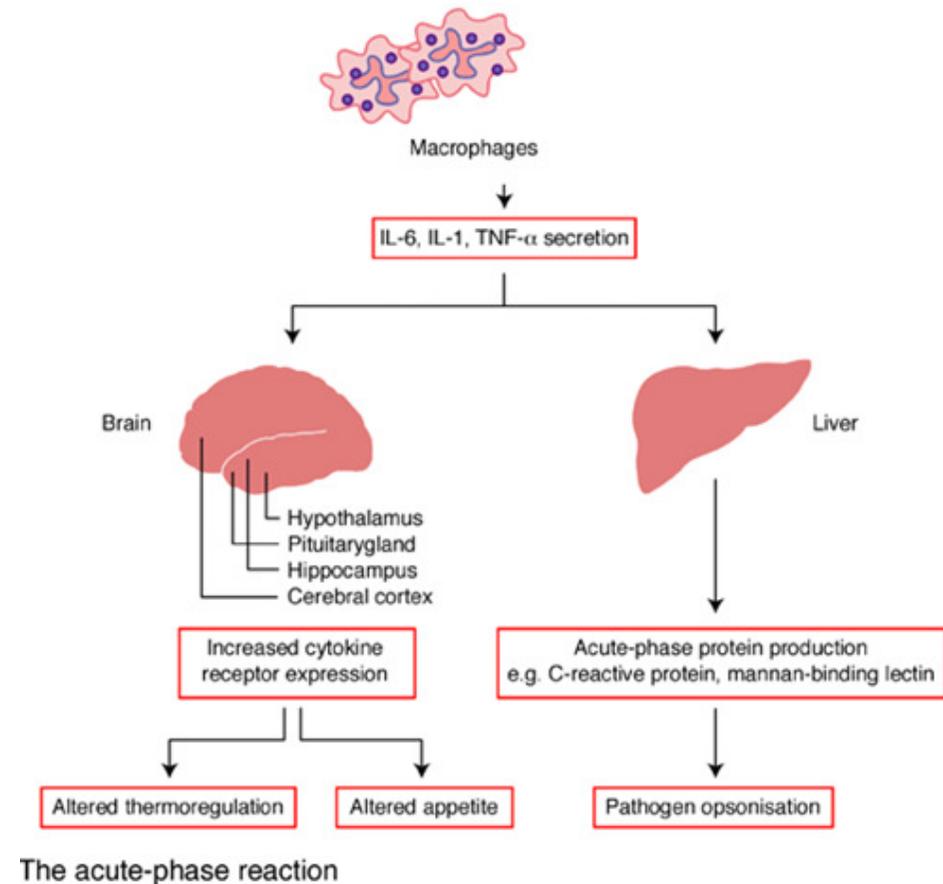
Essi includono:

- anoressia,
- degradazione accelerata delle proteine scheletriche muscolari,
- ipotensione,
- sintesi epatica di proteine della fase acuta (complemento e coagulazione)
- e alterazioni del pool di leucociti circolanti.

Le citochine **IL-1**, **IL-6** e **TNF** sono i mediatori più importanti delle reazioni della fase acuta.

Queste citochine sono prodotte dai leucociti (e altri tipi cellulari) in risposta a infezioni, danno tossico o immunitario, e sono rilasciati sistemicamente in una sorta di cascata:

il TNF induce la produzione di IL-1, che a sua volta induce quella di IL-6.



EFFETTI SISTEMICI DELL'INFIAMMAZIONE

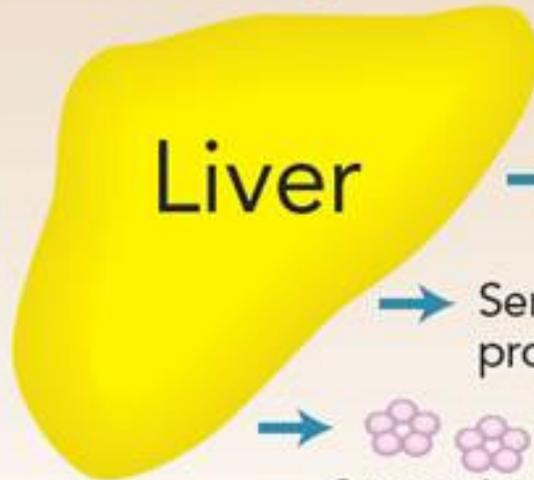
- L'**IL-6** stimola la sintesi epatica di parecchie proteine plasmatiche (es. **fibrinogeno**; elevati livelli di fibrinogeno fanno sì che gli eritrociti si aggregino + velocemente → >velocità di eritrosedimentazione=**VES**).
- **IL-1 e TNF** hanno effetti simili, ad es. entrambe agiscono sul centro ipotalamico della termoregolazione inducendo **febbre** (soprattutto attraverso la produzione di prostaglandina, ecco come l'aspirina riduce la febbre!!!).
- La **leucocitosi** (↑n° leucociti circolanti) è comune nelle reazioni infiammatorie soprattutto quelle indotte da infezioni batteriche.
 - La conta leucocitaria aumenta a 15000-20000 cellule/μl (normale 4000-10000 cellule/μl).
 - La > parte delle infezioni batteriche induce un selettivo ↑ di cellule polimorfonucleate (PMN)= **neutrofilia**, mentre le infezioni da parassiti inducono **eosinofilia**.
 - Certi virus (es. mononucleosi, orecchioni e rosolia) inducono **linfocitosi**.
 - Tuttavia altre infezioni virali, infezioni da rickettsie, protozoi e certe infezioni batteriche (es. febbre tifoide), sono associate con un n° di leucociti inferiore **leucopenia**.



INFLAMMATION



The Acute Phase Response



Liver

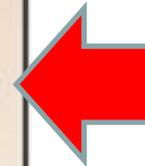
→ Fibrinogen

→ Haptoglobin

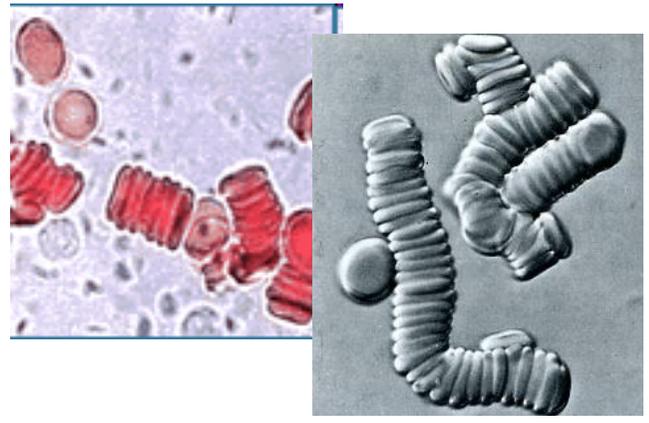
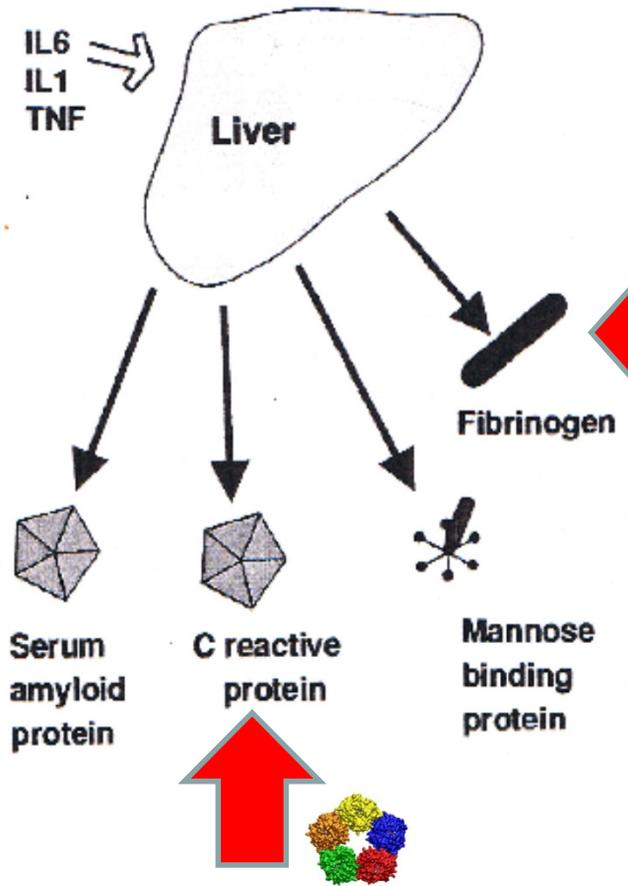
→ Serum amyloid protein



→ C-reactive protein



THE ACUTE PHASE RESPONSE



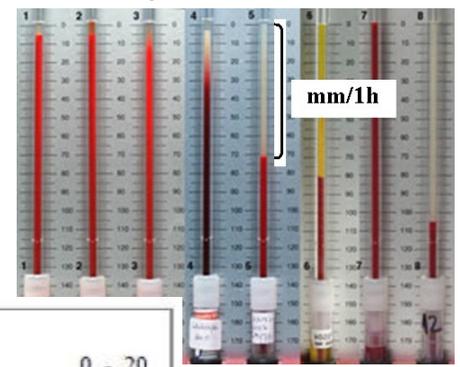
VES

La VES (Velocità di Eritrosedimentazione) misura la velocità di sedimentazione (deposito) degli eritrociti nel plasma in cui sono sospesi.

In condizioni normali la VES è relativamente bassa perché la caduta gravitazionale dei singoli globuli rossi è bilanciata da una corrente opposta dovuta allo spostamento del plasma.

Rouleaux si formano più facilmente se nel sangue **i livelli di fibrinogeno sono molto alti**. VES fortemente influenzata dalla capacità degli eritrociti di formare **rouleaux** per attrazione superficiale.

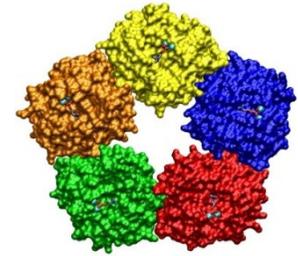
PCR



Settore Ambulatorio Prelievi			
Velocità di eritrosedimentazione	66 >	mm/h	0 - 20

PROTEINA C REATTIVA (PCR)

➤ E' una globulina pentamerica, sintetizzata dagli epatociti e presente nel plasma **in quantità piccolissime (1 µg/ml)**, ma la cui concentrazione aumenta rapidamente in risposta alla fase acuta.

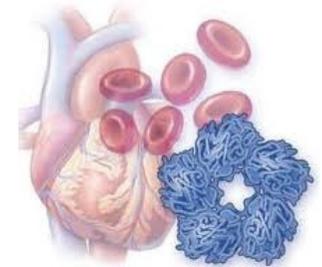


➤ E' un'opsonina e provoca l'attivazione del sistema del complemento.

➤ La concentrazione plasmatica **aumenta in 24-48 ore anche di 2000 volte** i livelli dei valori di riferimento.

➤ E' un utile **indicatore aspecifico di processi infiammatori** e per il **monitoraggio di terapie antinfiammatorie**.

➤ **Livelli basali leggermente aumentati** sono stati recentemente descritti come **fattore predittivo di rischio di infarto miocardio**.



➤ Grazie alle nuove metodiche ultrasensibili, sembra che possa essere utilizzata anche per il **monitoraggio aspecifico di diffusione iniziale di neoplasie** che sono già state diagnosticate.

CLASSIFICAZIONE DEL PROCESSO INFIAMMATORIO

FASE ACUTA



INFIAMMAZIONE ERITEMATOSA. E' caratterizzata da modificazioni vascolari (**vasodilatazione**), poco liquido, es. **scottatura solare**;

INFIAMMAZIONE SIEROSA. E' caratterizzata dall'effusione di un fluido acquoso, relativamente povero di proteine. La vescica da ustione e l'infezione virali sono buoni es. di una effusione di siero accumulata all'interno o immediatamente sotto la cute. Es. **flittene (bolla da scottatura)**;

INFIAMMAZIONE FIBRINOSA. Si verifica in conseguenza ad un danno + grave, con un $> \uparrow$ **pemeabilità vascolare**, che consente a molecole di grosse dimensioni, come il **fibrinogeno**, di **accumularsi** nello spazio extravascolare.

INFIAMMAZIONE PURULENTA



INFIAMMAZIONE PURULENTA

Si manifesta con la presenza di un essudato purulento (pus) costituito da neutrofili, cellule necrotiche e fluido.

Certi microrganismi (es. gli **stafilococchi**) sono più capaci di indurre questa suppurazione localizzata e per questo vengono detti **piogeni**.

Gli ascessi sono accumuli localizzati di pus e possono essere causati dall'annidarsi di batteri piogeni in profondità nel tessuto o da un'infezione secondaria di *foci* necrotici.

Gli ascessi hanno tipicamente una regione centrale necrotica circondata da uno strato di neutrofili vivi, con una zona circostante di vasi dilatati e proliferazione fibroblastica, indicativa di una precoce riparazione.

Con il tempo l'ascesso può essere isolato completamente e sostituito con tessuto connettivo.

Es.

- **flemmone** (=pus non raccolto in una cavità, ma diffuso),
- **ascesso** (raccolta di pus in una cavità neoformata),
- **empiema** (raccolta di pus in una cavità preformata),
- **foruncolo** (raccolta di pus in una follicolo pilifero).

