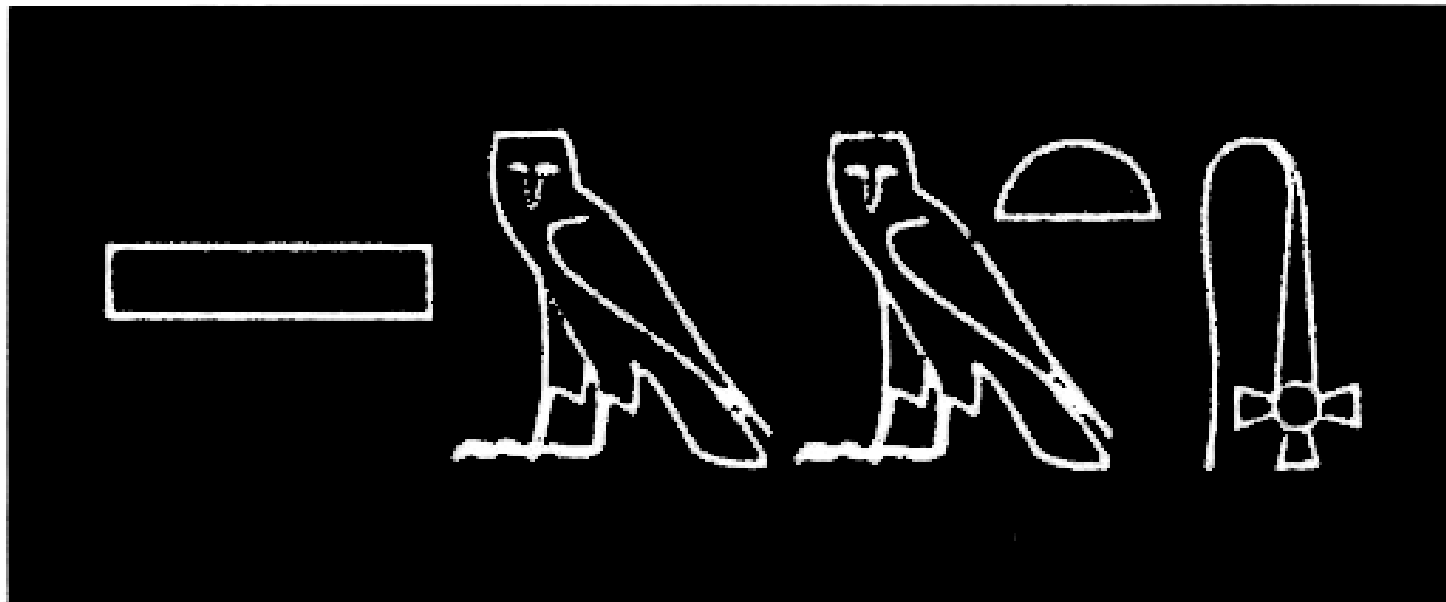


L'inflammation

INFIAMMAZIONE

una storia lunga...

Figure 1. Smith Papyrus, circa 1650 B.C.
Hieroglyphs read *shememet*, translated as "inflammation."



sh — m — m — t

INFIAMMAZIONE

L'infiammazione è una risposta adattativa ad uno stimolo dannoso o stressante per il tessuto

Sequenza di eventi biologici specifici che si verificano in risposta ad uno stimolo lesivo non specifico ed hanno come scopo :

- 1) Diluire, Neutralizzare o Distruggere l'agente lesivo**
- 2) Restringere il danno tissutale al minimo possibile**
- 3) Preparare l'organismo a combattere il danno**
- 4) Preparare l'area infiammata per la riparazione ed iniziarla**

Si tratta quindi di un processo, non di uno stato

Variabilità dell'infiammazione

La risposta comprende una **componente vascolare** ed una **componente tissutale** che si combinano in varie proporzioni a seconda che il processo sia acuto o cronico

A seconda della causa dell'infiammazione (infettiva o non infettiva) ci sono differenze nella segnalazione e nelle modalità con cui si attua la risposta

Alla fine però gli eventi vascolari sono simili,

La fonte cellulare delle citochine e le cellule inizianti possono essere diverse

Ci sono comunque eventi e tipi cellulari costantemente coinvolti (neutrofili e macrofagi)

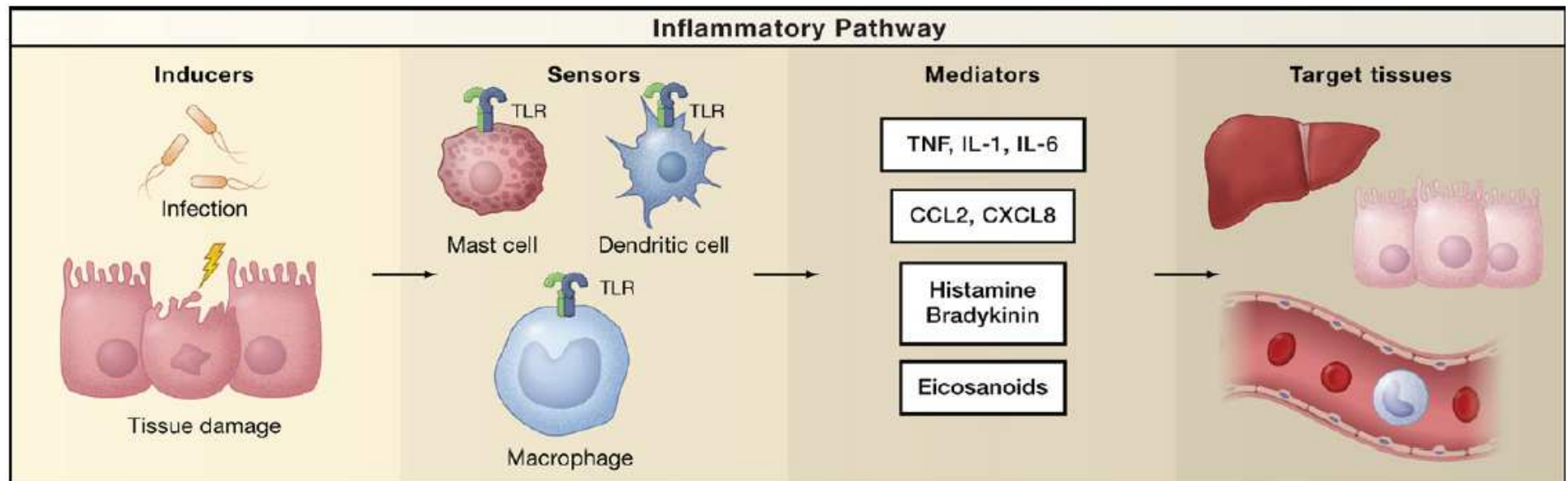
Cause del processo infiammatorio

- **agenti fisici (ad es. radiazioni, traumi, calore, etc)**
- **agenti chimici (ad es. acidi, basi, composti tossici)**
- **agenti biologici (ad es. batteri, virus, parassiti)**

Praticamente tutte le cause di malattia

Queste cause determinano una reazione del tessuto attraverso alcuni tipi cellulari (sensori) che iniziano la **produzione di mediatori chimici infiammatori che a loro volta determinano movimento di liquidi e leucociti dal sangue al tessuto extravascolare**

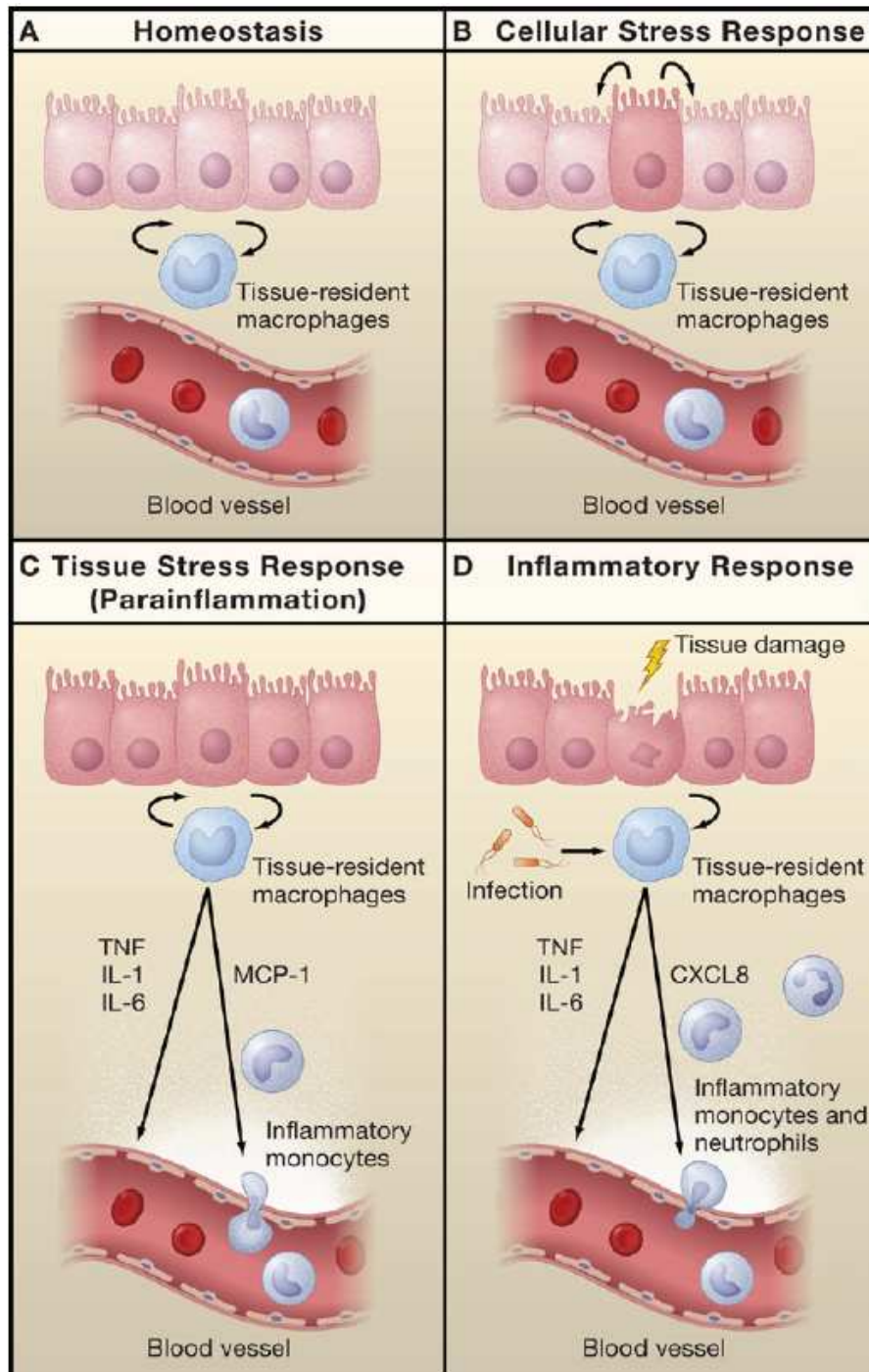
Eventi nell'infiammazione



- Induttore
- Sensore
- Mediatore
- Tessuto bersaglio

Le diverse cause determinano diverse modalità di segnalazione.

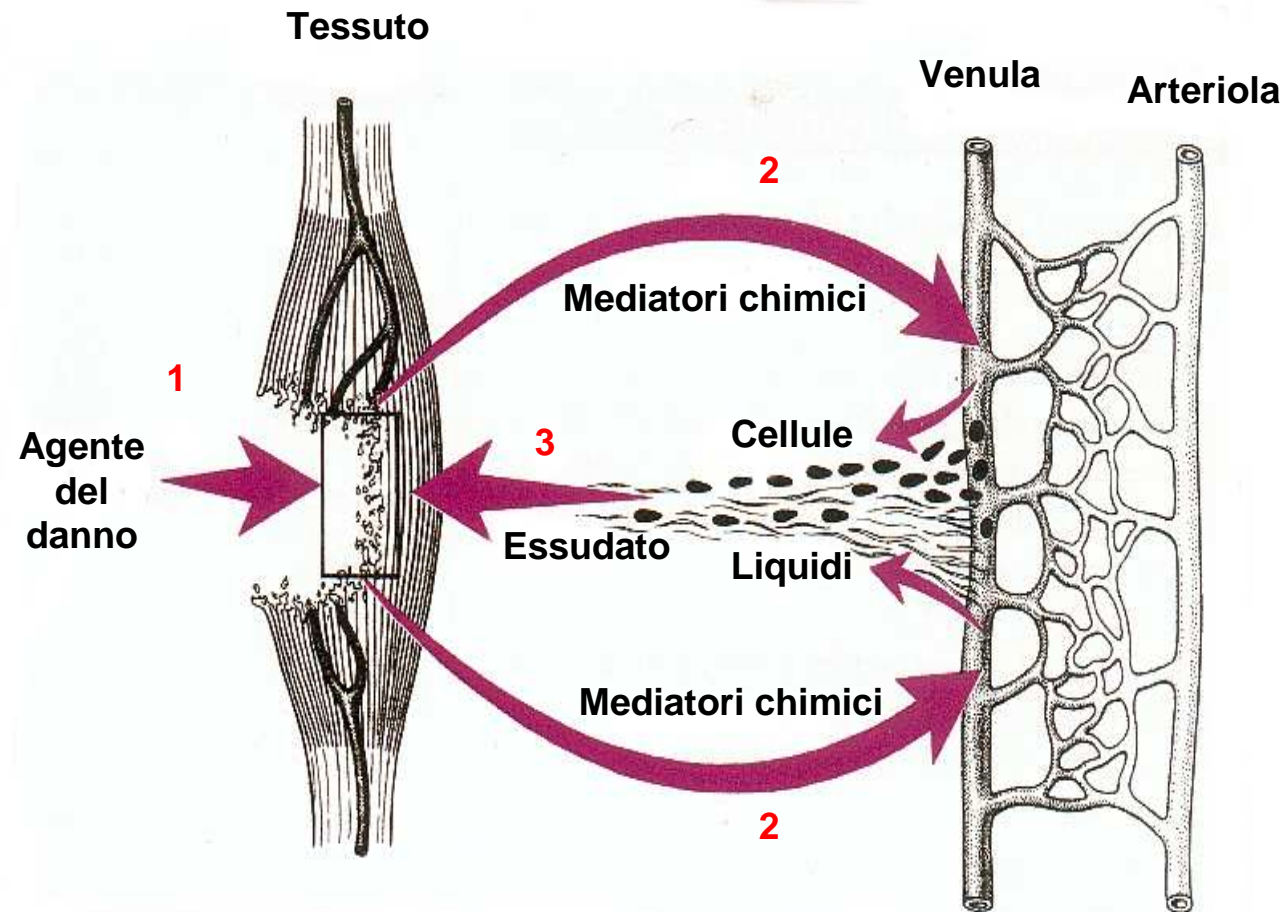
Ad esempio i batteri o i virus porteranno ad una reazione immunitaria (naturale o specifica) le cause fisiche attiveranno macrofagi e mastociti direttamente o attraverso i prodotti del danno (ATP, DNA, peptidi ecc.



L'infiammazione può essere considerata una risposta allo stress

Ci possono essere diversi gradi , a seconda dell'intensità dello stimolo

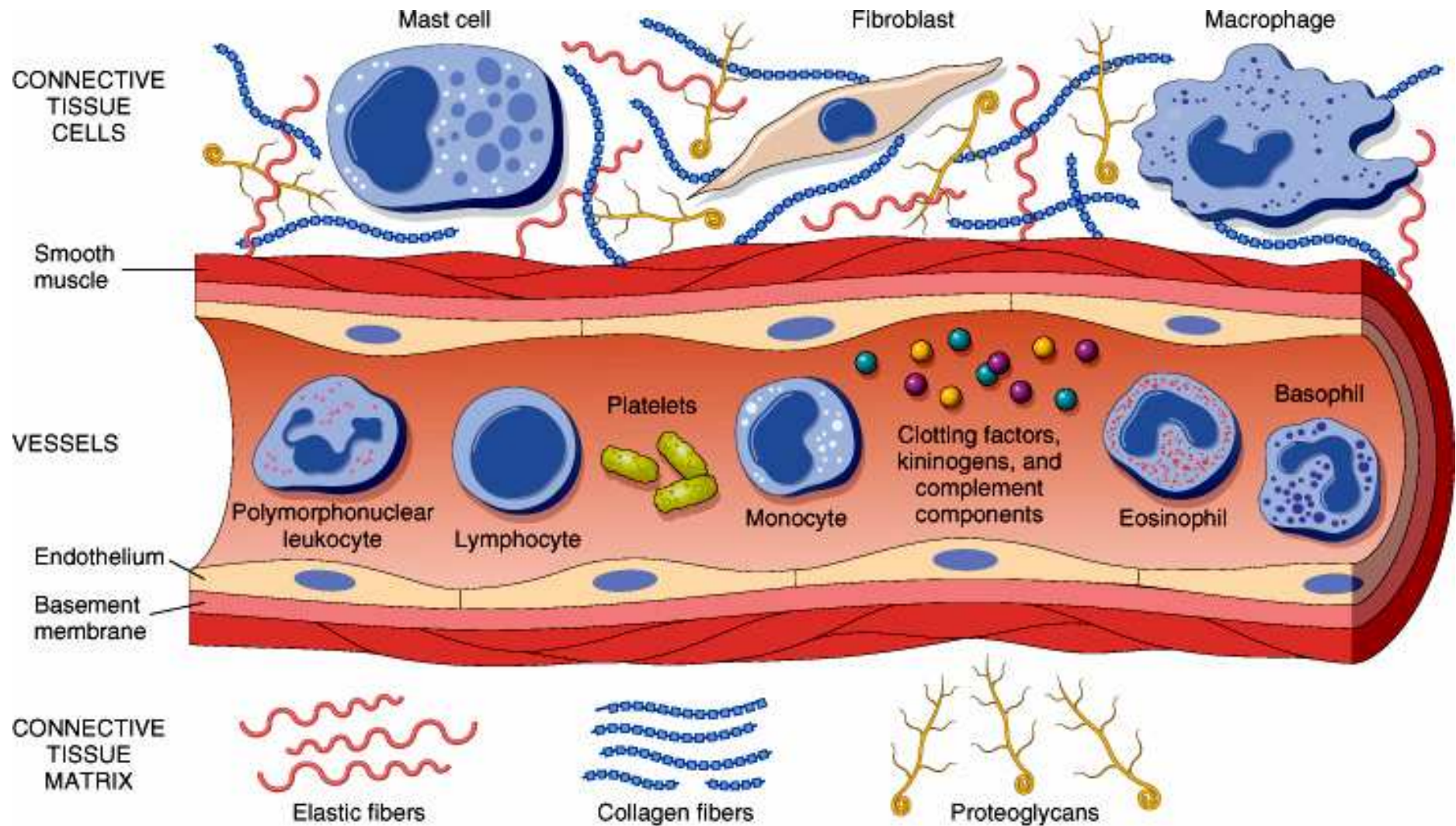
- Risposta cellulare allo stress
- Risposta del tessuto allo stress
- Risposta del tessuto al danno



Il tessuto danneggiato (1) libera mediatori chimici (2) che diffondono verso i vasi sanguigni circostanti, provocando la reazione vasale e cellulare:

formazione di un essudato costituito da cellule e liquido (3).

Molte cellule e componenti circolanti e connettivali sono coinvolti nel processo infiammatorio



Tipi di infiammazione

Infiammazione acuta (angioflogosi)

- di breve durata, da pochi minuti fino a pochi giorni
- prevalgono fenomeni vascolari con formazione di **essudato** composto da liquidi con proteine plasmatiche
- migrazione nel tessuto infiammato di leucociti, soprattutto granulociti neutrofili

Infiammazione cronica (istoflogosi)

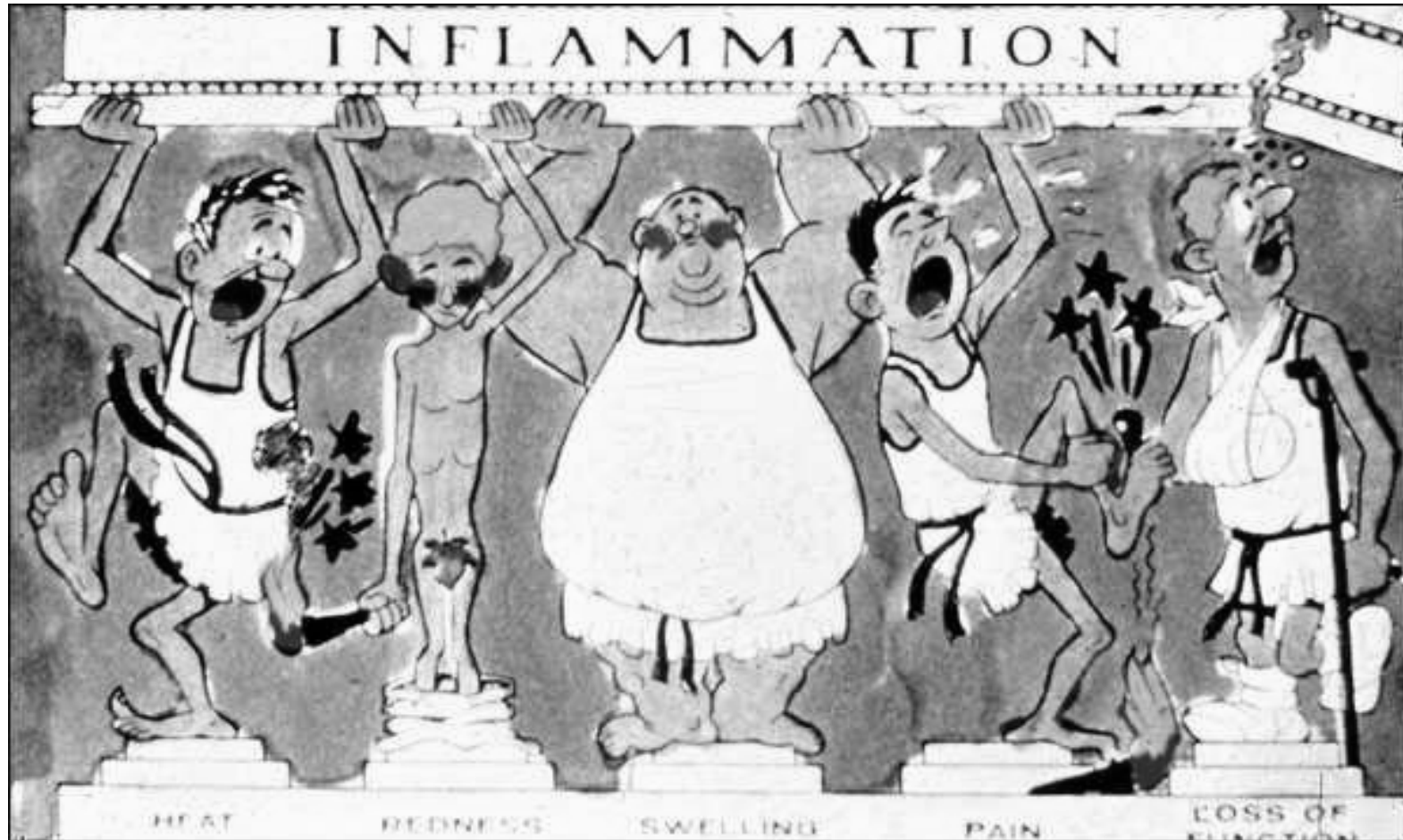
- Durata più lunga, anche anni
- Prevalente componente cellulare con macrofagi, linfociti e fibroblasti
- Prolifera di vasi sanguigni e fibrosi

L'inflammation acuta

Terminologia dei fenomeni infiammatori

- **Essudazione** : passaggio di liquidi, proteine e cellule dal sistema vascolare verso i tessuti interstiziali o le cavità sierose.
- **Essudato** : un liquido infiammatorio extravascolare con elevata concentrazione proteica, contenente detriti cellulari e con peso specifico superiore a 1,020. Va differenziato dal **trasudato**: liquido con basso contenuto di proteine ed un peso specifico inferiore a 1,012.
- **Edema**: accumulo di liquido extravascolare nei tessuti interstiziali o nelle cavità sierose come essudato o trasudato

Segni cardinali dell'infiammazione acuta



Calor

Rubor

Tumor

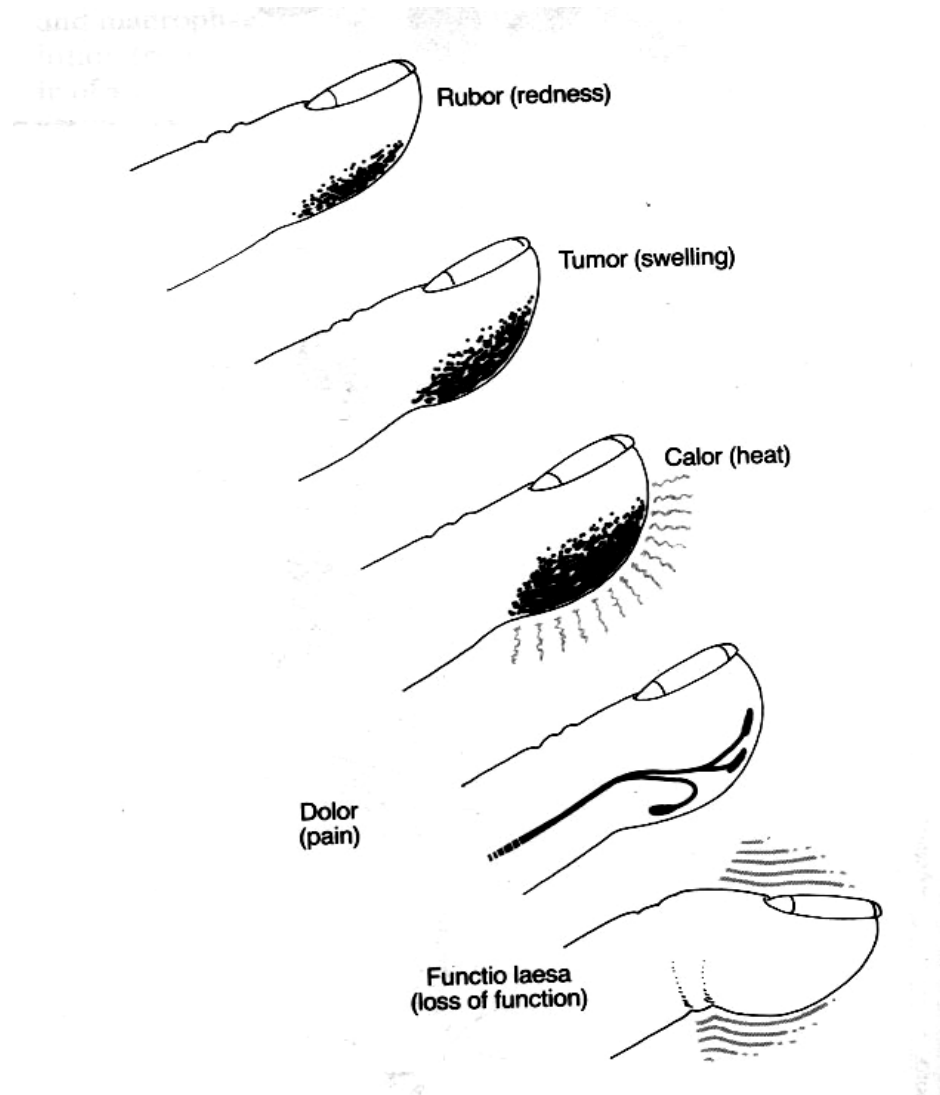
Dolor

Functio laesa

Celsius (30 AC)

Virchow (1902)

Segni di infiammazione acuta





Principali eventi dell' infiammazione acuta

- **Aumento del calibro vascolare che determina l'aumento del flusso ematico.**
- **Modificazioni strutturali dei vasi del microcircolo che permettono alle proteine plasmatiche ed ai leucociti di lasciare il letto vascolare.**
- **Migrazione dei leucociti dal microcircolo ed accumulo nella sede del danno.**

Correlazione tra segni/sintomi ed eventi

Risposta vascolare

Segni/Sintomi

Vasodilatazione

Aumento del flusso ematico

Essudazione di liquido (permeabilità)

Afflusso di cellule (chemiotassi)

Elevato metabolismo cellulare

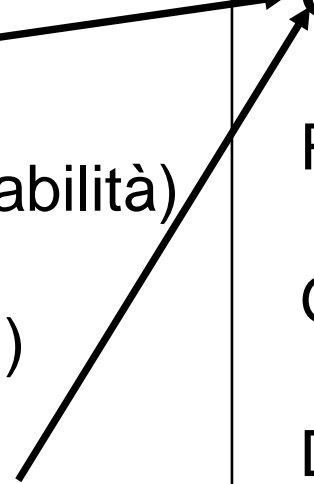
Liberazione di mediatori chimici

Calore (calor)

Rossore (rubor)

Gonfiore (tumor)

Dolore (dolor)



Correlazione tra segni/sintomi ed eventi

Risposta vascolare

Segni/Sintomi

Vasodilatazione

Aumento del flusso ematico

Essudazione di liquido (permeabilità)

Afflusso di cellule (chemiotassi)

Elevato metabolismo cellulare

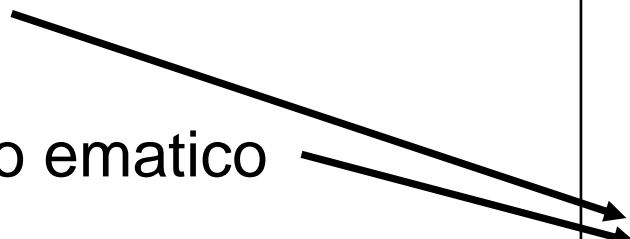
Liberazione di mediatori chimici

Calore (calor)

Rossore (rubor)

Gonfiore (tumor)

Dolore (dolor)



Correlazione tra segni/sintomi ed eventi

Risposta vascolare

Segni/Sintomi

Vasodilatazione

Aumento del flusso ematico

Essudazione (permeabilità)

Afflusso di cellule (chemiotassi)

Elevato metabolismo cellulare

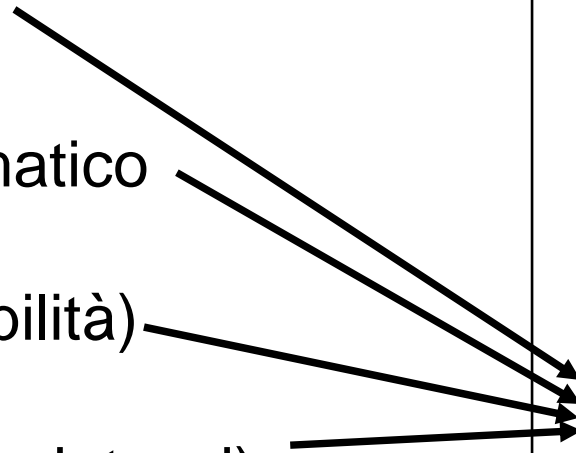
Liberazione di mediatori chimici

Calore (calor)

Rossore (rubor)

Gonfiore (tumor)

Dolore (dolor)



Correlazione tra segni/sintomi ed eventi

Risposta vascolare

Segni/Sintomi

Vasodilatazione

Aumento del flusso ematico

Essudazione (permeabilità)

Afflusso di cellule (chemiotassi)

Elevato metabolismo cellulare

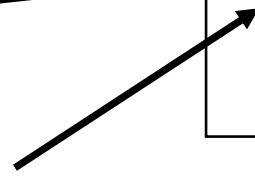
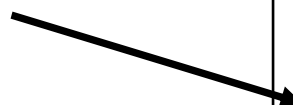
Liberazione di mediatori chimici

Calore (calor)

Rossore (rubor)

Gonfiore (tumor)

Dolore (dolor)



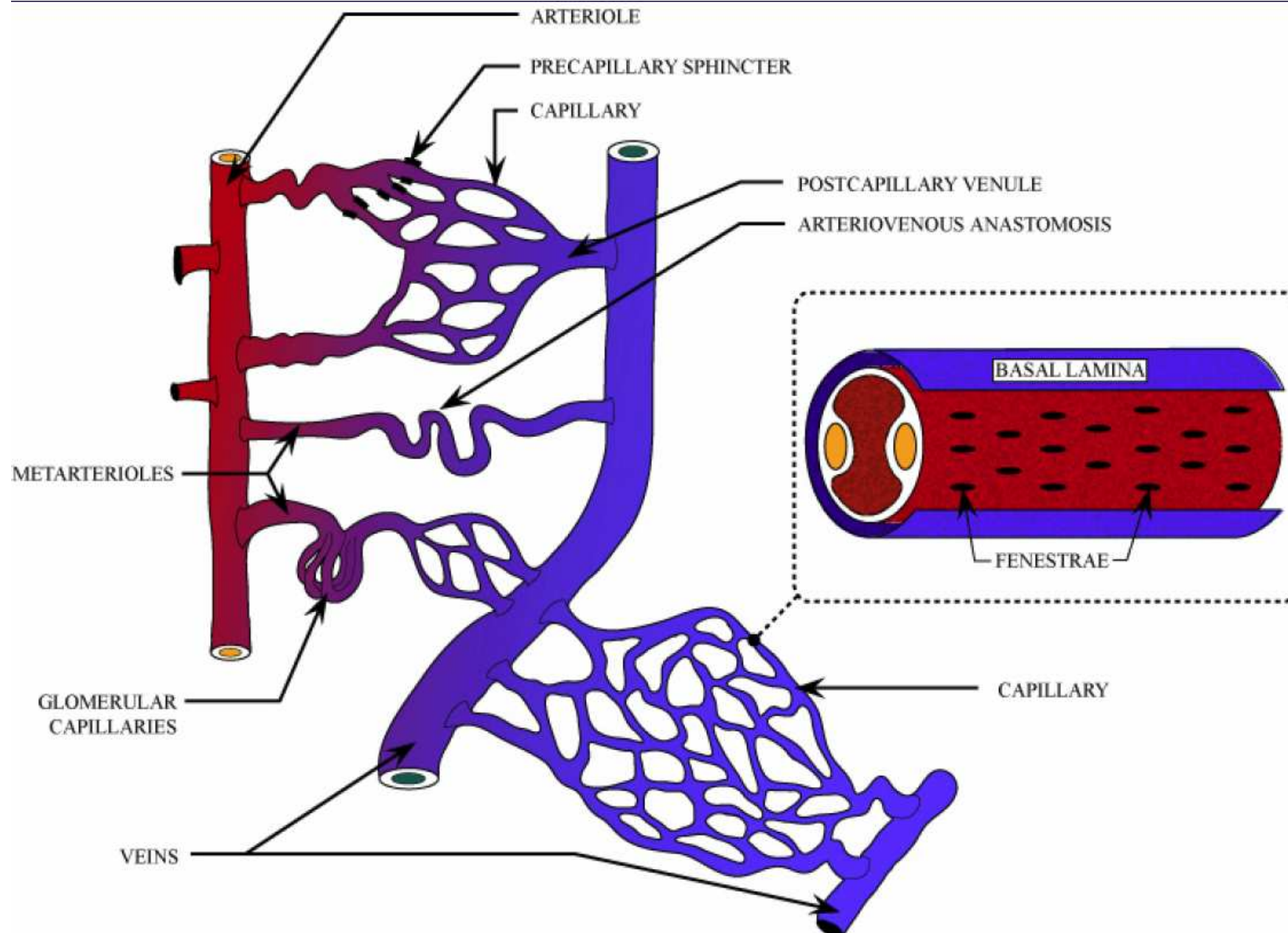
Modelli di risposta infiammatoria

Risposta immediata e transitoria – risposta a danni minori

Risposta immediata e protratta – risposta a danni più gravi. Continua per vari giorni. C'è danno vascolare

Risposta ritardata – aumento della permeabilità ritardato, dopo 4-24 ore, radiazioni, scottature solari

MICROCIRCOLO



La tripla risposta

Sir Lewis Thomas (1927)

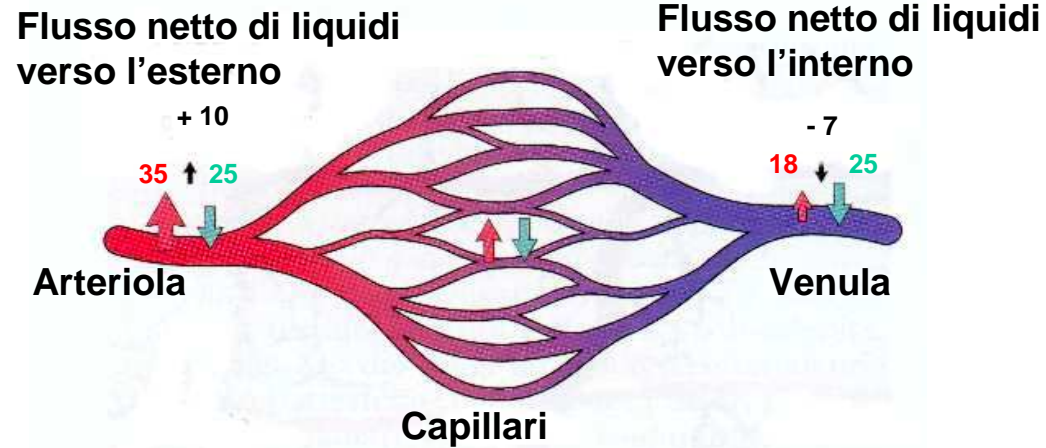
- Vasocostrizione inconsistente e transitoria (secondi o minuti)
- Vasodilatazione delle arteriole pre-capillari
- Stasi e marginazione leucocitaria, con aumento della permeabilità della barriera endoteliale ed EDEMA
 - *“Classically, this type of leakage affects only venules 20-60 μ m in diameter (post-capillary venule)”*

Modificazioni del flusso ematico e del calibro dei vasi

- **Vasocostrizione arteriolare** di brevissima durata, mediata dal *sistema nervoso simpatico*. Può mancare e non ha un ruolo significativo.
- **Vasodilatazione arteriolare** per *rilasciamento delle fibrocellule muscolari lisce* della parete delle arteriole terminali, indotta da una serie di molecole ad azione rilassante. Determina un aumento del flusso ematico. *Iperemia attiva*.
- **Fase della Stasi. Iperemia passiva**
 - Compressione sulle venule esercitata dall'essudato
 - La fuoriuscita di liquido ricco in proteine nel tessuto extravascolare dovuta all'aumento della permeabilità vascolare del microcircolo provoca "ispissatio sanguinis".

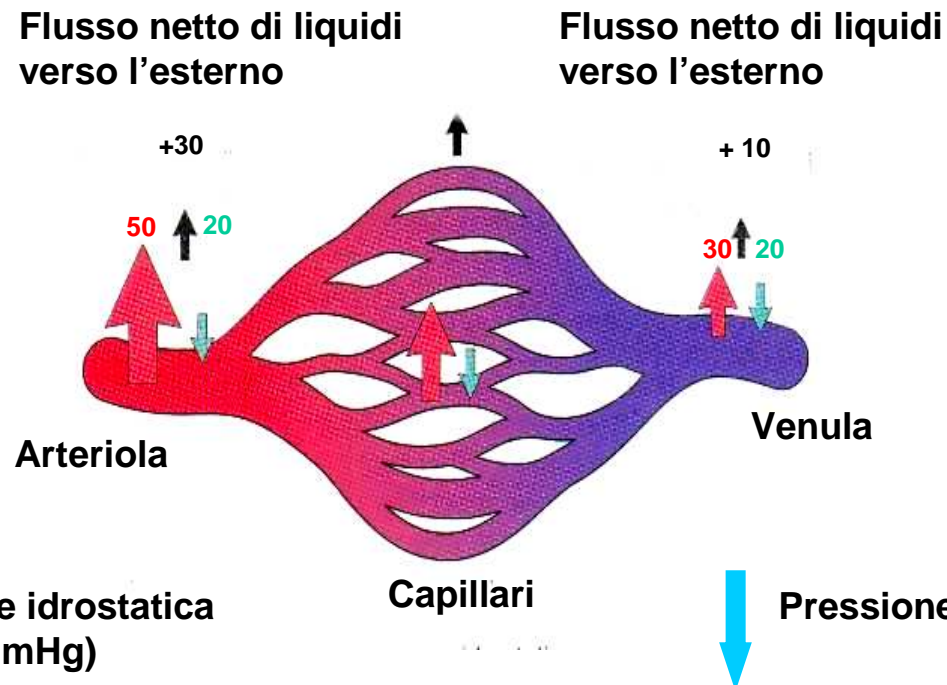
A. Condizioni normali

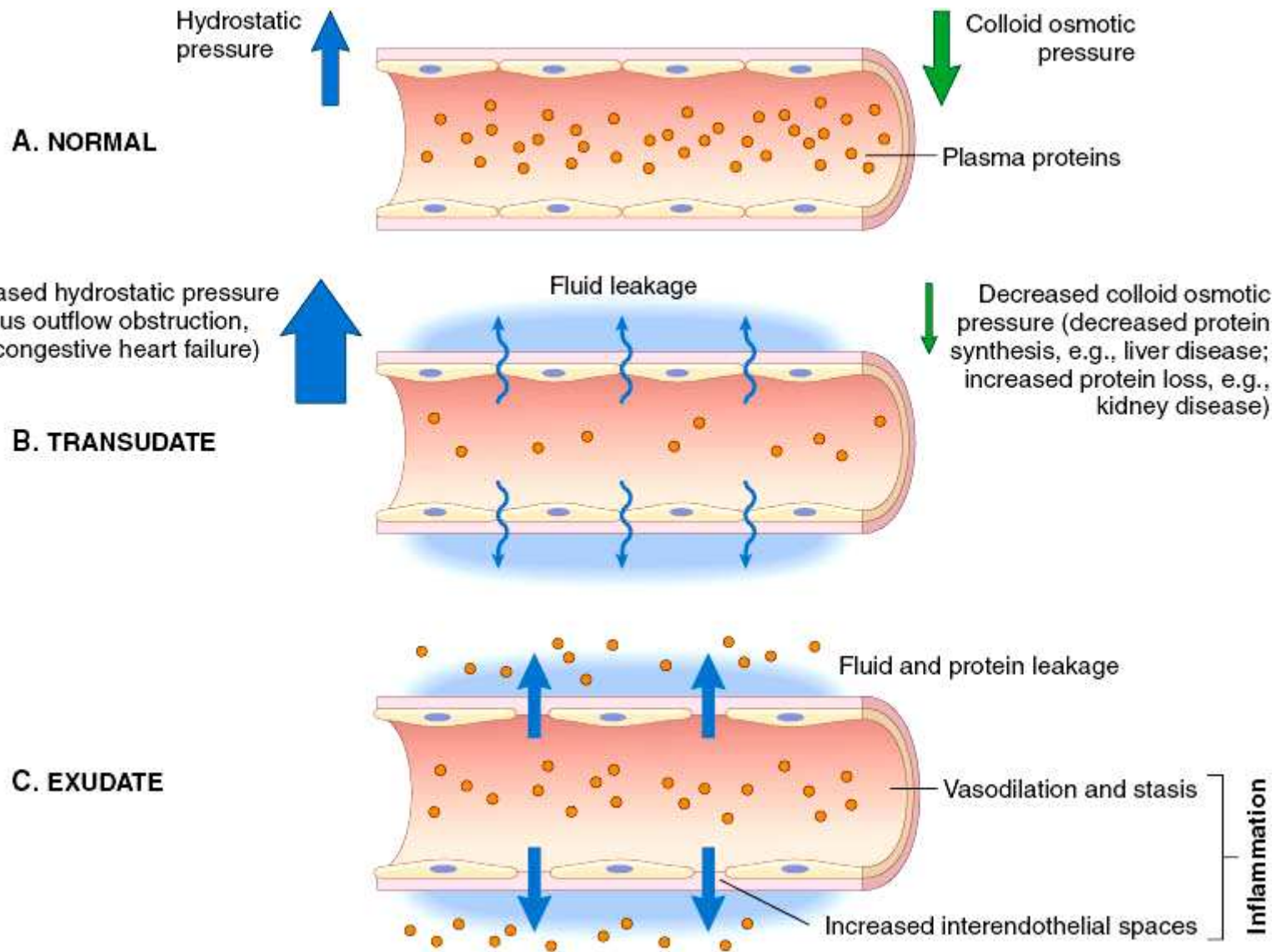
Nessun accumulo di liquidi (considerando il flusso linfatico)



B. Infiammazione acuta

Flusso netto di liquidi verso l'esterno





Meccanismi dell'aumento della permeabilità

1- Formazione di fenestrazioni endoteliali

- contrazione delle cellule endoteliali**
- riorganizzazione del citoscheletro**

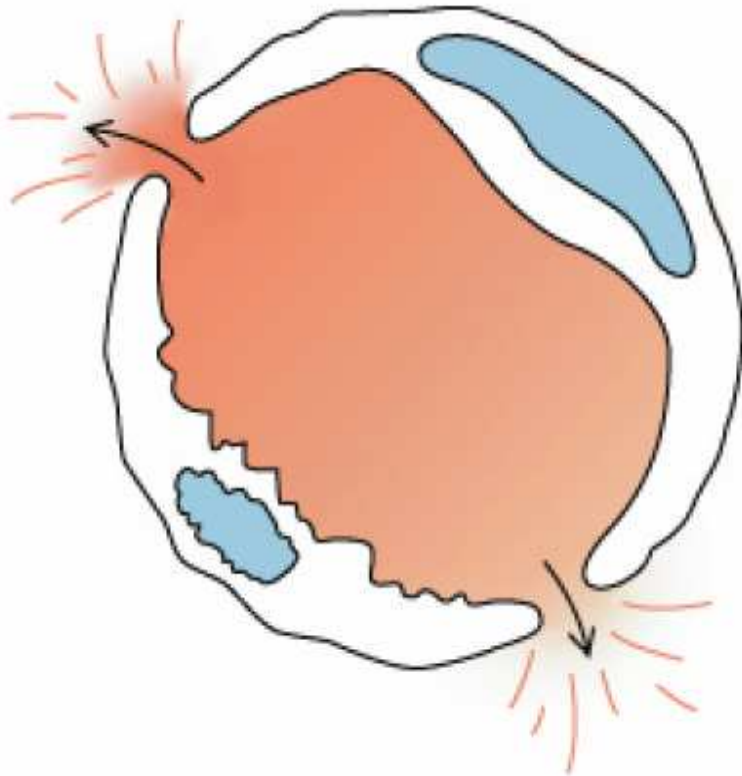
2- Danno endoteliale

- diretta**
- mediata da leucociti**

3- Aumentata transitosi (traffico vescicolare)

4- Angiogenesi

Formazione di fenestrazioni endoteliali



E' una risposta immediata e transitoria dovuta alla contrazione delle cellule endoteliali

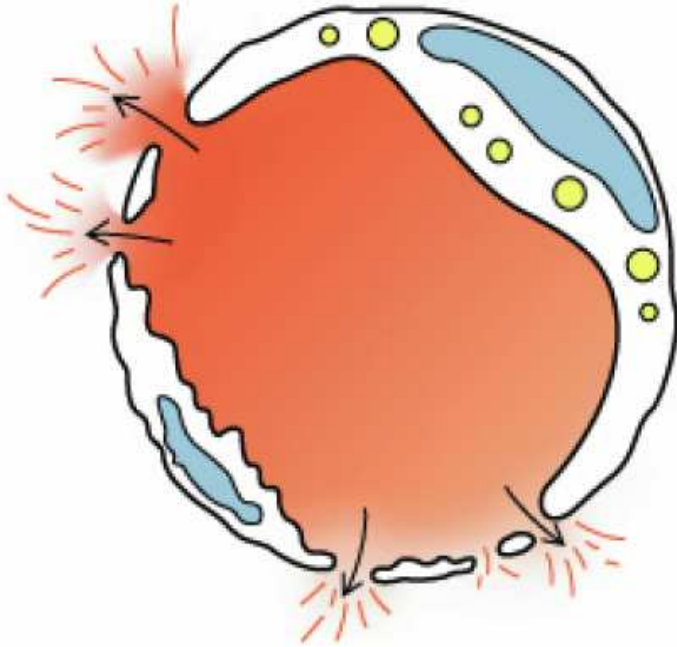
E' la causa più comune di aumento della permeabilità

E' limitata alle venule post-capillari

E' un processo reversibile causato dai mediatori chimici dell'inflammazione

Precede la riorganizzazione del citoscheletro che è successiva e dura di più

Danno endoteliale diretto



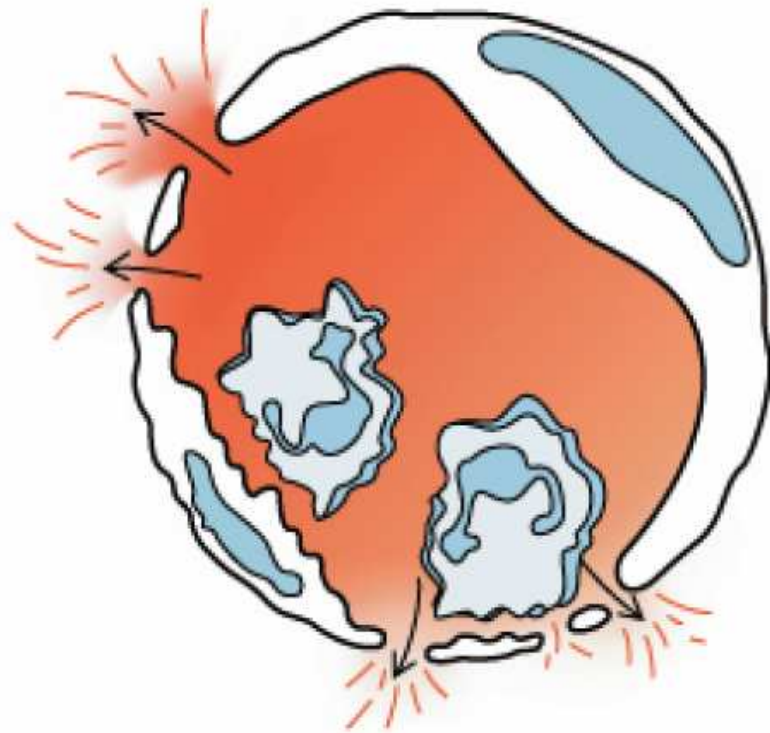
Danno dovuto alla causa del processo infiammatorio, (infezione, ustione, ecc.)

E' un processo rapido e protratto, che dura finchè il vaso non è riparato o tromboso

Interessa tutto il microcircolo

Un danno diretto moderato può dare una permeabilizzazione ritardata, con l'evolversi del danno endoteliali. (Es. scottature solari)

Danno endoteliale mediato da leucociti

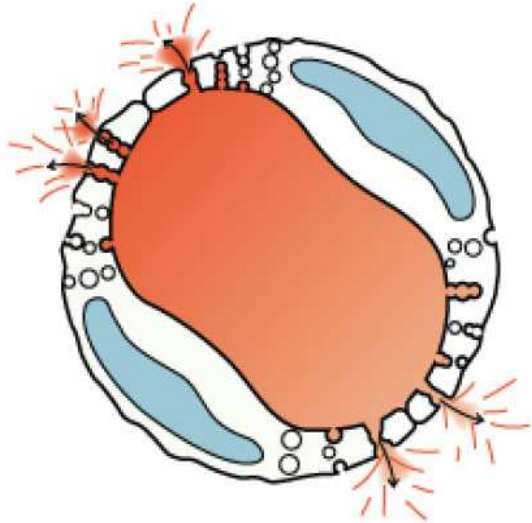


**Dovuto all'azione dei
neutrofili attivati**

**Prevale nelle sedi di
adesione leucocitaria:
venule**

E' di lunga durata

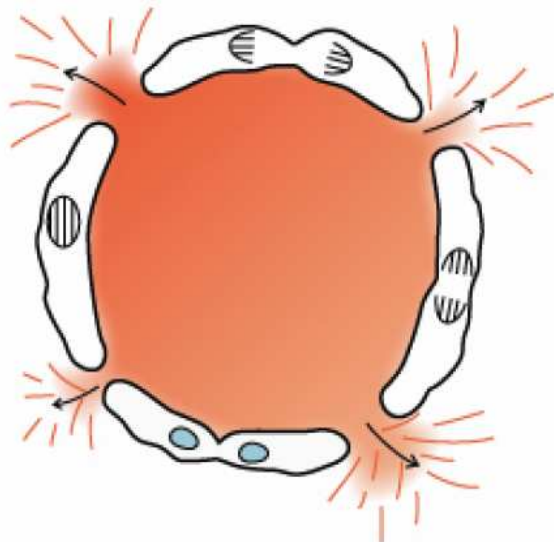
Transcitosi e angiogenesi



***La transcitosi* è un aumento del traffico vescicolare.**

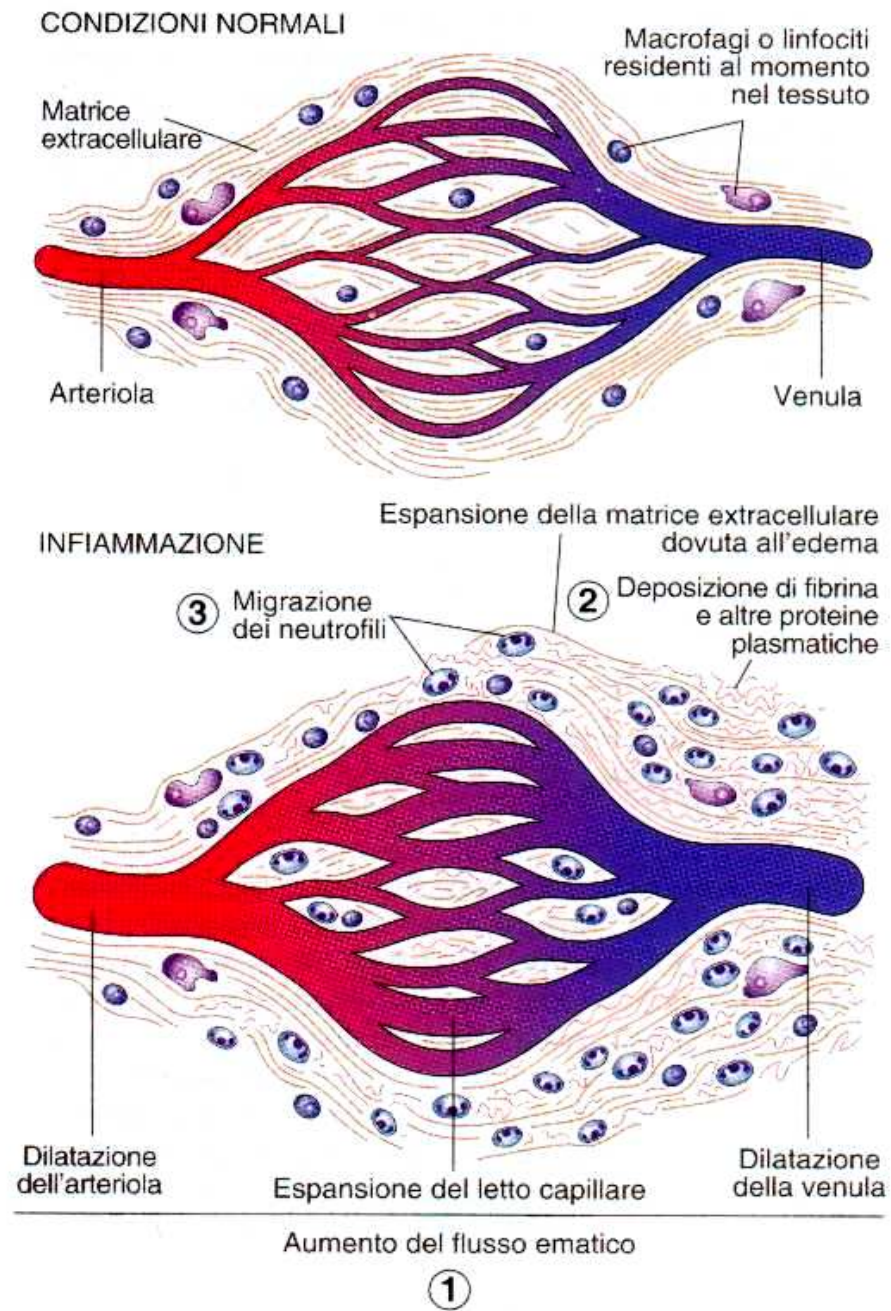
Le vescicole passano attraverso le cellule endoteliali integre

Venule. Azione del VEGF



***L'angiogenesi* avviene più tardivamente e fa parte dei processi riparativi.**

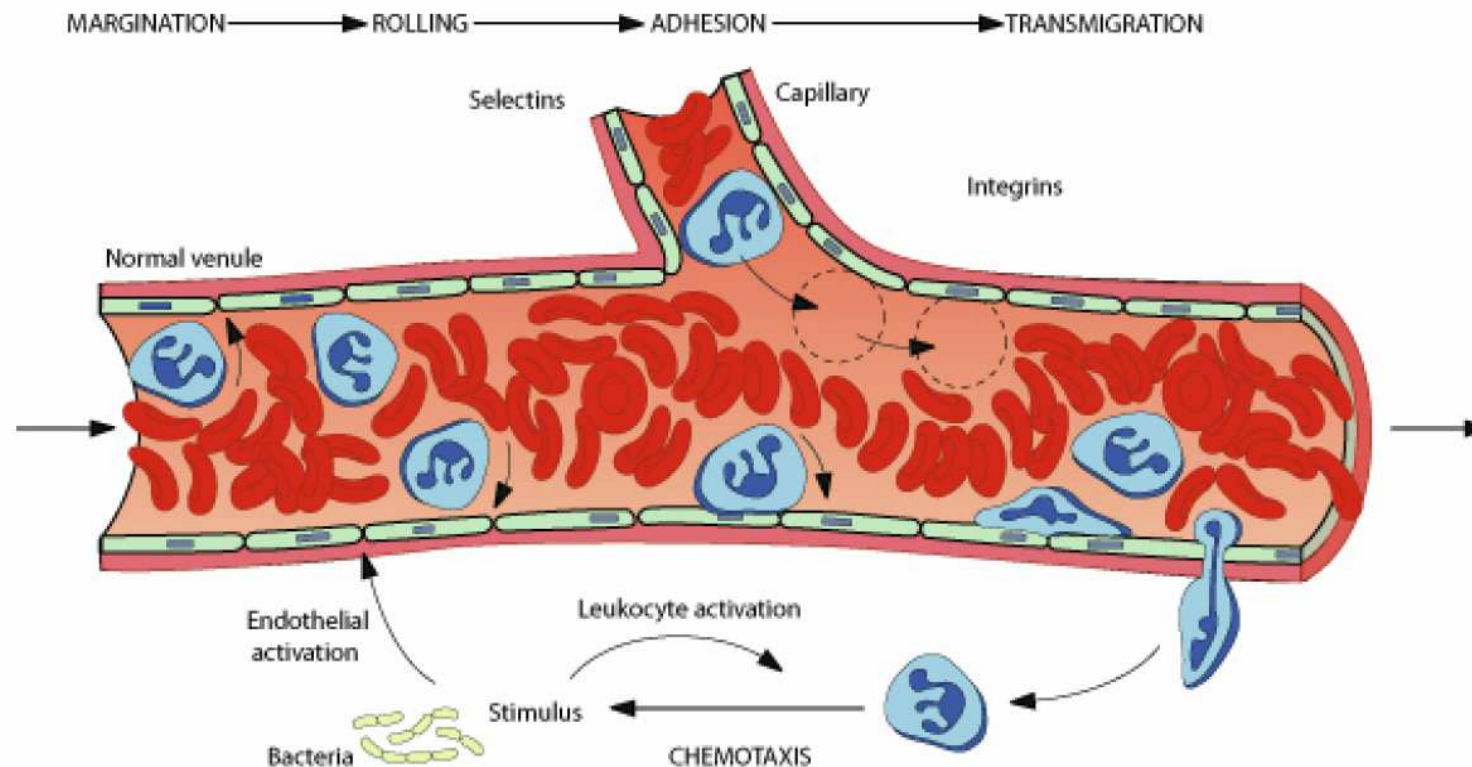
I vasi neoformati sono più permeabili



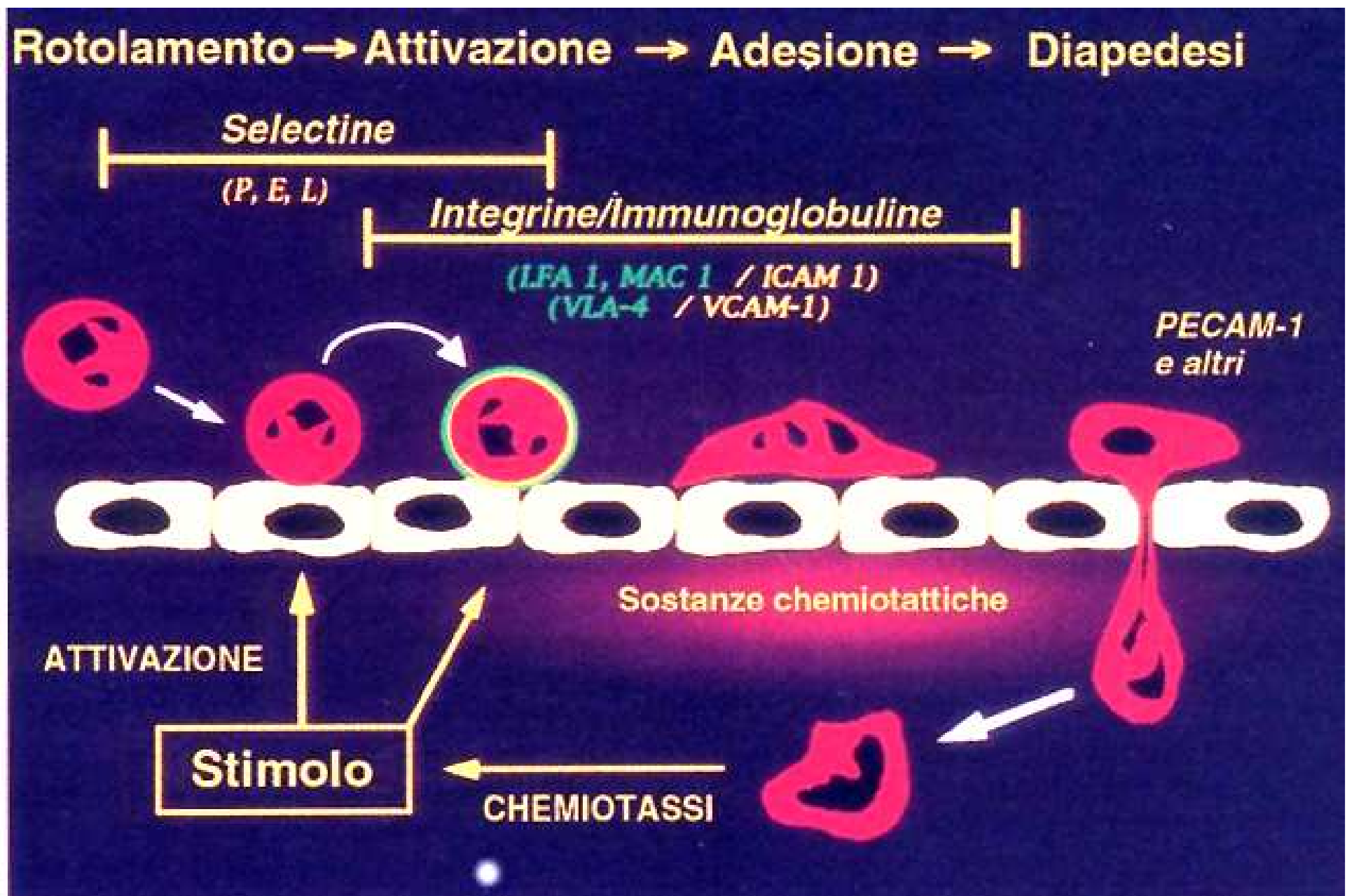
Gli eventi vascolari sono accompagnati da eventi cellulari

Sequenza degli eventi cellulari nell'infiammazione acuta

- Marginazione e rotolamento
- Attivazione
- Adesione e transmigrazione (diapedesi)
- Movimento nella regione infiammata (chemiotassi)

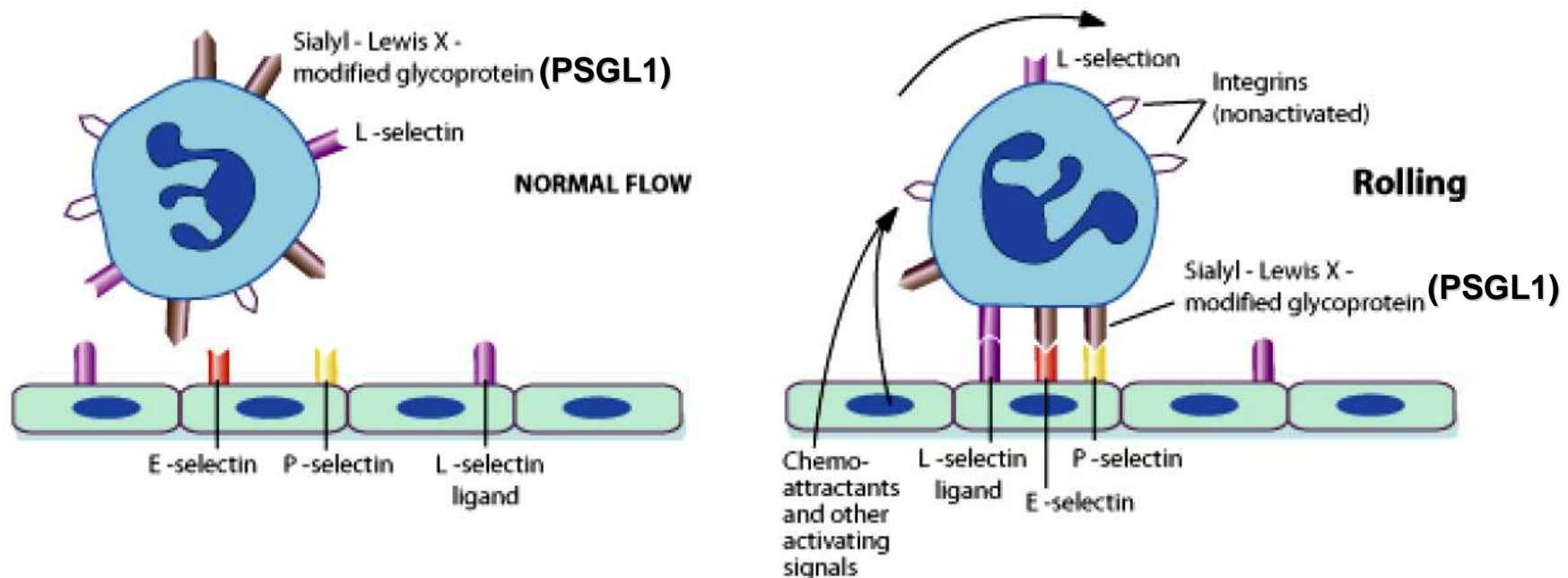


Sequenza di eventi cellulari e molecole coinvolte



Marginazione e rotolamento

- Sono inizialmente la conseguenza del flusso modificato nei piccoli vasi per perdita del flusso laminare
- Poi i granulociti iniziano a rotolare formando interazioni transitorie con molecole di **selectine** sulla membrana endoteliale



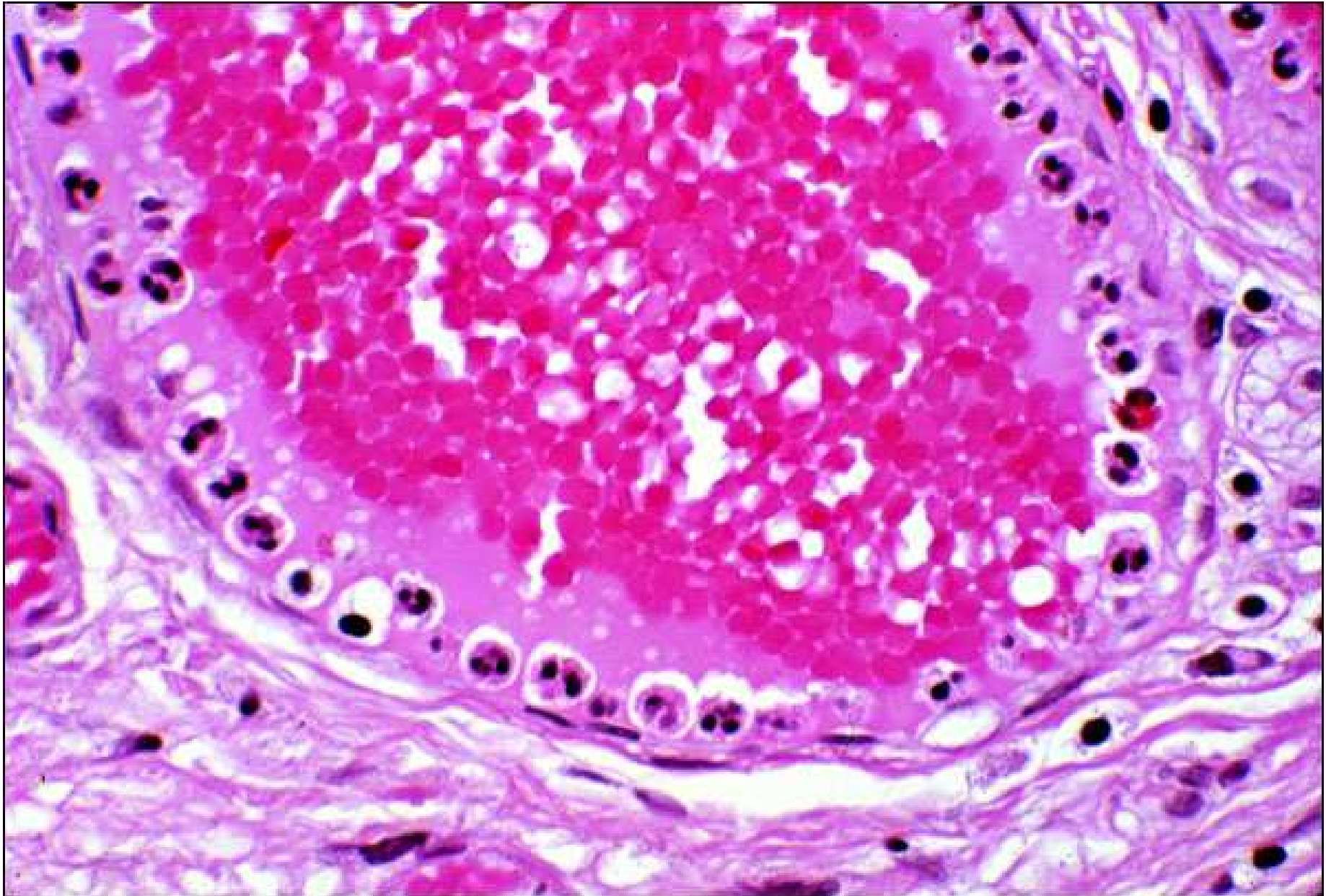
E-selectine sulle cellule endoteliali

P-selectine su cellule endoteliali e piastrine

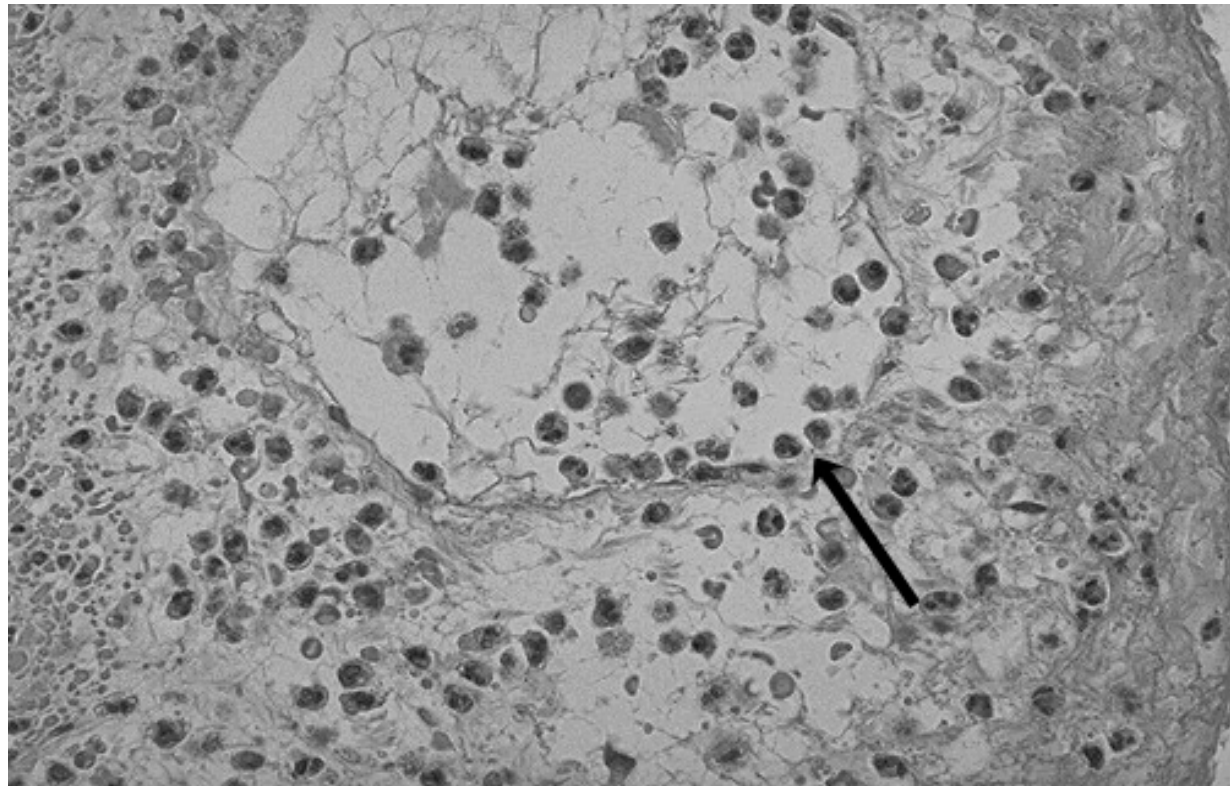
L-selectine sui leucociti

Le selectine riconoscono e legano gli oligosaccaridi sialilati o fucosilati delle glicoproteine di superficie

Marginazione



MARGINAZIONE DEI NEUTROFILI

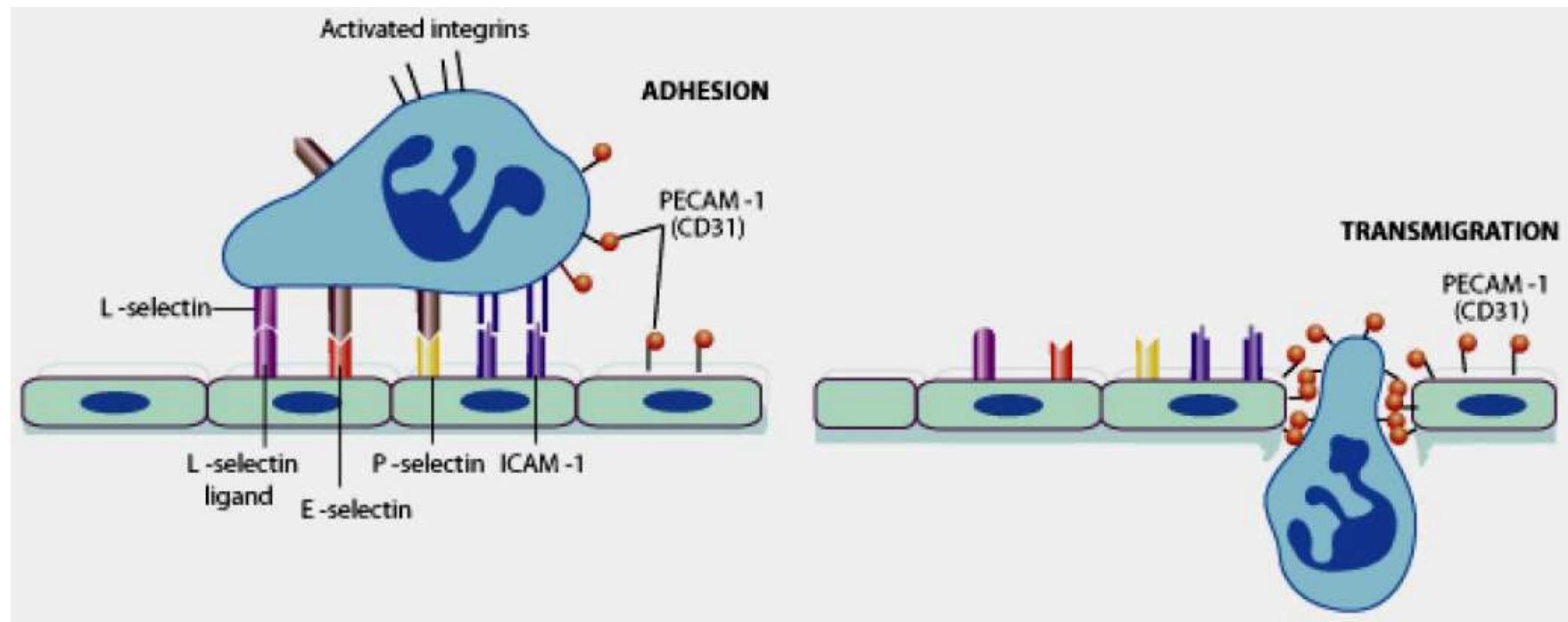


Adesione e transmigrazione

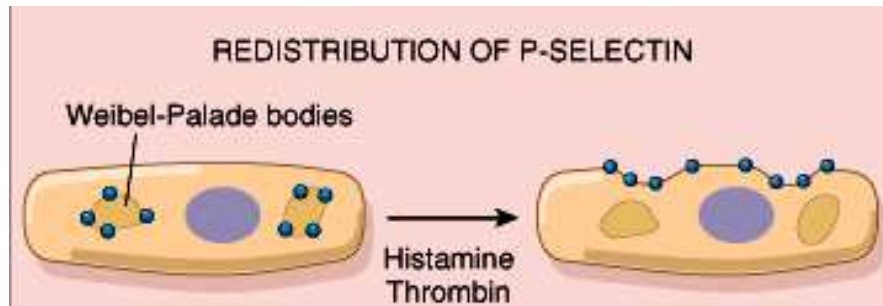
I leucociti successivamente **aderiscono in modo stabile**

L'adesione è mediata da **integrine** (ICAM1, VCAM1) e molecole della superfamiglia delle immunoglobuline (LFA1, VLA4)

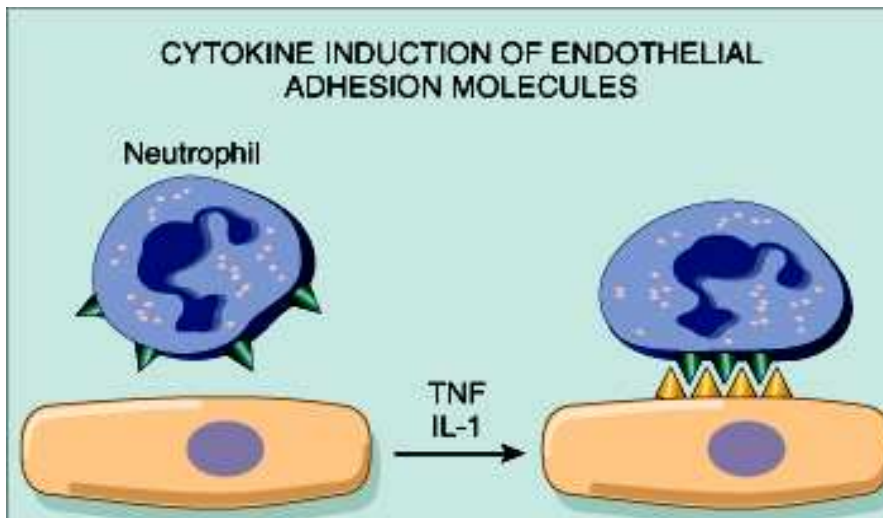
Per la diapedesi è fondamentale PECAM1 (CD31)



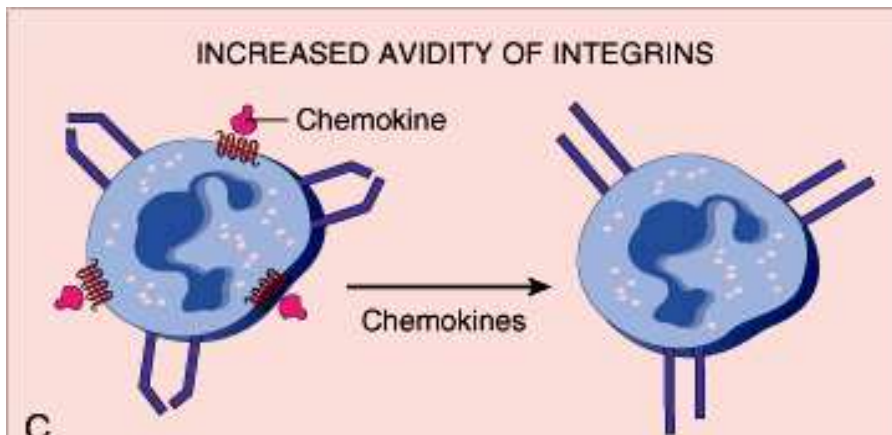
Mediatori dell'attivazione leucocitaria



Trombina, istamina, e Platelet Activating Factor (PAF) inducono la redistribuzione di P-selectina dai corpi di Weibel-Palade sulla superficie cellulare

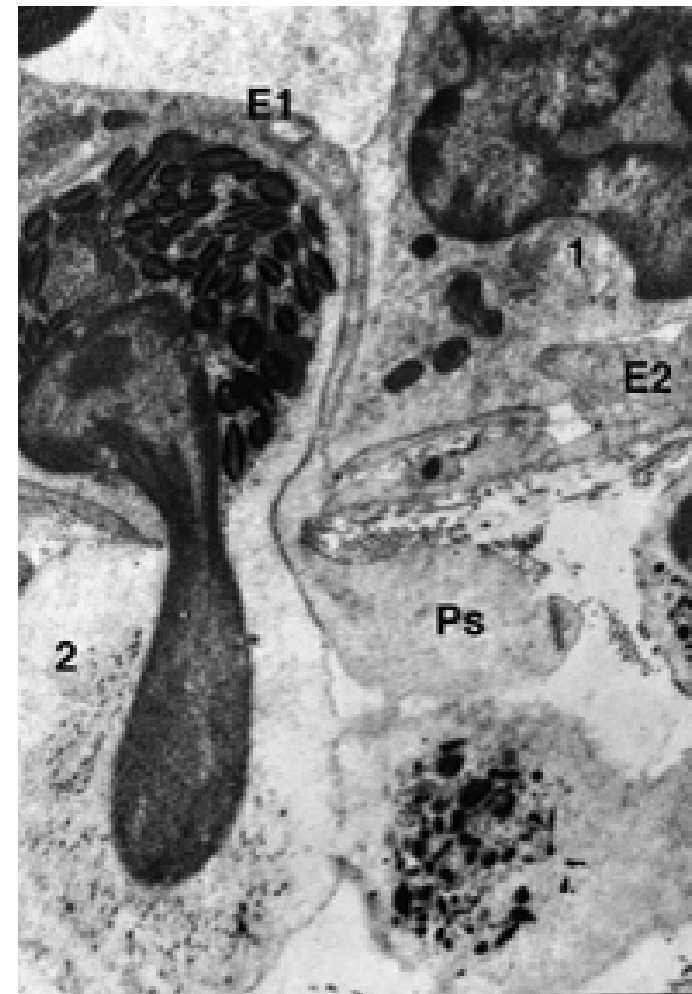
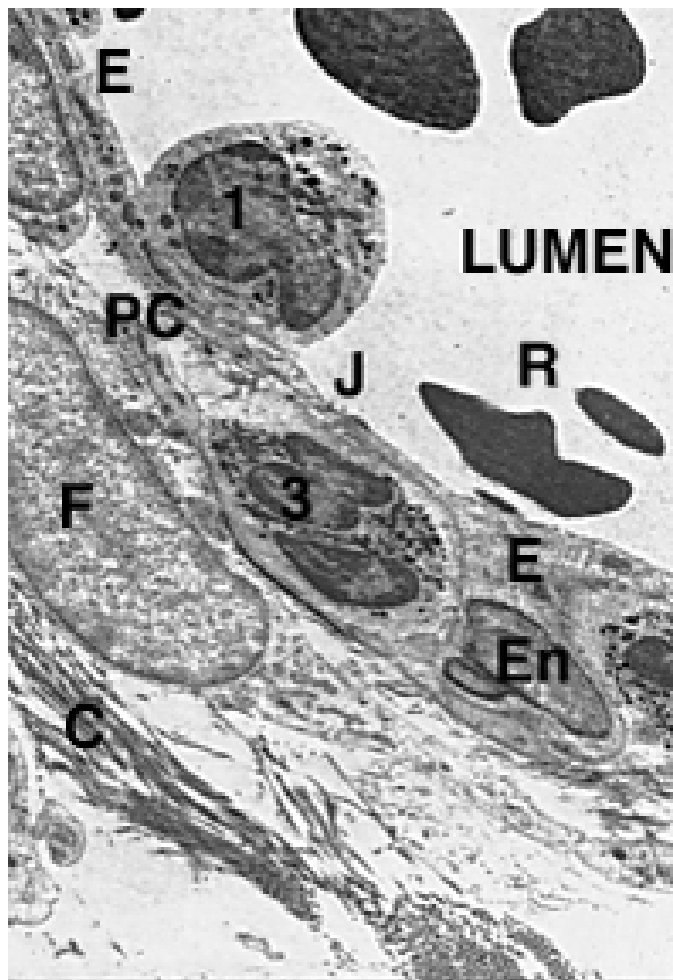


IL-1 e TNF- α , IFNs, endotossine inducono E-selectina sull'endotelio



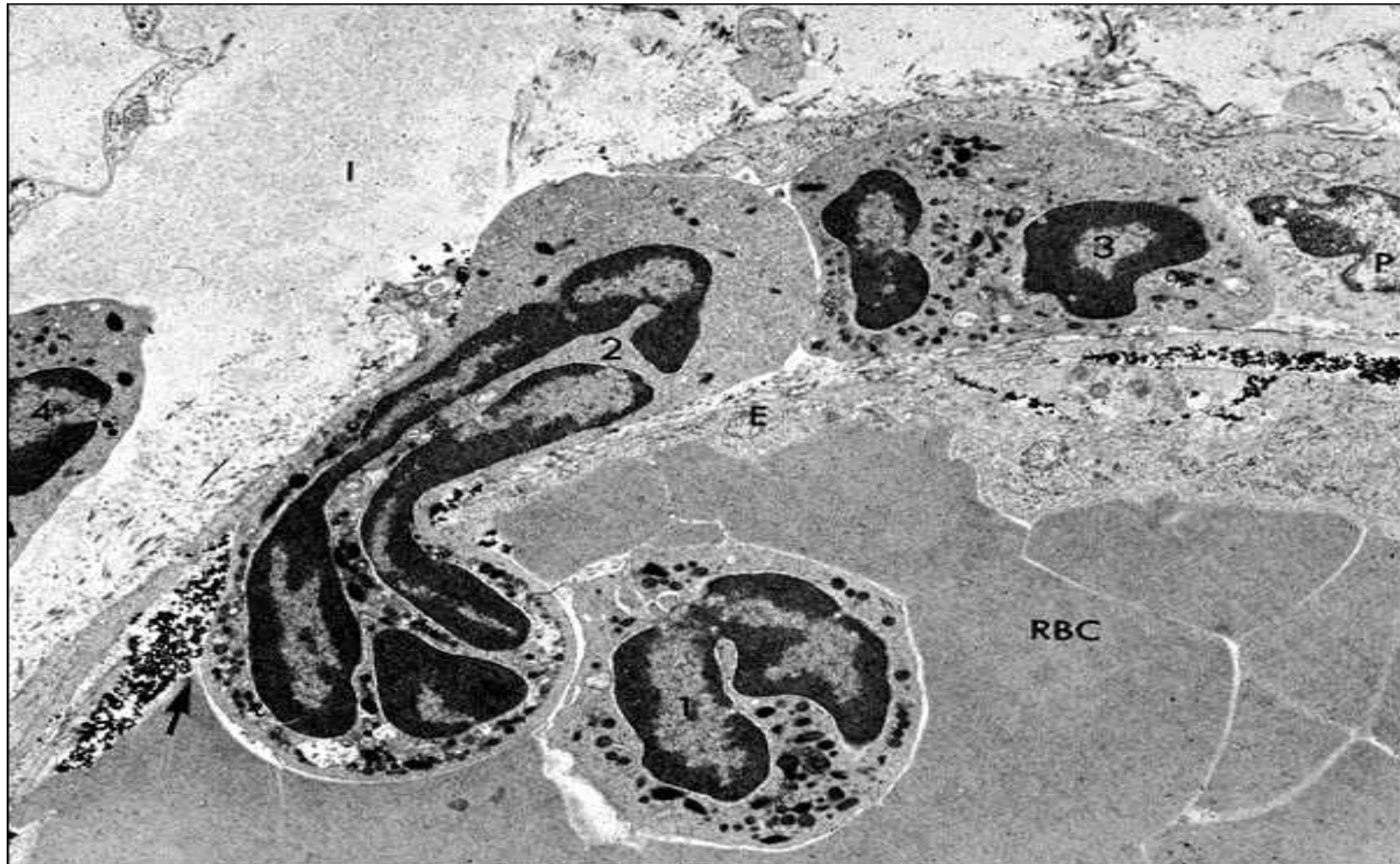
LTB₄, C5a, TNF- α : induzione e modificazione conformazionale delle integrine che ne aumenta l'avidità di legame

Adesione e transmigrazione



I granulociti attraversano la membrana basale dell'endotelio

Collagenasi, MMPs



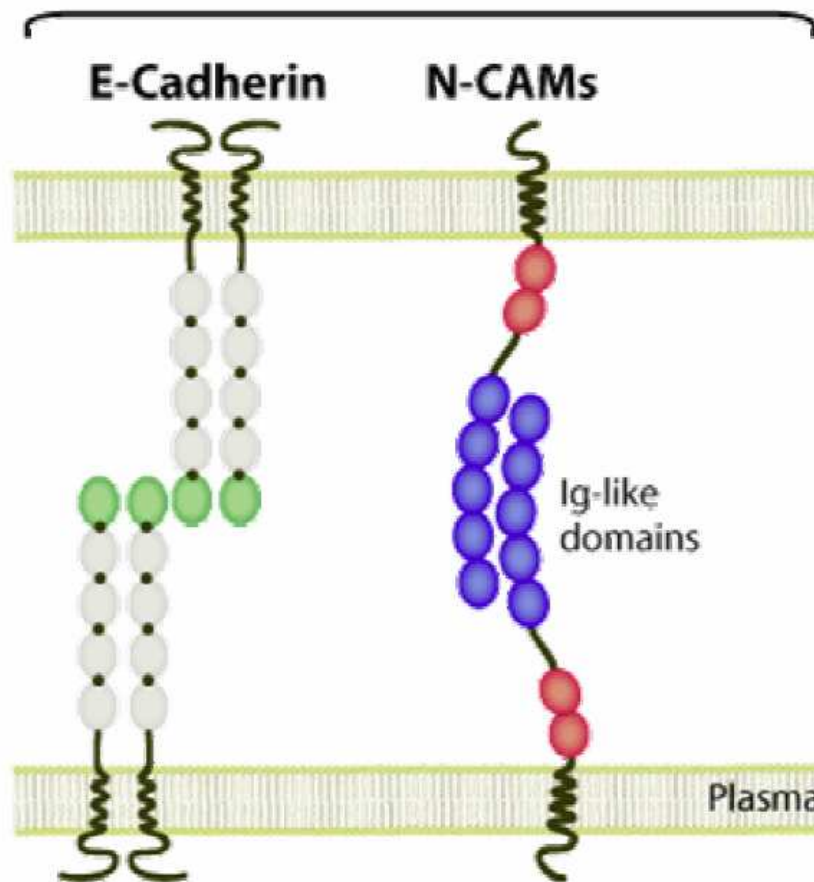


Molecole di adesione endotelio/ leucocitarie

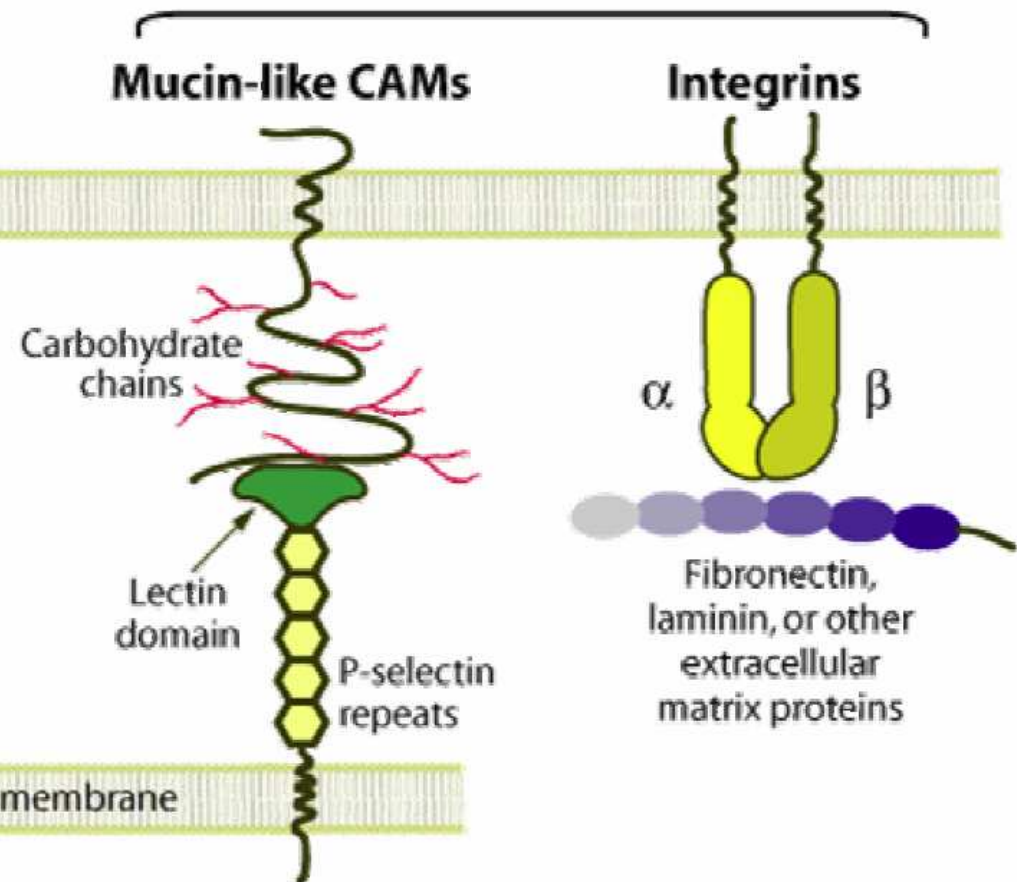
Molecole endoteliali	Recettori leucocitari	Ruolo principale
P-selectina	Sialil Lewis X PSGL-1	Rotolamento (neutrofili, monociti, linfociti T)
E-selectina	Sialil Lewis X PSGL-1, ESL-1	Rotolamento , adesione all'endotelio attivato (neutrofili, monociti, linfociti T)
GlyCAM-1, CD34	L-selectina	Rotolamento dei neutrofili e dei monociti Adesione tessuto specifica dei linfociti
VCAM-1 (immunoglobuline)	Integrine (VLA-4, LPAM-1)	Adesione (neutrofili, monociti, linfociti T)
ICAM- 1 (immunoglobuline)	Integrine (LFA-1, MAC-1)	Adesione, arresto e passaggio attraverso l'endotelio (tutti i leucociti)

Molecole di interazione endotelio-leucocitaria

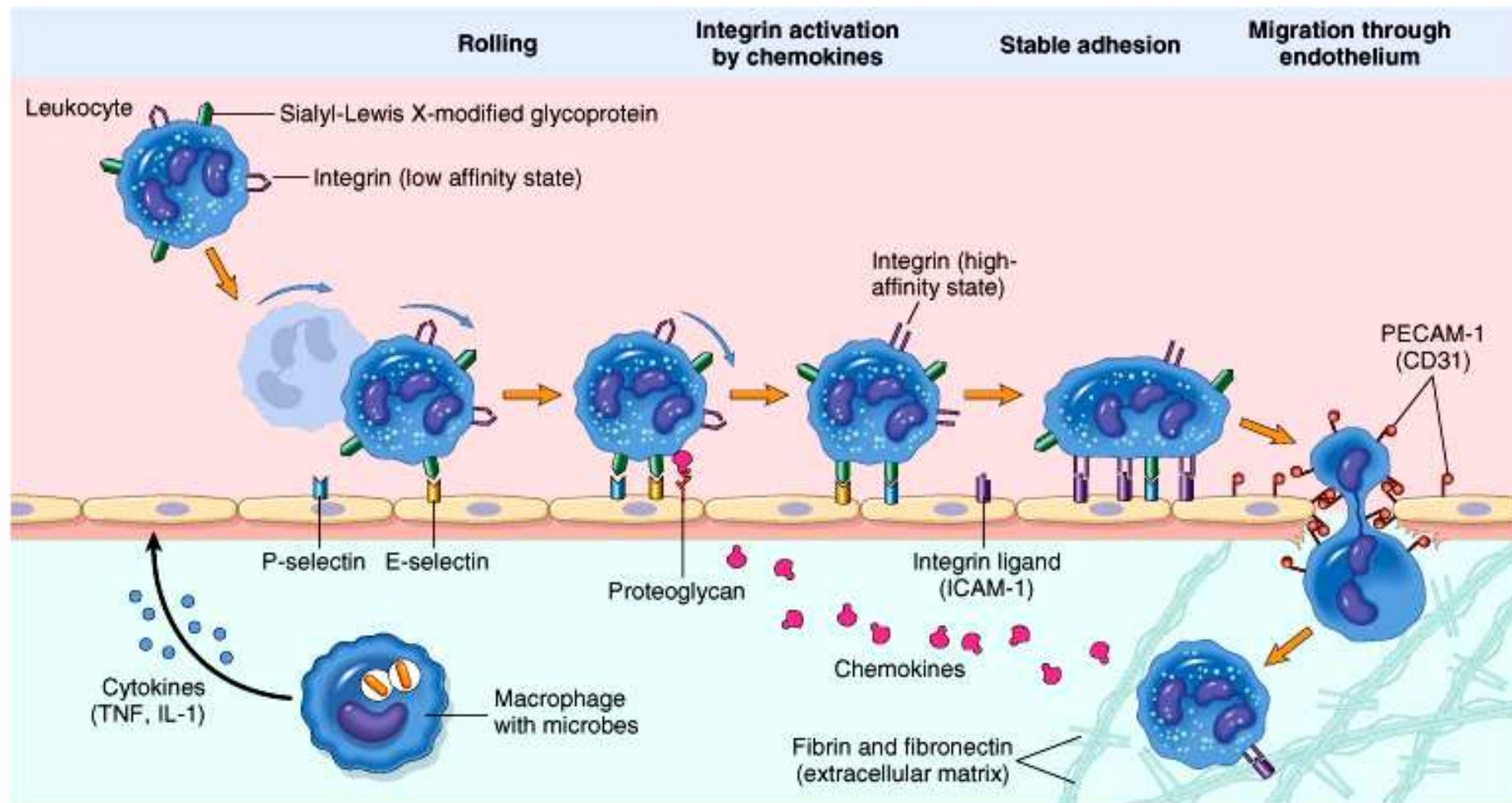
Interaction between **homologous** groups

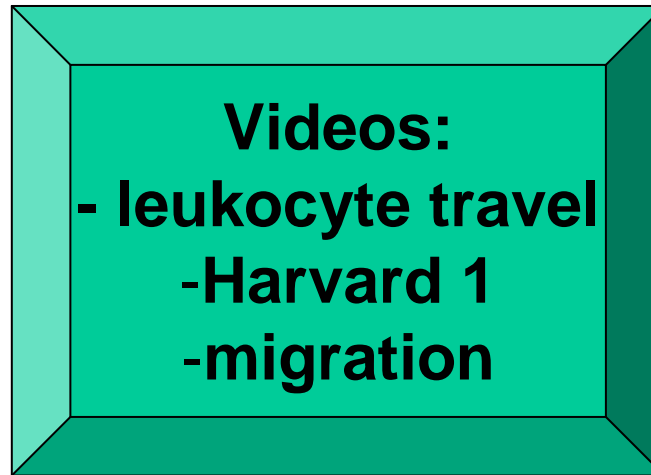


Interaction between **heterologous** groups



Sequenza completa





Chemiotassi ed attivazione

I granulociti neutrofili si spostano nella sede di infiammazione seguendo un gradiente chemiotattico

Chemiotassi : movimento orientato lungo un gradiente chimico.

I chemiotattici possono essere:

- **Componenti del complemento (C5a). Azione precoce**
- **Leucotrieni derivati dall'acido arachidonico (es LB4)**
- **Prodotti solubili di origine batterica (Terminazioni con N-formilmetionina)**
- **Lipidi derivanti da membrane danneggiate (incluso LPS)**
- **Chemochine (es IL8) agenti su recettori specifici (4-48 ore)**

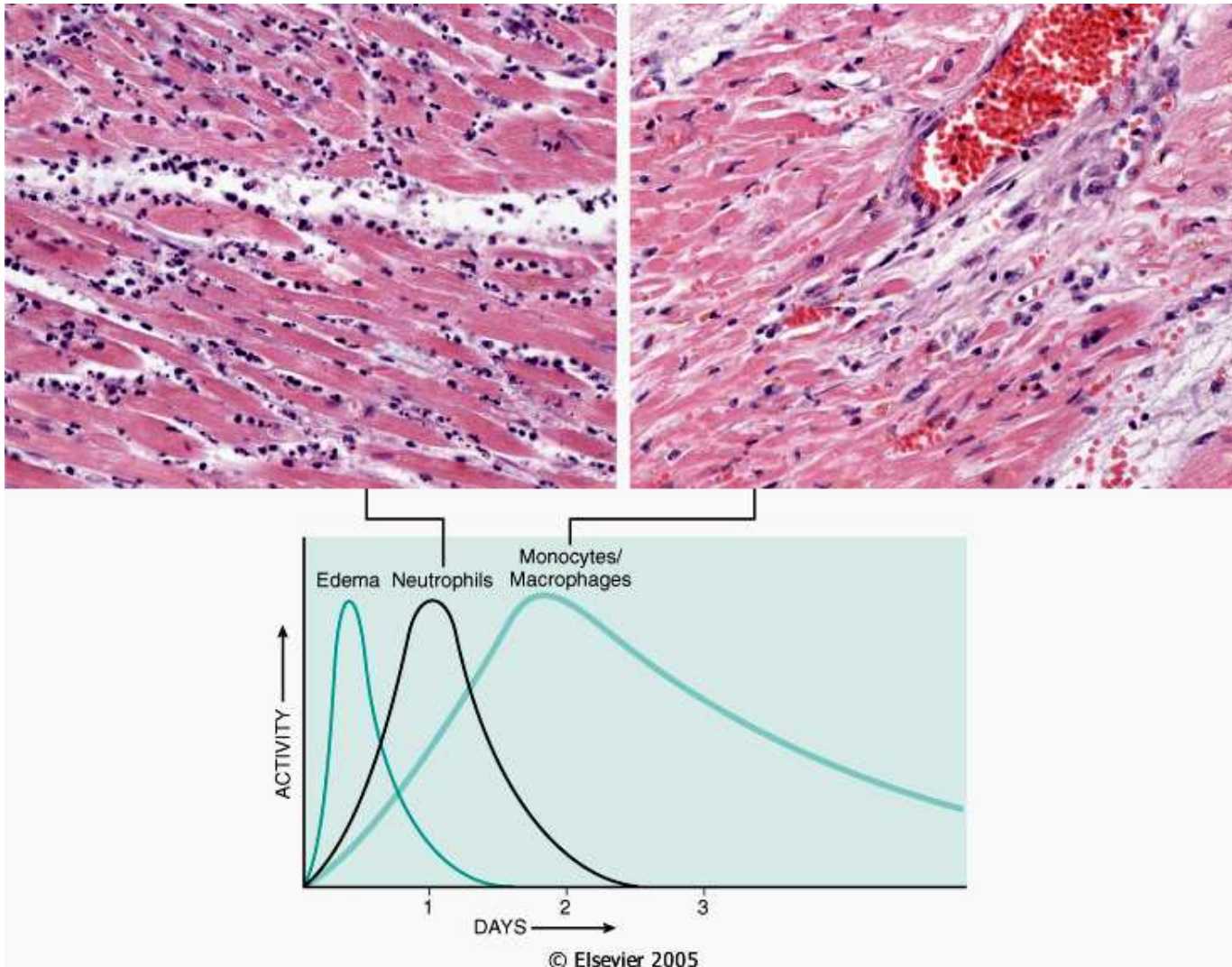


**Granulocita in fase di
movimento
chemiotattico**

Attivazione dei neutrofili

- **I PMNs sono attivati da molte sostanze:**
 - **La porzione Fc di IgM e IgG**
 - **C5a, C3b, e iC3b**
 - **Leucotriene B₄**
 - **Citochine (TNF- α)**
 - **Peptidi chemiotattici formilati batterici**

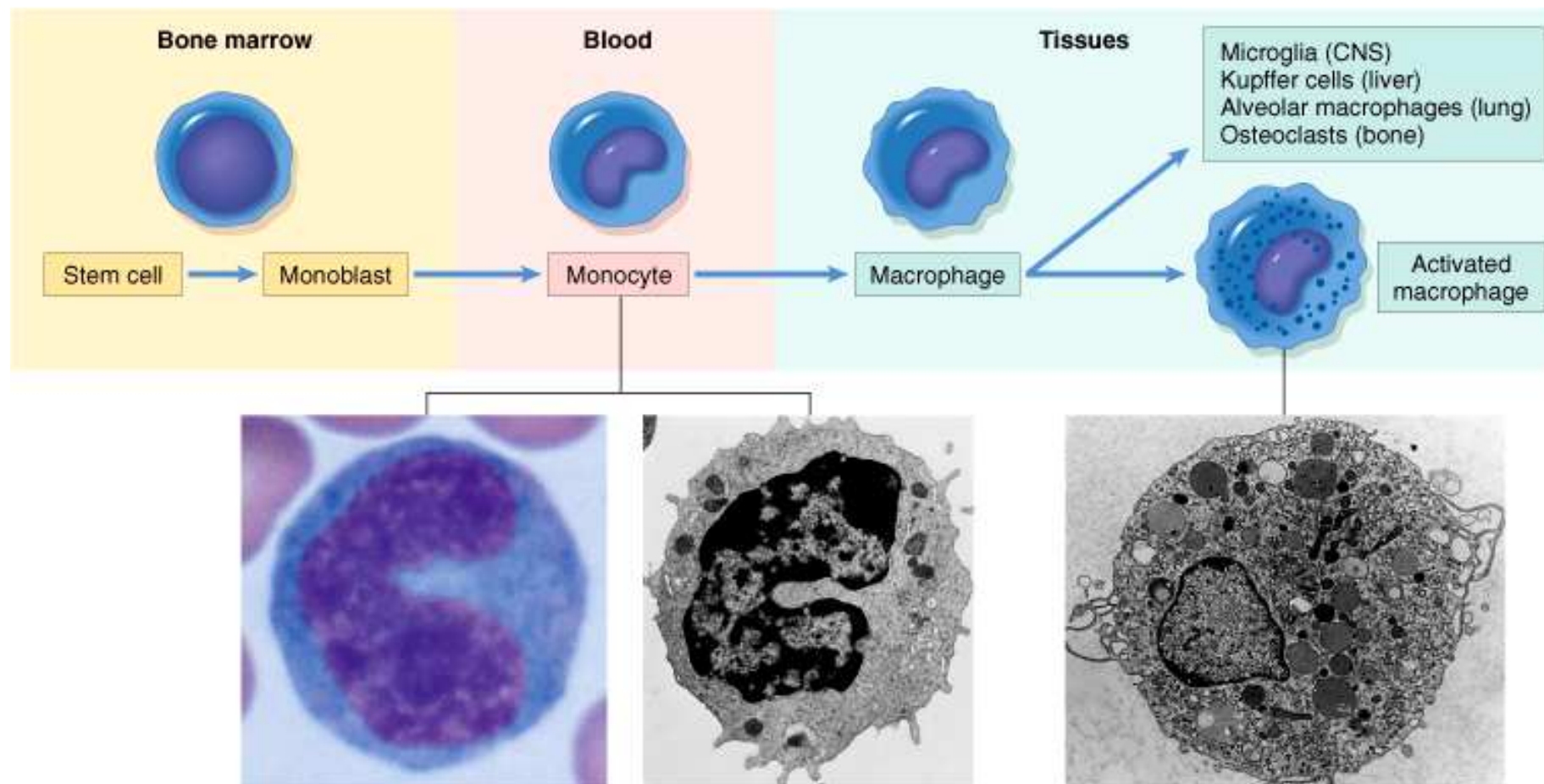
Fasi dell'infiammazione: evoluzione del tipo cellulare





Video
chemiotassi/fagocitosi

Maturazione dei macrofagi



Attivazione dei macrofagi

I macrofagi sono attivati anche da molte altre sostanze:

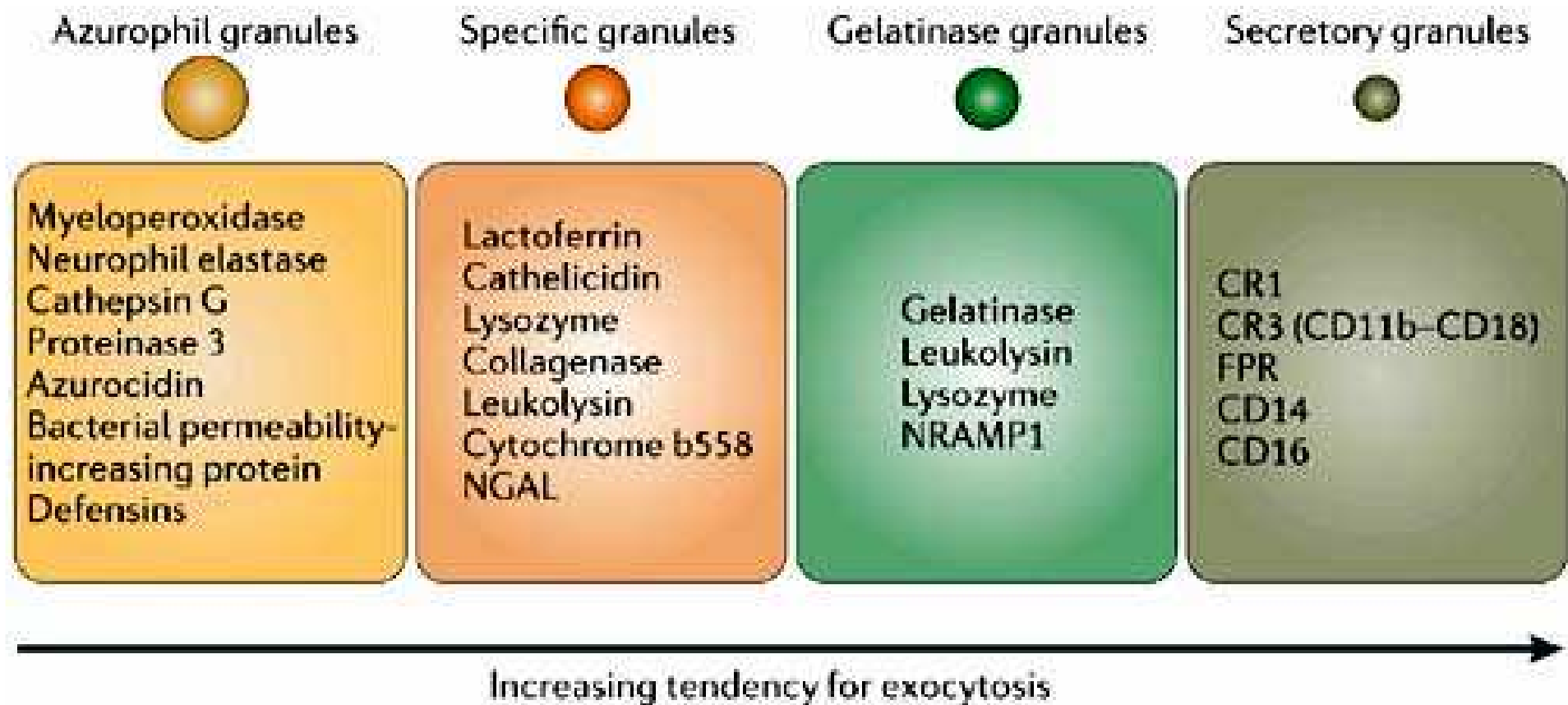
- Citochine prodotte da linfociti T, particolarmente **IFN γ**
- Lipopolisaccaridi da batteri gram- (**LPS**)
- PAF
- **Fibronectina** della matrice extracellulare
- ATP

Conseguenze funzionali dell'attivazione leucocitaria

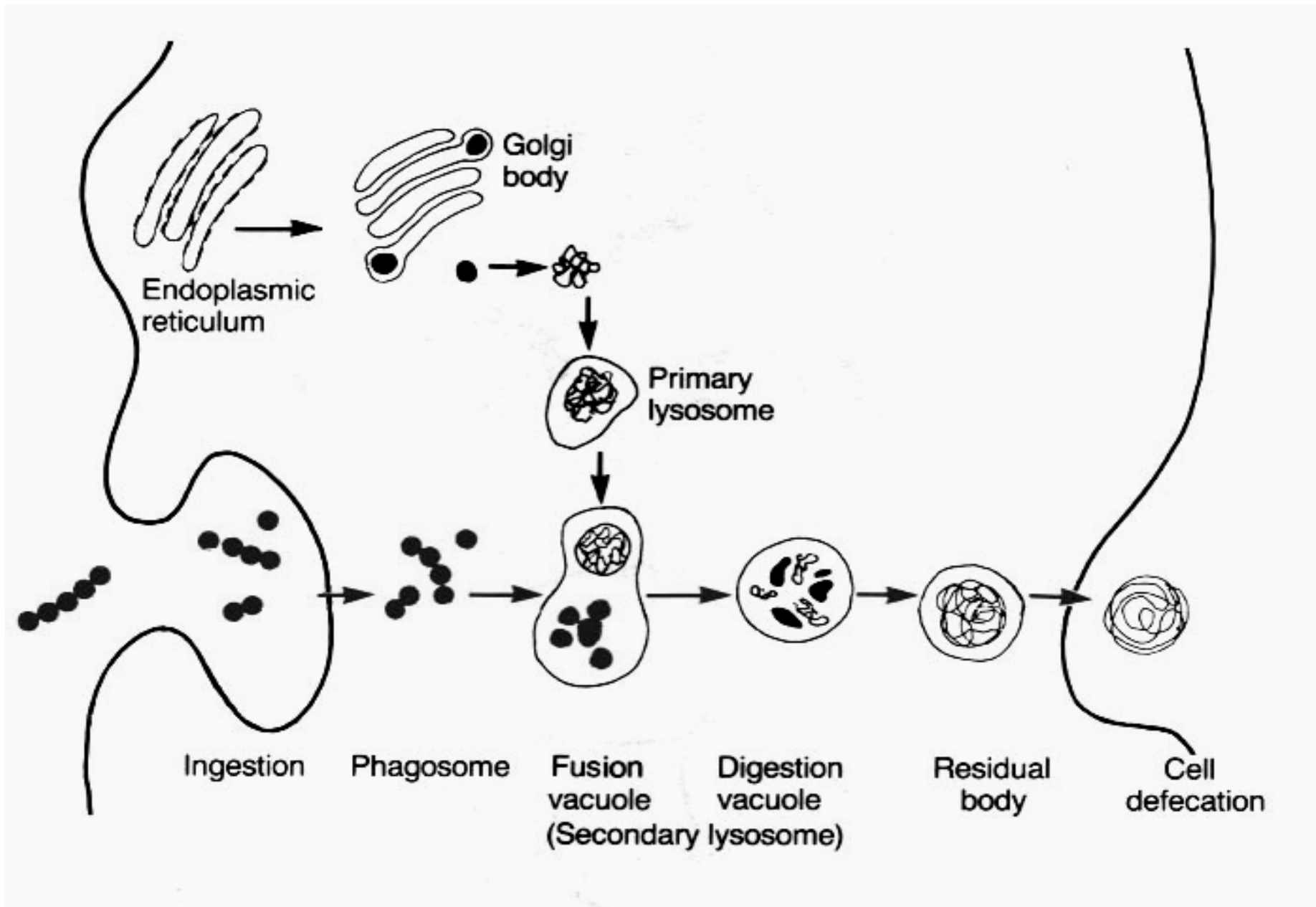
- **Degranulazione**, secrezione di enzimi lisosomiali
- **Attivazione della fagocitosi**
- **Attivazione dell'eplosione ossidativa (*oxidative burst*)**
- **Modulazione dell'adesione del leucocita per**
modificazione dell'espressione di molecole di superficie

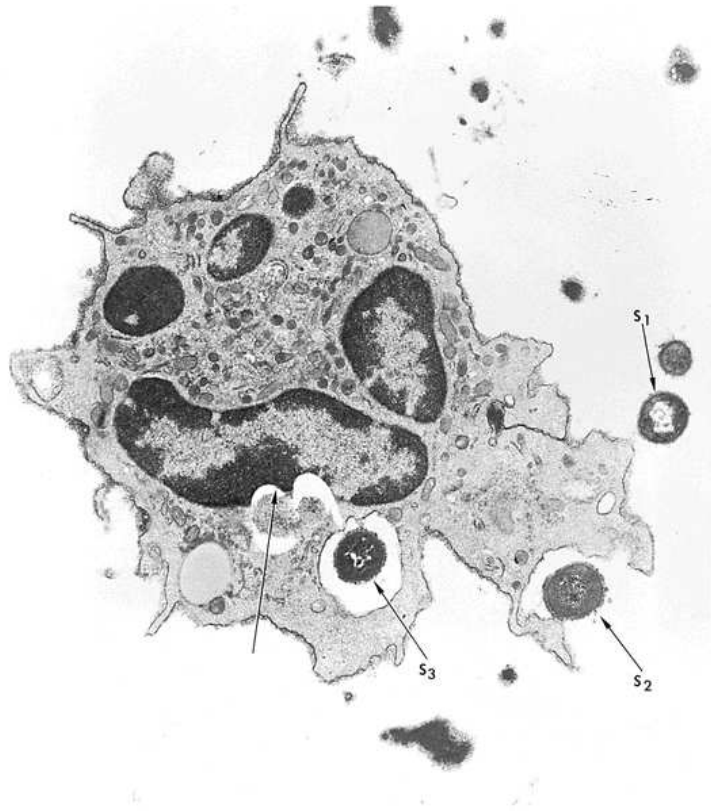
Granuli dei Neutrofili

- **Primari (azzurrofili)**- sono lisosomi e contengono serina-proteasi, and fosfolipasi A₂ e mieloperossidasi
- **Secondari (specifici)**- simili ai primari, ma contengono anche lattoferrina, lisozima, collagenasi
- **Terziari** - presenti al polo di trazione dei polimorfonucleati neutrofili in fase di migrazione e contengono gelatinasi (una MMP) per la degradazione della membrana basale

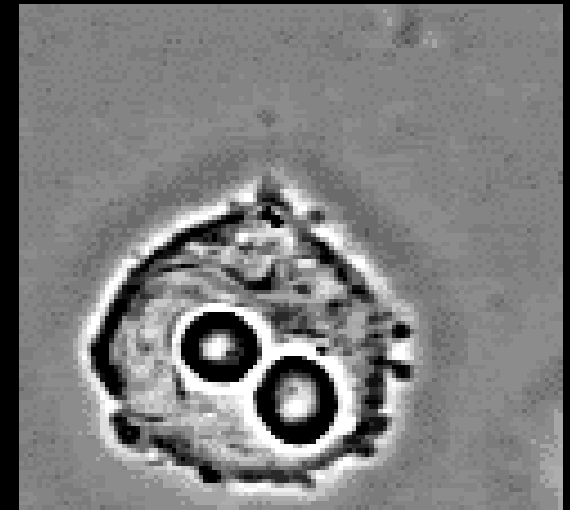
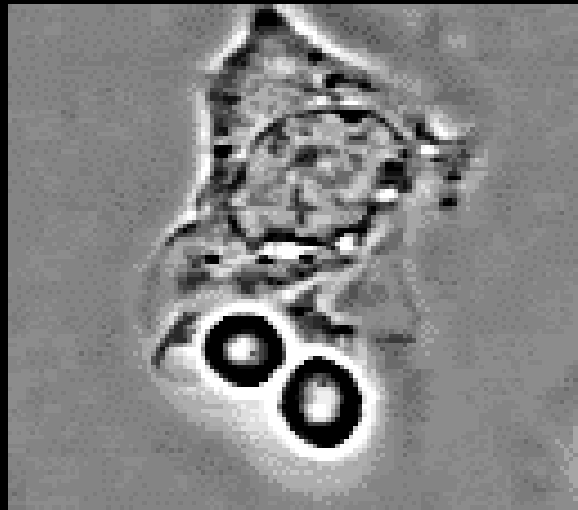
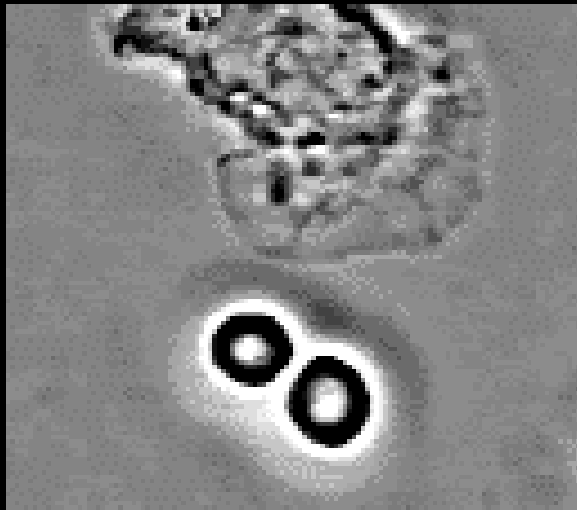


FAGOCITOSI





FAGOCITOSI

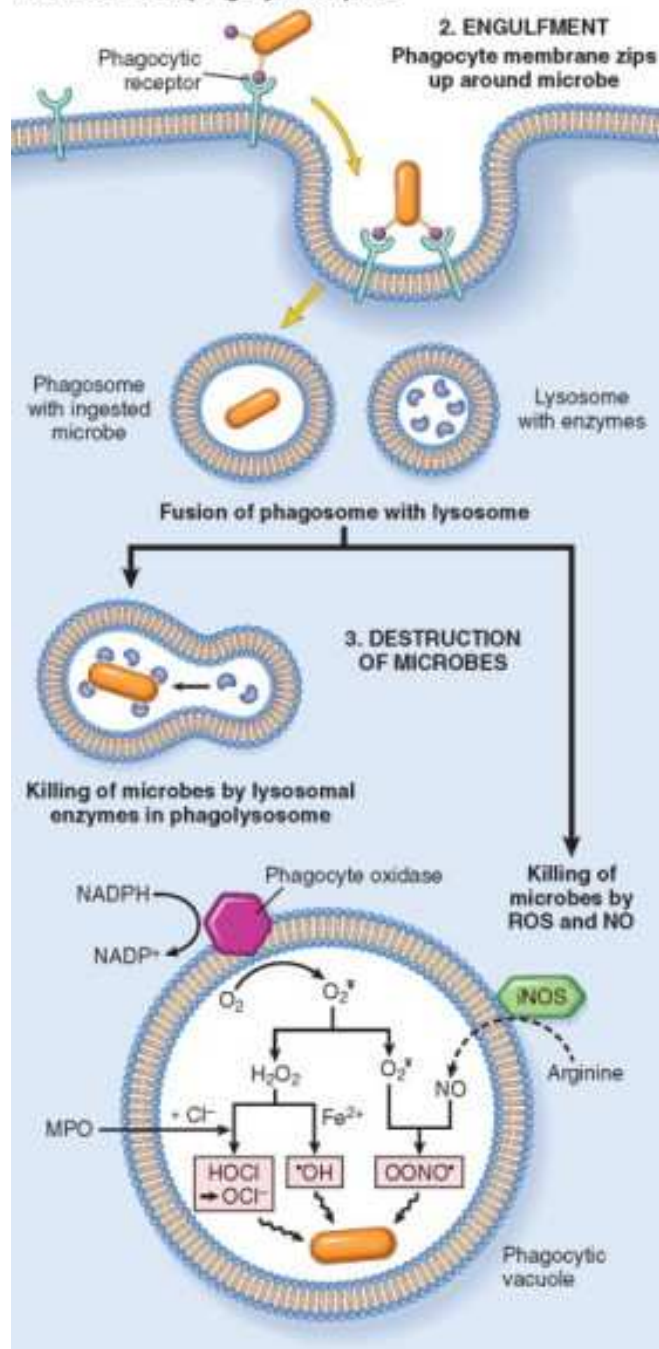


1. RECOGNITION AND ATTACHMENT

Microbes bind to phagocyte receptors

2. ENGULFMENT

Phagocyte membrane zips up around microbe



Riconoscimento

Ingestione

Distruzione

Meccanismo ossidativo

Meccanismo non ossidativo

Fasi della fagocitosi

- Riconoscimento ed *adesione*

Può riguardare materiale inerte o essere mediato da recettori

Recettori macrofagici per la **lectina legante il mannosio** (Mannose Binding Lectin, MBL) sono lectine che legano i residui di mannosio e fucosio delle glicoproteine e dei glicolipidi della parete batterica (quelli di mammifero hanno acido sialico o *N*-acetilgalattosamina).

Scavenger receptors sono due, originariamente definiti come molecole che legano e mediano l'endocitosi di LDL ossidate o acetilate che non sono riconosciute dai recettori LDL normali.

Possono legare anche vari microbi.

Integrine macrofagiche soprattutto Mac-1 (CD11b/CD18), possono anche legare microorganismi e mediarne la fagocitosi.

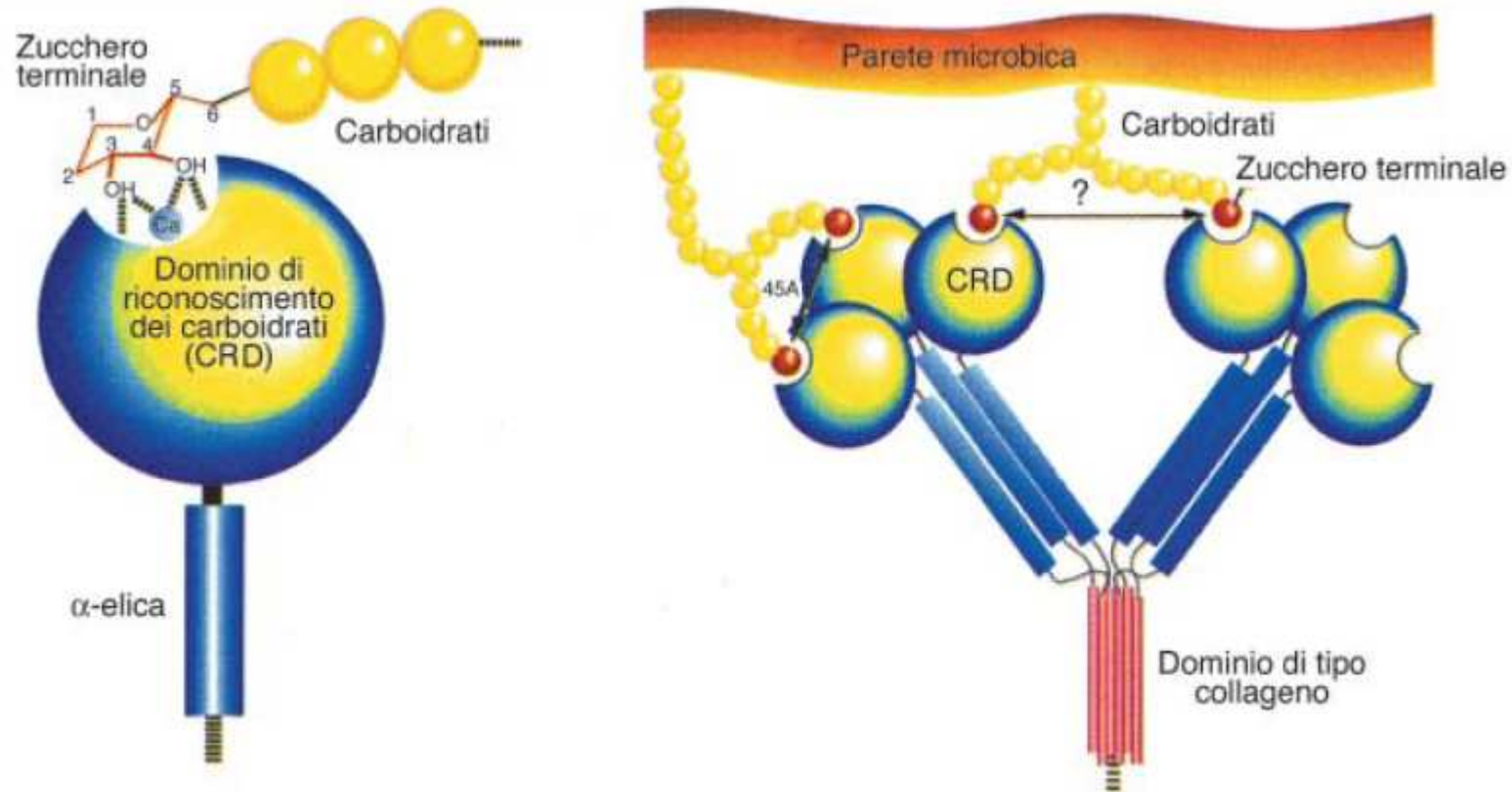
- Ingestione del materiale adesivo.

Invaginazione della membrana e formazione di vescicole, trasporto delle vescicole e fusione con i lisosomi a formare i fagolisosomi

- Uccisione o degradazione del materiale ingerito

Con meccanismi **ossidativi** e **non ossidativi**

Mannose Binding Lectin



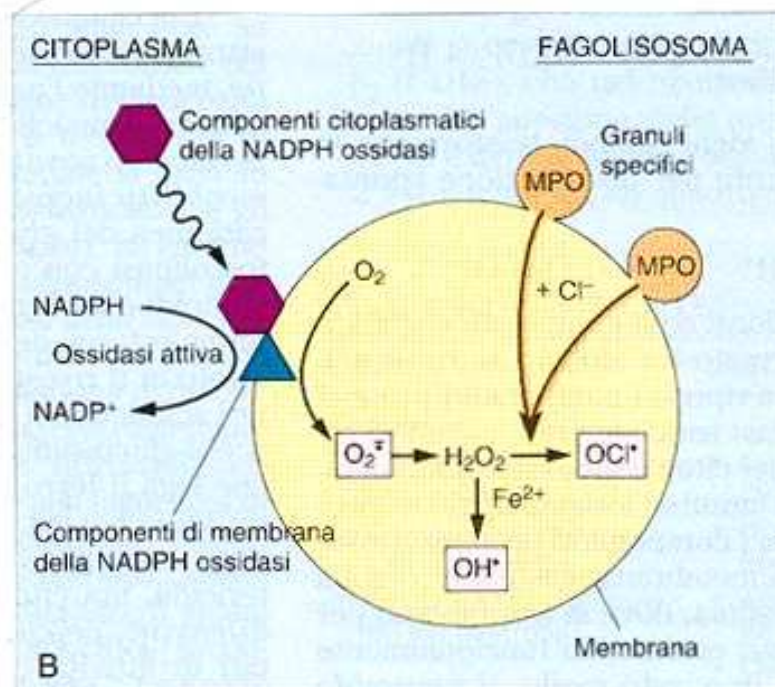
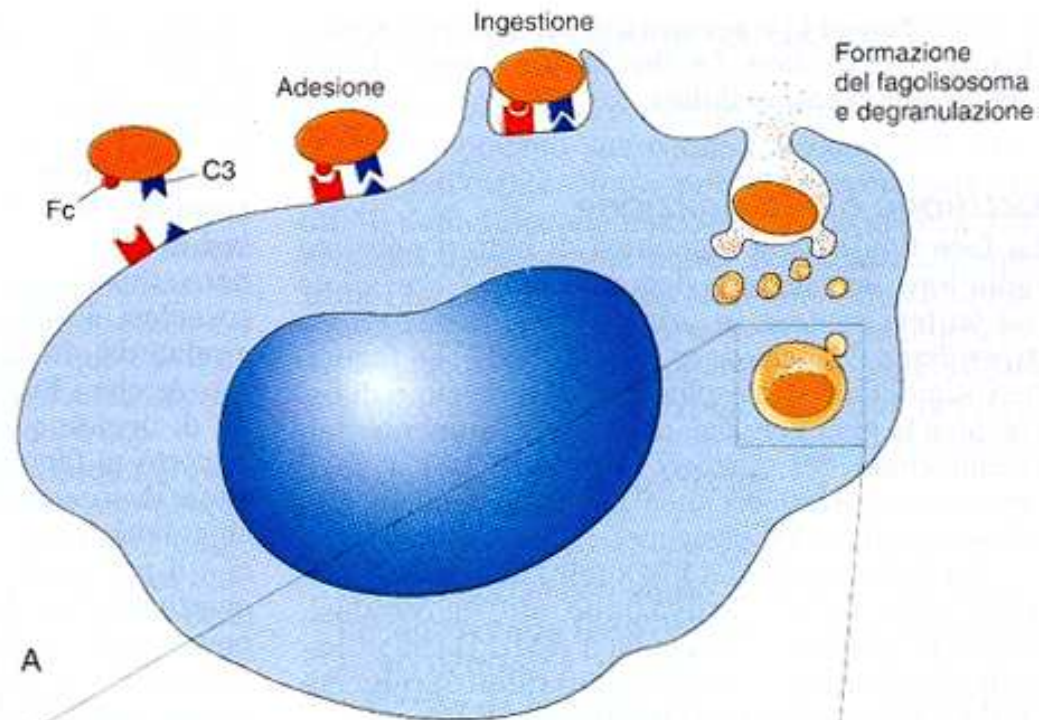
Queste lectine legano particelle glicosilate e microbi e attivano il complemento

Sui fagociti si trovano recettori per queste lectine.

Il contatto con i recettori attiva la fagocitosi

1- Reazione ossidativa

- Le specie reattive dell'ossigeno si formano attraverso una serie di reazioni metaboliche che implicano
 - Aumentato consumo di ossigeno
 - Glicogenolisi
 - Aumento dell'ossidazione del glucosio
- Le reazioni che specificamente generano ROS sono catalizzate da
 - **NADPH oxidase**: produce superossido ($\cdot\text{O}_2$)
 - **Dismutazione spontanea del superossido**: formazione di H_2O_2
 - **Mieloperossidasi** il principale agente battericida dei neutrofili
Converte H_2O_2 in HOCl Acido ipocloroso e radicale idrossilico ($\cdot\text{OH}$)



2- Attività battericida non ossidativa

- Idrolasi Lisosomiali (granuli 1° e 2°)
- Lisozima (granuli 1° e 2° , lisosomi)
- Difensina (granuli 1°)
- Lattoferrina (granuli 2° - chela il ferro)
- Proteina battericida/che aumenta la permeabilità (granuli 1° – efficace sui Gram-)
- Proteine Battericide degli eosinofili

Difetti della fagocitosi

Acquisiti (importanti e frequenti)

- Immunosoppressione iatrogena (comune, es. steroidi)
- Diabete
- Malattie croniche debilitanti
- Infezioni incontrollate
- Gravi traumi o ustioni

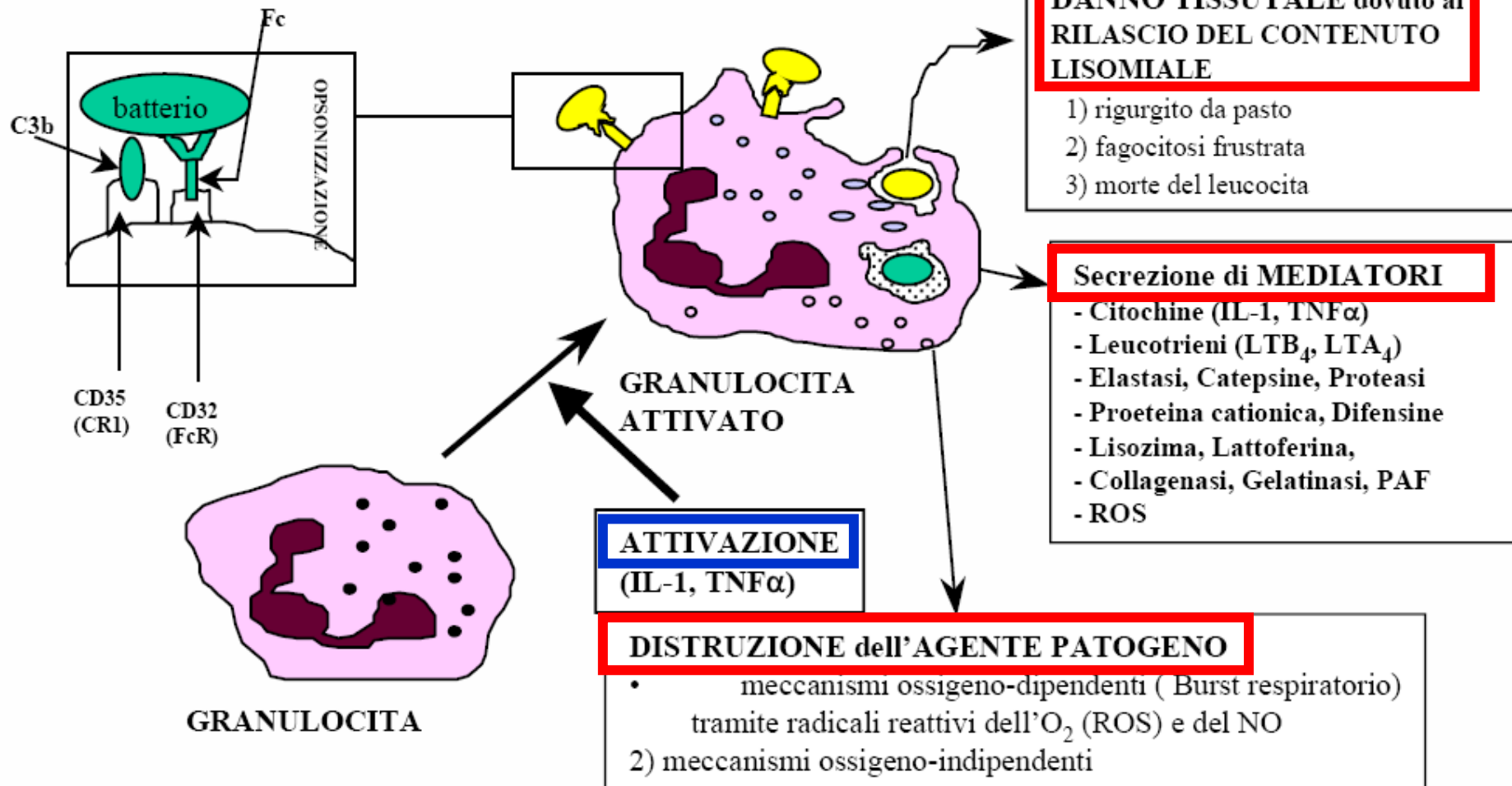
Difetti della fagocitosi

Congeniti (rari)

- Sindrome di Chediak-Higashi (recessiva)
 - Difettoso assemblaggio intracellulare dei Microtubuli porta ad alterata locomozione e degranulazione e incapacità di lisare i batteri
- Job Syndrome (Iper IgE)
- Malattia granulomatosa cronica (x-linked)
 - Non c'è lo scoppio ossidativo: deficienza di NADPH ossidasi che genera superossidi, manca quindi il meccanismo di uccisione ossigeno-dipendente
- Deficienza di Mieloperossidasi
- Difetti di adesione:
 - Difetti di LFA-1 e Mac-1 (LAD-1 *leukocyte adhesion deficiency type 1*)
 - Assenza di sialyl-Lewis X, e difetti di epitopi glicidici di E- e P-selectina (LAD-2)

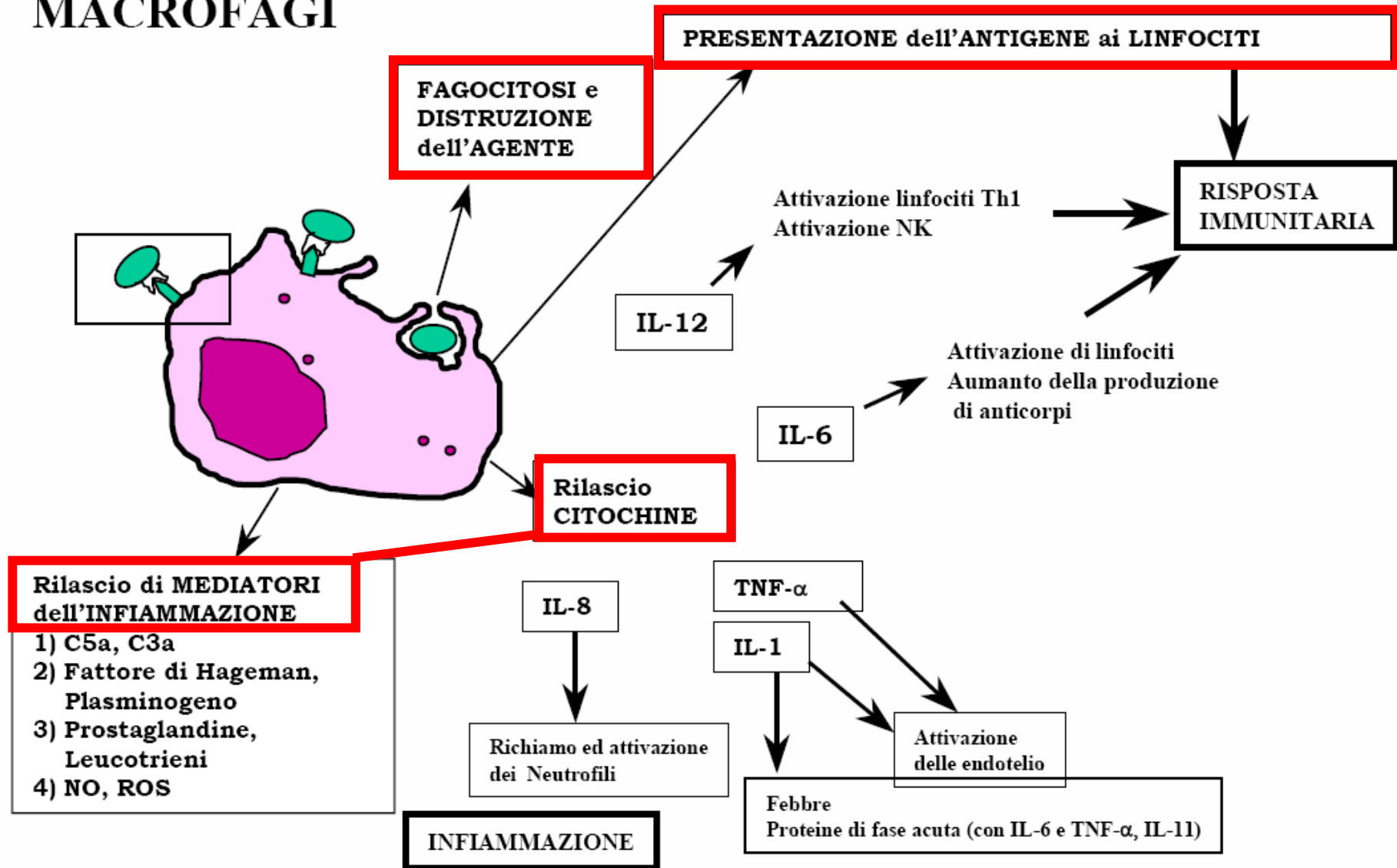
Ruolo dei granulociti

SITO della FLOGOSI: PRIMA LINEA DI DIFESA: GRANULOCITI NEUTROFILI (GN)



Ruolo dei macrofagi

MACROFAGI



Ruolo dei mastociti

Soprattutto nelle reazioni allergiche ed anafilattiche

ATTIVAZIONE



DANNO DIRETTO, C5a e C3aI

PROTEINA CATIONICA dei GN e delle piastrine,

Cross-legame di allergeni su IgE (IPERSENSIBILITA' tipo I)

DEGRANULAZIONE e SINTESI di MEDIATORI:

Fattori vasoattivi

Istamina, PG, LTC₄, LTD₄)

PAF, CALLICREINA

Fattori chemiotattici

LTB₄, IL-8

Citochine

IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13

GM-CSF, TNF-α



> PERMEABILITA' VASALE

RICHIAMO ed ATTIVAZIONE degli
EOSINOFILI

ATTIVAZIONE NEUTROFILI

ATTIVAZIONE DELLE PIASTRINE

Danno tissutale determinato da cellule infiammatorie

I meccanismi relativamente primitivi e non-specifici dei polimorfonucleati e dei macrofagi sono anche in grado di produrre effetti dannosi, causati dalla liberazione del contenuto di queste cellule

"Our arsenals for fighting off bacteria are so powerful, and involve so many different defense mechanisms, that we are more in danger from them than from the invaders. We live in the midst of explosive devices; we are mined."

– Lewis Thomas

(http://en.wikipedia.org/wiki/Lewis_Thomas)

Danno tissutale per liberazione di sostanze dai neutrofili durante l'infiammazione

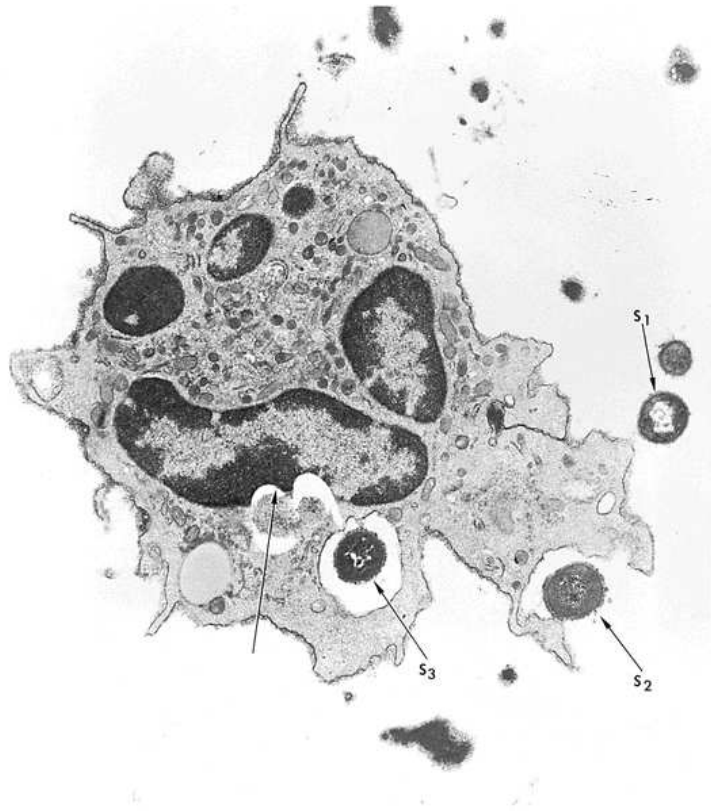
- Enzimi lisosomiali presenti nei granuli
- Metaboliti attivi dell'ossigeno
- Prodotti del metabolismo dell'acido arachidonico

Modalità, di rilascio del contenuto dei granuli:

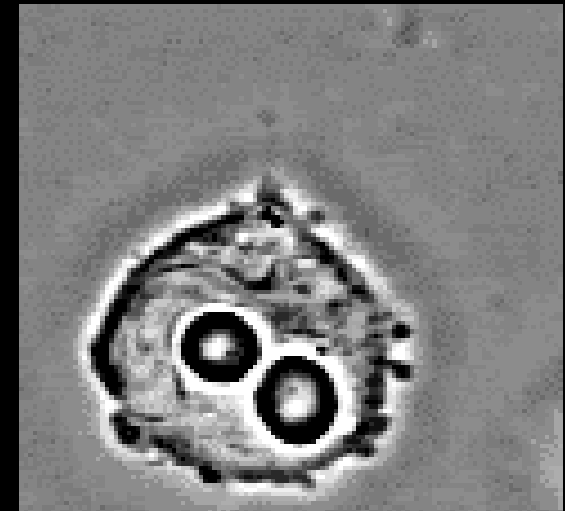
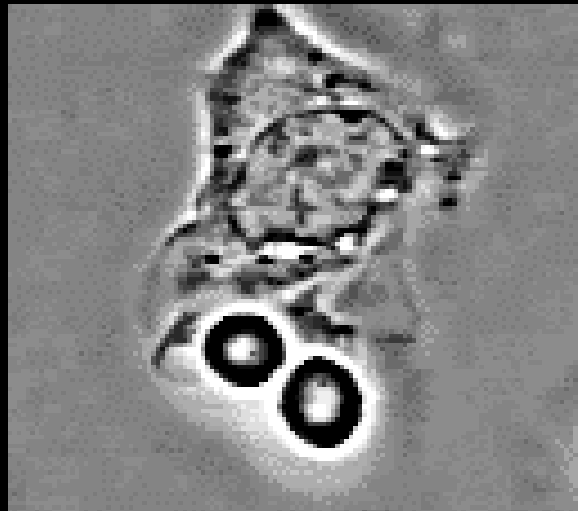
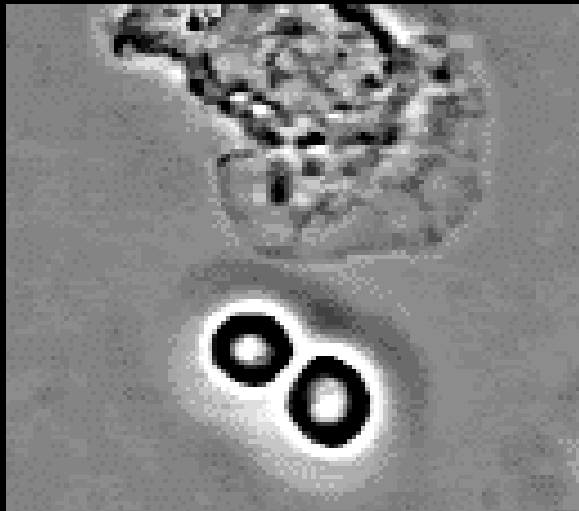
-lisi cellulare

-difetto nel funzionamento della fagocitosi:

- 1) Degranulazione prematura (Rigurgito durante l'ingestione)
- 2) Fagocitosi fallita o ostacolata da materiale grande o piatto o fisso (es immunocomplessi precipitati)
- 3) Sostanze dannose per la membrana (es cristalli di urato) con rilascio citotossico
- 4) Esocitosi per attivazione troppo persistente.



FAGOCITOSI



@James A. Sullivan

www.cellsalive.com

Danno tissutale determinato da cellule infiammatorie

Fattori di danno:

1- Specie reattive dell'ossigeno

- Possono diffondere attraverso una membrana plasmatica intatta
- Causano perossidazione lipidica
- Reagiscono col DNA
- Ossidano i gruppi sulfidrilici delle proteine e formano legami crociati
- Degradano la matrice extracellulare

Danno tissutale determinato da cellule infiammatorie

Fattori di danno:

2- Enzimi Lisosomali

- Sono utili alla degradazione dei microorganismi e possono quindi digerire componenti tissutali extracellulari
 - L'attività delle proteasi è contrastata da antiproteasi plasmatiche (α_1 -anti-tripsina, α_2 -macroglobulina, *etc.*)

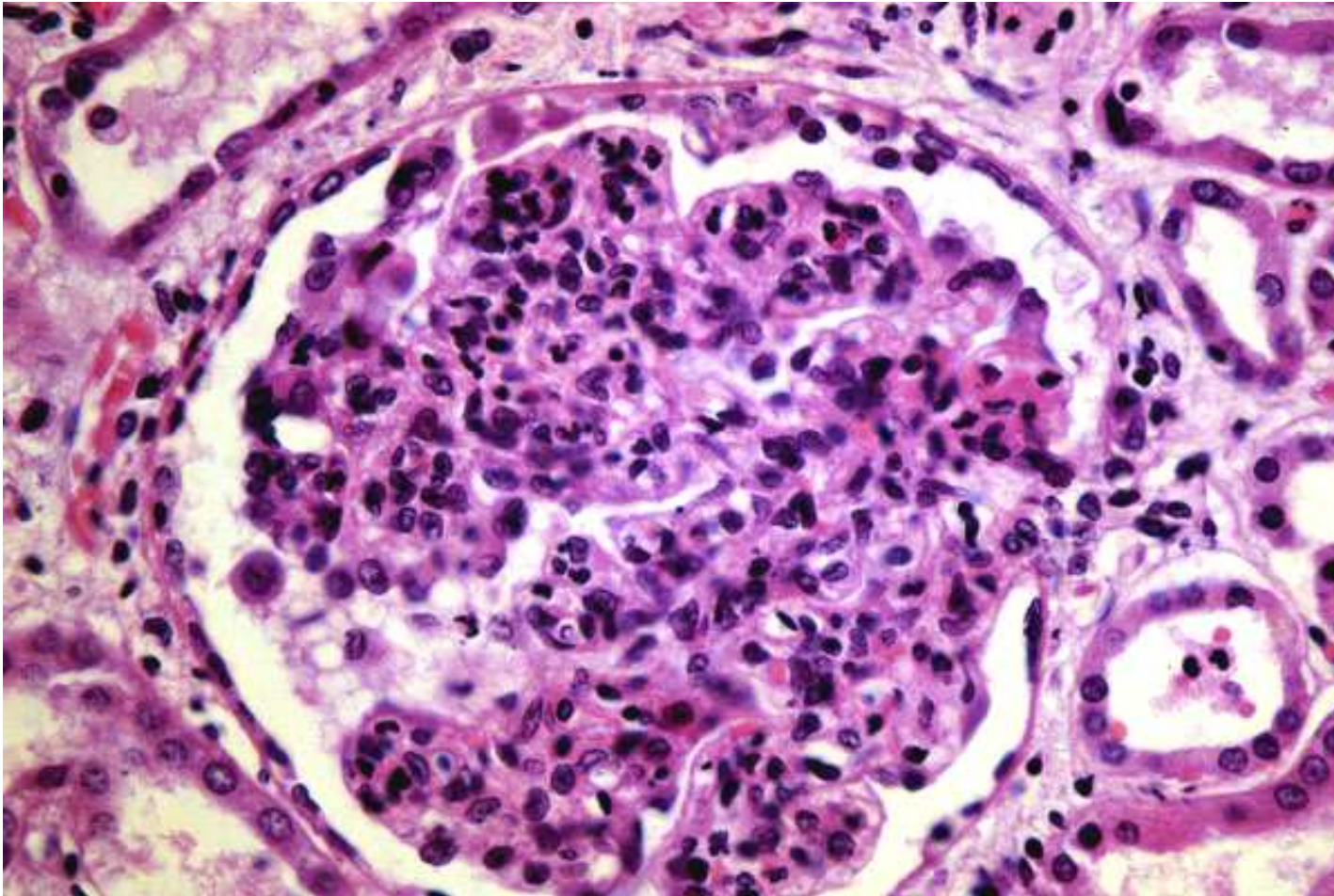
Danno tissutale determinato da cellule infiammatorie

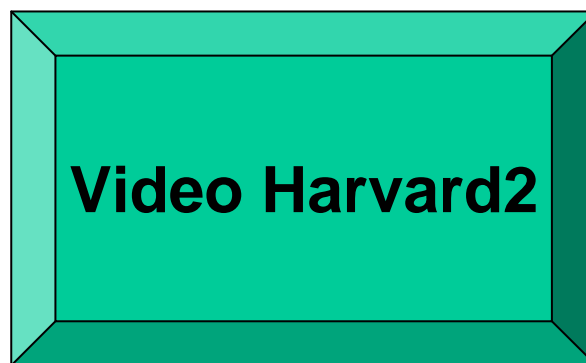
- Aderenza delle cellule fagocitiche
 - L'aderenza alla membrana basale o altre componenti della matrice extracellulare e ad altre cellule da parte dei fagociti
aumenta il danno causato dalle specie reattive dell'ossigeno e dagli enzimi per mancato accesso degli inibitori plasmatici

Danno tissutale determinato da cellule infiammatorie

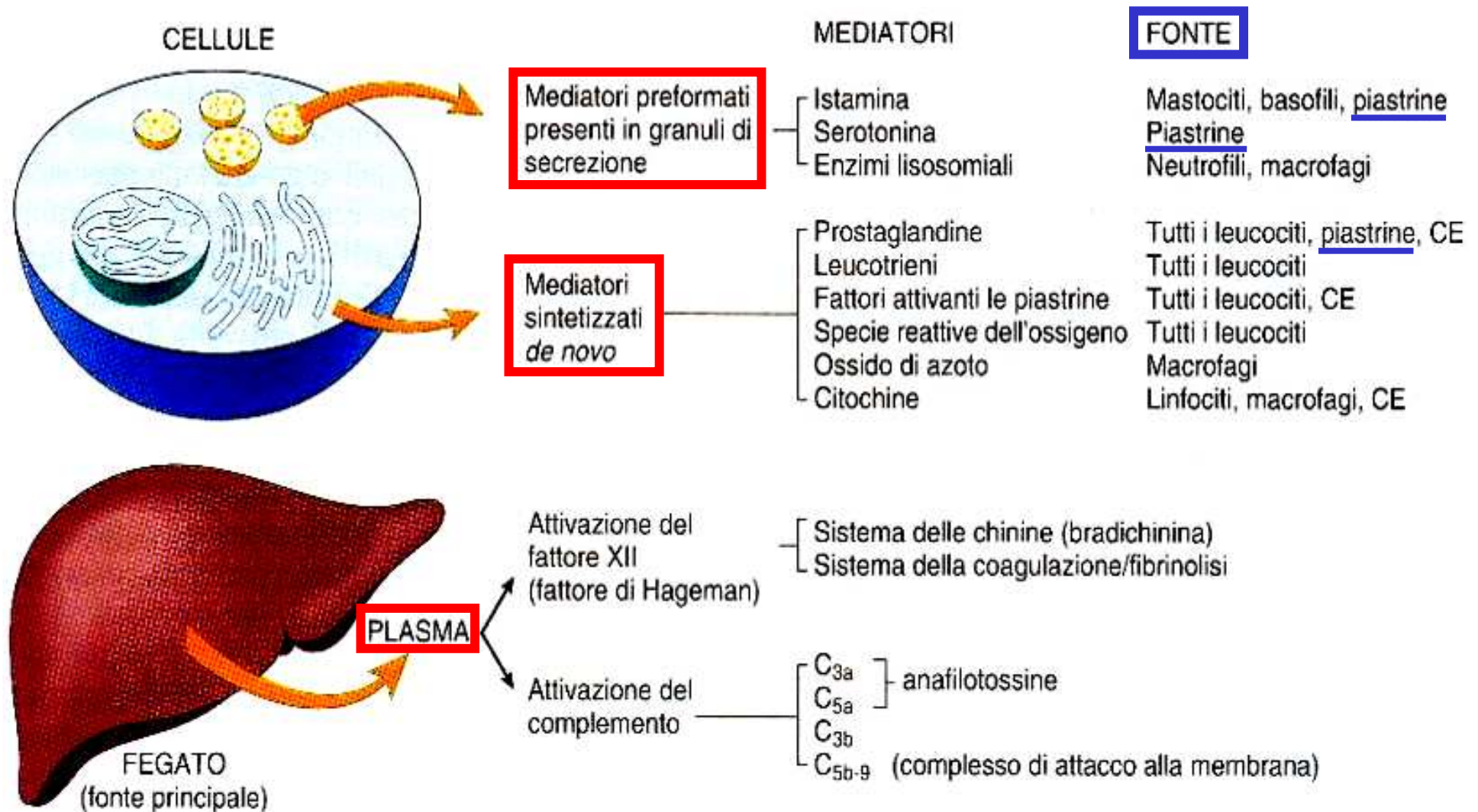


Danno tissutale determinato da cellule infiammatorie





MEDIATORI CHIMICI DELL'INFIAMMAZIONE



Proprietà generali dei mediatori chimici dell'infiammazione

- La maggior parte dei mediatori esprime la propria attività biologica legandosi a **specifici recettori** sulle cellule bersaglio.
- Un mediatore chimico può **stimolare il rilascio di altri mediatori** chimici da parte delle cellule bersaglio.
- I mediatori possono avere come bersaglio uno o pochi tipi di cellule, oppure agire su **molte cellule diverse** o anche esercitare effetti diversi a seconda della cellula o del tessuto.
- La maggior parte dei mediatori, una volta attivati e rilasciati dalla cellula, ha una **emivita breve**.
- Quasi tutti i mediatori sono **potenzialmente dannosi**.

Mediatori Chimici dell'inflammazione

- **Amine Vasoattive**
- **Sistema del Complemento**
- **Sistema delle chinine**
- **Sistema Coagulazione**
- **Sistema della fibrinolisi**
- **Metaboliti dell'acido Arachidonico**
- **PAF Platelet activating factor**
- **Citochine**
- **Ossido Nitrico**

I mediatori preformati: Ammine Vasoattive

Prodotte da basofili e piastrine del sangue e dai mastociti, distribuiti abbondantemente intorno ai vasi

Istamina

- Vasodilatazione arteriolare e contrazione delle cellule endoteliali venulari
- Fenestrazione endoteliale;
- Aumento della produzione di *prostaglandine*

Serotonina

– Azioni simili all'istamina.

Deriva dalle piastrine: corpi densi.

Si libera in seguito ad aggregazione o per effetto del PAF

Stimoli rilascianti l'istamina

- Stimoli lesivi di natura fisica.
- *Reazioni immunitarie con legame di IgE ai mastociti.*
- Frammenti del complemento chiamati *anafilotossine (C3a, C5a)*.
- *Fattori proteici leucocitari.*
- *Neuropeptidi.*
- *Citochine (IL-1, IL8).*

Recettori dell'istamina e loro effetti

Locali

Sistemici

H1

Costrizione della muscolatura liscia prevalentemente di quella bronchiale.
Aumento della permeabilità vascolare.
Comparsa di prurito.
Favorimento del metabolismo dell'acido arachidonico.

H2

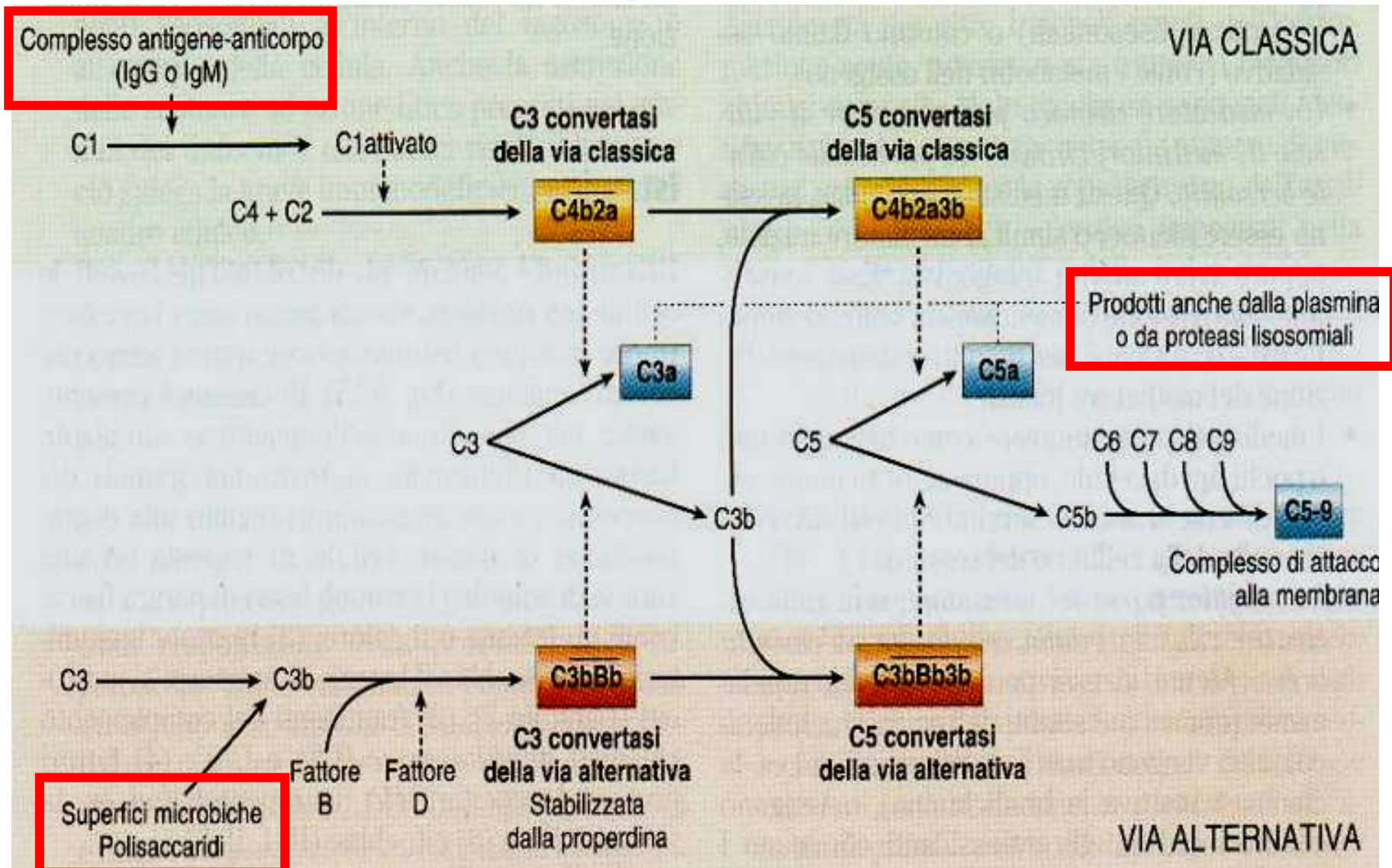
Rilassamento della muscolatura liscia della parete vascolare.
Secrezione di muco da parte delle cellule mucipare degli apparati digerente e respiratorio.
Inibizione della secrezione di istamina e della produzione di citochine infiammatorie.

H1 e H2

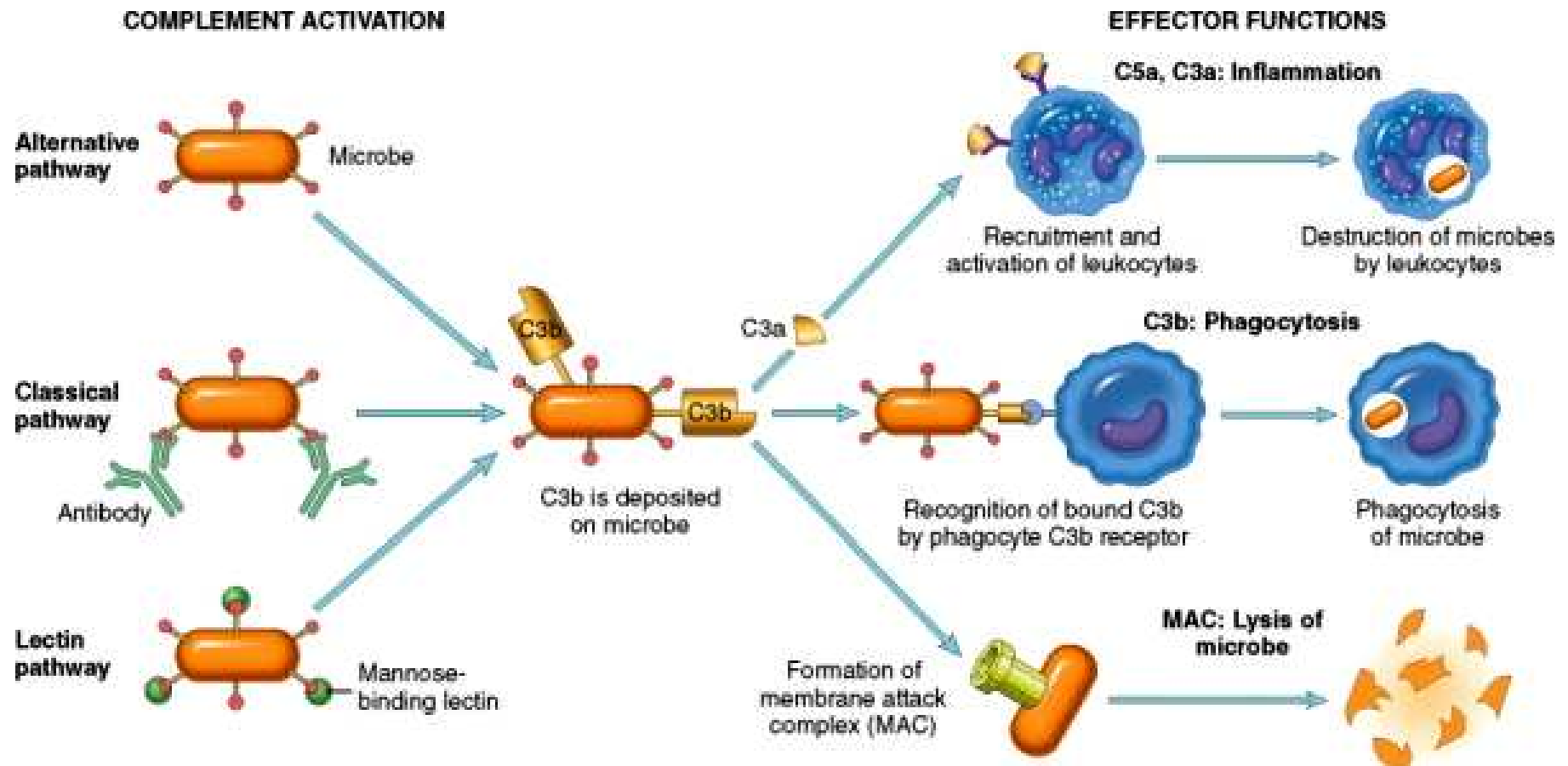
Vasodilatazione.
Ipotensione.
Cefalea.

Mediatori plasmatici:

1. Il complemento



Conseguenze dell'attivazione del complemento

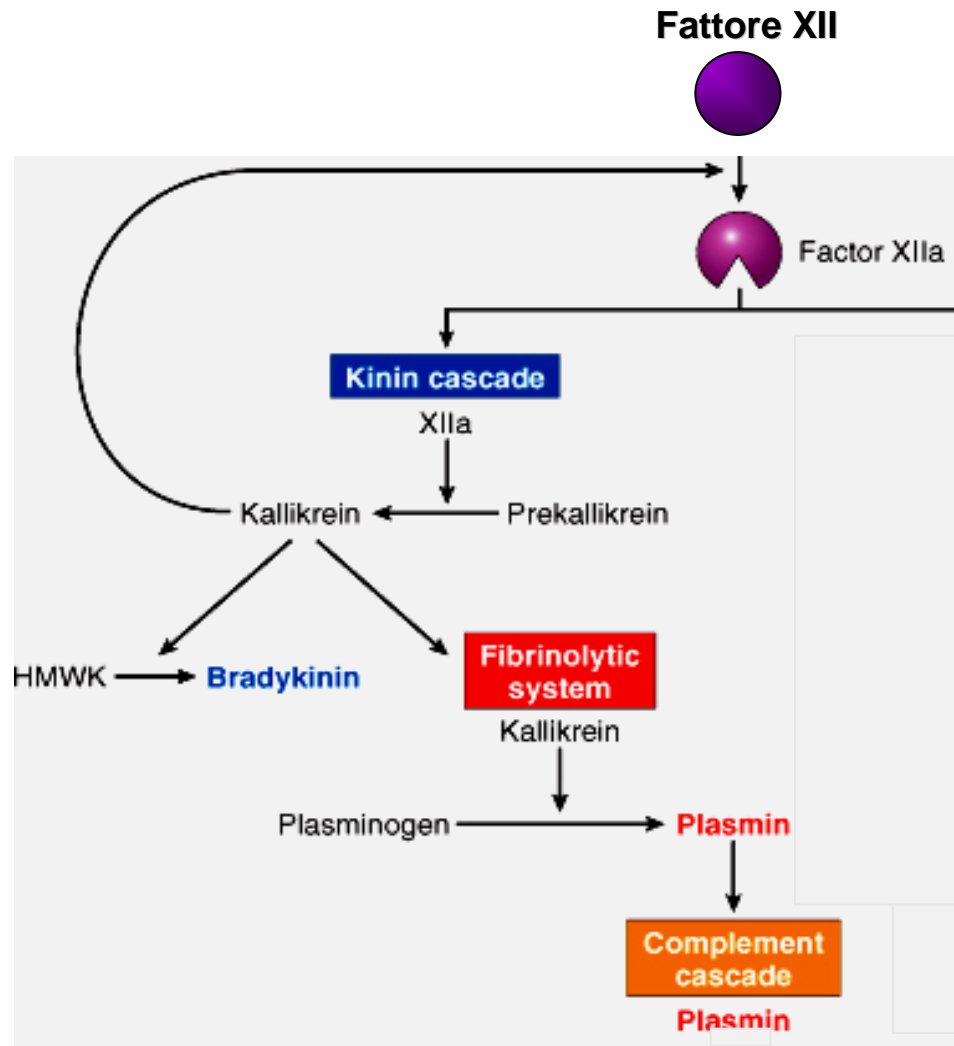


Complemento

- Il C3 è il punto di controllo fondamentale e regola entrambe le vie di attivazione
- C3a e C5a sono noti come “**anafilotossine**”: sono capaci di indurre vasodilatazione, permeabilità e liberazione di istamina dai mastociti. Il C5a è un potente chemiotattico. Attiva le integrine
- C3b, C3bi sono opsonizzanti
- Il **complesso di attacco alla membrana** (Membrane attack complex- MAC) è l'agente attivo e induce la lisi; è costituito da C5 → 9

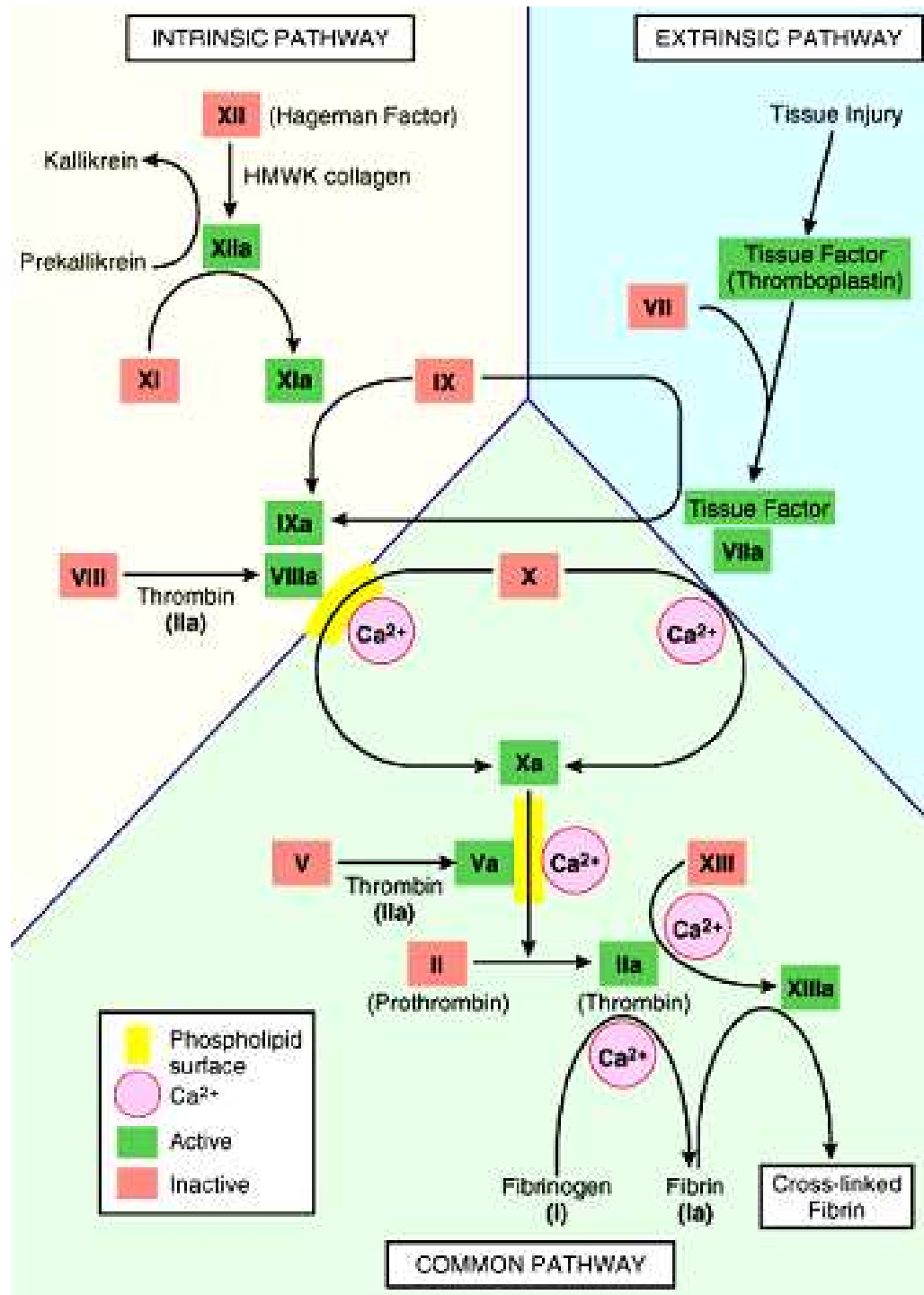
Mediatori plasmatici:

2. Il Sistema delle chinine



Peptidi vasoattivi generati da proteasi dette callicreine

- Il prodotto più importante è la **bradichinina**
 - Vasodilatazione
 - Dolore
- La callicreina è un potente attivatore del fattore di Hageman
- Hanno emivita breve: chininasi



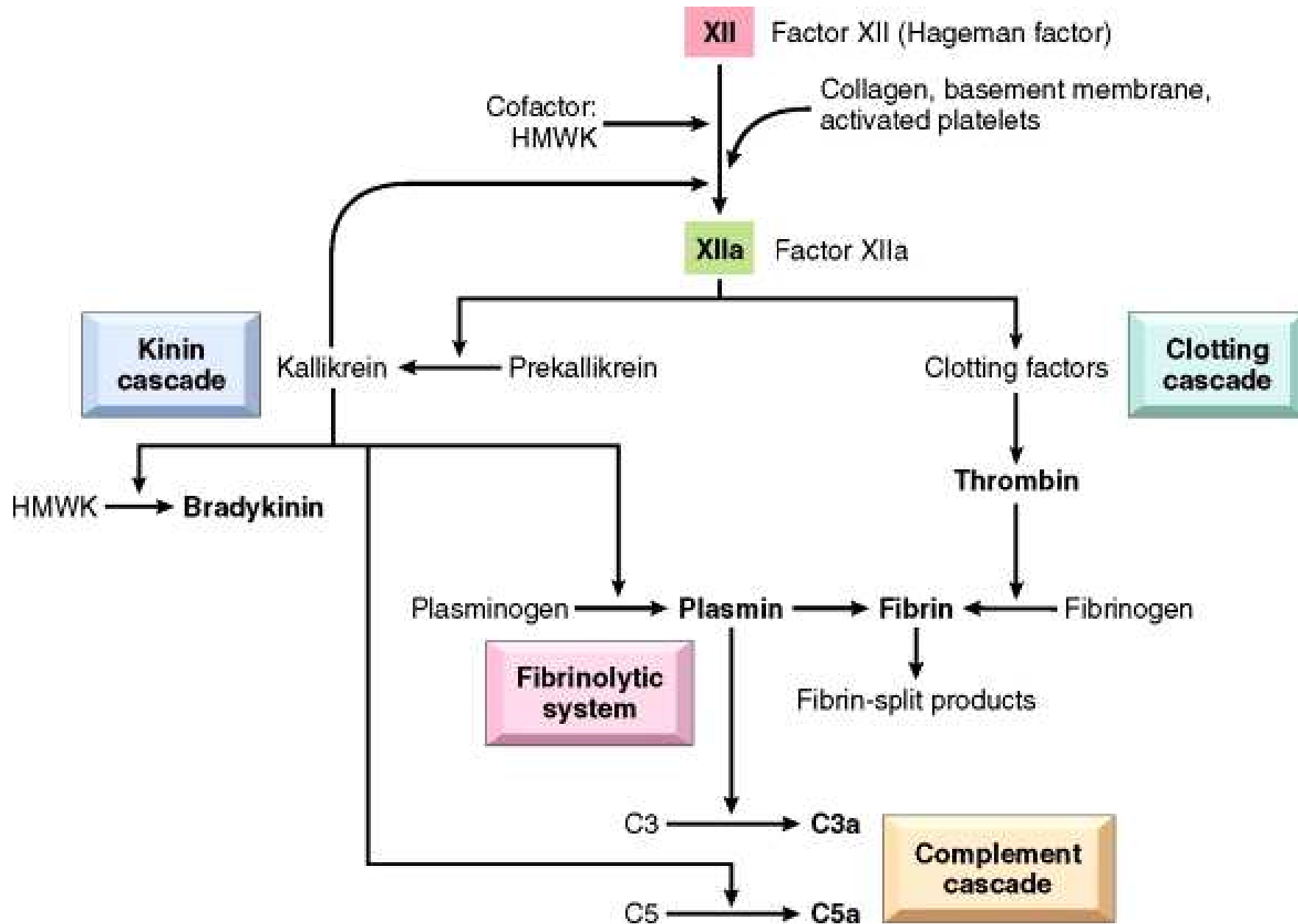
Mediatori Plasmatici

3. La cascata della coagulazione

Effetti infiammatori:

- Attivazione del sistema delle chinine
- Attivazione della plasmina (fibrinolisi)
- Attivazione del Complemento
- Effetti flogogeni della trombina

Connessione tra le vie attivate dal fattore XII di Hageman



Mediatori Plasmatici

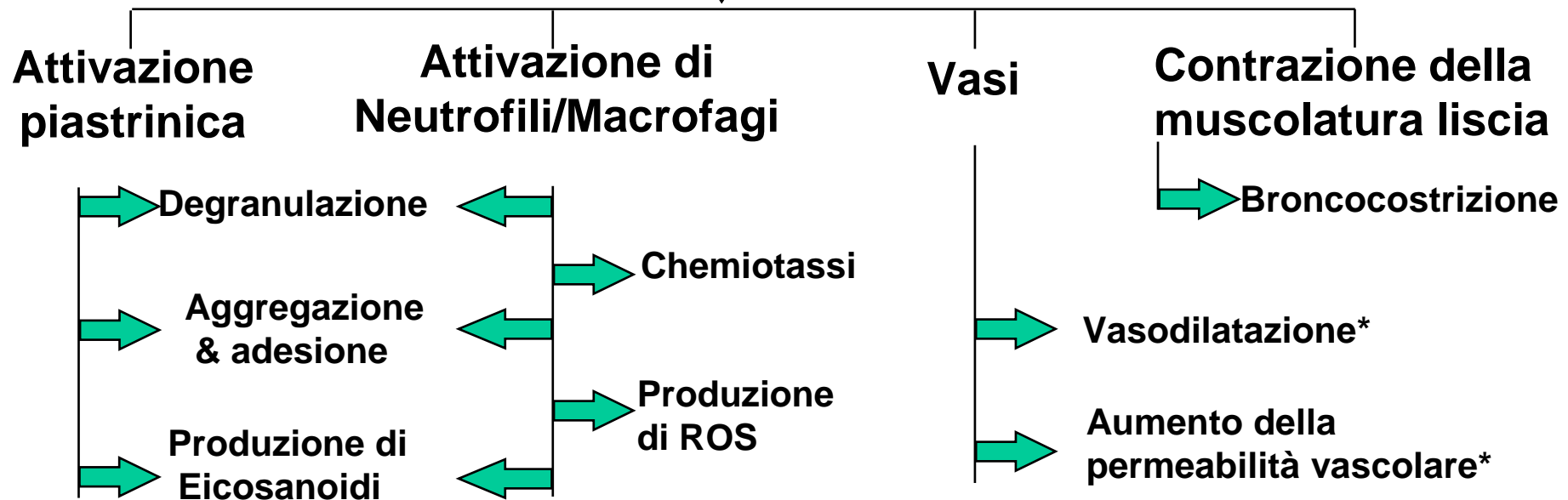
4.PAF- Platelet activating factor

Ha numerosi effetti. Per vasodilatazione e aumento della permeabilità vascolare è 100-10,000-volte più potente dell'istamina

Attivazione di cellule infiammatorie, endoteliali e tissutali



Platelet Activating Factor (fosfolipasi A₂)



* 100 - 10,000 volte più potente dell'istamina

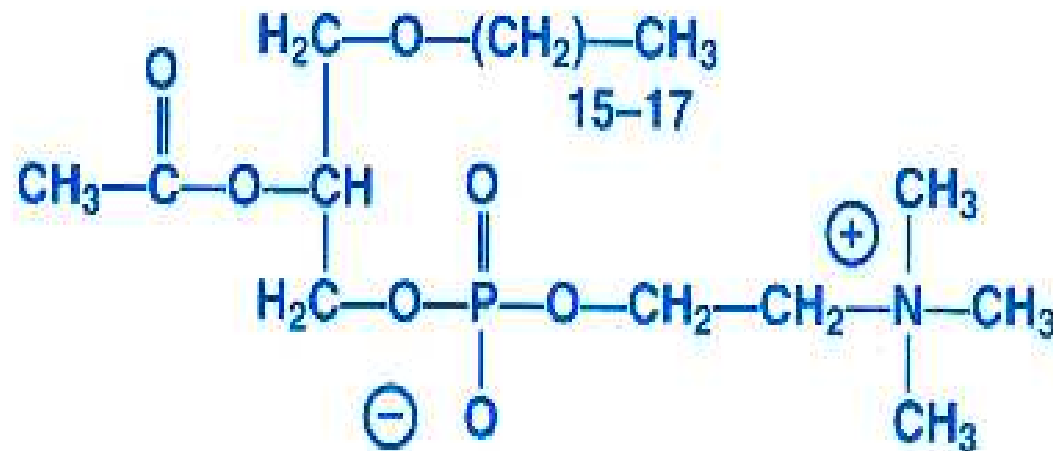
PAF: Platelet activating factor

FONTI

Mastociti/basofili
Neutrofili
Monociti/macrofagi
Endotelio
Piastrine
Altre

PRINCIPALI AZIONI PRO-INFIAMMATORIE

Aumento della permeabilità vascolare
Aggregazione leucocitaria
Adesione leucocitaria
Priming/chemiotassi dei leucociti
Attivazione piastrinica
Stimolazione di altri
mediatori (LT, $O_2^{\cdot-}$)



FATTORE ATTIVANTE LE PIASTRINE

Mediatori sintetizzati de novo

1- Metaboliti dell'Acido Arachidonico

➤ Sintetizzati dai fosfolipidi delle membrane cellulari per azione di fosfolipasi inibite dai corticosteroidi

➤ Si formano:

- **leucotrieni** via 5-lipossigenasi
- **prostaglandine e trombossano A_2** via ciclo-ossigenasi (COX-1 e COX-2)

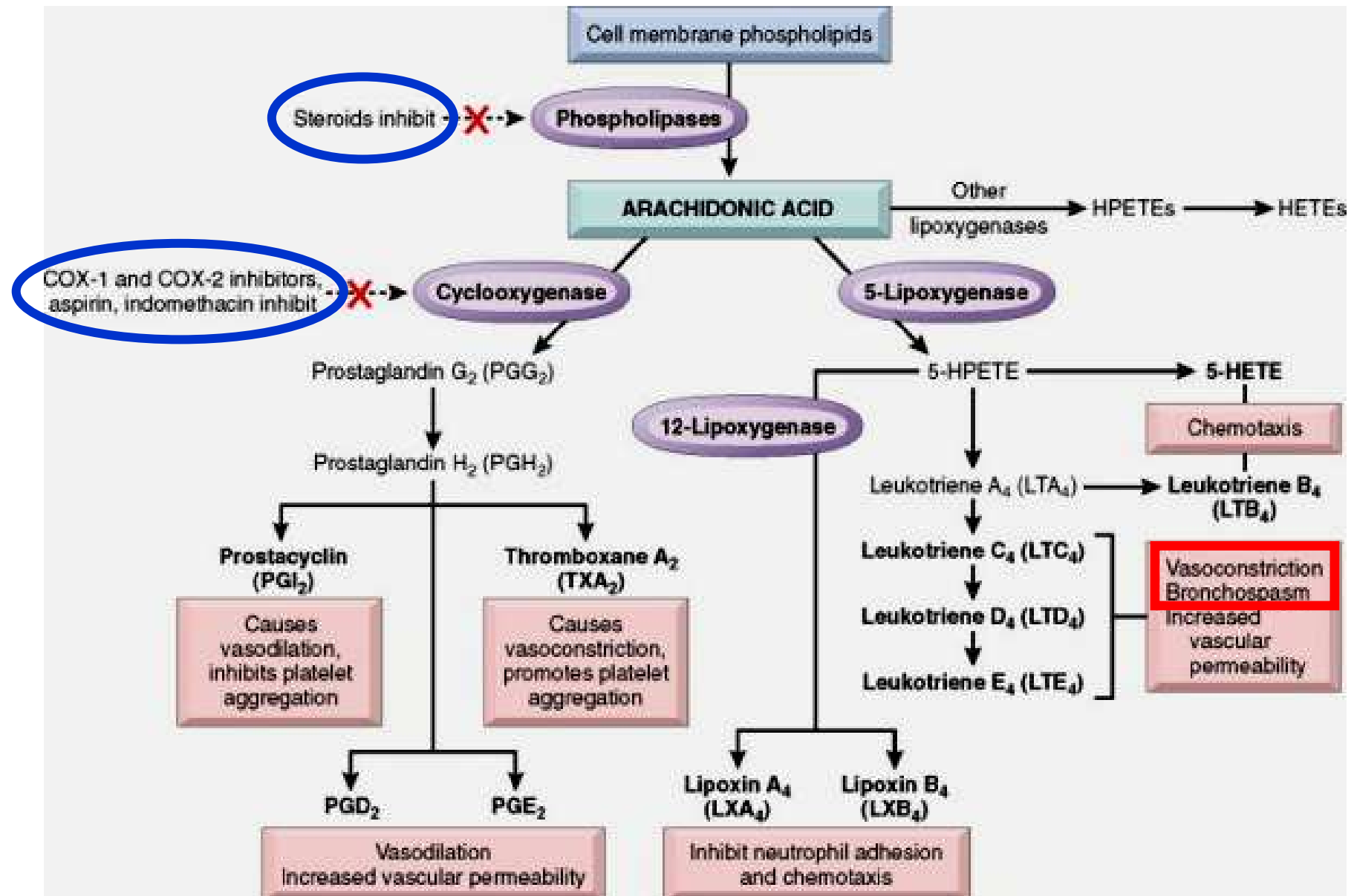
Ciclo-ossigenasi

La via ciclo-ossigenasica è mediata da due differenti enzimi; COX1 e COX2:

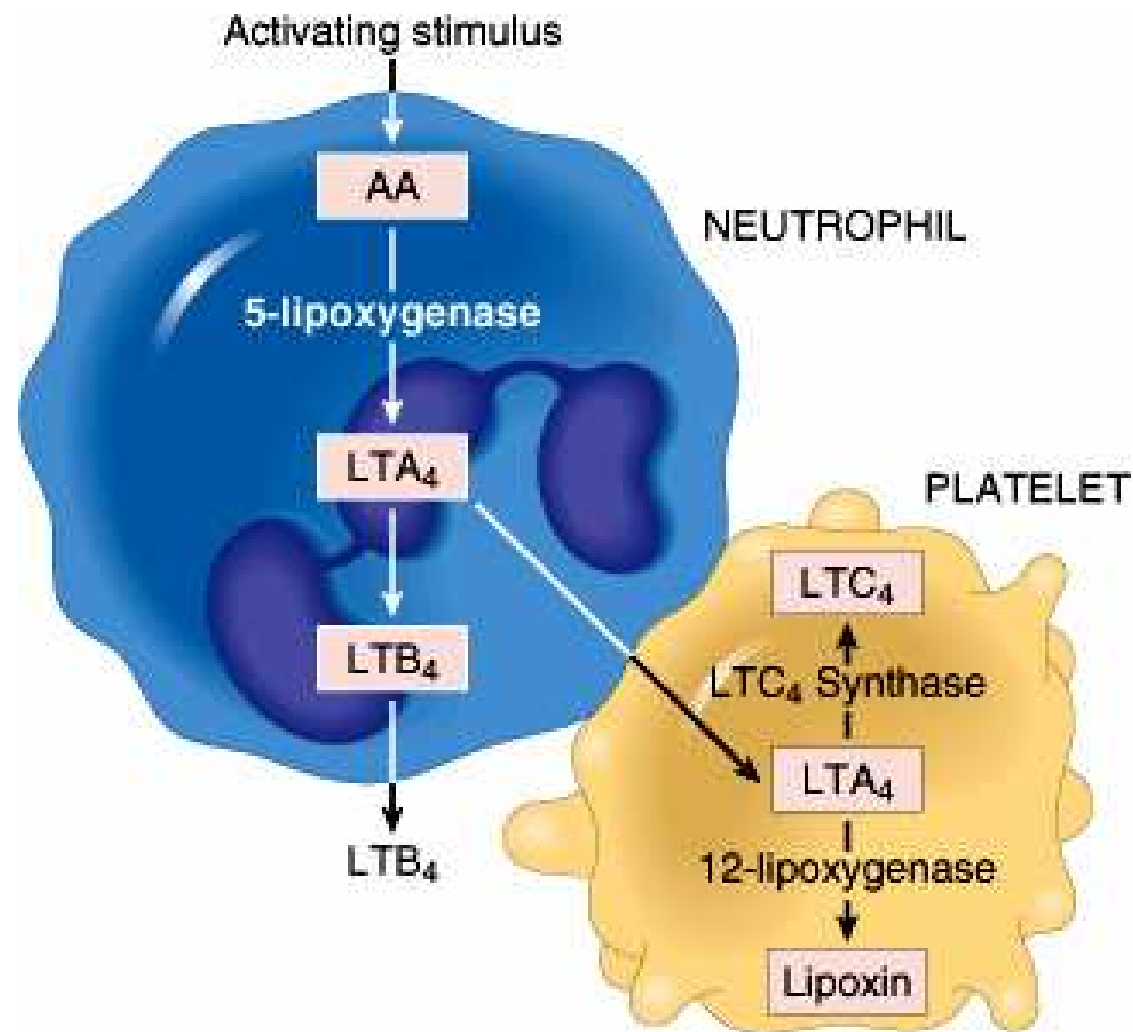
COX1 è costitutivamente presente in tutte le cellule di mammifero; usa come substrato O_2 ed è una eme-proteina; il suo gene è sul cromosoma 9.

COX2 è espressa in molte cellule solo quando viene indotta da stimoli quali PAF, IL-1 e $TNF\alpha$. In alcune cellule del cervello e del rene è però prodotta costitutivamente; il gene è localizzato sul cromosoma 1.

Sintesi e effetti dei derivati dell'acido arachidonico



Neutrofili e piastrine interagiscono nello stimolo alla sintesi di leucotrieni



Effetti dei derivati dell'acido arachidonico

EFFETTO

METABOLITA

Vasocostrizione

- Trombossano A_2 , leucotrieni C_4 , D_4 , E_4

Vasodilatazione, dolore

- PGI_2 , PGE_1 , PGE_2 , PGD_2

Aumento della permeabilità
vascolare

- Leucotrieni C_4 , D_4 , E_4

Chemiotassi, adesione leucocitaria

- Leucotriene B_4 , HETE, lipossine

Mediatori sintetizzati de novo

2- Citochine

Le citochine *sono proteine prodotte da molti tipi di cellule* (linfociti e macrofagi attivati ma anche cellule endoteliali, epiteliali e del connettivo) *in grado di modulare la funzione di altre cellule.*

Le citochine prodotte dai fagociti mononucleati sono chiamate **Monochine** mentre quelle che derivano dai linfociti sono dette **Linfocine** .

I **fattori stimolanti la formazione di colonie (CSF)** sono prodotti dallo stroma midollare, da monociti e da macrofagi e stimolano la crescita dei leucociti immaturi del midollo osseo. (es. G-CSF granulociti, M-CSF monociti, GM-CSF granulo e monociti)

Le **interleuchine** sono una ampia famiglia di citochine prodotte dalle cellule emopoietiche e agiscono soprattutto sui leucociti.

Le **chemochine** sono citochine che possiedono la proprietà di stimolare la *chemiotassi* dei leucociti

Citochine

Le citochine possono anche essere raggruppate in 5 classi sulla base della funzione principale o in relazione al tipo di cellula bersaglio:

- **Citochine** che regolano la funzione dei linfociti
- **Citochine** implicate nell'immunità naturale
- **Citochine** che attivano le cellule dell'infiammazione
- **Citochine** che stimolano l'emopoiesi
- **Chemochine**

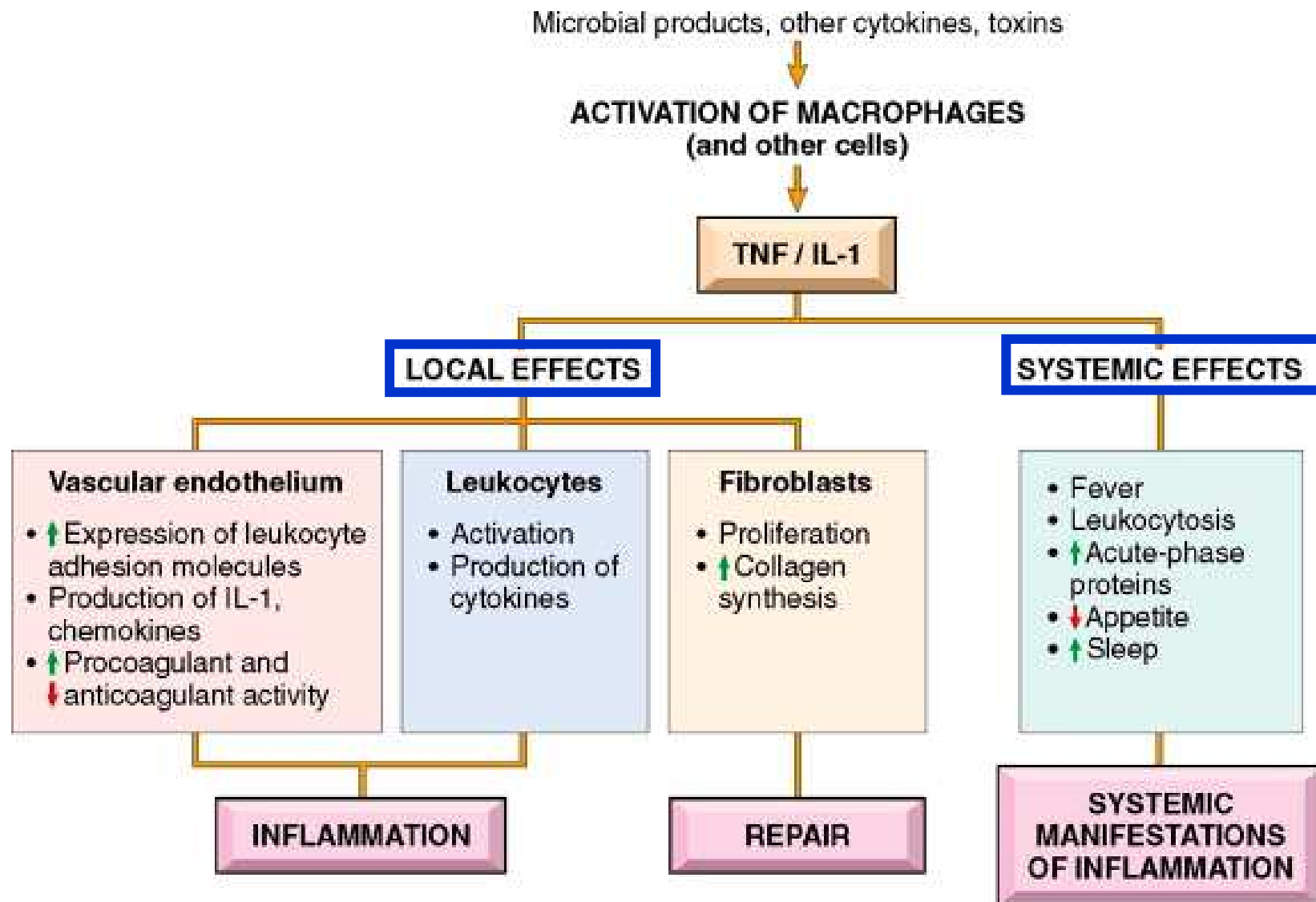
Non è esattamente definito il ruolo delle singole citochine nella fisiopatologia dell'infiammazione

Si costituisce una complicata rete d'interazioni che cambia in diverse situazioni

Su questa rete si cerca di intervenire con i farmaci

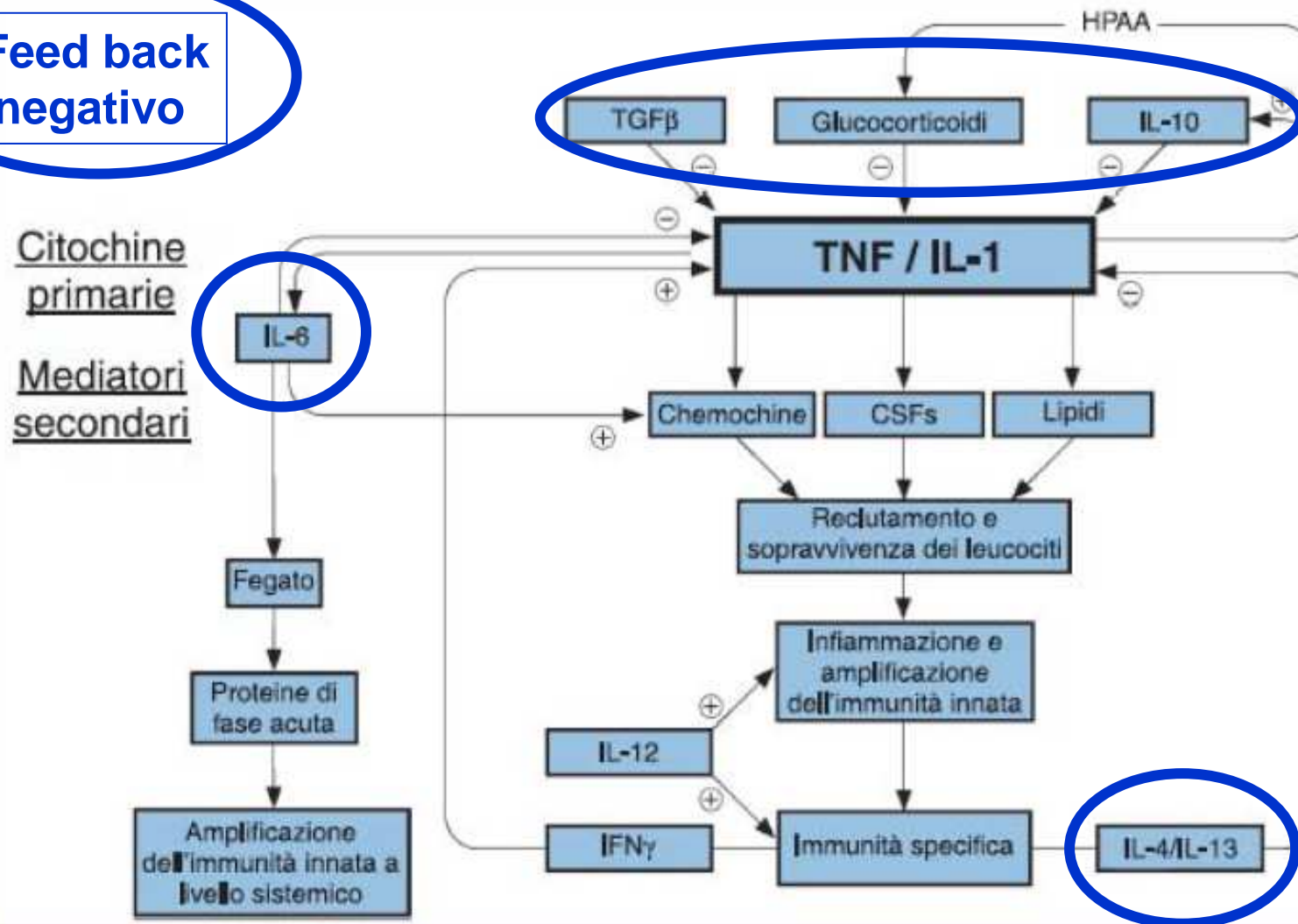
Le principali citochine infiammatorie

IL-1 e $\text{TNF}\alpha$



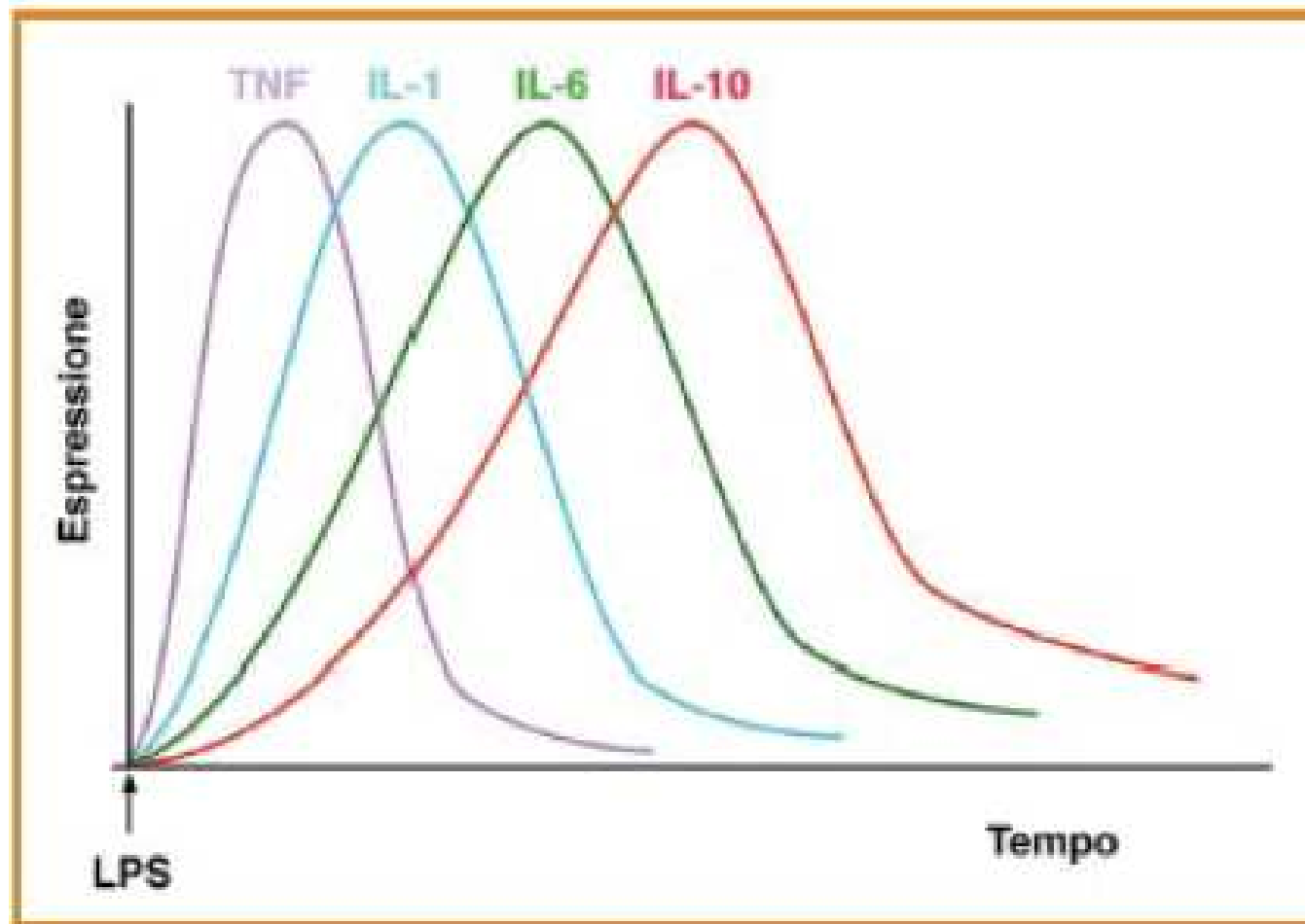
IL1 e TNF innescano la produzione di altre citochine

Feed back
negativo



x 190.5 mm

Cinetica di produzione delle citochine dopo stimolo con lipopolisaccaridi batterici (LPS)



TNF e Interferoni

FATTORI DI NECROSI TUMORALE

TNF- α MACROFAGI; LINFOCITI B e T;
CELLULE NK; altre cellule

- **PROCESSI INFIAMMATORI**

(Attività procoagulante, > sintesi IL-1, IL-8, > molecole di adesione sui GN, attivazione dei Macrofagi);

EFFETTI SISTEMICI della flogosi

effetti sistemici della flogosi);

- > attivazione linfociti T citotossici e Natural Killer;
- Ruolo nello SHOCK endotossico e nella CACHESSIA neoplastica

TNF- β LINFOCITI Th1 e CTL

Secreto o associato alla membrana con linfotossina β ; induttore di apoptosi

INTERFERONI

IFN- γ LINFOCITI T
CELLULE NK

- **REGOLAZIONE PRECOCE** di TUTTE le FASI della RISPOSTA IMUNITARIA e INFIAMMATORIA:

- **ATTIVAZIONE MACROFAGI e GRANULOCITI** (> fagocitosi, produzione di IL-1 e TNF- α , > burst respiratorio);

- > L'ESPRESSIONE di MHC I e II sui MACROFAGI ed altre cellule;

- **AZIONI ANTAGONISTE ALL' IL-4** (attiva LTh1 e inibisce LTh2)

- **ATTIVAZIONE DEI LINFOCITI T citotossici e delle CELLULE NK**

- **LIMITATA AZIONE ANTIVIRALE**

IFN- α Linfociti,
IFN- β Monociti
FIBROBLASTI

- **AZIONE ANTIVIRALE DIRETTA;**
- **AUMENTA L' ESPRESSIONE di MHC I e II;**
- **ATTIVAZIONE CELLULE NK E CELLULE DENDRITICHE**

INTERLEUCHINE

- Differenziazione
- Proliferaazione
- Attivazione

➤ Inibizione

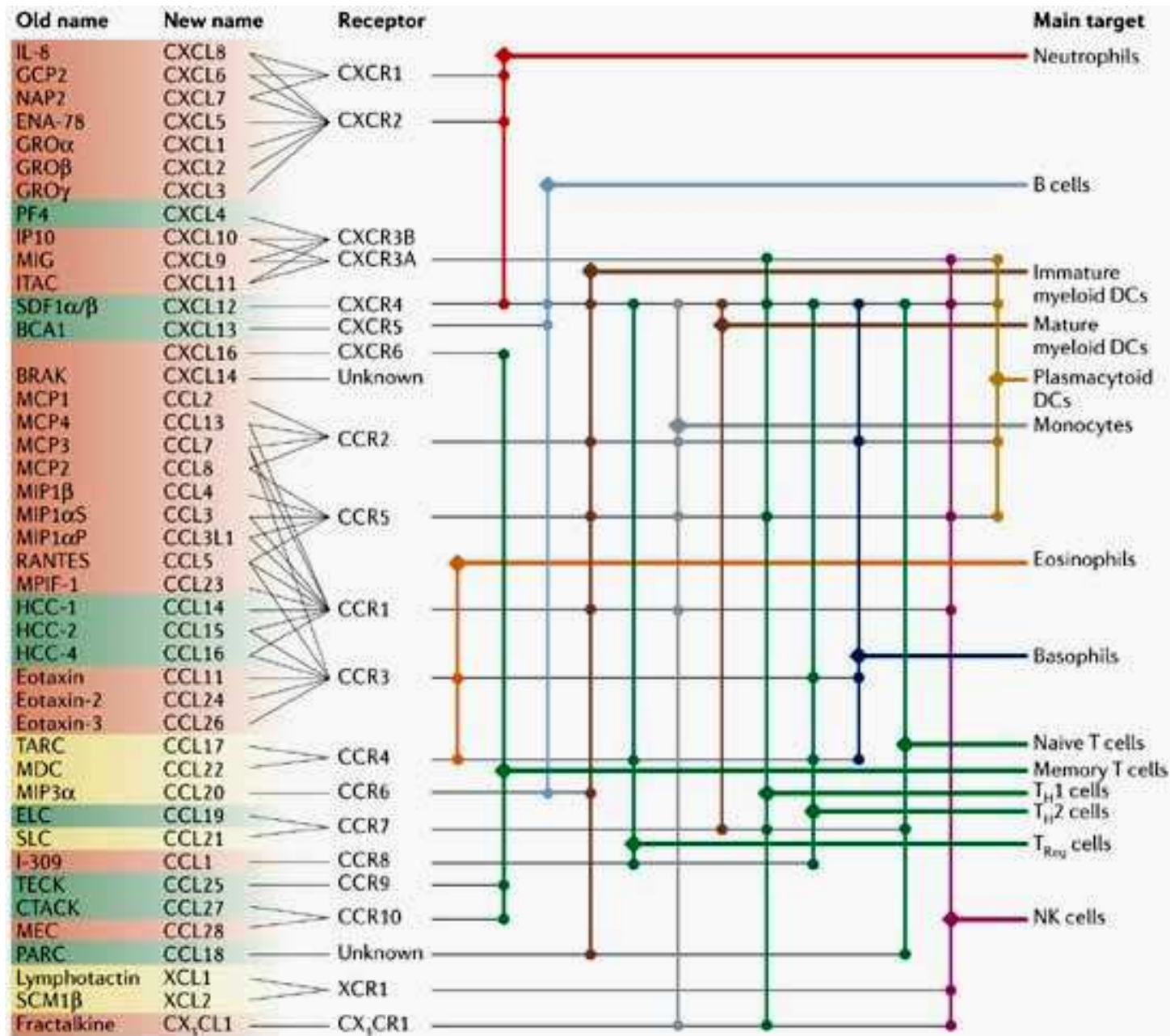
http://en.wikipedia.org/wiki/Interleukin:35_interleuchine

NOME	CELLULE PRODUTTRICI	PRINCIPALI FUNZIONI
INTERLEUCHINE		
IL-1	MACROFAGI; LINFOCITI MOLTI ALTRE CELLULE	localmente coinvolta in INFIAMMAZIONE (attivazione endoteliale e delle cellule infiammatorie, nella RIPARAZIONE , nella RISPOSTA IMMUNITARIA (attivazione NK); EFFETTI SISTEMICI della flogosi, FEBBRE
IL-2	LINFOCITI T	CRESCITA di LINFOCITI T e B ATTIVATI ; ATTIVAZIONE CELLULE NK e linfociti T citotossici
IL-3	LINFOCITI T ; MASTOCITI, EOSINOFILI	<u>STIMOLA LA CRESCITA DI CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE PLURIPOTENTI</u>
IL-4	LINFOCITI T (ST. Th2) attivati MASTOCITI	INDUZIONE ed ATTIVAZIONE di LTh2, ATTIVAZIONE e CAMBIAMENTO DI CLASSE a IgE e IgA; FATTORE di CRESCITA per I MASTOCITI ; <u>INIBIZIONE sui MACROFAGI INFIAMMATORI</u> (riduce la sintesi di IL-1, TNF, IL-8 e prostaglandine); <u>ruolo nelle INFIAMMAZIONI ALLERGICHE</u>
IL-5	LINFOCITI T; MASTOCITI; EOSINOFILI	<u>PROLIFERAZIONE</u> ed <u>ATTIVAZIONE</u> degli EOSINOFILI PROLIFERAZIONE DEI LINFOCITI B, PRODUZIONE DI IgM E IgA
IL-6	LINFOCITI T, MACROFAGI; FIBROBLASTI; EPATOCITI; CELL. ENDOTELIALI CELL. STROMALI M. OSSEO	EFFETTI SISTEMICI della FLOGOSI: FEBBRE , SINTESI di PROTEINE della FASE ACUTA DIFFERENZIAZIONE dei LINFOCITI B;
IL-7	CELL. M.OSSEO;	FATTORE di CRESCITA per PROGENITORI dei LINFOCITI B e T
IL-10	LINFOCITI T e B, MACROFAGI	INIBIZIONE dei MACROFAGI INFIAMMATORI inibizione della risposta LTh1, diminuisce la SECREZIONE di IFN-γ
IL-12	MACROFAGI, APCs CHERATINOCITI	ATTIVAZIONE delle CELLULE NK ed aumento dell'attività ADCC; aumenta la produzione di IFN-γ dai linfociti T e dalle cellule NK; Stimola la proliferazione ed induce la differenziazione dei linfociti Th1
IL-15	MONOCITI, CELL. EPITELIALI	STIMOLA LA PROLIFERAZIONE delle cellule T e NK
IL-18	MACROFAGI CHERATINOCITI	Induzione di IFN-γ; induce la DIFFERENZIAZIONE dei Th1; sopprime la sintesi di IgE; favorisce il rilascio di istamina e IL-4

Chemochine

NOME	CELLULE PRODUTTRICI	FUNZIONI
CHEMOCHINE		
<i>IL-8</i>	MACROFAGI; LINFOCITI T; CELL. ENDOTELIALI, NEUTROFILI, CHERATINOCITI FIBROBLASTI, CONDROCITI	• CHEMIOTASSI ed ATTIVAZIONE dei NEUTROFILI linfociti T e basofili; > il BURST RESPIRATORIO nei NEUTROFILI; > espressione di adesine sui monociti
<i>MCP-1/2/3</i>	MACROFAGI; FIBROBLASTI	• CHEMIOTASSI, > BURST OSSIDATIVO dei MACROFAGI
<i>RANTES</i>	LINFOCITI T attivati	• CHEMIOTASSI ed ATTIVAZIONE EOSINOFILI, BASOFILI, MONOCITI
<i>MIP-1 α/β</i>	MACROFAGI; FIBROBLASTI	• CHEMIOTASSI CD8 (MIP-1 β) e CD4 (MIP-1 α)
<i>EOTASSINA</i>	MACROFAGI; FIBROBLASTI	• CHEMIOTASSI degli EOSINOFILI
<i>IL-16</i>		• CHEMIOTASSI CD4+ ed EOSINOFILI

Nuova nomenclatura e network chemochinico



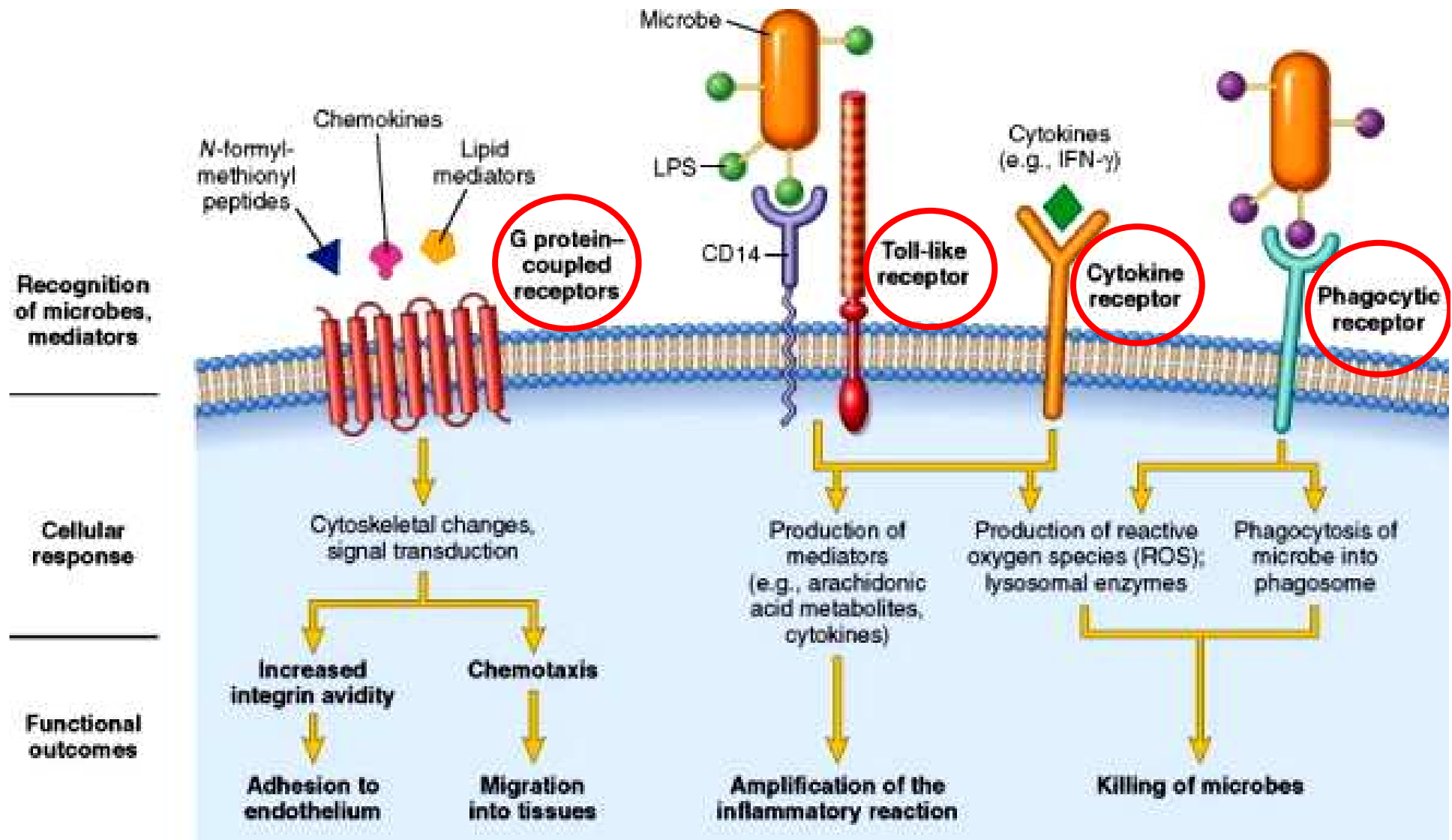
Rapporti citochine cellule: il network citochinico

- La secrezione locale di citochine alla sede di danno è il mezzo fondamentale di regolazione del processo infiammatorio con la regolazione delle cellule coinvolte nell'infiammazione (leucociti, cellule endoteliali, cellule muscolari lisce, piastrine)
- Il macrofago è la cellula centrale perchè può produrre molte differenti molecole quando attivato da lipopolisaccaridi (LPS – Gram negativi) e IFN- γ

Gli effetti delle citochine sono

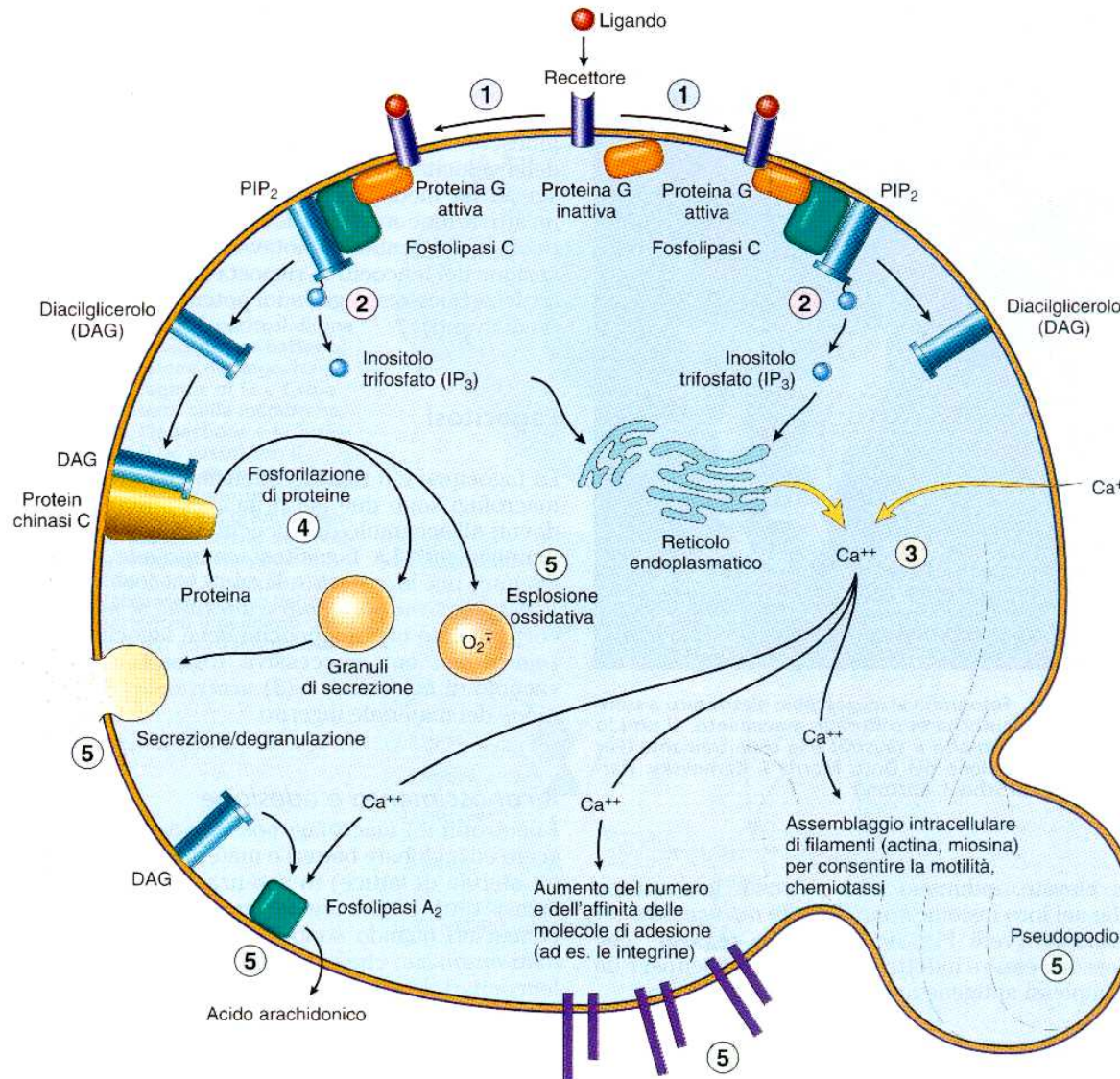
- Autocrini
 - Paracrini (effetti locali, chemochine)
 - Endocrini (risposte sistemiche)
-
- **IL-1 e TNF causano la produzione di Colony Stimulating Factors (CSF) e la liberazione delle riserve granulocitarie dal midollo osseo**
 - PMN e macrofagi sono reclutati dalle chemochine, principalmente IL-8, c5a, TGF- β , e PAF

Diversi recettori coinvolti nell'attivazione dei fagociti



Effetti sulle cellule dei mediatori infiammatori

Trasduzione del segnale



1- Attivazione recettoriale con attivazione di
- proteina chinasi e fosfatasi
- fosfolipasi C
- via dell'AMP ciclico

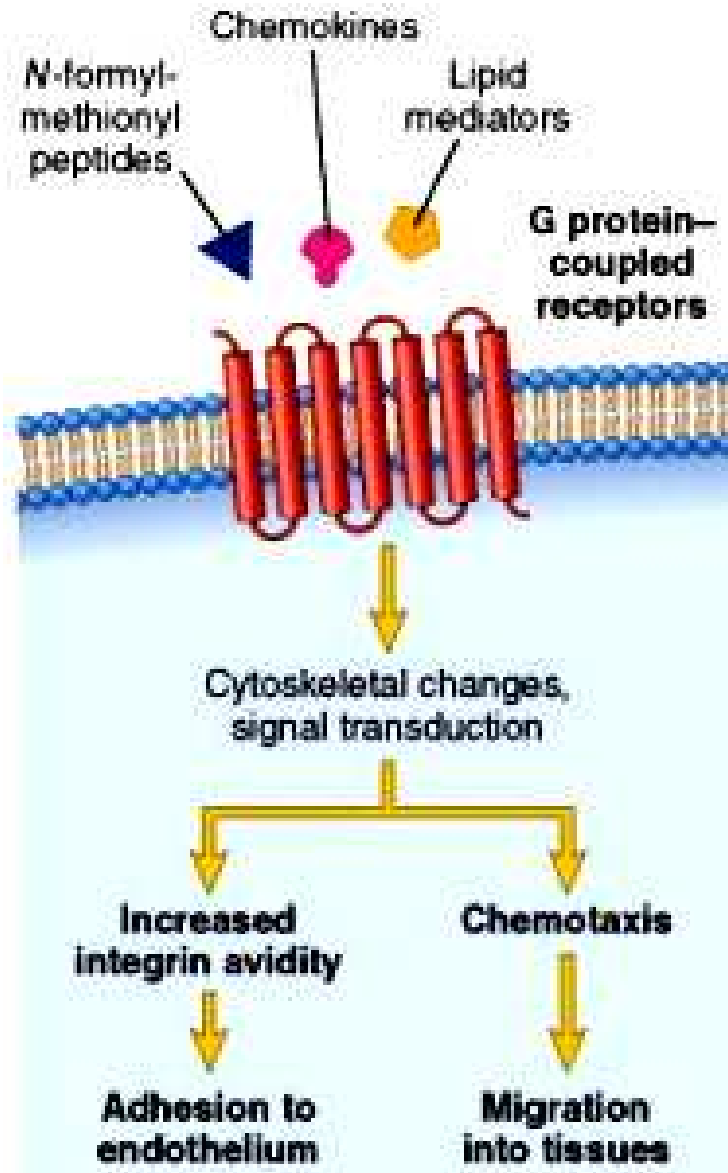
2- Aumento del metabolismo fosfolipidico e produzione di metaboliti dell'acido arachidonico

3- Aumento del calcio intracellulare

4- Fosforilazione di proteine

5- fenomeni di attivazione cellulare

Recettori a sette domini transmembranari accoppiati a proteine G

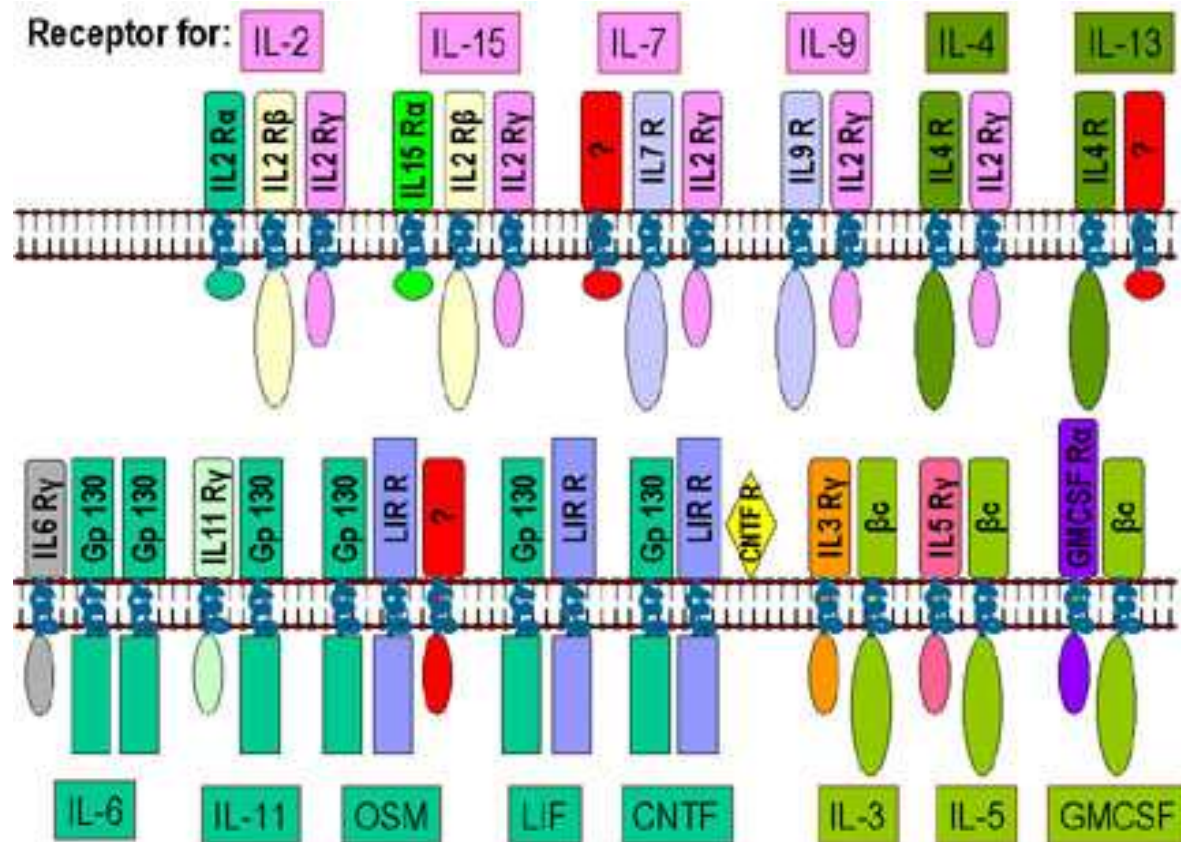


- Sono recettori per molte chemochine
- Riconoscono piccoli peptidi con residui di *N*-formilmetionina presenti solo in batteri (e mitocondri di mammifero),
- C5a,
- PAF platelet-activating factor,
- prostaglandina E, LTB₄.

Recettori per le citochine

Es: **IFN- γ** , che è prodotto dalle cellule natural killer (NK) e da linfociti T attivati dall'antigene. E' la principale citochina attivante i macrofagi.

Molte altre citochine hanno recettori eterodimerici o eterotrimerici



Recettori per le opsonine: recettori fagocitici

Il processo di rivestimento delle particelle (o dei microbi) con diversi tipi di proteine è chiamato *opsonizzazione*.

Promuovono la fagocitosi e attivano i fagociti.

Le sostanze che vengono utilizzate per opsonizzare sono le *opsonine*.

Esse includono:

- **Le IgG** sono chiamate opsonine specifiche e vengono riconosciute dal **recettore per lo Fc γ** ad alta affinità dei macrofagi (FcR).
- **I frammenti del C3** sono potenti opsonine, legano i microbi e i macrofagi hanno un recettore (recettore del complemento di tipo 1 –CR1) che riconosce i prodotti di degradazione del C3 generati dopo attivazione del Complemento. Molti batteri possono attivare la via alternativa del Complemento, opsonizzarsi e attivare i fagociti in assenza di anticorpi (immunità naturale).
- **Recettori integrinici per molte proteine plasmatiche**, tra cui la lectina legante il mannosio (MBL, vedi sopra), la fibronectina, il fibrinogeno e la proteina C-reattiva. Es.: il recettore C1q dei macrofagi lega i microbi opsonizzati con MBL, le integrine legano le particelle opsonizzate con fibrinogeno.

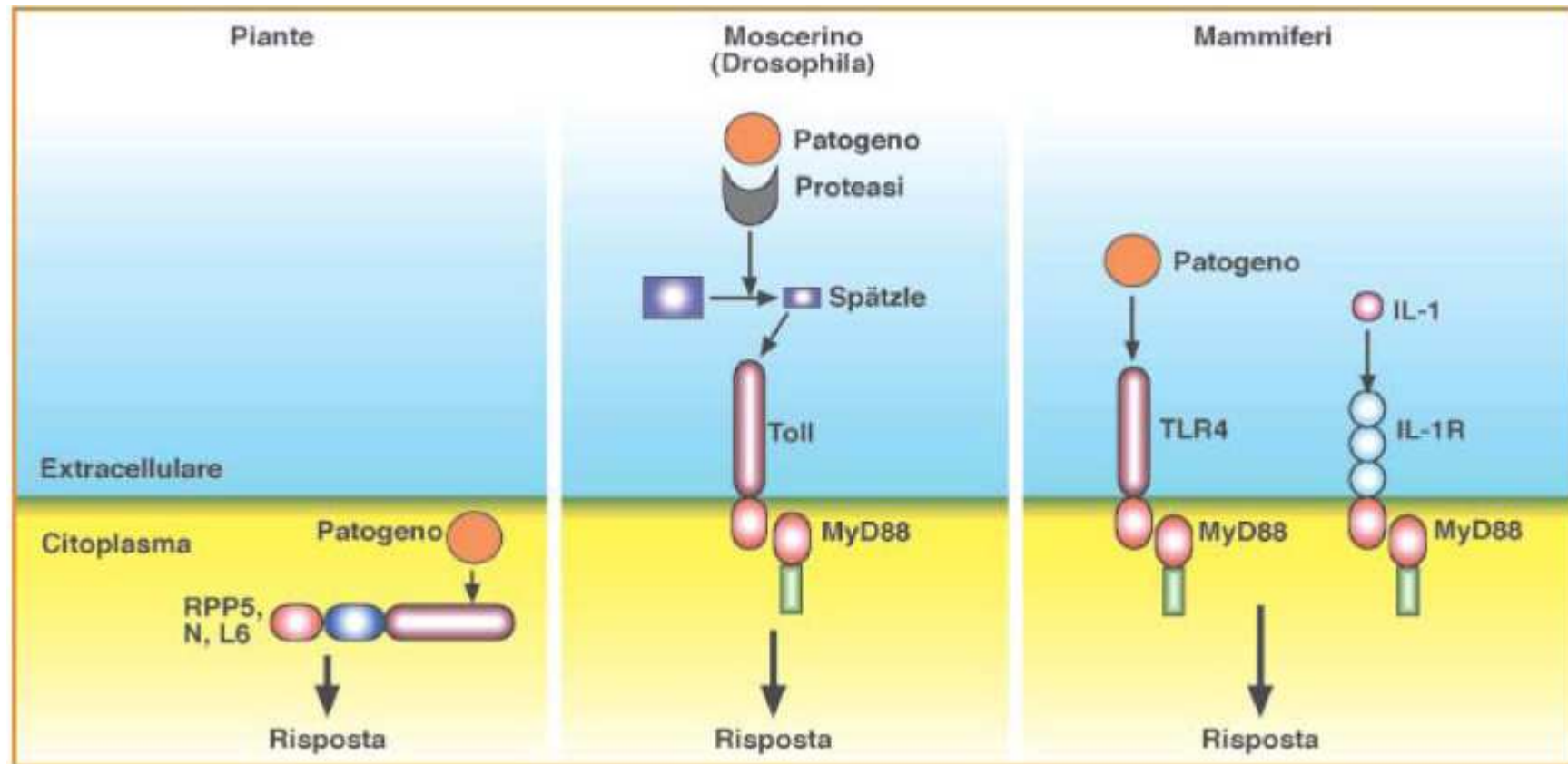
Recettori di attivazione dei fagociti

Toll-like receptors (TLRs)

(omologhi ai recettori Toll di *Drosophila*)

- Attivano i leucociti in risposta a differenti componenti microbiche.
- Identificati 13 recettori Toll di mammifero, che rispondono a differenti composti di differenti patogeni.
- Mediano le risposte cellulari a lipopolisaccardi batterici (LPS o endotossine), proteoglicani batterici, nucleotidi CpG non metilati, RNA a doppia elica virale.
- Funzionano tramite chinasi associate al recettore e stimolano la produzione di citochine e sostanze microbicide.

Il sistema dei recettori Toll è conservato



Tanti diversi recettori Toll hanno diverse specificità

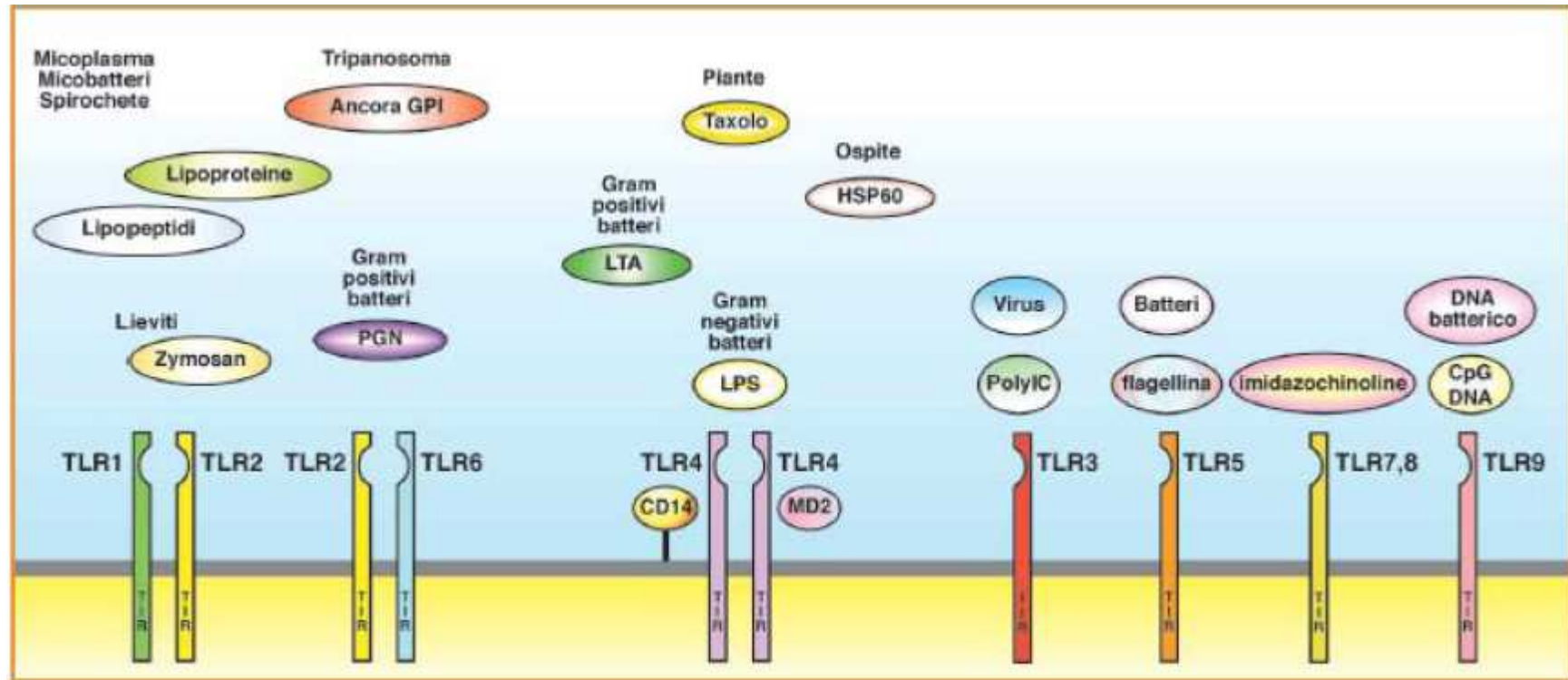


Table 1. Toll-like receptors (TLRs) and their exogenous and endogenous ligands

TLR	Exogenous ligands	Endogenous ligands
TLR1	Bacterial triacyl lipopeptides and proteins in parasites	Unknown
TLR2	Bacterial diacyl lipopeptides, lipoteichoic acid from Gram-positive bacteria, and zymosan from the cell wall of yeast	hsp70, gp96, necrotic cells and HMGB1
TLR3	Double-stranded RNA from viruses	mRNA
TLR4	Endotoxin (LPS) from Gram- negative bacteria	hsp60, hsp70, hyaluronan, lung surfactant protein A, fibronectin, fibrinogen, heparan, HMGB1 and β -defensin 2
TLR5	Flagellin from mobile bacteria	Unknown
TLR6	Partnered with TLR2	Unknown
TLR7	Single-stranded RNA from viruses	Unknown
TLR8	Same as TLR7	Unknown
TLR9	CpG DNA from bacteria or viruses	Chromatin-IgG complexes
TLR10	Unknown	Unknown
TLR11	Profilin, a protein from the protozoan pathogen <i>Toxoplasmosis gondii</i> that can cause miscarriage; may also respond to components of bacteria that cause bladder and kidney infections	Unknown
TLR12	Unknown	Unknown
TLR13	Unknown	Unknown

Table 3. Potential roles of Toll-like receptors (TLRs) as therapeutic targets in inflammatory diseases, cancers and autoimmune diseases

TLR	Related diseases
TLR1	Bacterial/fungal diseases, Gram-positive sepsis
TLR2	Bacterial/fungal diseases, Gram-positive sepsis
TLR3	Viral diseases
TLR4	Bacterial diseases, Gram-negative sepsis, chronic inflammation, autoimmune diseases, cancers, atherosclerosis
TLR5	Bacterial diseases
TLR6	Mycobacterial diseases
TLR7	Viral diseases
TLR8	Viral diseases
TLR9	Bacterial and viral diseases, autoimmune diseases, cancers
TLR10	Unknown
TLR11	Unknown
TLR12	Unknown
TLR13	Unknown

Recettori dell'immunità naturale e Inflammasomi

I recettori dell'immunità naturale vengono attualmente definiti **pattern-recognition receptors (PRRs)** cioè recettori di riconoscimento di modelli/schemi/situazioni

Il loro scopo è quello di identificare caratteristiche tipiche e non variabili dei microbi

I PRRs sono espresse dalle cellule della “prima linea” di difesa contro le infezioni: macrofagi, monociti, cellule dendritiche, neutrofili, cellule epiteliali, ma anche da cellule del sistema immunitario adattativo

Questi recettori comprendono i Toll-like receptors (TLRs) e le lectine (CTLs), che analizzano l'ambiente extracellulare e il compartimento endosomico per individuare gli “**schemi molecolari**” associati alla presenza di patogeni: **pathogen-associated molecular patterns (PAMPs)**

Segnali intracellulari e conseguenze trascrizionali

Esistono **anche PRR intracellulari** che individuano segnali anomali citoplasmatici consistenti in acidi nucleici anomali liberi.

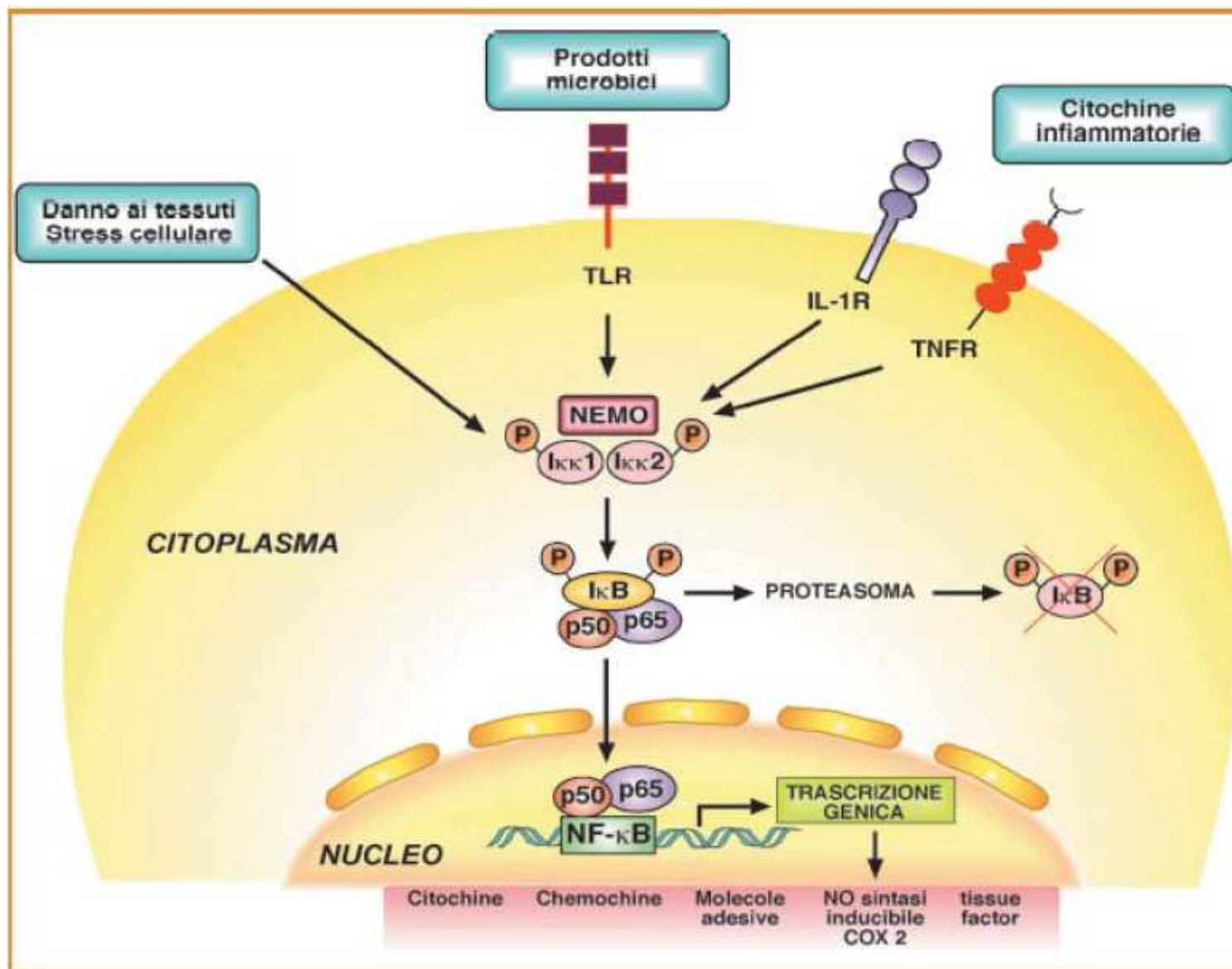
-Sensori di RNA a doppia elica (RIGlike helicases: -RLHs, RIG-I e MDA5

- Sensori di DNA, DAI and AIM2

Tutti questi PRR iniziano una segnalazione intracellulare comune che ha come evento finale l'attivazione dei fattori trascrizionali NF-kB e AP-1

Questi fattori **aumentano la trascrizione dei geni dell'IL1 β** e di altre citochine infiammatorie e dei geni dei fattori trascrizionali che stimolano la produzione di interferoni con il fine di produrre una risposta infiammatoria e antivirale

L'attivazione recettoriale induce una segnalazione che termina in una regolazione della trascrizione



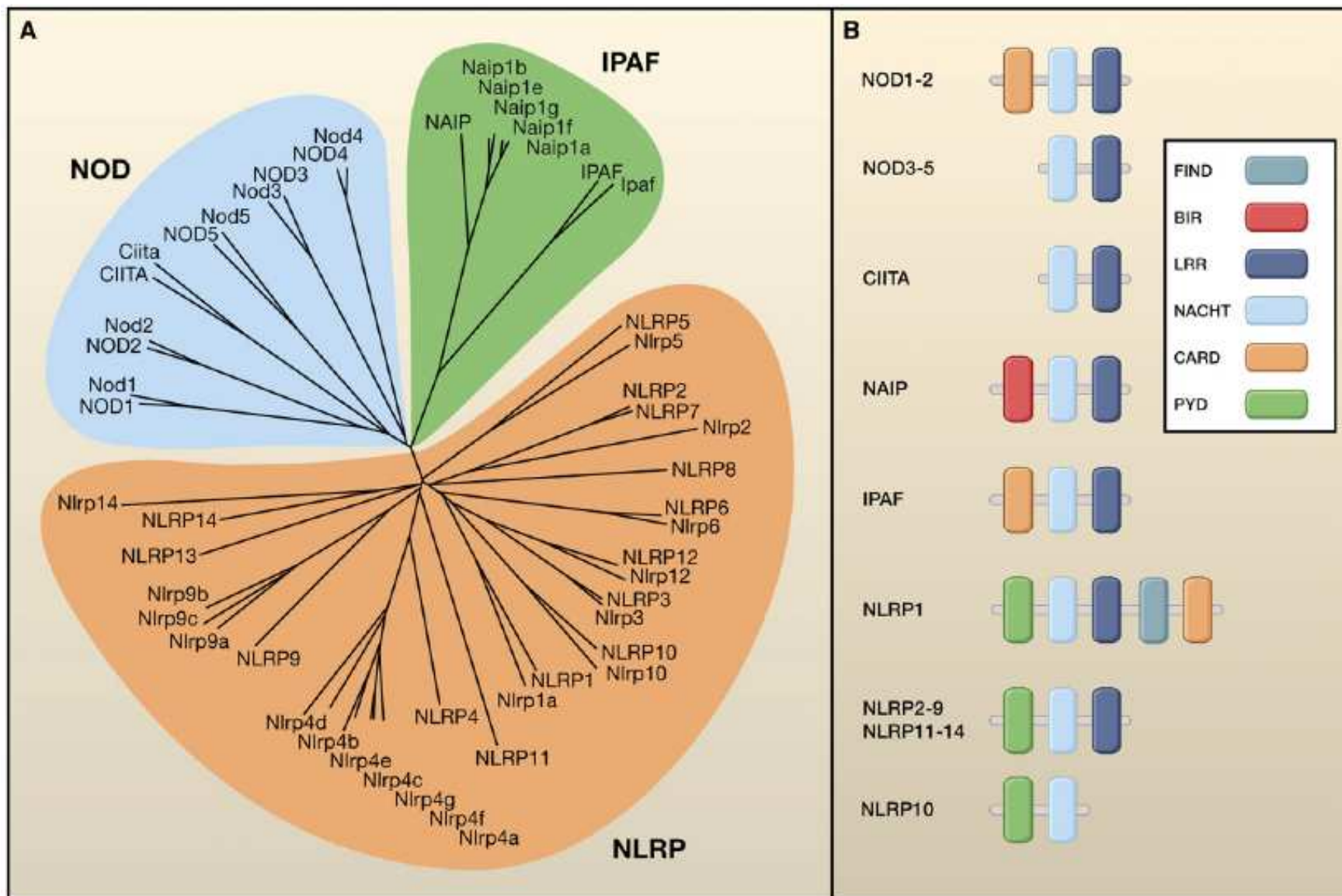
I costituenti degli inflammasomi

Un tipo particolare di PRR intracellulari distinto dai precedenti sono i **NLR** (NOD-like receptors)

I NLR riconoscono PAMPs e “segnali di pericolo” derivanti dall’ospite i **DAMPs** (danger associated molecular patterns).

Questi particolari PRRs si assemblano in **complessi ad alto peso molecolare detti “Inflammasomi”**, che **controllano la maturazione e la secrezione di interleuchine come l’IL18 e IL1 β** le quali innescano la risposta infiammatoria al danno e all’infezione

I NLRs comprendono 22 geni umani divisi in 3 distinte sottofamiglie i **NOD** (NOD1-2, NOD3/ NLRC3, NOD4/NLRC5, NOD5/NLRX1, CIITA), i **NLRP** (NLRP1-14, detti anche NALP) e i **IPAF**



NODs

I Nod – Like Receptors esercitano quindi una “sorveglianza” sul citoplasma per identificare “schemi molecolari” di pericolo o danno di origine extracellulare o endogeno (PAMPs o DAMPs).

NOD1 e NOD2 riconoscono i prodotti di degradazione della parete batterica (acido mesodiaminopimelico e muramil-dipeptide [MDP], rispettivamente) quindi **oligomerizzano** e reclutano RIP2 via interazioni CARD-CARD.

L'assemblaggio di questo “**signalosoma**” porta all'attivazione di NF- κ B e alla sintesi di pro-IL1 β

Mutazioni di NOD2 sono causa di peculiari patologie infiammatorie croniche umane come la malattia di **Crohn**

Inflammasomi: piattaforme per l'attivazione della Caspasi-1 e la maturazione di IL-1 β

Citochine infiammatorie come l'IL1 β sono sintetizzate tuttavia come zimogeni inattivi

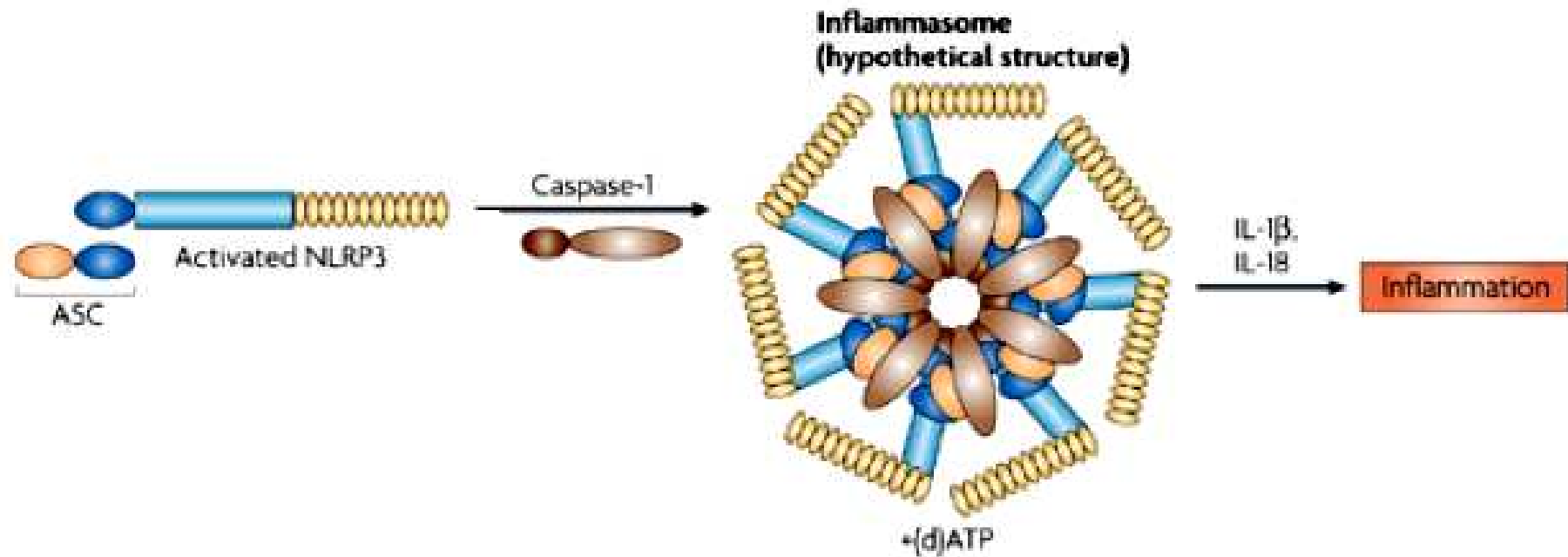
La loro attività è controllata tramite attivazione proteolitica

La proteolisi è realizzata dalle caspasi infiammatorie caspasi-1, -4 e -5 (1, -11 e -12 nel topo).

*Queste caspasi, in particolare la 1, la più studiata, si attivano nella piattaforma molecolare costituita dall'**inflammosoma***

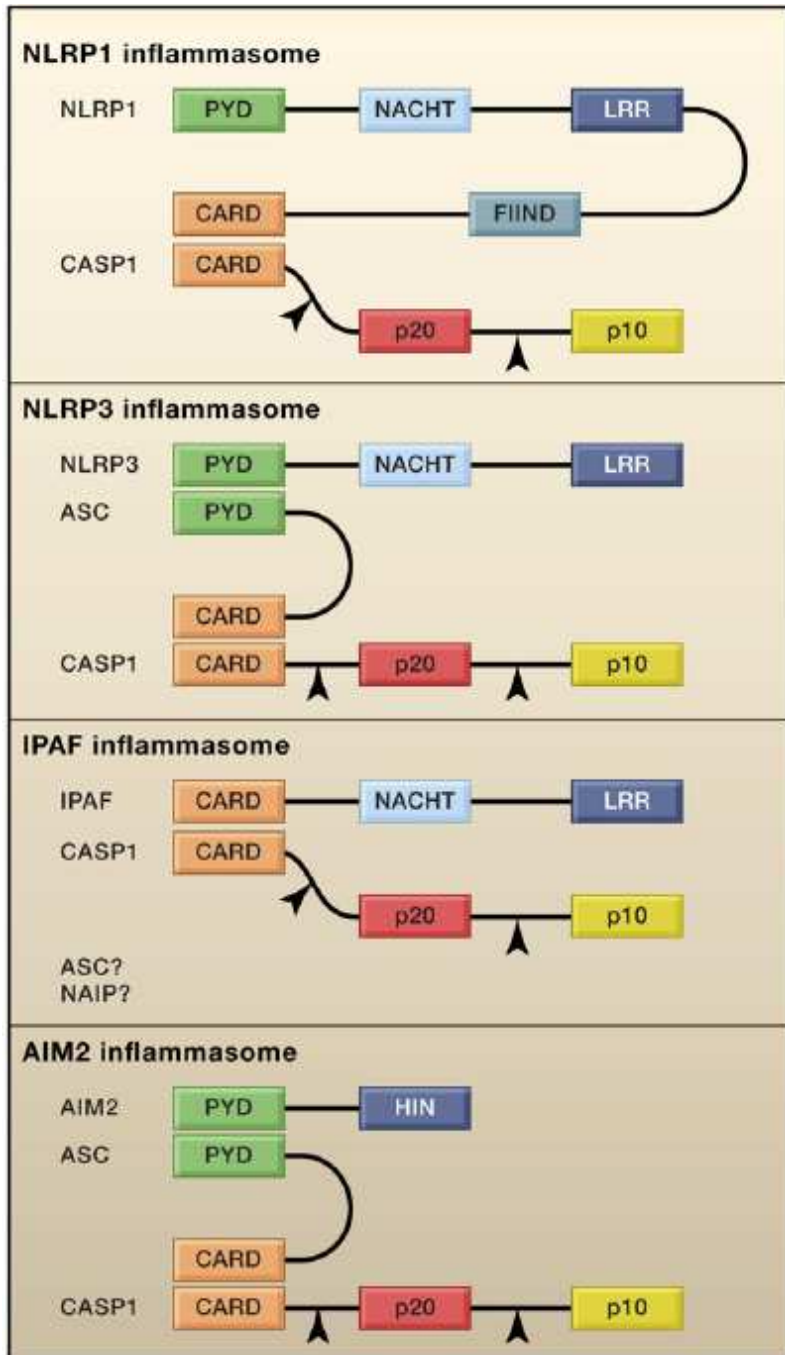
Quindi gli stimoli infiammatori inducono l'espressione della forma inattiva dell' IL-1 β , ma la maturazione e la secrezione della citochina sono controllati dall'inflammasoma

Aggregazione dell'inflammasoma



Inflammasomes si assemblano per auto oligomerizzazione delle proteine NLRP1, NLRP3, IPAF e AIM che sono segnalatori di danno e che sono in grado di unirsi attraverso dei domini di interazione omotipici (NACHT domain) insieme alla proteina di collegamento ASC.

Si formano complessi ad alto peso molecolare, esameri o eptameri che reclutano caspasi 1 e ne inducono la autocatalisi proteolitica

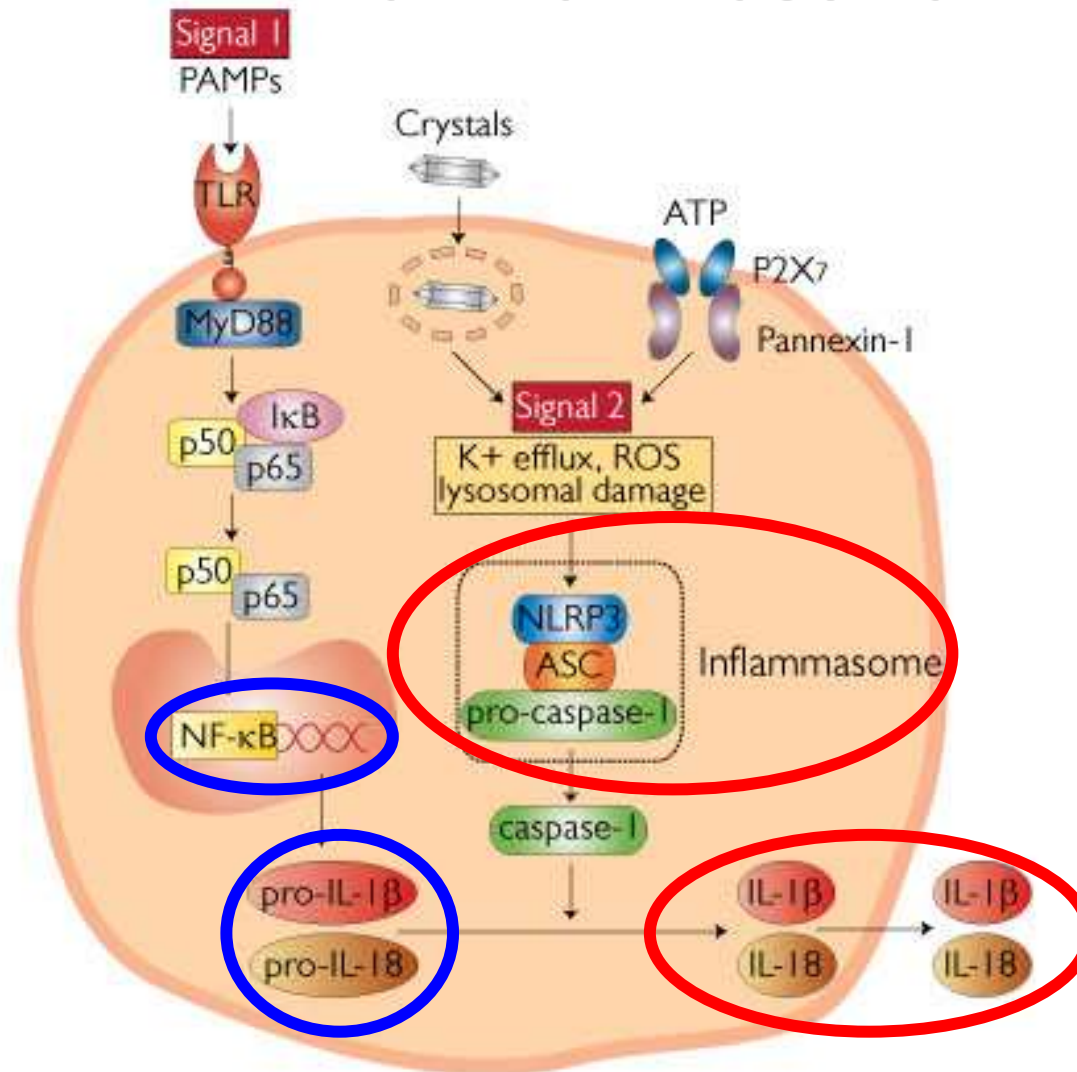


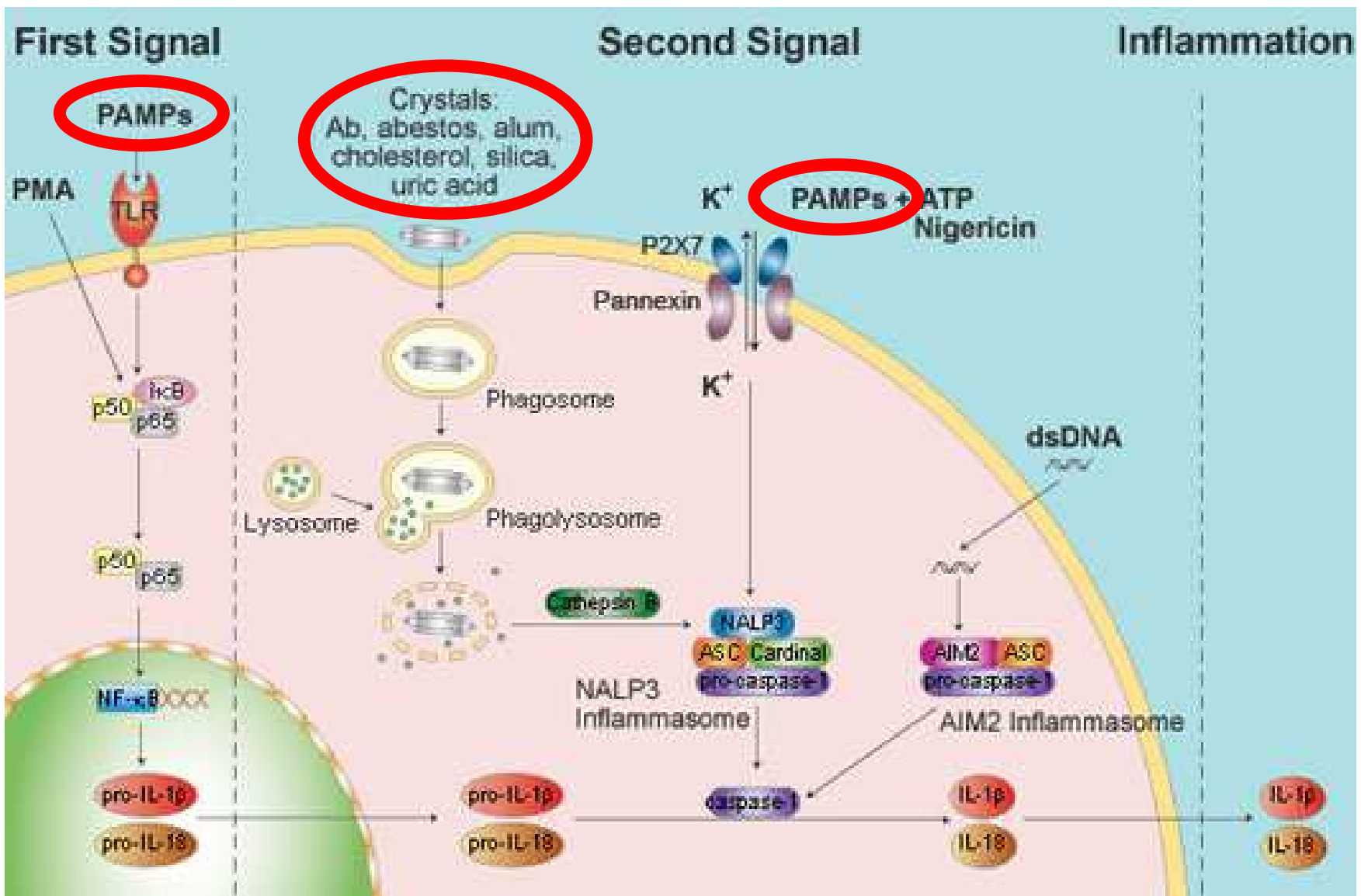
Diversi inflammasomi

Gli stimoli che inducono l'aggregazione del complesso possono essere diversi

Le modalità di aggregazione e la finalità, cioè l'attivazione di IL1b e IL18, sono le stesse

Una segnalazione induce sintesi di pro-IL1 β , una segnalazione induce la sua attivazione proteolitica via inflammasoma





Attivazione esogena degli inflammasomi

Tipicamente gli inflammasomi sono attivati nell'ambito dell'immunità “naturale” per reazione ad un agente infettivo:

- Funghi (*Candida albicans* , *Saccharomyces cerevisiae*)**
- Batteri produttori tossine che inducono pori di membrana
(*Listeria monocitogenes*, *Stafilococco aureo*),**
- Virus (Sendai, Adenovirus, Influenza virus)**

Inflammasoma come segnalatore di pericolo, danno o stress cellulare

Gli inflammasomi possono fungere da segnalatore di danno o stress cellulare ed essere attivati da una serie di **molecole dannose non infettive** e da **molecole endogene**

Sono attivati da

- ATP extracellulare e ialuronato liberati da cellule danneggiate.
- Fibrille di β -amiloide
- Cristalli di urato durante l'iperuricemia
- Irritanti ambientali come la silice e l'asbesto
- Raggi UVB
- Irritanti cutanei (trinitrofenilcloruro, trinitroclorobenzene, dinitrofluorobenzene)
- **Eccesso di glucosio** extracellulare

Quindi l'attivazione dell'inflammasoma è rilevante in patologie come l'**amiloidosi**, l'**alzheimer** la **silicosi**, l'**asbestosi**, le **scottature solari**, l'**ipersensibilità** da contatto.

Meccanismi di attivazione endogena dell'inflammasoma

Ancora poco noti

Possono coinvolgere:

1- Fuoriuscita di K^+ ed eccesso di Na intracellulare con squilibrio elettrolitico (può essere indotto da ATP extracellulare)

2 – Rottura dei lisosomi e danno di membrana per azione dei cristalli (urato altri)

3- Effetto dei radicali liberi dell'ossigeno (ROS)

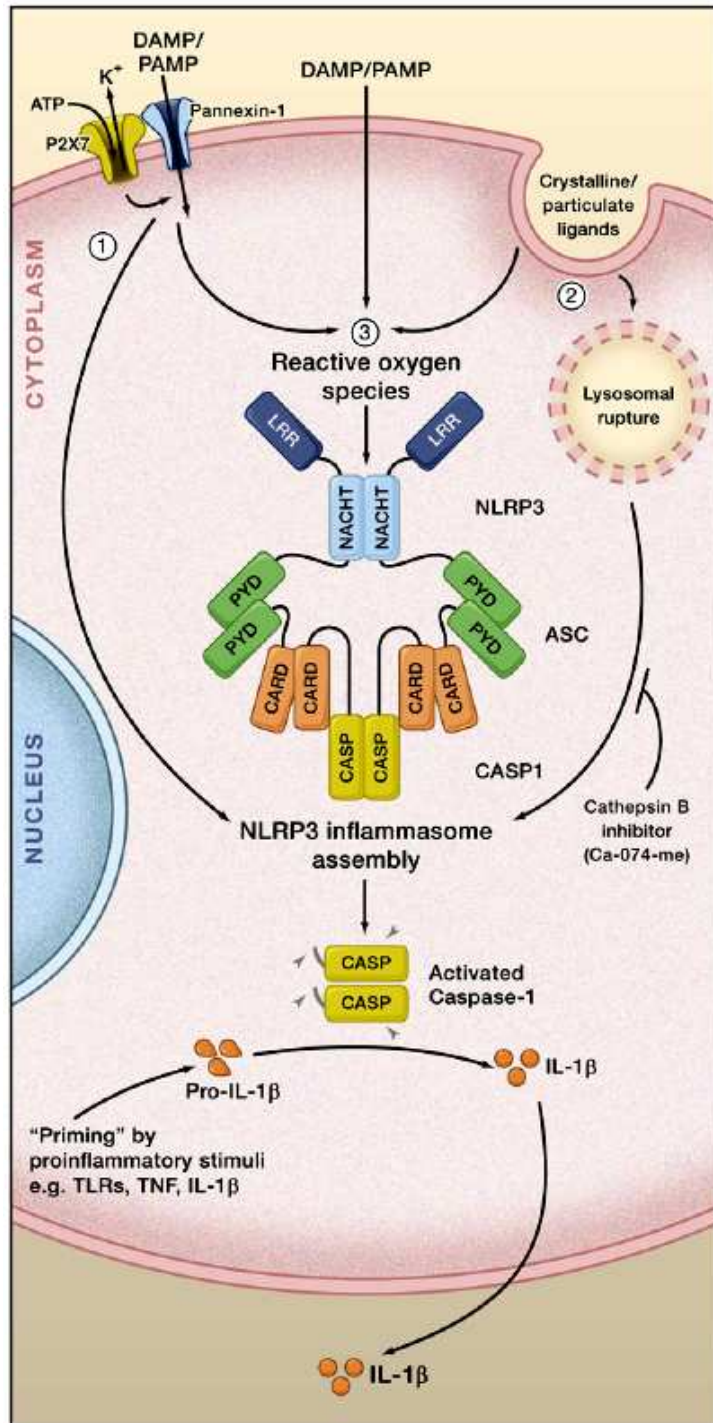
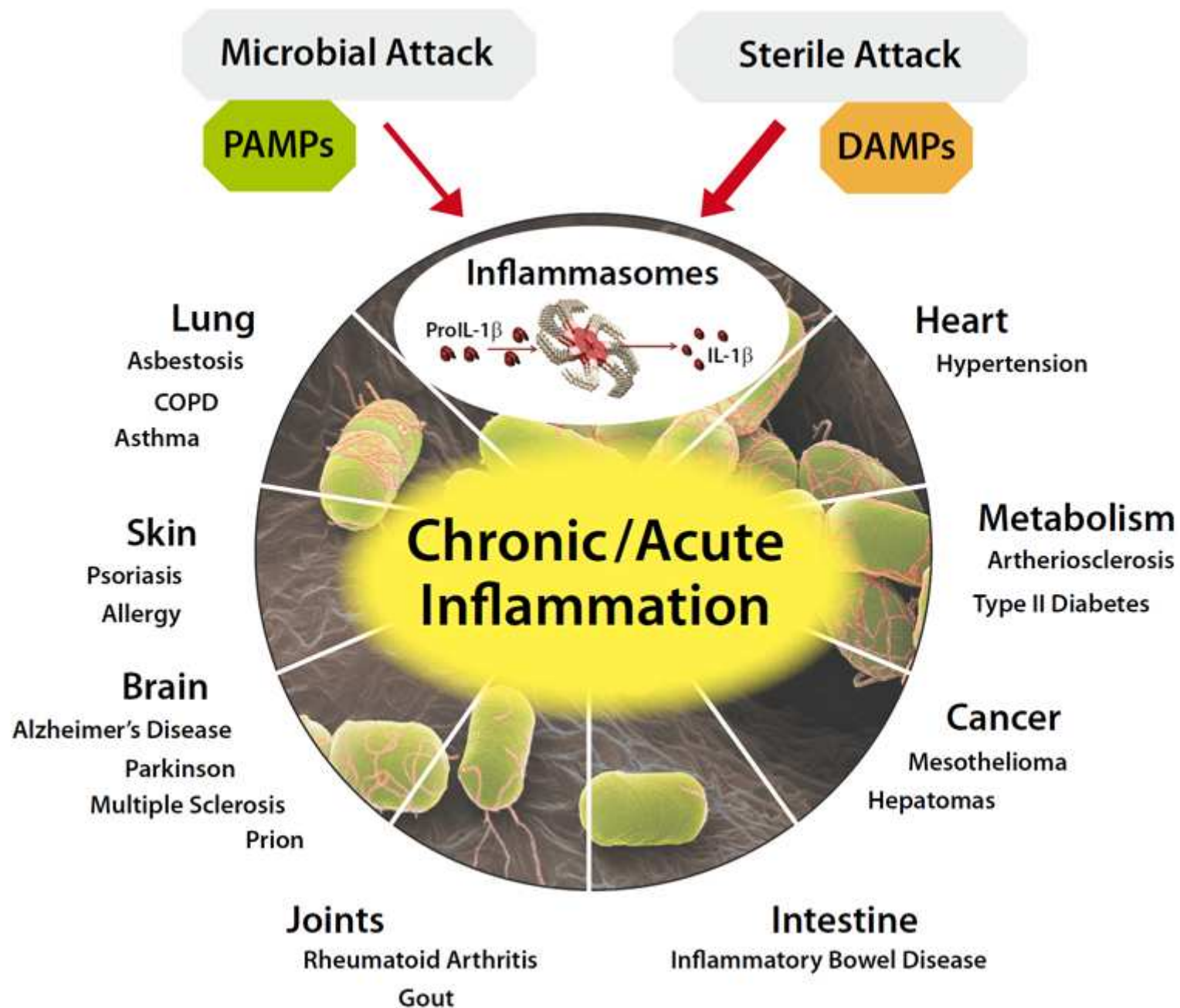


Table 1. NLRP3 inflammasome activators. Details of individual NLRP3 inflammasome activators are reviewed in (24, 25).

Activator class	Activator	Disease associations
Whole pathogen	<i>Candida albicans</i>	Infection
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> *	Infection
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Infection
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Infection
	Influenza virus	Infection
	Sendai virus	Infection
	Adenovirus	Infection
Pathogen-associated molecules	Bacterial pore-forming toxins	Infection
	Hemozoin	Cerebral malaria
Environmental insults	Silica	Silicosis
	Asbestos	Asbestosis
	Skin irritants	Contact hypersensitivity reactions
	Ultraviolet light	Sunburn
Endogenous danger signals	ATP	Injury or necrotic cell death
	Glucose	Metabolic syndrome
	MSU	Gout
	Calcium pyrophosphate dihydrate (CPPD)	Pseudogout
	Amyloid β	Alzheimer's disease
	Hyaluronan	Injury
	Alum	
Adjuvant		

*Viable (52) but not heat-killed (53) *S. cerevisiae* activates the NLRP3 inflammasome.



Patologie ereditarie ed acquisite associate all'attivazione dell'inflammasoma

THE THREE KNOWN FORMS OF CAPS DISORDERS ARE:

- Familial Cold Autoinflammatory Syndrome (FCAS), also known as Familial Cold Urticaria (FCU), or Familial Cold Urticaria Syndrome (FCUS)
- Muckle-Wells Syndrome (MWS)
- Neonatal-Onset Multisystem Inflammatory Disease (NOMID), also known as Chronic Infantile Neurological Cutaneous Articular Syndrome (CINCA).

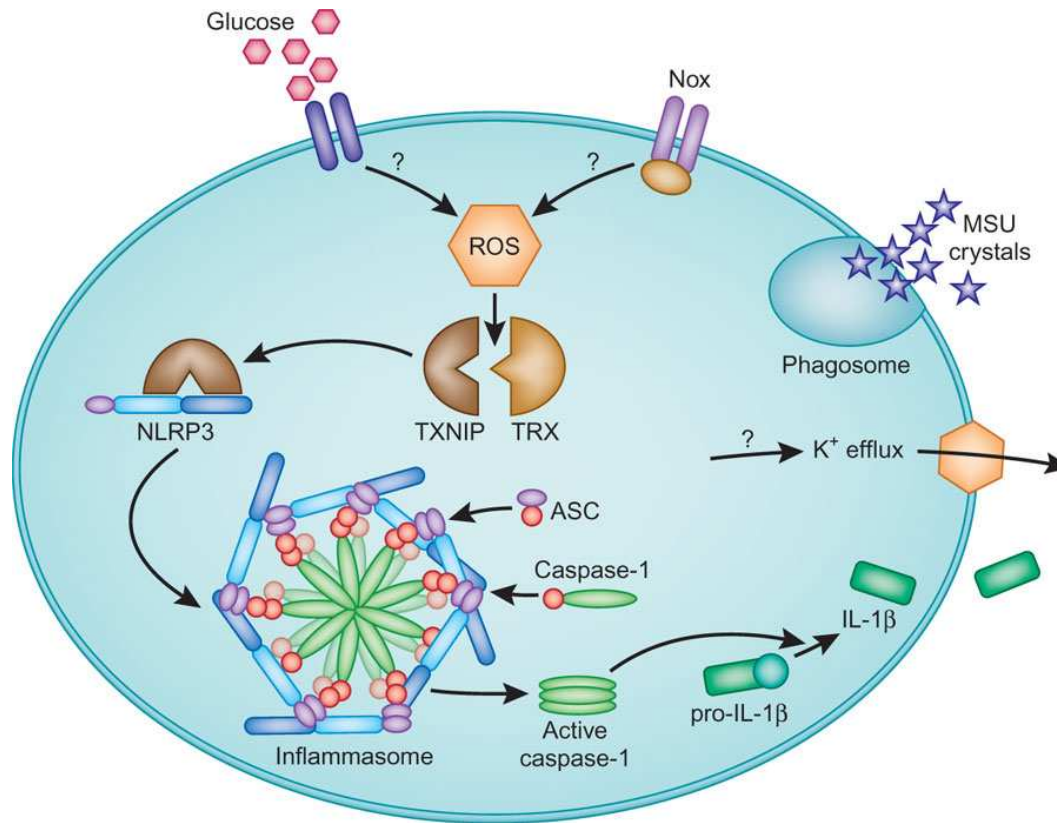
COMMON SYMPTOMS PRESENT IN ALL CAPS DISORDERS:

- Rash
- Periodic Fevers
- Joint Pain
- Headaches
- General Malaise
- Conjunctivitis

Pathologic activation of NLRs/inflammasomes, and associated diseases

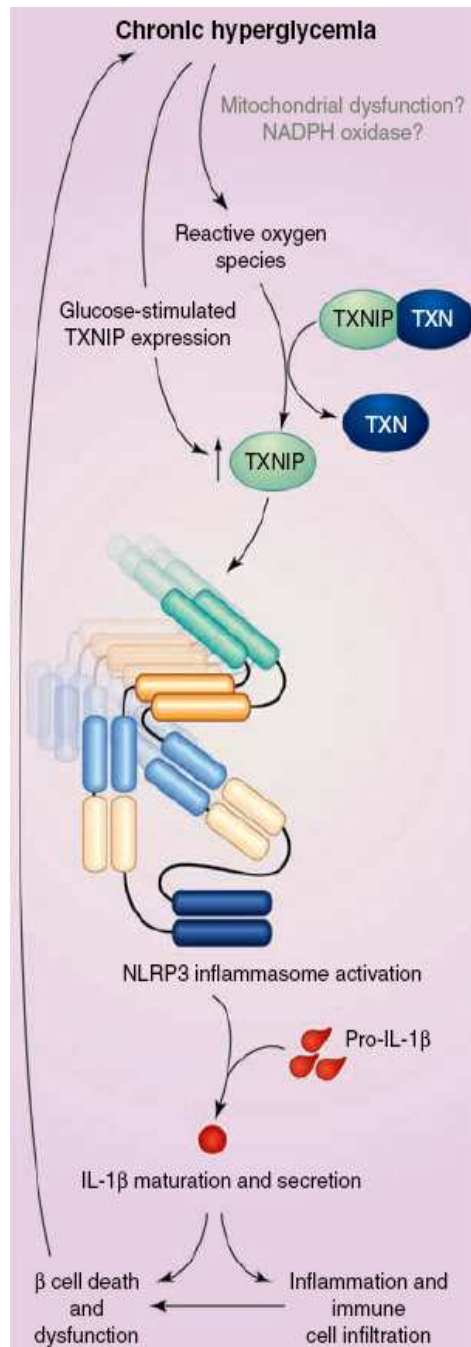
Disease	Responsible factor	Effect
Hereditary periodic fevers		
Cryopyrinopathies (MWS, FCAS, NOMID)	Mutation in <i>CIAS1/NLRP3</i>	Overactive variants of NLRP3, overexpression of NLRP3 leading to facilitated inflammasome activation
FMF	Mutations in <i>MEFV</i> /pyrin	Possible promotion of ASC assembly
NLRP12 familial fever	Truncation mutations in NLRP12	Hereditary periodic fevers associated with arthralgia, and urticaria
Other genetic diseases		
Vitiligo	Mutations in NLRP1	Unknown
Crystal-induced diseases		
Gout	MSU crystals	Activation of the NLRP3 inflammasome
Pseudogout	Calcium pyrophosphate dehydrate	Activation of the NLRP3 inflammasome
Asbestosis	Asbestos	Activation of the NLRP3 inflammasome
Silicosis	Silica	Activation of the NLRP3 inflammasome
Other		
Alzheimer disease	β -Amyloid	Activation of the NLRP3 inflammasome
Contact hypersensitivity	Trinitrochlorobenzene, sodium dodecylsulfate	Activation of the NLRP3 inflammasome

Inflammasoma e sindrome metabolica



Lo “stress metabolico, con elevato glucosio extracellulare può attivare l’inflammasoma.

Quindi la sindrome metabolica con iperglicemia favorirebbe i fenomeni infiammatori con questo meccanismo



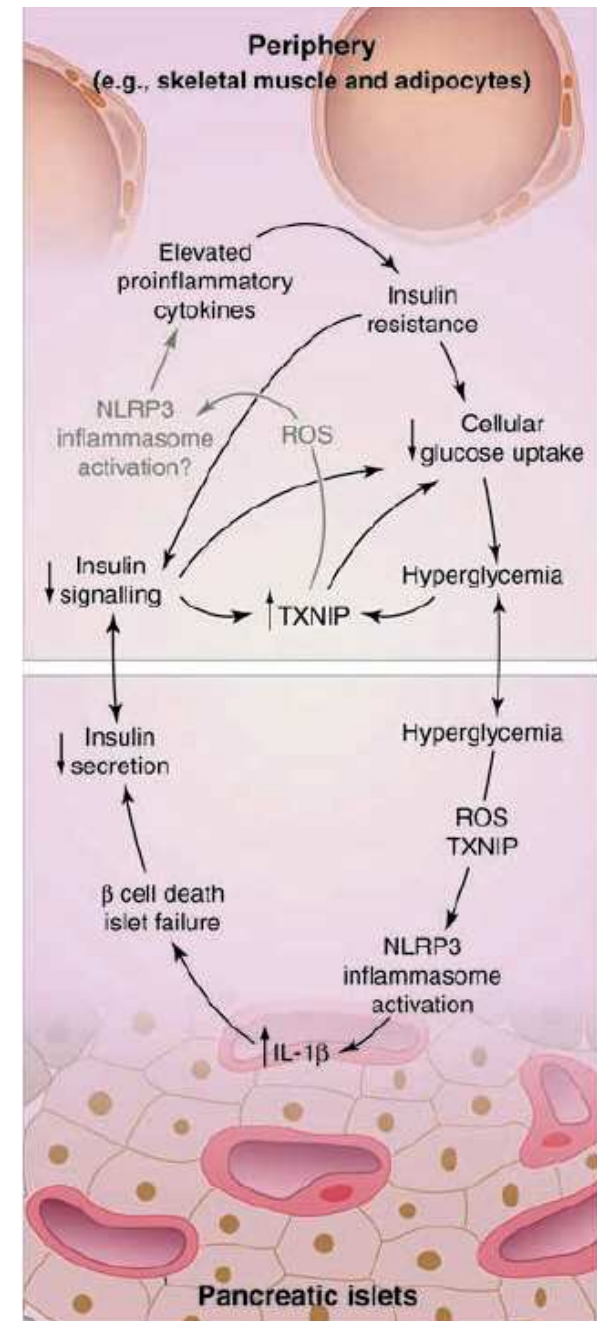
Attivazione dell'inflammasoma per iperglicemia cronica

Conseguenze metaboliche

Danno alle cellule β del pancreas

Minore sensibilità all'insulina (causata da citochine infiammatorie)

Minore secrezione di insulina

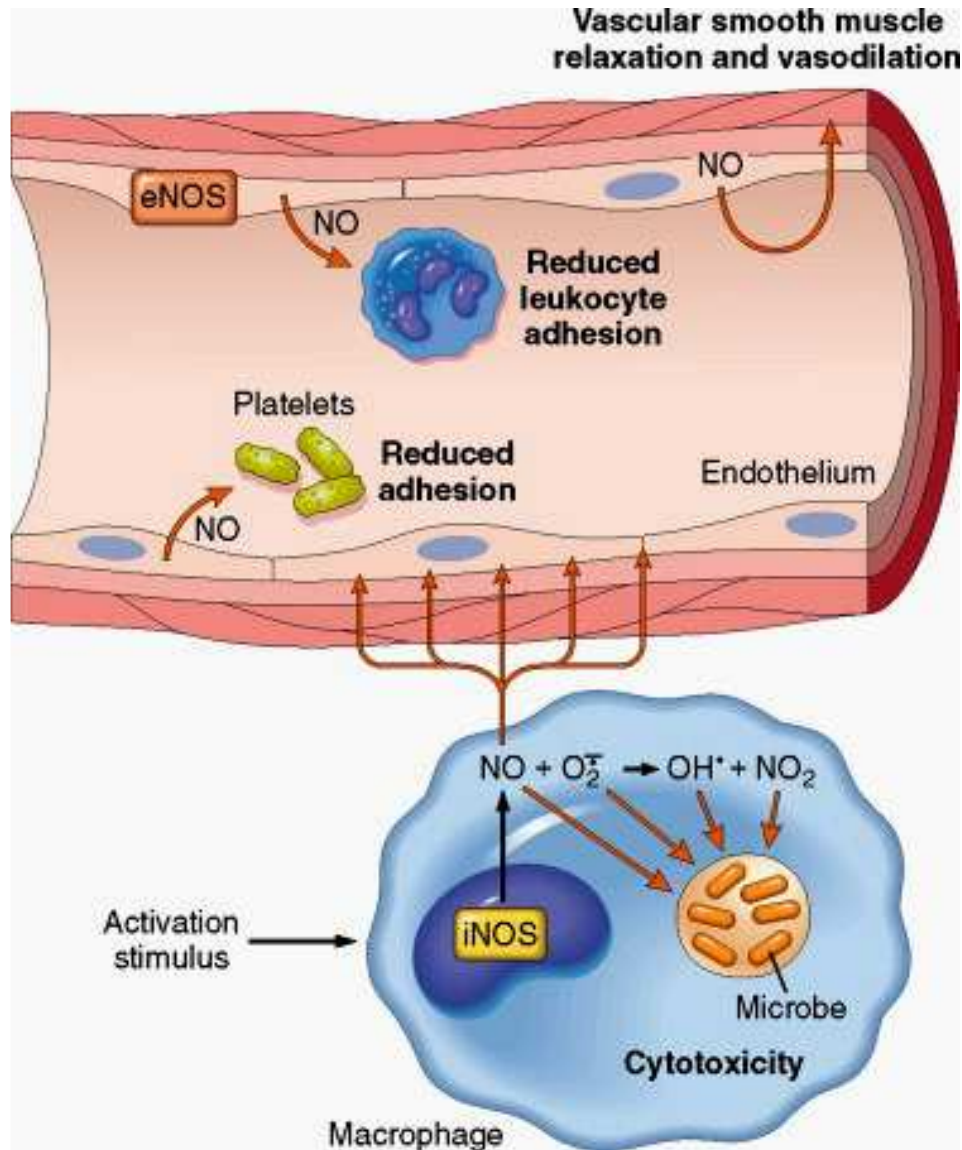


Mediatori sintetizzati de novo

Ossido nitrico (Nitric oxide - NO)

- Prodotto dalla NO sintetasi (NOS)
 - E' espressa costitutivamente in cellule endoteliali e neuroni
E' indotta rapidamente dall'influsso di calcio
 - La NOS inducibile è indotta nei macrofagi da $\text{TNF-}\alpha$ e $\text{IFN-}\gamma$
- Potente vasodilatatore
- Coinvolto nella patogenesi dello shock settico
- Contribuisce all'uccisione dei microbi fagocitati
- Contrasta l'adesione leucocitarie e l'adesione, l'aggregazione e la degranulazione piastrinica

Produzione ed effetti dell'NO



Rilassa la muscolatura liscia

Riduce l'adesione leucocitaria

Riduce l'adesione piastrinica

Radicali liberi dell'ossigeno come mediatori infiammatori

Possono causare

- **Danno endoteliale, con conseguente aumento della permeabilità vascolare**
- **Inattivazione di inibitori delle proteasi**
- **Lesioni ad altre cellule quali eritrociti e cellule parenchimali.**

Mediatori dell' infiammazione loro produzione ed effetti

EFFETTI

MEDIATORE	DERIVAZIONE	Aumento della permeabilità vascolare	Chemiotassi	Altri
Istamina e serotonina	Mastociti, piastrine	+	-	
Bradichinina	Precursore plasmatico	+	-	Dolore
C3a	Proteina plasmatica prodotta dal fegato	+	-	Frammento opsonizzante (C3b)
C5a	Macrofagi	+	+	Adesione e attivazione dei leucociti
Prostaglandine	Mastociti, dai fosfolipidi di membrana	Potenziano l'azione di altri mediatori	-	Vasodilatazione, dolore, febbre
Leucotriene B ₄	Leucociti	-	+	Adesione e attivazione dei leucociti
Leucotrieni C ₄ , D ₄ , E ₄	Leucociti, mastociti	+	-	Broncocostrizione, vasocostrizione
Metaboliti dell'ossigeno	Leucociti	+	-	Danno endoteliale, danno tissutale
PAF	Leucociti, mastociti	+	+	Broncocostrizione, "priming" dei leucociti
IL-1 e TNF	Macrofagi, altri	-	+	Reazioni della fase acuta, attivazione endoteliale
Chemochine	Leucociti, altri	-	+	Attivazione dei leucociti
Ossido di azoto	Macrofagi, endotelio	+	+	Vasodilatazione, citotossicità

Effetto / Mediatore

VASODILATAZIONE

- Prostaglandine
- Ossido di azoto

AUMENTO DELLA PERMEABILITÀ VASCOLARE

- Amine vasoattive
- C3a e C5a (attraverso la liberazione di amine)
- Bradichinina
- Leucotrieni C₄, D₄, E₄
- PAF
- Sostanza P

CHEMIOTASSI, ATTIVAZIONE DEI LEUCOCITI

- C5a
- Leucotriene B₄
- Chemochine
- Prodotti batterici

FEBBRE

- IL-1, IL-6, TNF
- Prostaglandine

DOLORE

- Prostaglandine
- Bradichinina

DANNO TESSUTALE

- Enzimi lisosomiali dei neutrofili e dei macrofagi
- Metaboliti dell'ossigeno
- Ossido di azoto

ESSUDATO INFIAMMATORIO ACUTO: FUNZIONI

- **La presenza di fluido e di sali può diluire o tamponare tossine prodotte localmente nell'area del danno tissutale, diffondere nell'area glucosio ed ossigeno, diffondere i mediatori del processo infiammatorio.**
- **La fibrina forma una rete in grado di delimitare i microrganismi impedendone la diffusione.**
- **Le immunoglobuline ed alcuni componenti del complemento attivato determinano l'opsonizzazione dei microrganismi.**
- **L'essudato viene riassorbito dai vasi linfatici agevolando il trasporto degli antigeni ai linfonodi (risposta immunitaria specifica).**

Coinvolgimento dei vasi linfatici

La circolazione linfatica aumenta quando c'è edema ed essudato

La circolazione linfatica può trasportare l'agente lesivo, chimico o microbico.

I linfatici possono infiammarsi (*linfangite*) e possono portare l'infiammazione ai linfonodi (*linfadenite satellite*), dove peraltro è la sede della reazione immunitaria

Nei linfonodi si avrà infiammazione e iperplasia dei follicoli e dei fagociti che rivestono i seni linfonodali



Quadri morfologici dell'infiammazione acuta

A seconda della causa, dell'intensità del danno e della natura del tessuto interessato *le infiammazioni acute possono assumere diversi aspetti, in base all'essudato prodotto*

Infiammazione purulenta

Infiammazione sierosa

Infiammazione fibrinosa

Infiammazione siero fibrinosa

Infiammazione catarrale o mucosa

Infiammazione emorragica e necrotico-emorragica

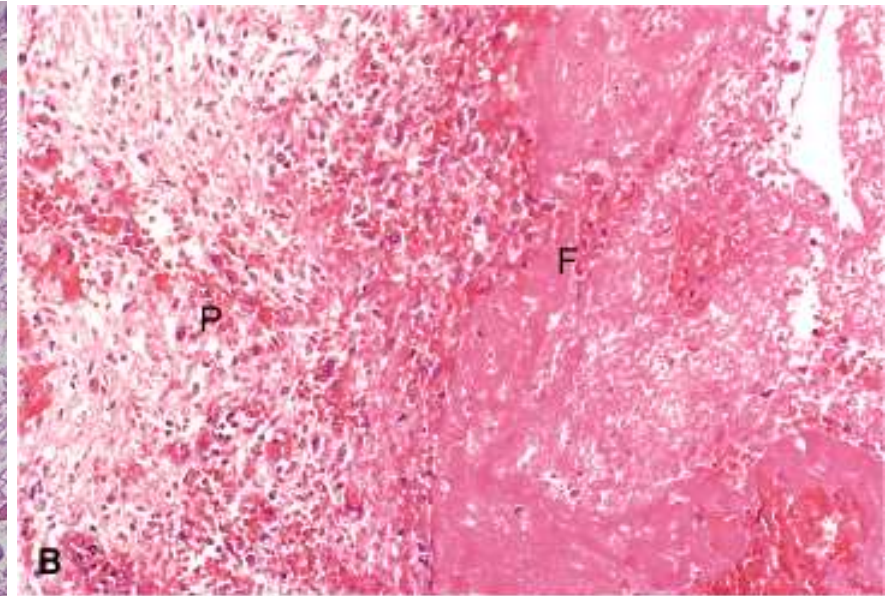
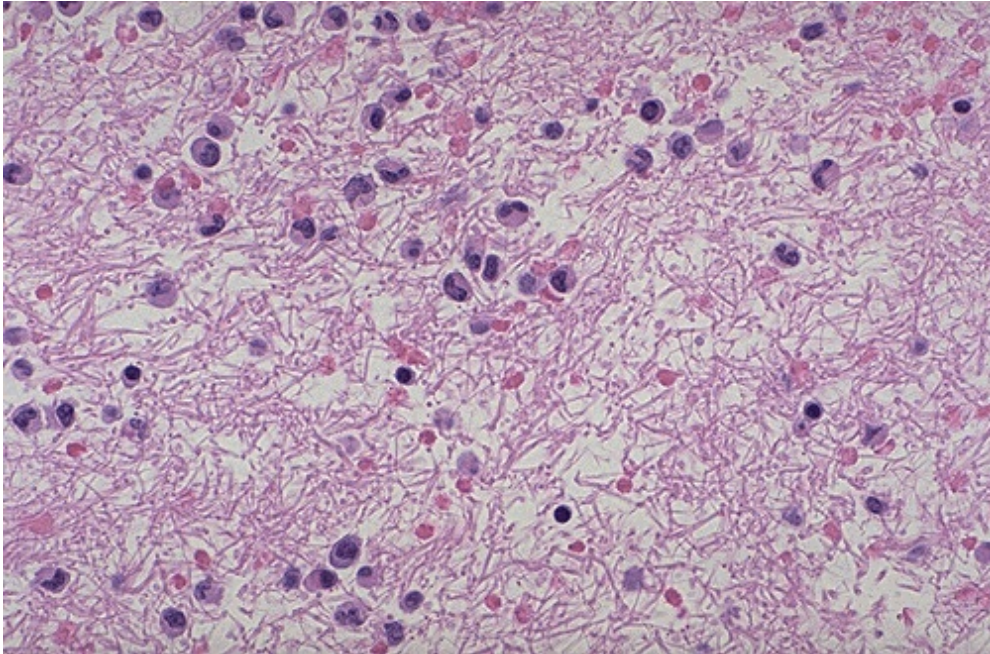
Infiammazione allergica

Essudato sieroso



L'essudato sieroso, è un fluido chiaro che fuoriesce dai vasi nelle prime fasi dell'infiammazione. Ha un moderato contenuto proteico e poche cellule

Essudato Fibrinoso



© Elsevier 2005

Contiene grandi quantità di fibrina. Si forma a volte nelle cavità sierose. Causa gli “sfregamenti” pleurici, pericardici. Presente anche nelle vasculiti

- Se non si risolve rapidamente si può formare una rete spessa e viscosa di tessuto fibroso.**
- Questa oblitera le cavità e *produce aderenze* tra organi che in precedenza erano scorrevoli (pericardio, pleura ed anse intestinali).**



Essudato fibrinoso pericardico

Lesioni erpetiche: essudato fibrinoso



Infiammazione purulenta

Pus o essudato purulento: essudato infiammatorio ricco di leucociti (soprattutto neutrofili) e detriti di cellule parenchimali denso e viscoso per necrosi e liberazione del DNA.

Ascesso è la raccolta di pus in cavità neofomata a causa del processo infiammatorio ed della necrosi.

Se si raccoglie in cavità preformate si parla di: **Piotorace** (cavo pleurico); **Pioperitoneo** (cavità peritoneale); **Piopericardio** (cavità cardiaca); **Piocele** (vaginale del testicolo); **Pioarto** (cavità articolare).

Empiemi: raccolte di pus in cavità non comunicanti con l'esterno. Es colecisti.

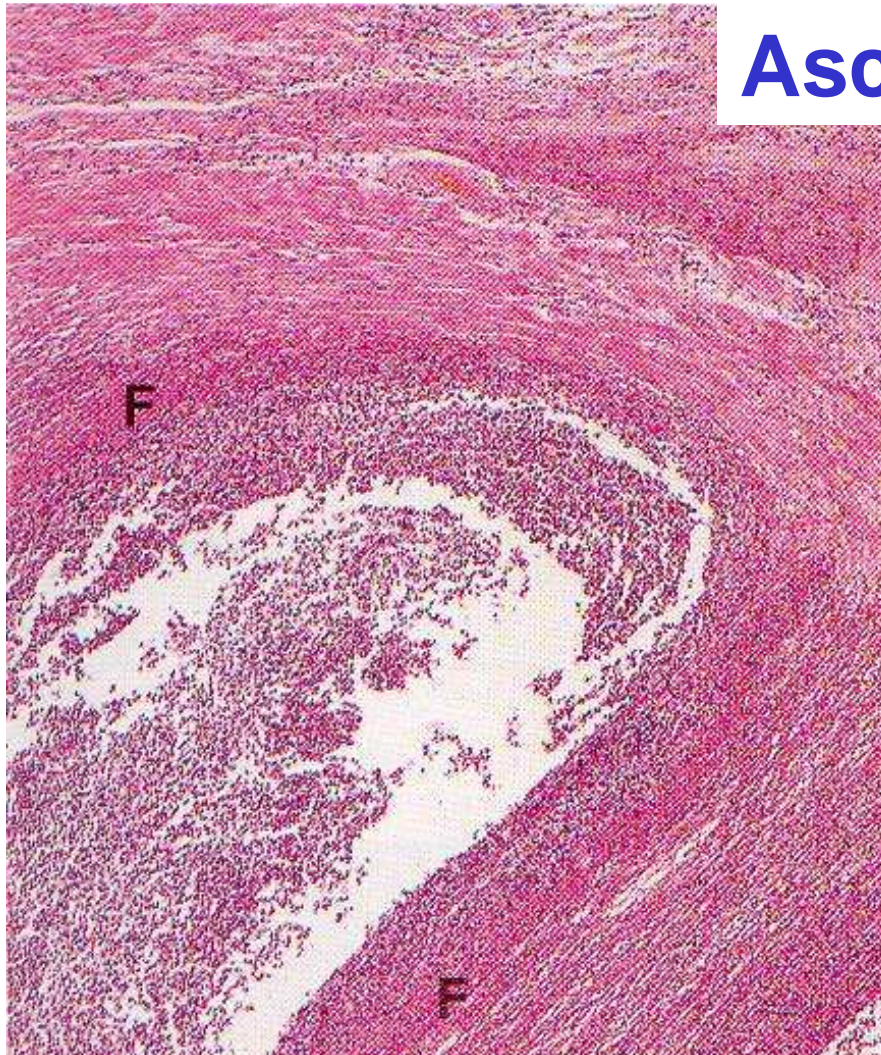
Si parla di **Flemmone** quando l'infiammazione purulenta non rimane circoscritta, ma tende a diffondersi nel tessuto, ove invade facendosi strada lungo le guaine tendinee, le borse sierose ed i fasci muscolari.



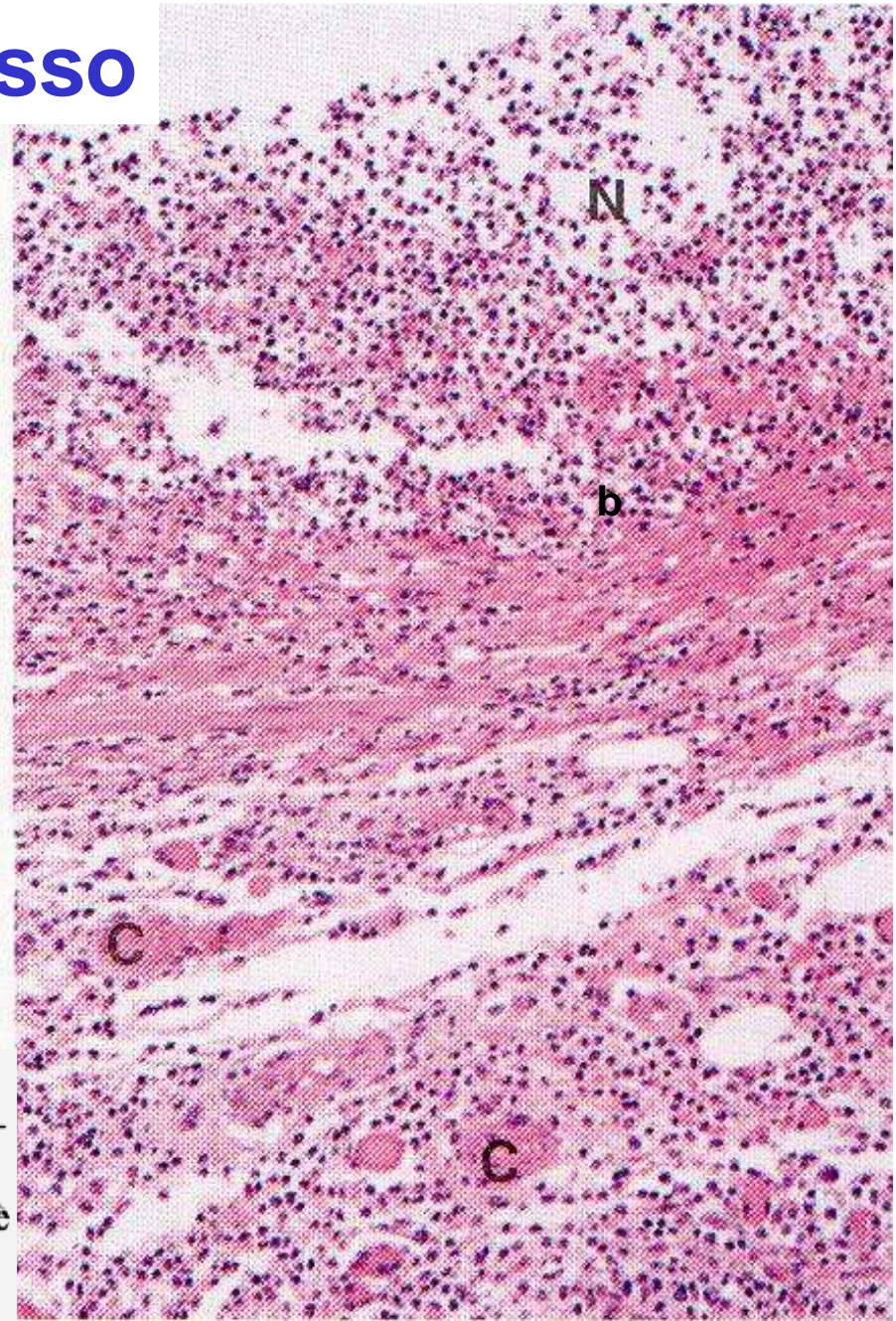
Essudato purulento

Pericardio

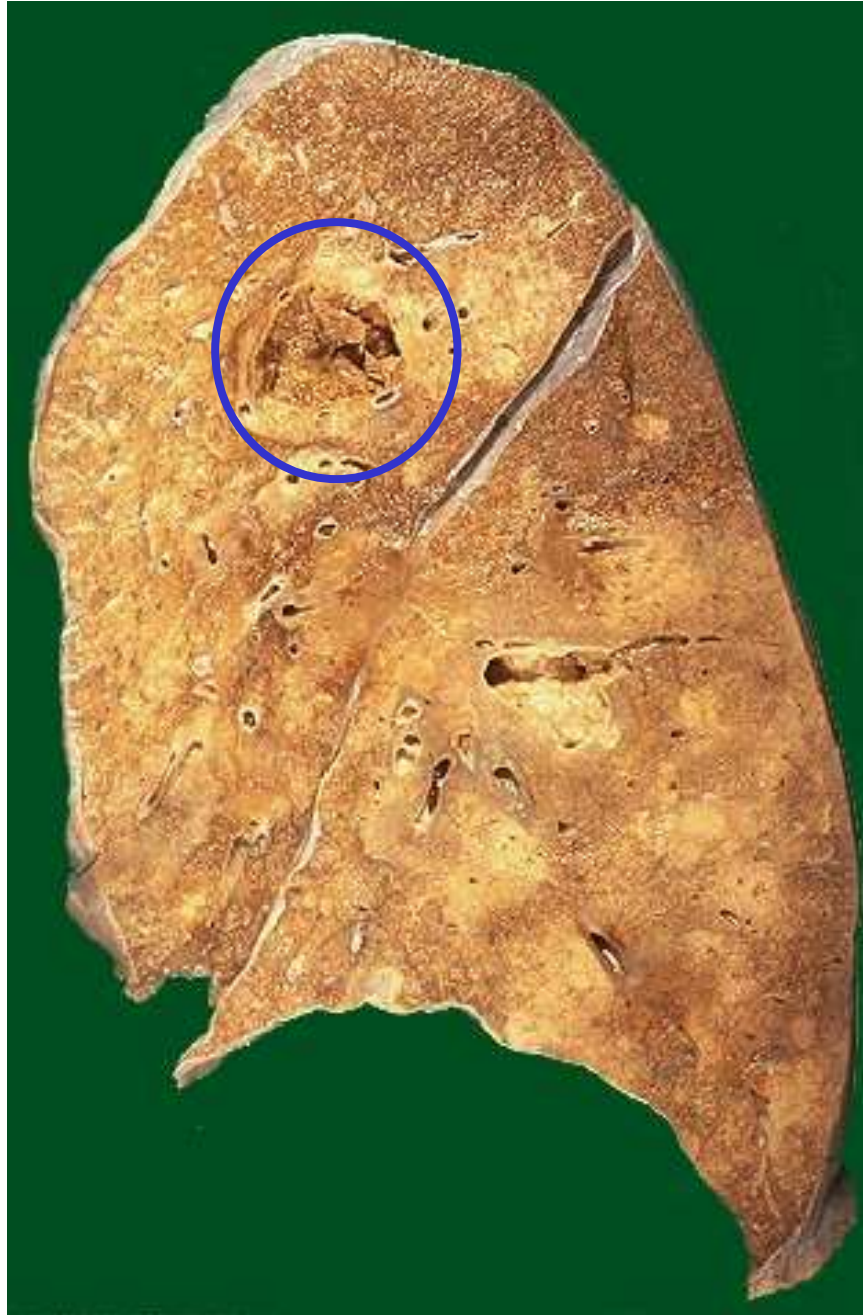
Ascesso



La microfotografia (a) mostra un ascesso nella parete del colon. Al centro è presente il pus iperbasofilo. Sul margine vi è una banda eosinofila di fibrina **F**. Ancora non si evidenziano processi organizzativi ai margini dell'ascesso, che è pertanto un ascesso acuto. La microfotografia (b) mostra a più forte ingrandimento la parete e la cavità dell'ascesso, in cui sono presenti i neutrofili **N** e detriti tissutali e, nel tessuto di granulazione della parete, i capillari **C**.



Ascesso

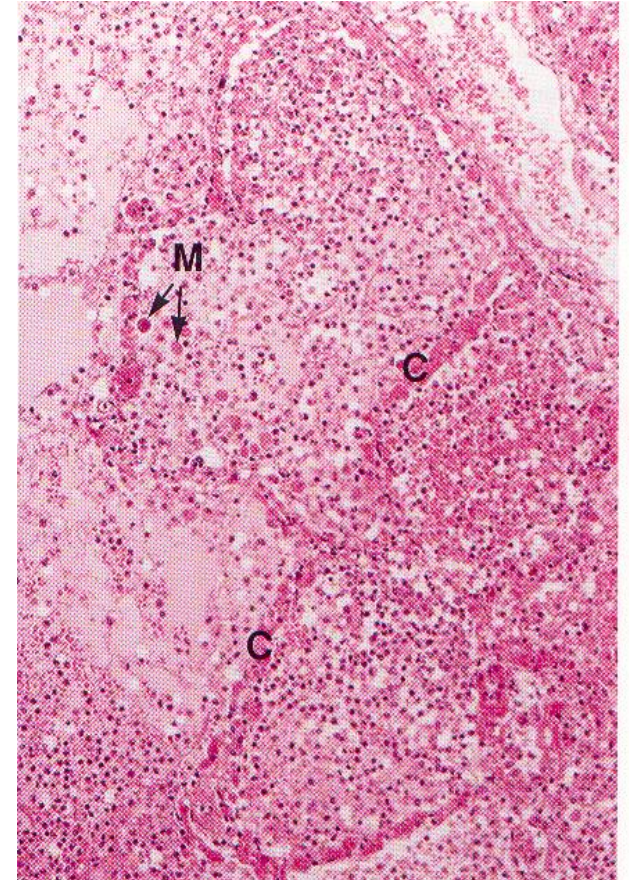
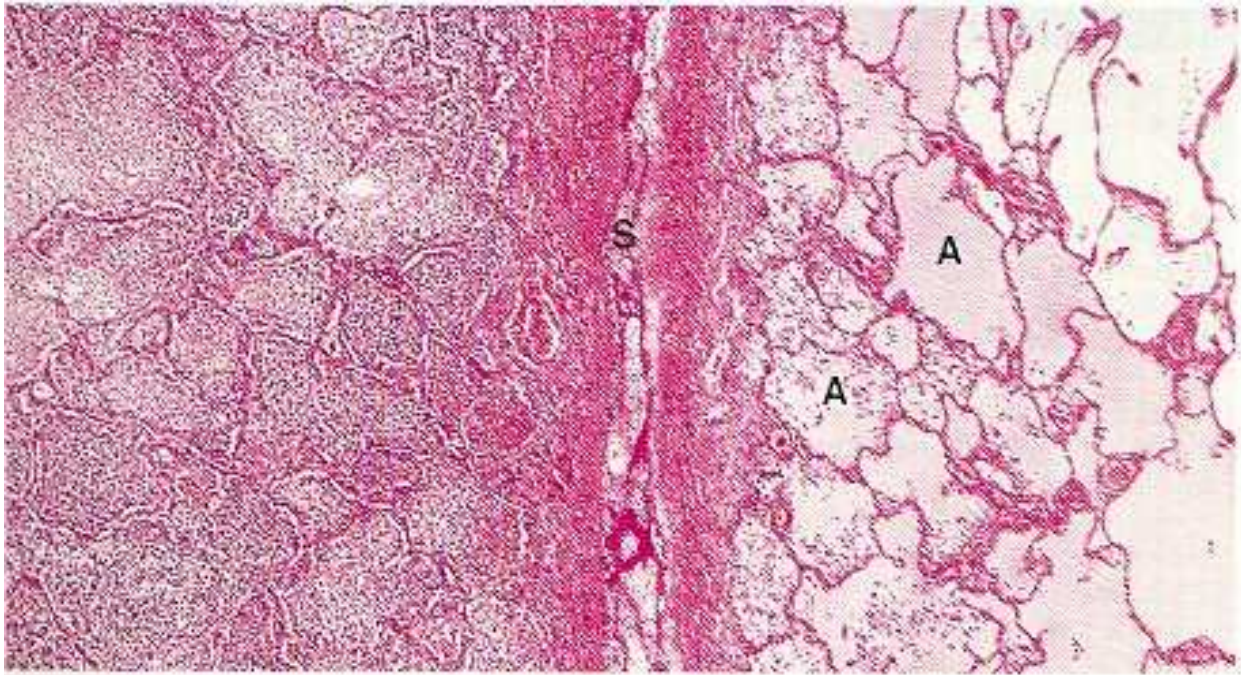


Essudato membranoso, contiene materiale fibrinoso e cellule necrotiche, tipico delle infezioni microbiche.

Essudato emorragico, contiene grandi quantità di globuli rossi e si verifica quando vengono danneggiati dei vasi sanguigni.

Essudato mucoso, contiene grandi quantità di muco e cellule epiteliali, evidenziabile nelle infiammazioni delle mucose *dell'albero respiratorio*, nella *rinite allergica* e nel *raffreddore*.

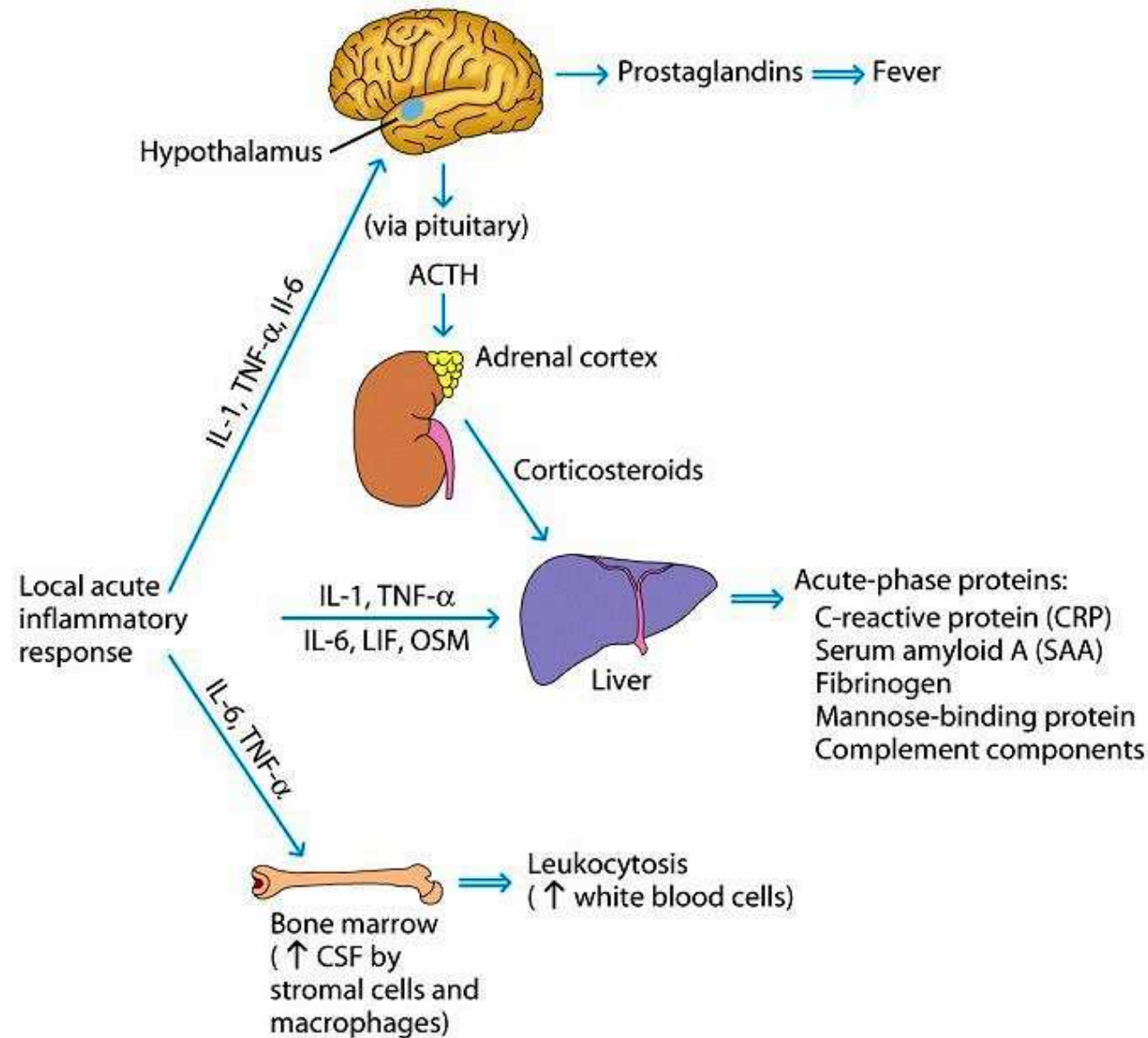
Polmonite Lobare



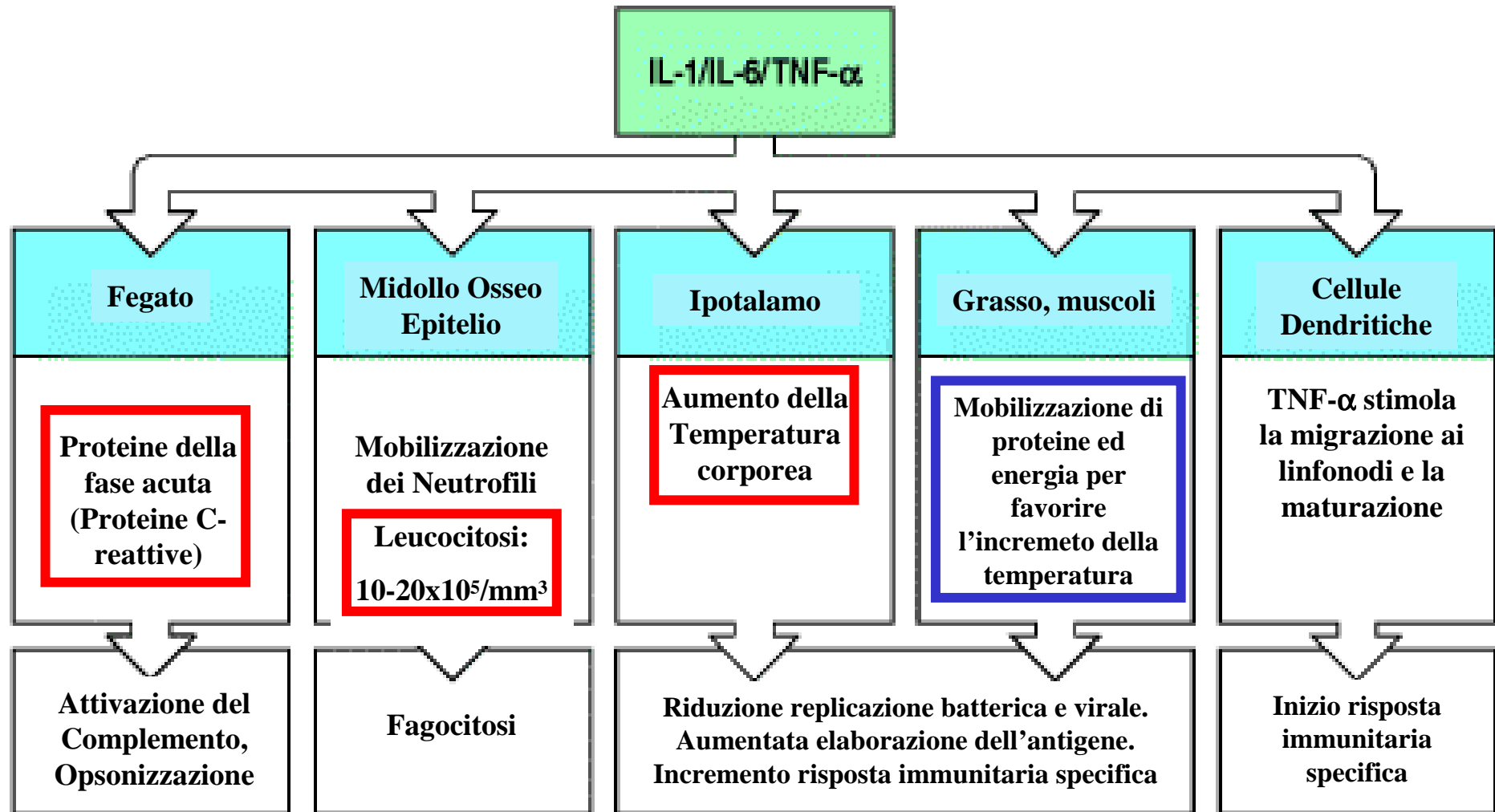
A: alveolo, S:scissura inter lobulare, C: capillari, M: macrofago

Epatizzazione

Effetti sistemici dell'infiammazione

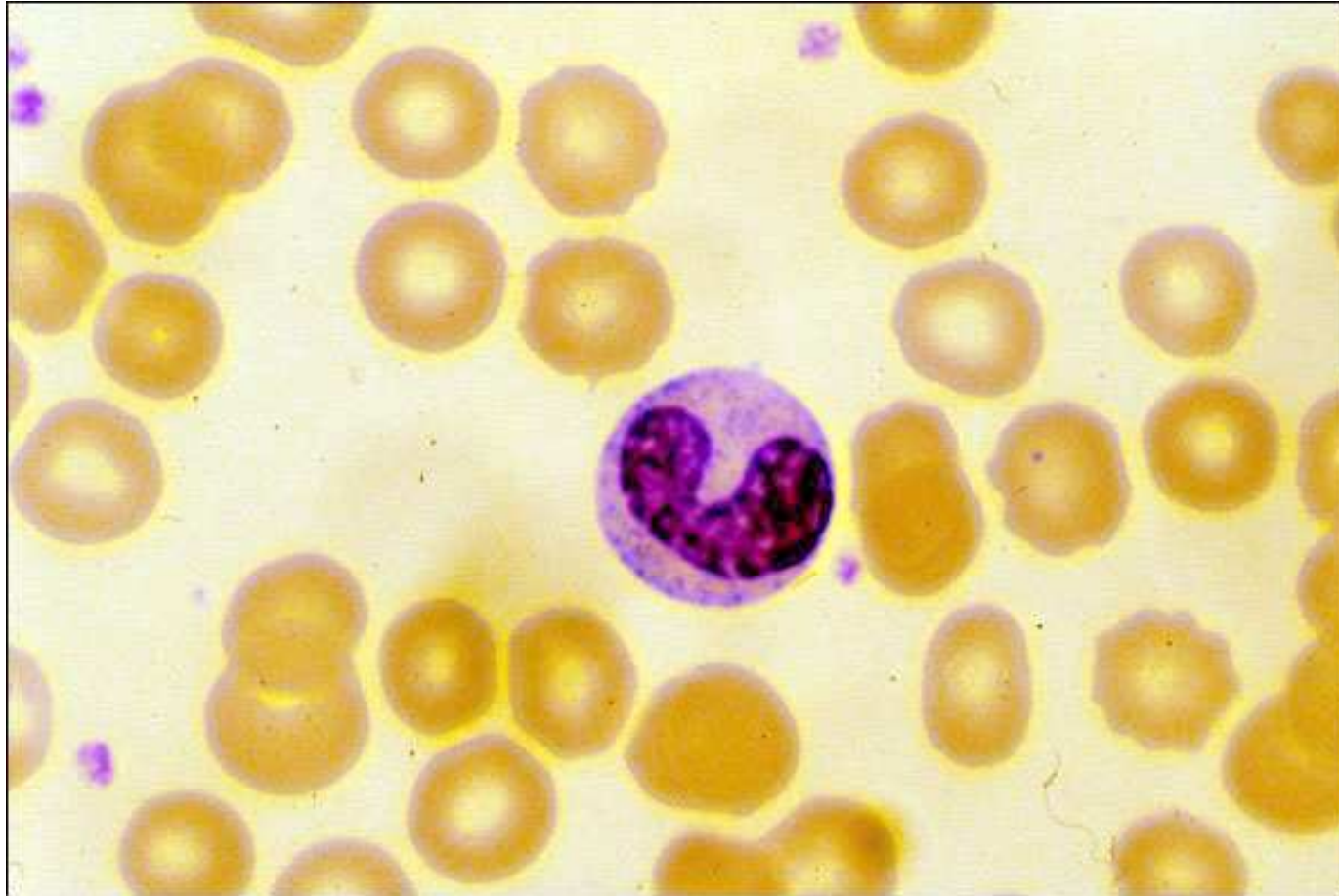


Effetti sistemici delle citochine



Citochine +/- endotossine possono dare SHOCK

Leucocitosi e “Spostamento a sinistra” della maturazione dei granulociti

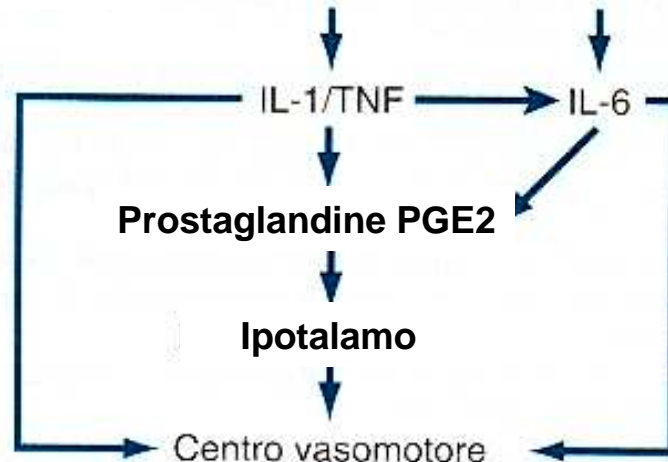


Dovuto alla stimolazione della produzione di leucociti

Induzione della febbre

**Pirogeni
esogeni**

INFEZIONI, TOSSINE,
IMMUNOCOMPLESSI, NEOPLASIE



**Pirogeni
endogeni**



Febbre e centro termoregolatore

Il centro termoregolatore produce l'aumento della temperatura agendo a due livelli:

- 1. Riduce la termodispersione inducendo vasocostrizione cutanea attraverso fibre del sistema simpatico.**
- 2. Aumenta la termogenesi con:**
 - aumento delle ossidazioni e dissociazione della fosforilazione ossidativa,**
 - induzione di brividi, ovvero la contrazione involontaria e incoordinata delle fibre muscolari scheletriche.**

Proteine della fase acuta (PFA)

Sono proteine la cui concentrazione plasmatica aumenta in seguito a eventi infiammatori

Proteine precedentemente non presenti o scarsamente presenti

-Proteina C reattiva (PCR)

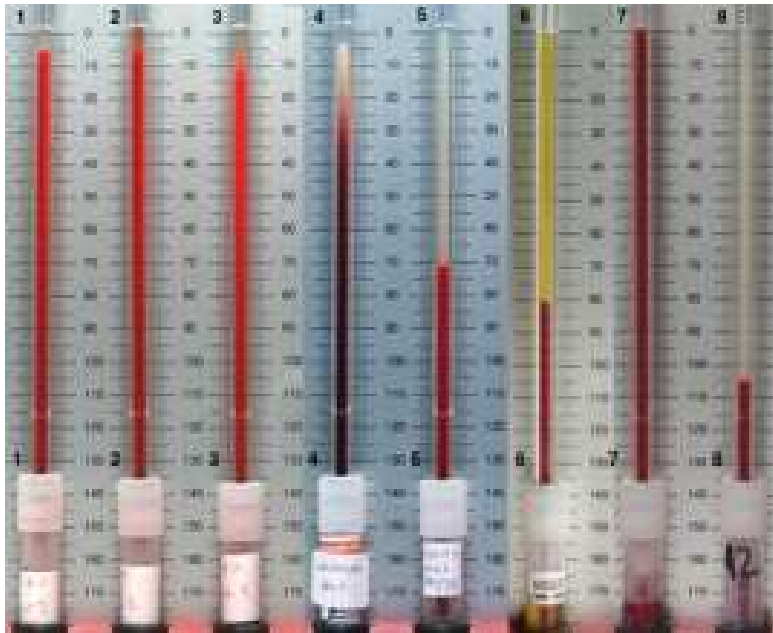
**Opsonizza, si lega alla parete batterica, lega il frammento C1 e attiva il complemento
aumenta la fagocitosi, la chemiotassi e l'attività di macrofagi e granulociti, aumenta
l'attività NK**

•Siero amiloide A (inibisce IL1 e TNF e il burst ossidativo)

•Siero amiloide P

Aumento di proteine già presenti

- α_2 -macroglobulina, α_2 -antiplasmina, α_1 -antitripsina
- aptoglobina, ceruloplasmina
- fibrinogeno, fibronectina
- la proteina legante il componente C1 e C4 del complemento
- α_1 -glicoproteina acida
- Proteina legante il mannosio
- Proteina inibente il PAF



Determinazione della VES

**L'aumento della VES è un indicatore non specifico di stato infiammatorio
E' dovuto alle proteine della fase acuta, in particolare fibrinogeno e fibronectina**



Riduzione di proteine

Albumina

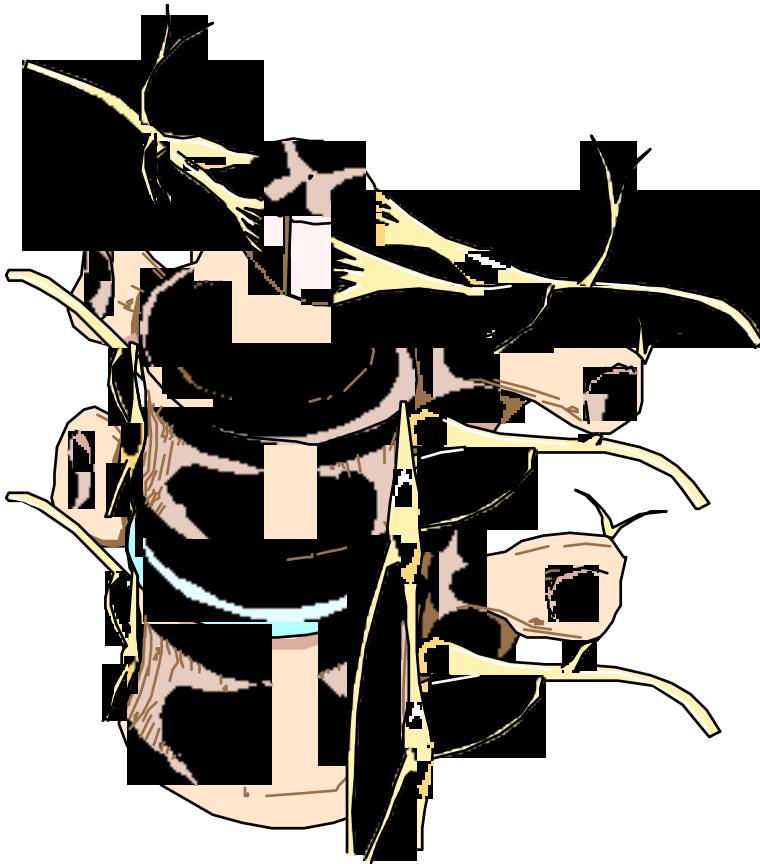
Transferrina

Variazioni di cationi

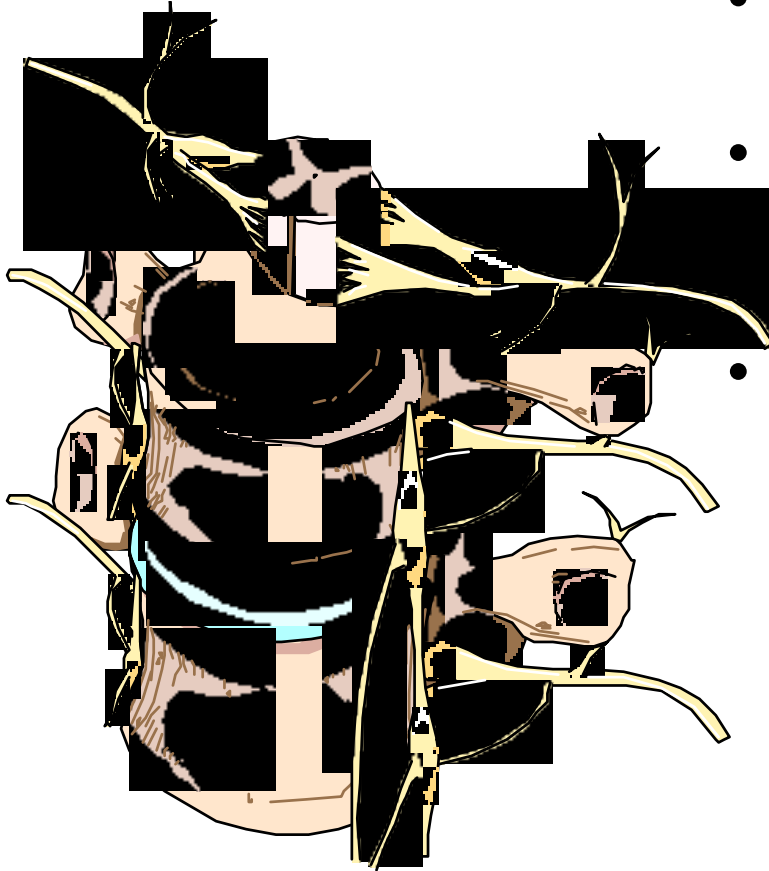
- < Fe: deposizione nei tessuti e < transferrina**
- > Cu: <ceruloplasmina**
- < Zn: redistribuzione ai tessuti (IL1)**

Il Dolore

- Dipende dall'azione di mediatori chimici capaci di stimolare le terminazioni nervose sensitive:
 - Chinine
 - Prostaglandine, riducono la soglia di risposta ad altre sostanze quali le chinine.
 - Acetilcolina
 - K^+ , acidosi locale
- E' dovuto anche alla pressione esercitata sulle terminazioni nervose sensitive dall'essudato.



Il Dolore



- La sensazione di dolore è regolata da centri del sistema nervoso centrale.
- La percezione del dolore associata al danno è soggettiva, quindi influenzata dall'ambiente esterno.
- La diversa percezione del dolore può essere dovuta ad un diverso rilascio di ENDORFINE, antidolorifici oppiacei endogeni.

Infiammazione e sistema nervoso

- **Il sistema nervoso sensitivo contribuisce ad alcune manifestazioni infiammatorie**
- **Neuropeptidi coinvolti nel processo infiammatorio:**
 - **Sostanza P**
 - **Peptide correlato al gene della calcitonina**
 - **Somatostatina**
 - **Peptide intestinale vasoattivo**
 - **Neurochinina A**
 - **Neurochinina B**

Infiammazione e risposta sistemica allo stress

L'infiammazione con le principali citochine IL1 e $\text{TNF}\alpha$ e con le prostaglandine, influenza il SNC, in particolare l'ipotalamo

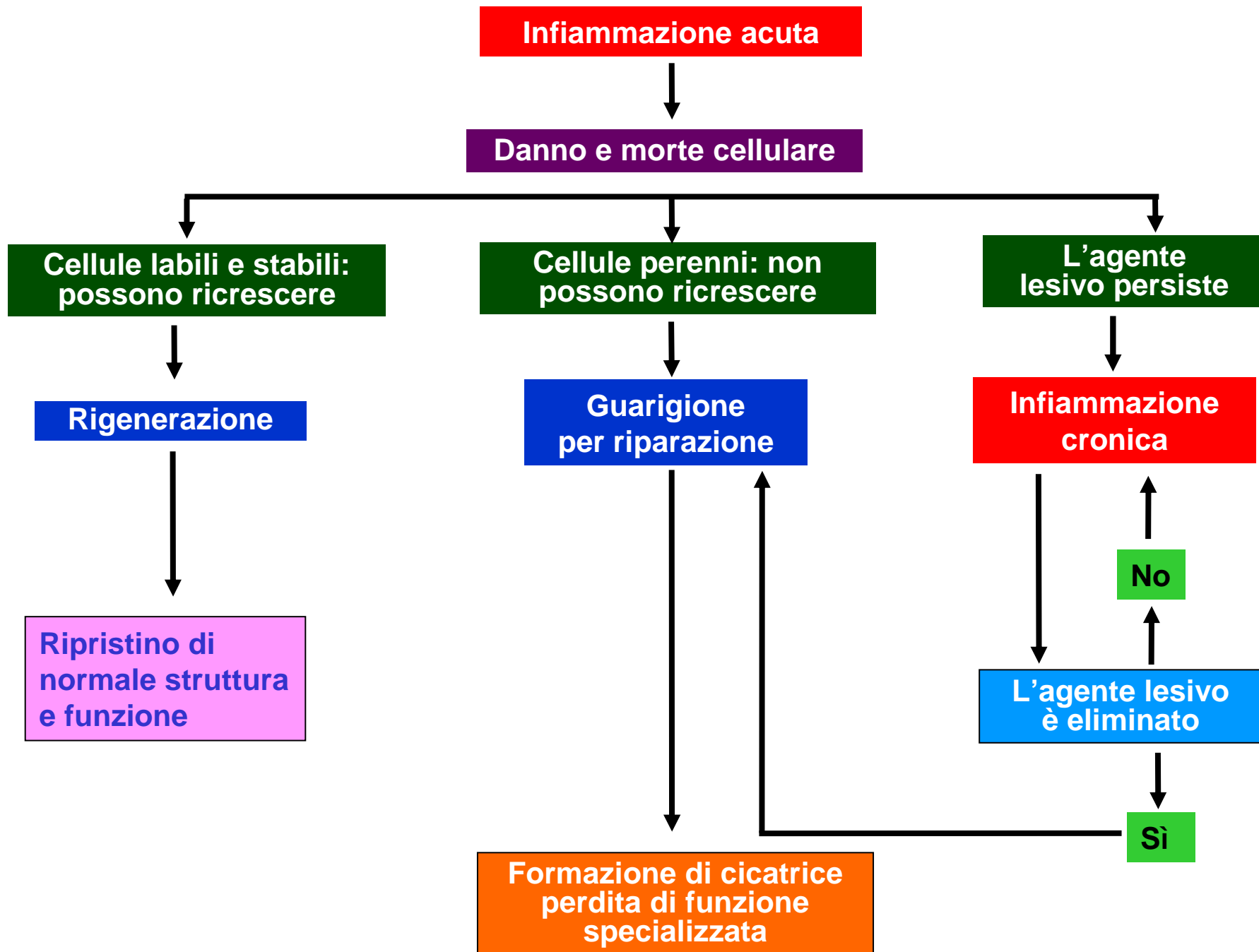
Gli effetti, oltre alla febbre, comprendono *astenia, adinamia, sonno e modificazioni metaboliche*.

Per questi effetti è importante la produzione ipotalamica di CRH, che stimola la produzione di ACTH, “l'ormone da stress”.

L'ACTH causa la produzione di ormoni corticosteroidi (cortisolo) a livello surrenalico

L'effetto è antiinfiammatorio, iperglicemizzante, catabolico sulle proteine, di mobilizzazione dei lipidi





Evoluzione dell'infiammazione

