

Cambiamenti emodinamici nell'angioflosi

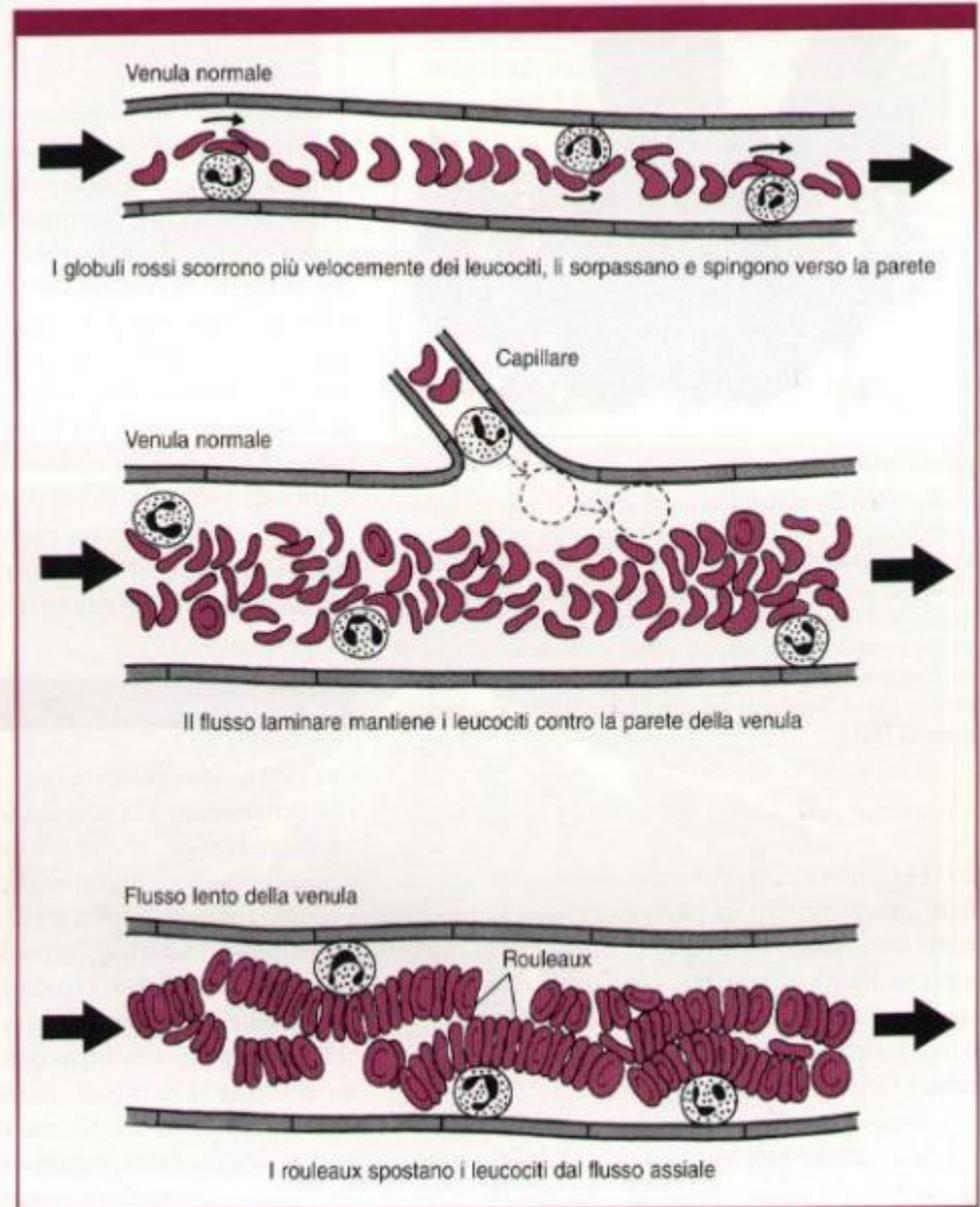
1. Vasodilatazione= aumento del flusso ematico= calore e arrossamento
2. Riduzione del flusso per aumentata permeabilità vascolare; fuoriuscita di un liquido ricco in proteine (essudato)= edema
3. Aumento della viscosità del sangue dovuto alla perdita di liquidi= STASI che favorisce la marginazione dei leucociti

FASE CELLULARE DELL' INFIAMMAZIONE

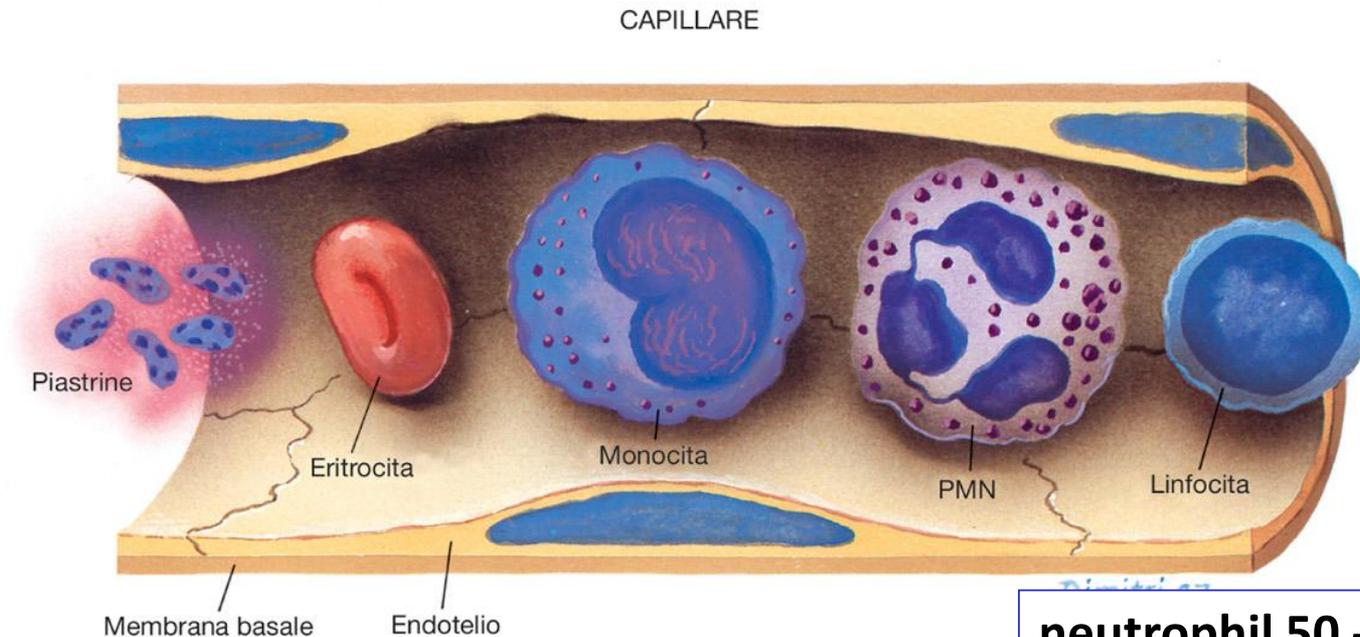
Nel microcircolo di un distretto infiammato si verifica stasi ematica

Stasi: il flusso è rallentato per aumento della concentrazione di globuli rossi nei piccoli vasi ed aumento della viscosità del sangue.

I leucociti, soprattutto **neutrofili**, si accumulano lungo l'endotelio vascolare. Nelle fasi successive aderiscono all'endotelio e migrano attraverso la parete del vaso



La migrazione dei leucociti dal sangue ai tessuti durante l'inflammation avviene principalmente a livello delle venule postcapillari dove le forze di scorrimento indotte sulla parete del vaso dal moto del sangue sono minori. La vasodilatazione, rallentando il flusso, favorisce ulteriormente la marginazione.



Rubin, Patologia

neutrophil 50 - 70 %
eosinophil 2 - 4 %
basophil 0,5 - 1 %
lymphocyte 20 - 40 %
monocyte 3 - 8 %

Fase cellulare dell'inflammatione acuta

Nell'inflammatione acuta, vi sono fenomeni che coinvolgono cellule del sangue. La cellula più coinvolta è il **polimorfonucleato neutrofilo**

- A. Marginazione dei leucociti
- B. Diapedesi/migrazione
- C. Chemiotassi
- D. Fagocitosi

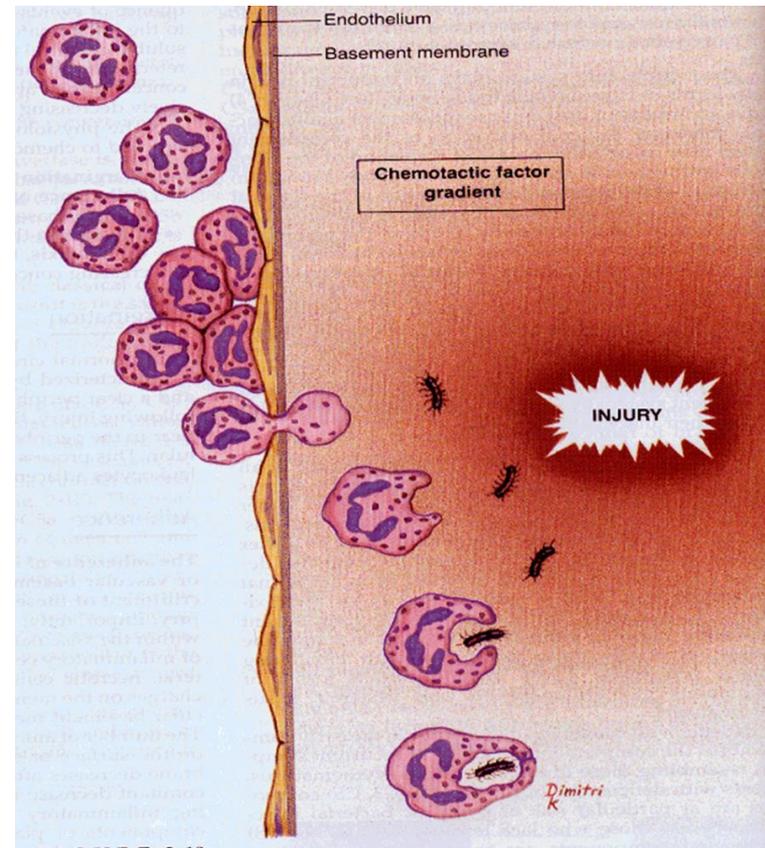
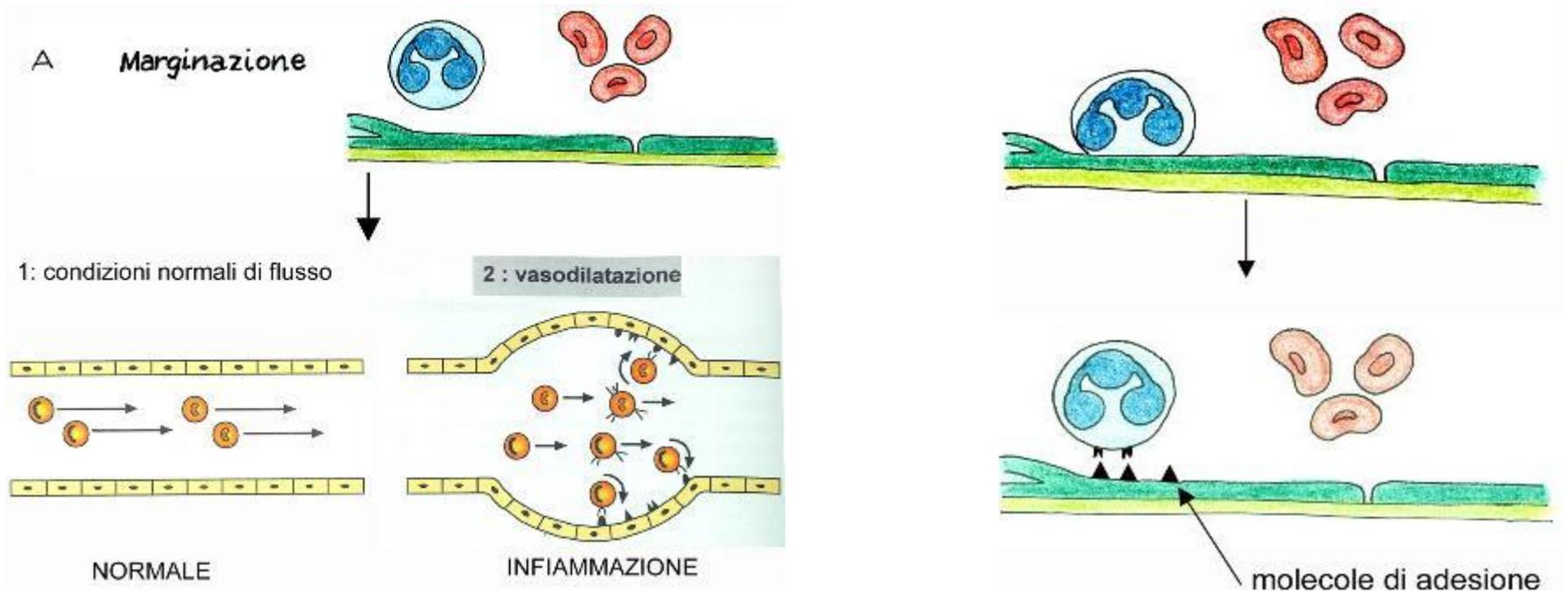


FIGURE 3.18

Marginazione e Adesione



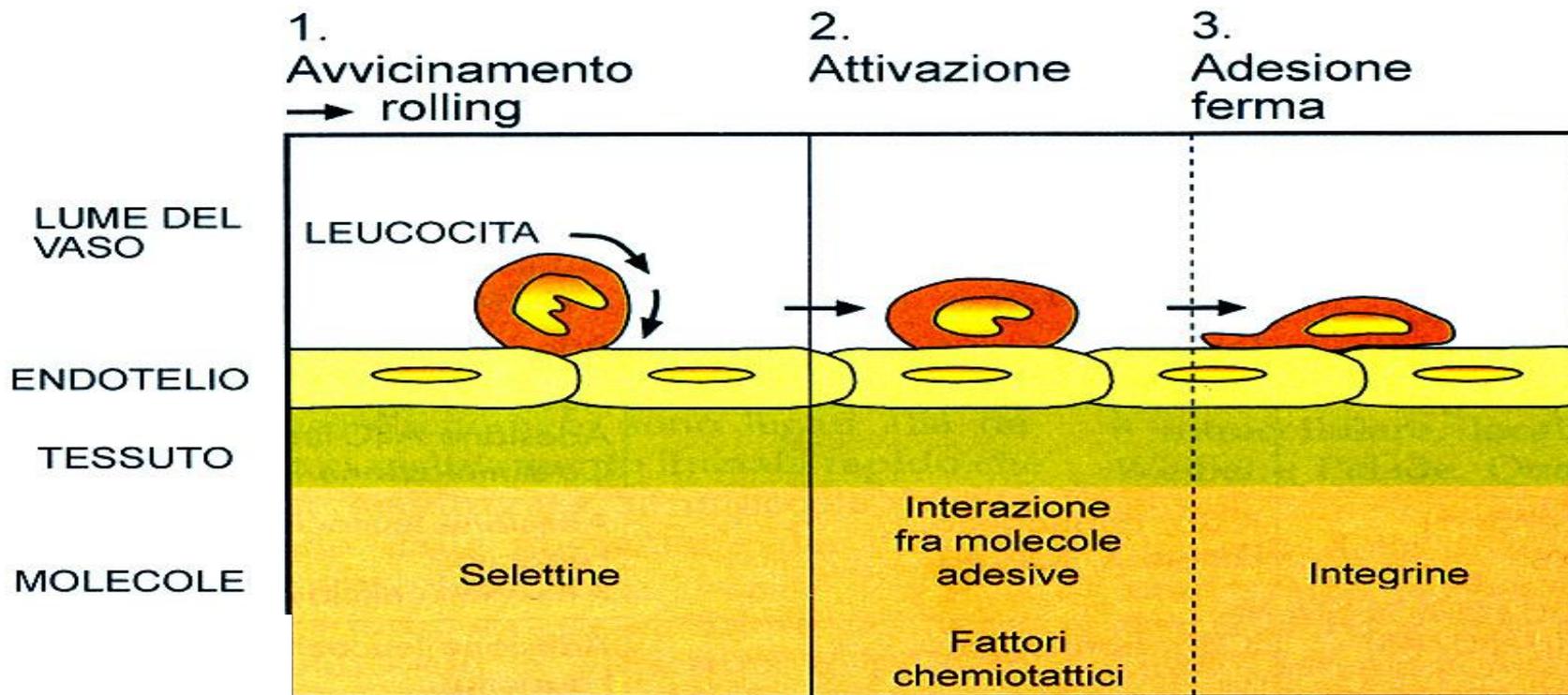
I PMN marginati aderiscono all'endotelio in maniera reversibile.
L'adesione è mediata da molecole di adesione espresse dalle cellule endoteliali solo nell'area infiammata.
In un secondo tempo l'adesione diventa irreversibile.

ATTIVAZIONE ENDOTELIALE

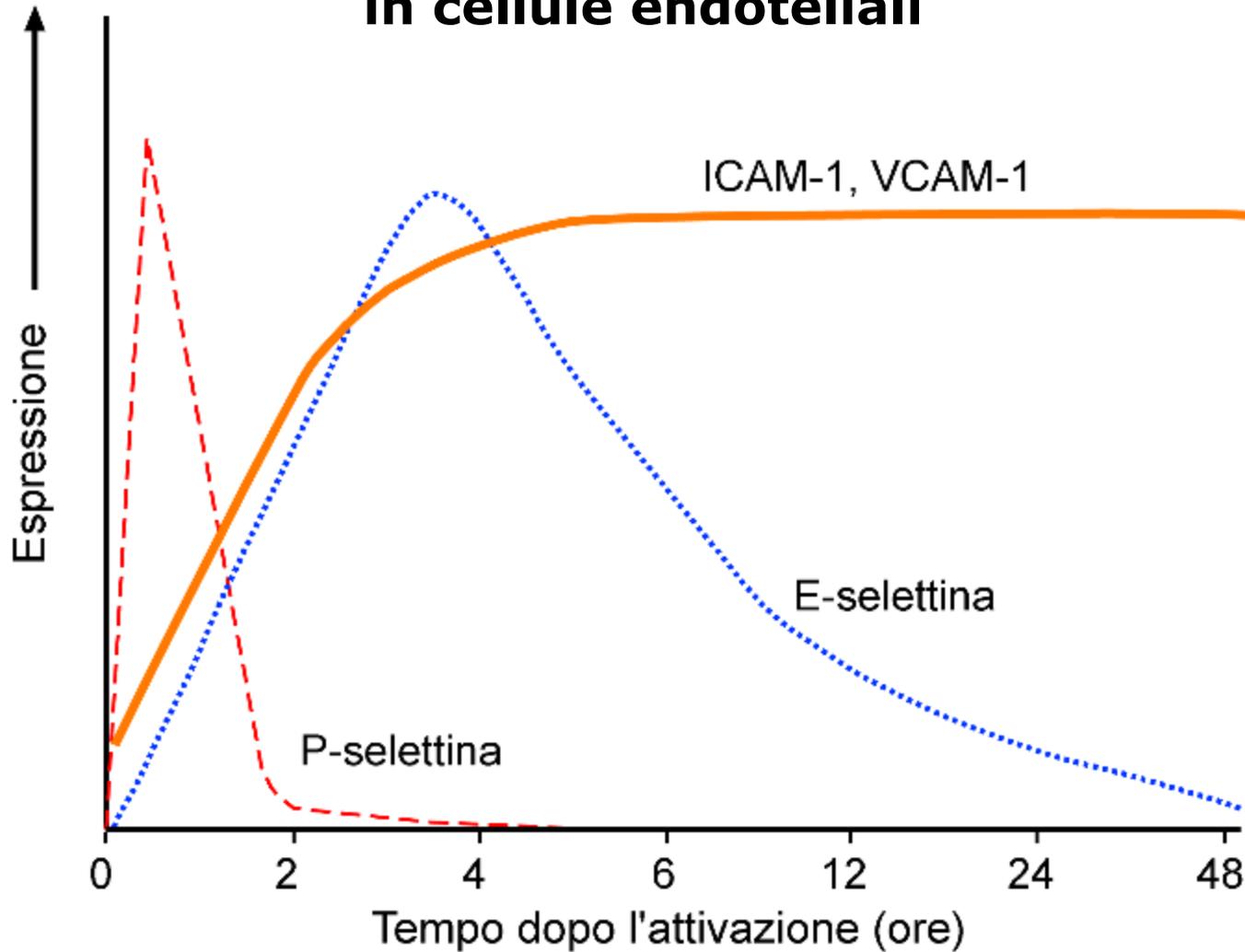
- **ATTIVAZIONE ENDOTELIALE:** le cellule endoteliali espongono sulla loro superficie molecole di adesione per i leucociti
 - Molecole preformate: vengono esposte velocemente sull'endotelio e mediano un'adesione instabile
 - Molecole neosintetizzate: richiedono più tempo ma mediano un'adesione stabile

Condizioni che provocano attivazione endoteliale

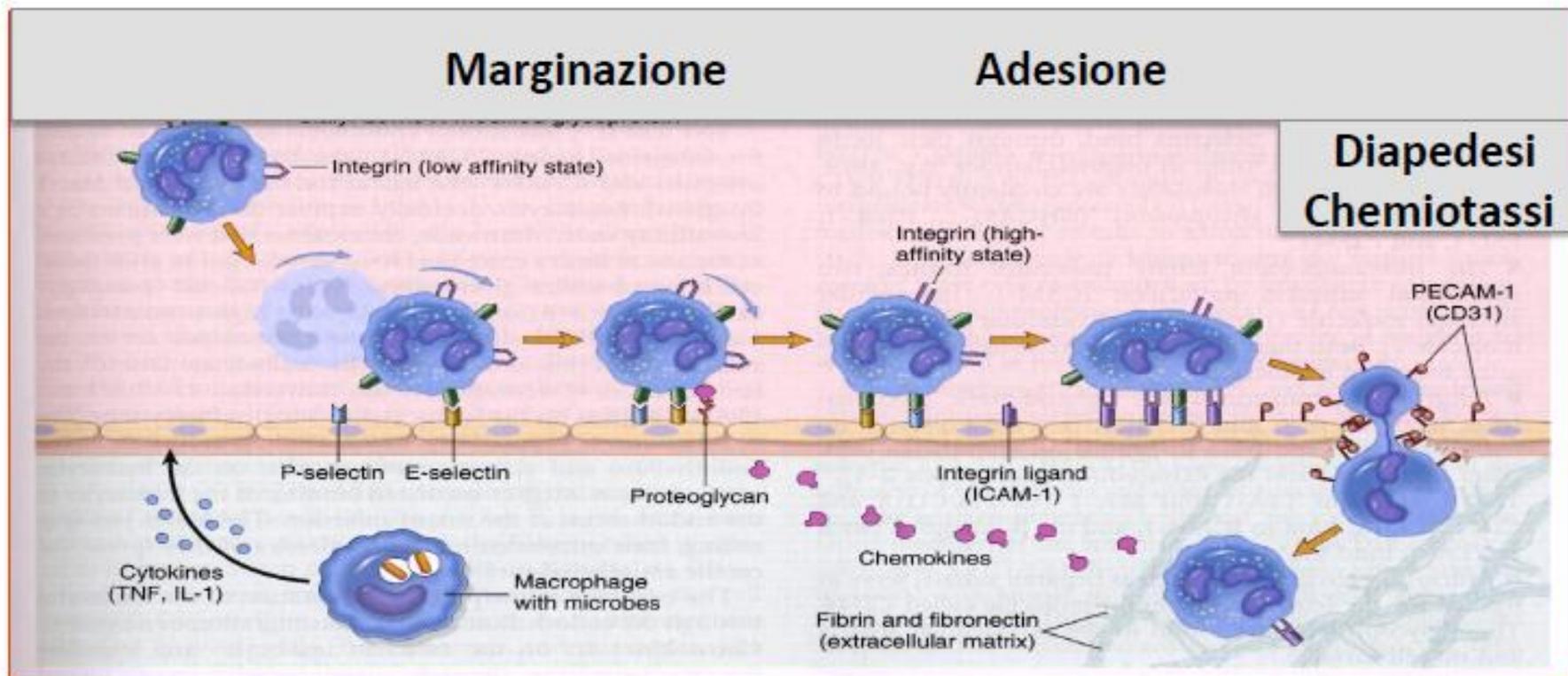
- **Infiammazione**
- **Diabete** (l'iperglicemia provoca glicazione delle proteine)
- **Aterosclerosi** (ingresso delle LDL nello spazio subintimale e loro ossidazione stimolano l'attivazione endoteliale)



L'inflamazione aumenta l'adesività endoteliale inducendo l'espressione di molecole adesive in cellule endoteliali



Attivazione endoteliale



Adesione instabile

Leucociti
Glicoproteine modificate

Endotelio
E-selectine
P-selectine

Adesione stabile

Leucociti
Integrine

Endotelio
ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1,
PECAM-1, JAM-A, JAM-C

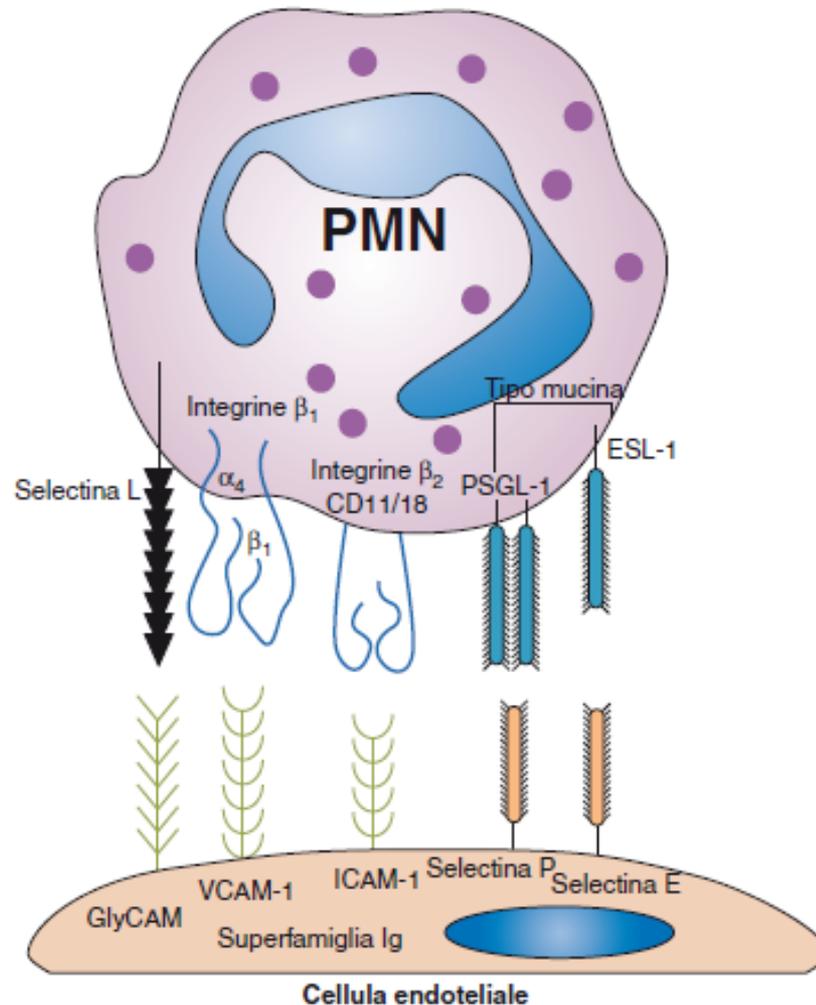


FIGURA 2-23. Molecole di adesione cellulare endoteliale e leucocitaria. GlyCAM = molecola di adesione cellulare che porta glicano; ICAM-1 = molecola di adesione intracellulare-1; VCAM = molecola di adesione delle cellule vascolari.

Deficit congeniti dell'immunità innata

Deficit di adesione leucocitaria, LAD: gruppo di malattie a trasmissione autosomica recessiva causate da difetti a carico di molecole di adesione leucocitarie ed endoteliali

Insorgenza nell'infanzia

Incapacità dei leucociti in particolare dei neutrofilo di migrare ai siti di infezione

Gravi infezioni, grave difetto nella formazione di pus

Malattia	Deficit funzionale	Basi molecolari del deficit
LAD-1 (<i>Leukocyte adhesion deficiency type 1</i>)	Ridotto "rolling" e migrazione dei leucociti causati da una ridotta o assente espressione delle integrine β_2 ; ricorrenti infezioni batteriche e micotiche Incapacità di cicatrizzare le ferite	Mutazioni a carico del gene che codifica per la catena β (CD18) delle integrine β_2
LAD-2 (<i>Leukocyte adhesion deficiency type 2</i>) Ritardo mentale Fenotipo Bombay	Ridotto "rolling" e migrazione dei leucociti causata da una ridotta o assente espressione dei ligandi leucocitari per le E- e le P-selectine dell'endotelio; conseguente incapacità dei leucociti di migrare nei tessuti; ricorrenti infezioni batteriche e micotiche	Mutazioni a carico del gene che codifica per il trasportatore del GDP-fucosio necessario alla sintesi del sialil Lewis X, componente del ligando per le E- e P-selectine
LAD-3 (<i>Leukocyte adhesion deficiency type 3</i>)	Ridotto "rolling" e migrazione dei leucociti causata da un difetto di trasduzione del segnale "inside out" e conseguente difetto di attivazione delle integrine Aumentato rischio di sanguinamento	Mutazione del gene che codifica per la proteina KINDLIN-3

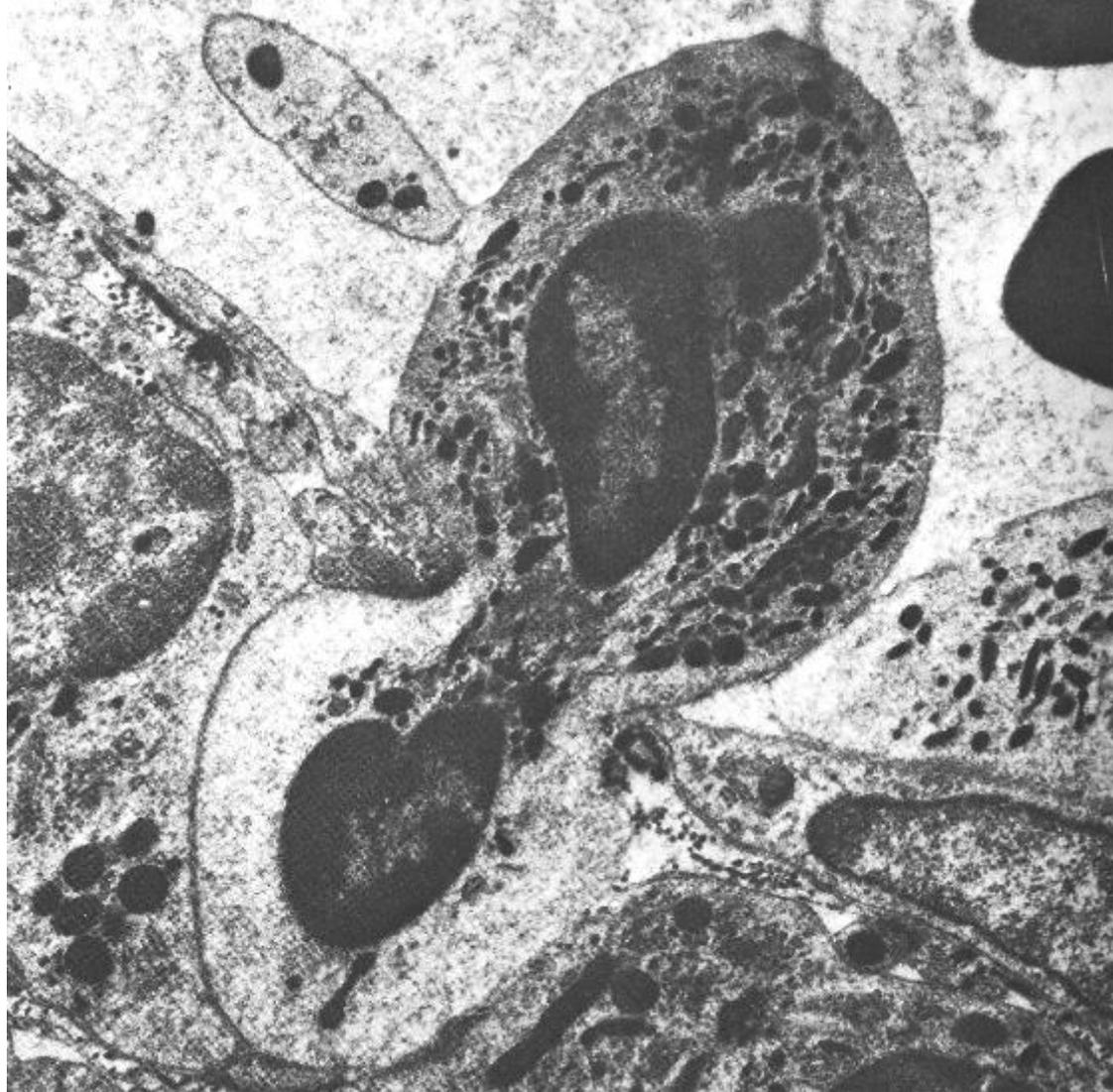
MIGRAZIONE/DIAPEDIESI

Diapedesi. È il passaggio dei leucociti attraverso le cellule endoteliali

Meccanismi della diapedesi

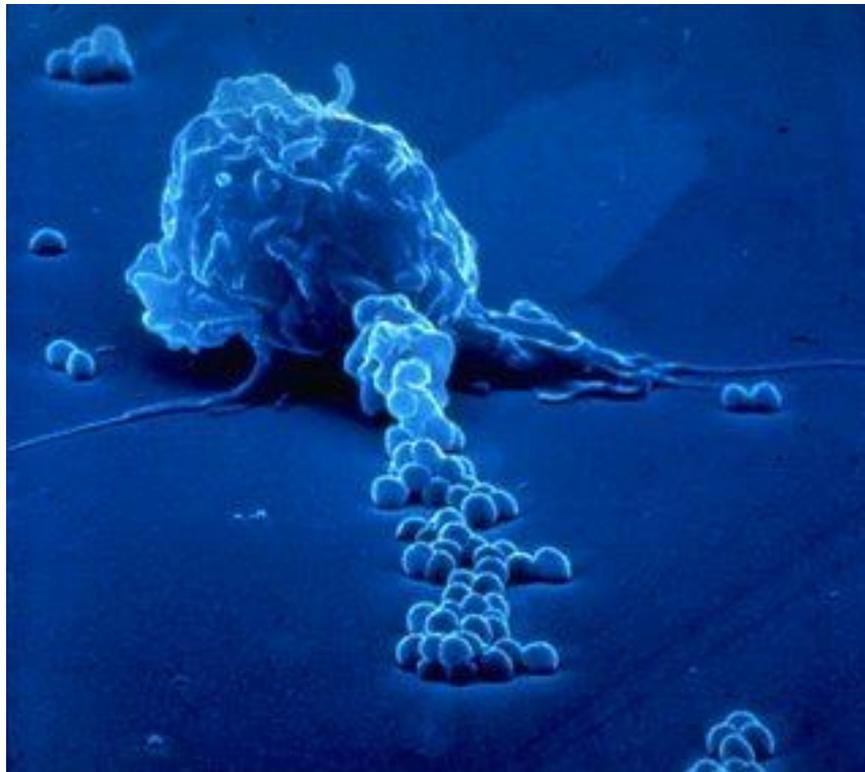
1. Proteasi generate dai leucociti attaccano e degradano la matrice extracellulare (collagenasi, elastasi)
2. I leucociti passano attraverso siti della membrana basale che presentano minor concentrazione di proteine della matrice e passano attraverso gli spazi tra i periciti e le cellule muscolari lisce

Diapedesi

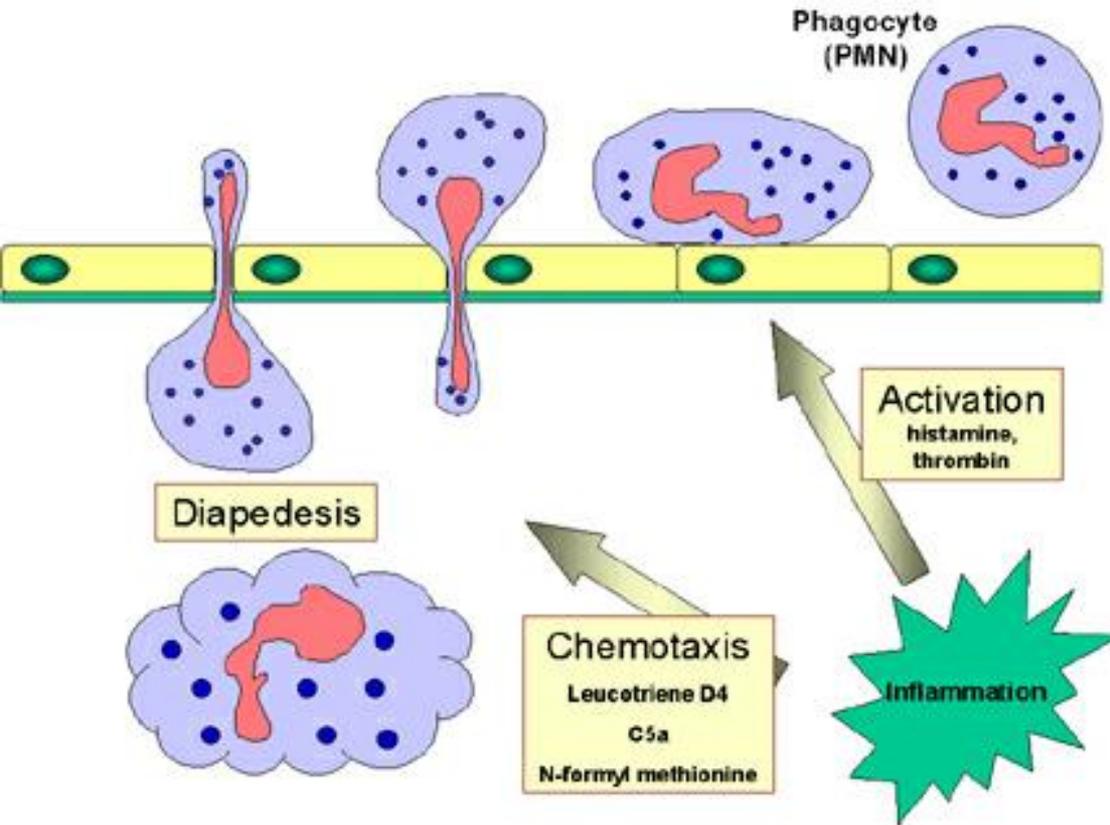


Chemiotassi

Per chemiotassi si intende il movimento orientato (attivo, direzionale) di una cellula secondo un gradiente chimico



Chemotassi

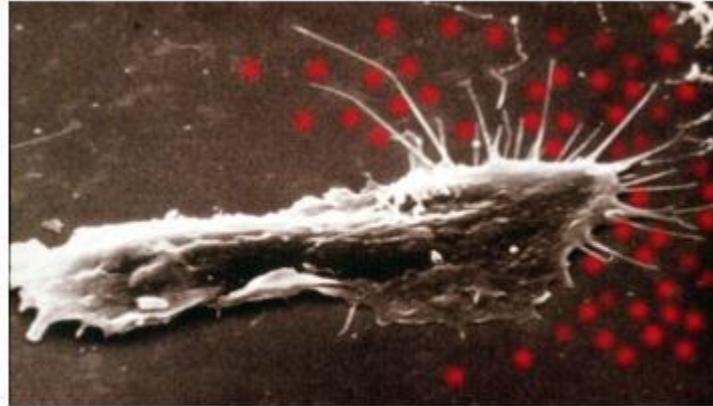


Chemotattici esogeni:
Prodotti batterici come i peptidi contenenti N-formyl metionina terminale

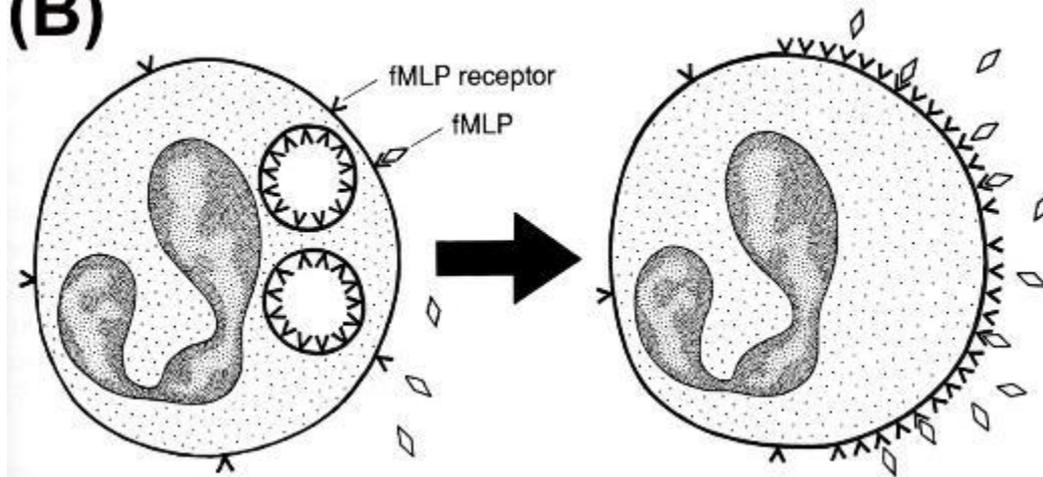
Chemotattici endogeni:
Prot. del complemento (C5a)
Chemochine (IL-8)
Leucotreni (LTB₄)
Lipidi provenienti da membrane danneggiate

Il meccanismo della chemiotassi

(A)



(B)



Come si generano i gradienti chimici ?

Nel processo di chemiotassi infiammatoria, i gradienti chimici che muovono i leucociti si generano grazie ad una serie di composti chimici rilasciati nell'area dell'infiammazione. Essi si distinguono in:

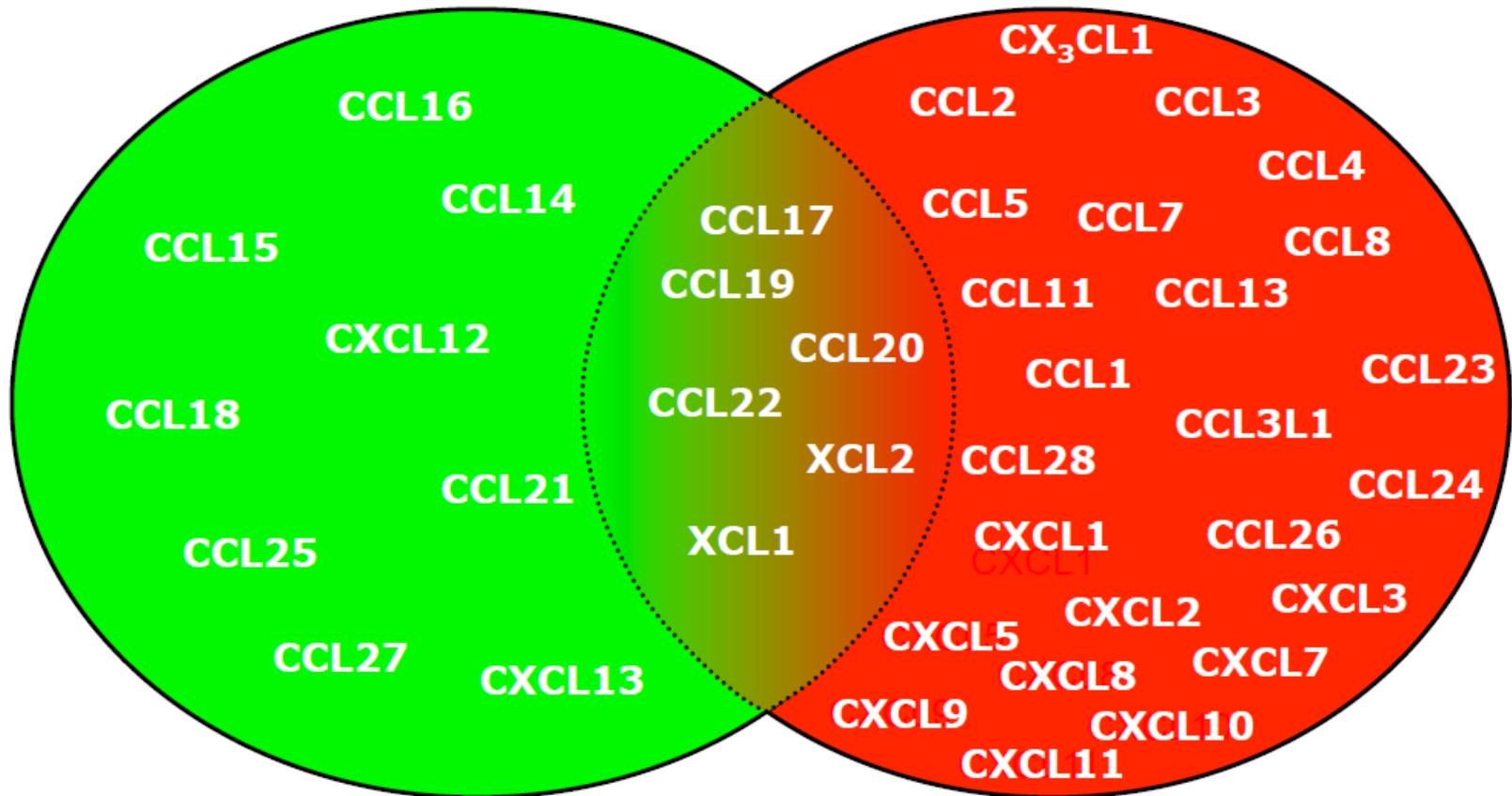
- **Mediatori chimici dell'infiammazione**, come le **anafilotossine c3a e c5a**, i **leucotrieni**, la famiglia delle **chemochine** e alcune **citochine**.
- **PAMPs (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*)**, identificate come non-self: **lipopolisaccaride (LPS)**, i **peptidoglicani** e gli **acidi lipoteicoici**, il **mannosio**, la **flagellina**, l'**N-formilmetionina** e in generale i **peptidi formilati**, **ssRNA** e il **dsRNA** dei virus
- **DAMPs (*Damage-Associated Molecular Patterns*)**, rilasciate o esposte da cellule danneggiate o morenti. I DAMPs contano quindi tipiche molecole rilasciate da cellule in necrosi o in necroptosi, come l'**ATP**, l'**acido urico**, **ROS**, il **DNA**, l'**RNA** o alcune **proteine istoniche**

LE CHEMOCHINE

Sono piccole citochine di 70-130 aa e sono divise in quattro famiglie a seconda della disposizione delle cisteine conservate:

- 1) CXC
- 2) CC
- 3) C
- 4) CX3C

CHEMOCHINE



COSTITUTIVE

Traffico leucocitario normale

INDUCIBILI

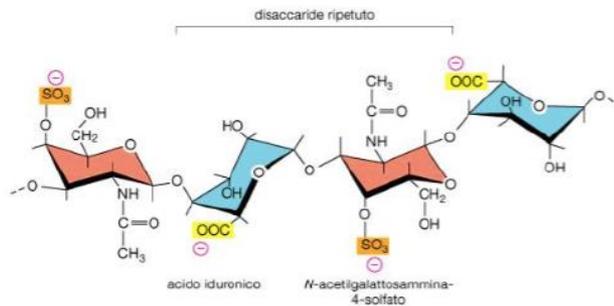
Infiammazione e immunità

GAG: glucosamminoglicani

- Sono **catene polisaccaridiche non ramificate** composte da unità ripetute di disaccaridi
- **Gruppi solfato o carbossilici** sono presenti nella maggior parte dei loro zuccheri → carica altamente negativa

GAG

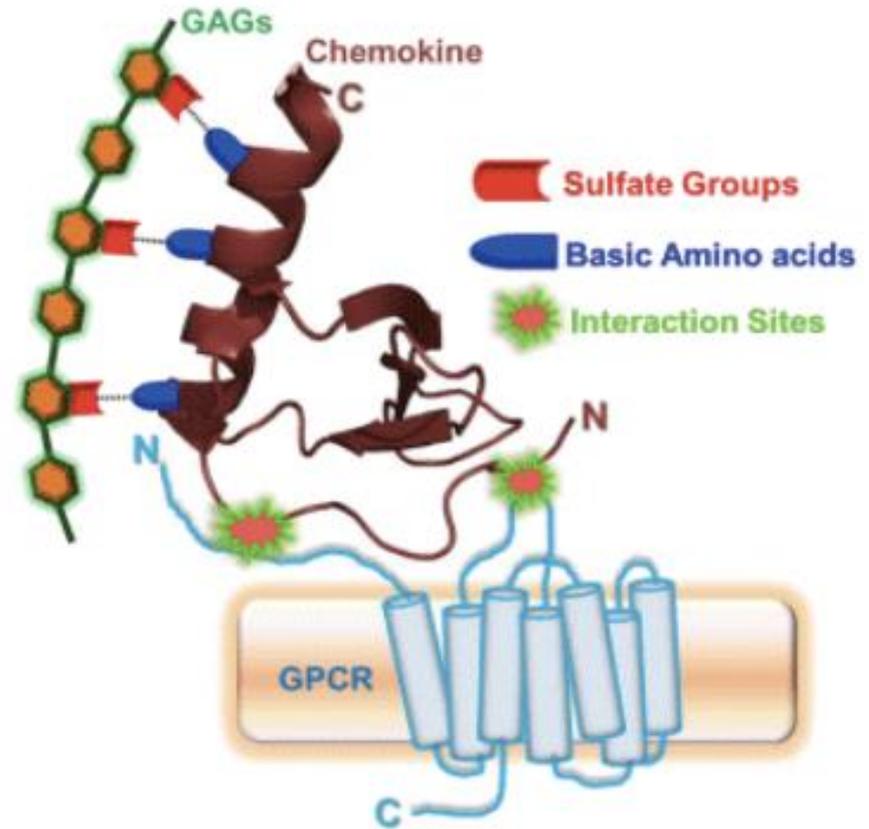
rigide e fortemente idrofiliche



4 tipi di GAG

- 1) acido ialuronico
- 2) condroitin-solfato
- 3) eparina-solfato
- 4) cheratan-solfato

Tutti tranne l'acido ialuronico sono legati a proteine e formano i proteoglicani, la cui struttura è data da un core proteico seguito da un tetrasaccaride che collega il core con i disaccaridi ripetuti.

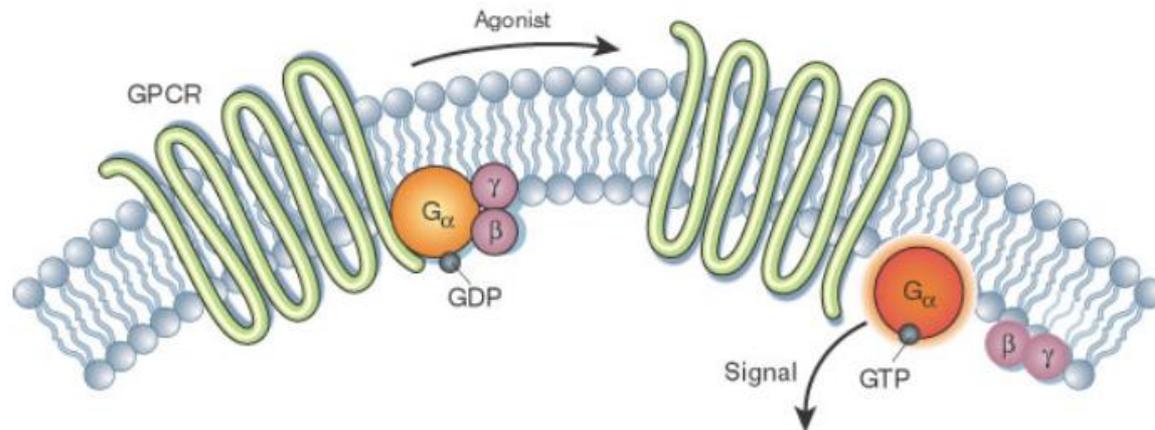


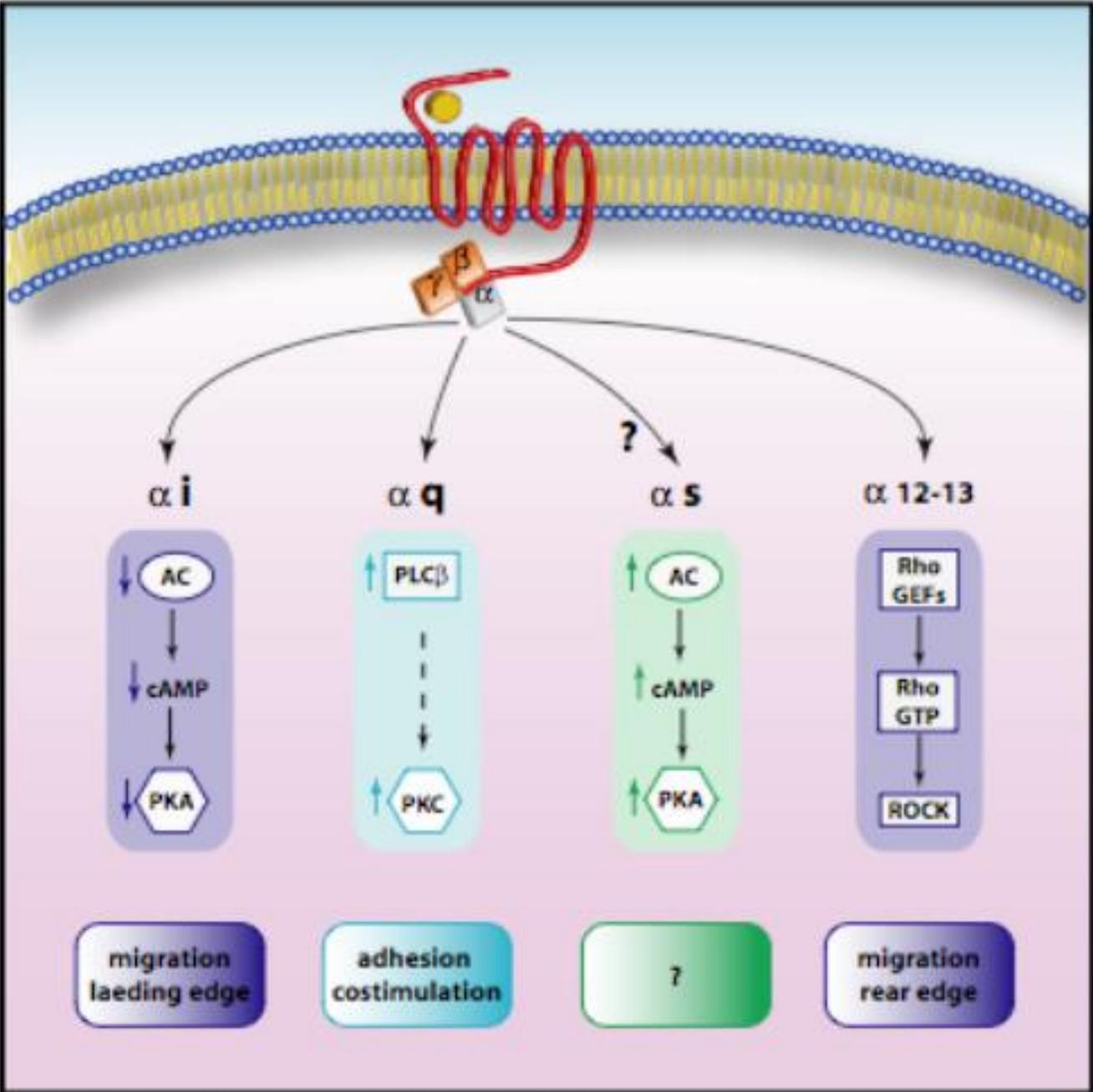
Non solo le chemochine hanno azione chemiotattica.

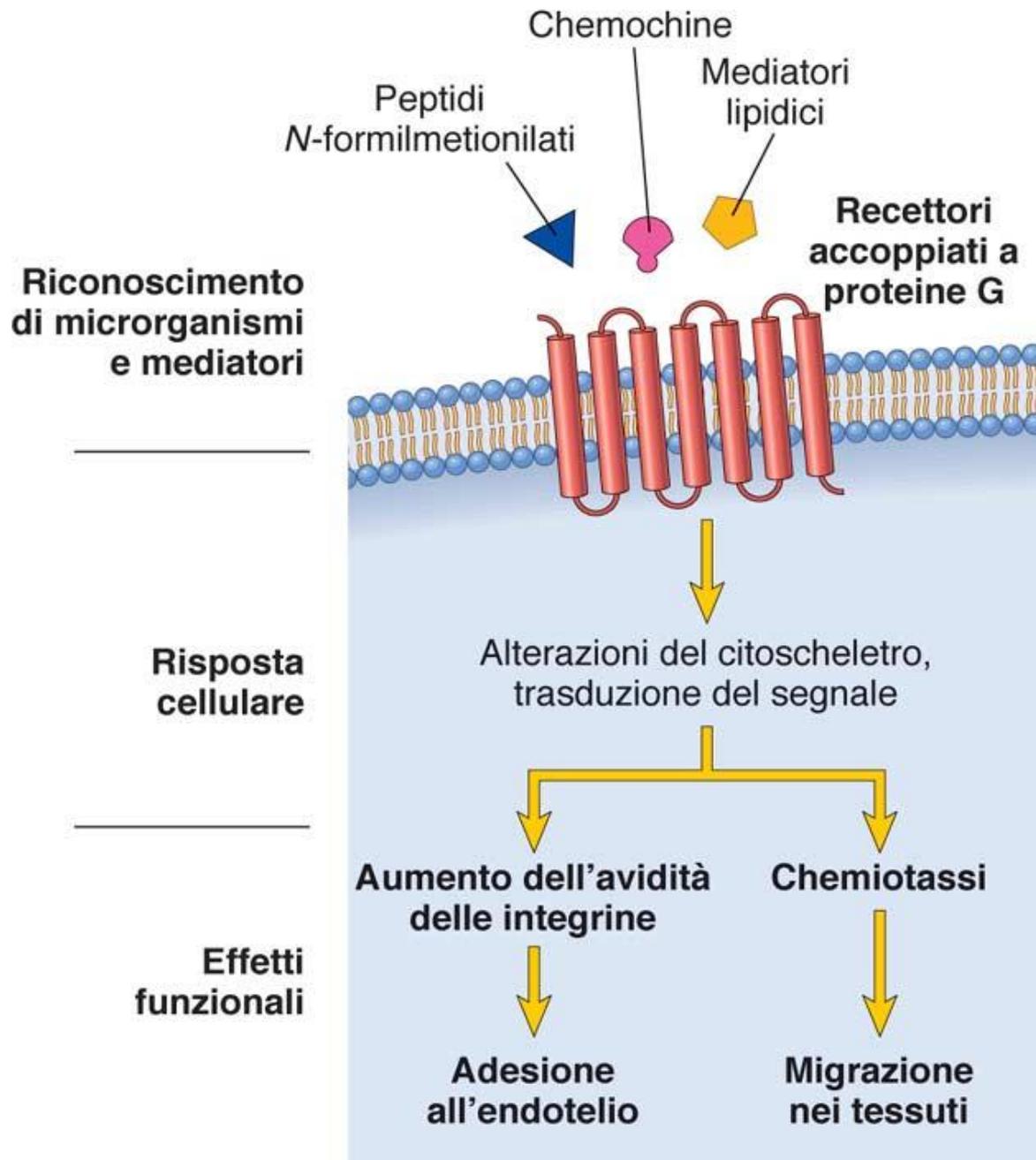
Altre molecole sono

- i peptidi formilati, peptidi tipici dei batteri,
- i lipidi come PAF e LTB4, che si generano all'interno delle cellule quando c'è un danno cellulare
- i fattori del complemento come il C5a e il C3a

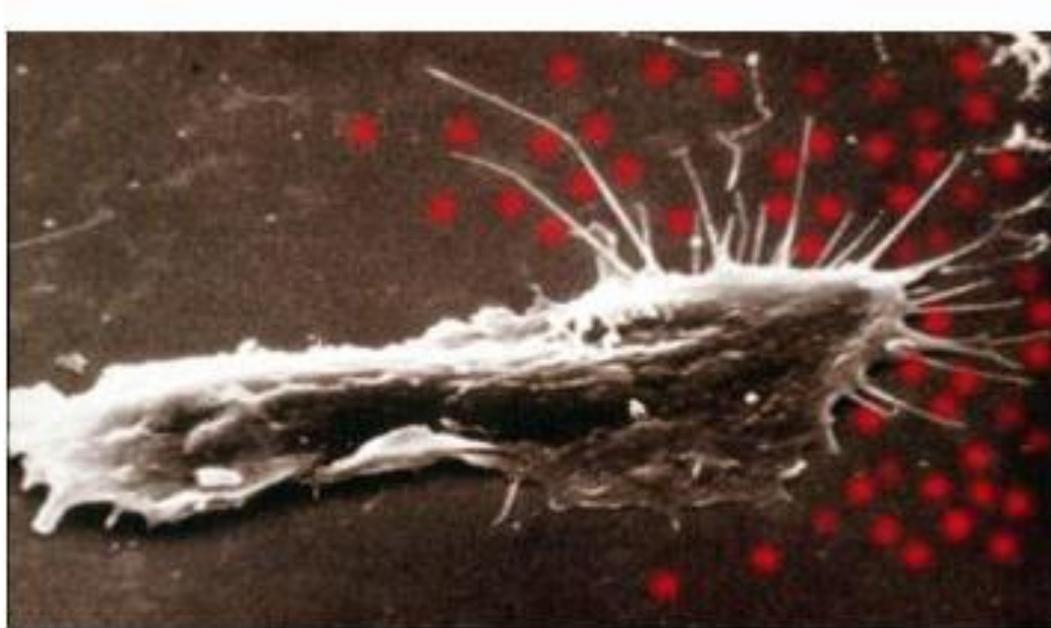
Tutte le molecole ad azione chemiotattica agiscono attraverso un recettore a 7 domini transmembrana accoppiato a proteina G eterotrimerica







Il meccanismo della chemiotassi



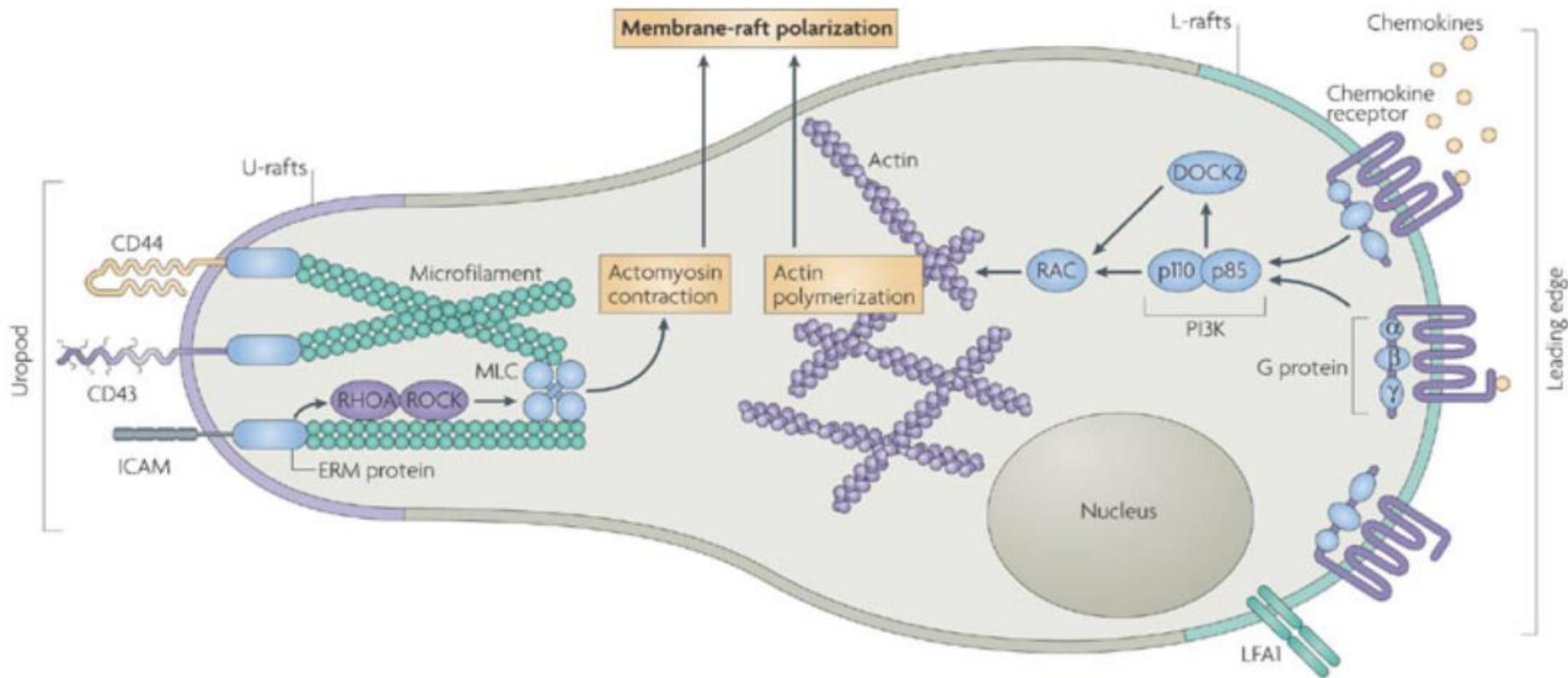
La cellula che viene stimolata da un gradiente chemiotattico si polarizza completamente, cambia la sua forma e si nota una netta distinzione tra la parte frontale e quella posteriore.

<https://www.youtube.com/watch?v=ZUUfdP87Ssg>

La migrazione cellulare richiede principalmente 2 eventi:

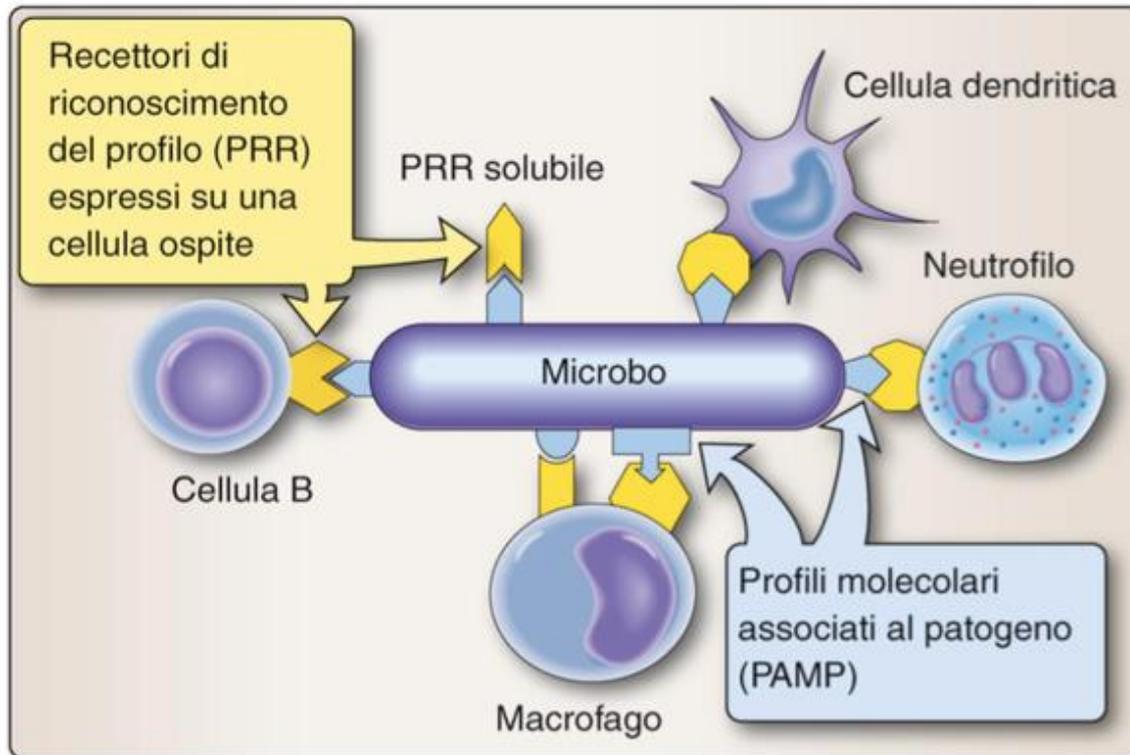
1) la polimerizzazione dell'actina, cioè l'attivazione del citoscheletro actinico, nella parte frontale della cellula (pseudopodo), continuando a modificare lo pseudopodo per riuscire a percepire il gradiente chemiotattico. La parte frontale è ricca di recettori chemiotattici.

2) attivazione del citoscheletro miosinico per l'adesione al substrato nella parte posteriore della cellula (uropodo). La parte posteriore è ricca di molecole di adesione.



Questi segnali inducono la polimerizzazione dell'actina al polo anteriore della cellula e della miosina al polo posteriore

- I microrganismi patogeni vengono **RICONOSCIUTI** dall'immunità innata grazie a molecole recettoriali dette **Pattern Recognition Receptors (PRR)**. Sono in numero limitato. Direttamente codificati nel genoma.



- Riconoscono dei profili molecolari associati al patogeno (**PAMPs**: Pathogen-associated molecular patterns)

Questi recettori collettivamente riconoscono strutture molecolari significative della presenza di patogeni (PAMP) o molecole significative di danno o pericolo (DAMP). **La logica evolutiva dei PAMP e dei DAMP, è quella di non essere mai presenti in condizioni normali. Sono strutture che nell'organismo normale non ci sono.**

Sono così definiti per la loro capacità di riconoscere non sequenze amminoacidiche uniche, come un normale recettore altamente selettivo, bensì dei **profili**, ossia delle sequenze aspecifiche e condivise da più PAMPs.

Sensori per PAMPs e DAMPs nei leucociti

Recettori a sette domini transmembrana associati a proteine G

Riconoscono:
Peptidi batterici formilati
Chemochine
Mediatori lipidici



ADESIONE E MIGRAZIONE
(CHEMIOTASSI)

Recettori per il mannosio

Riconoscono carboidrati batterici come il mannosio non presenti nelle glicoproteine dei mammiferi



INDUCONO LA FAGOCITOSI

Recettori Toll-like e NOD-like

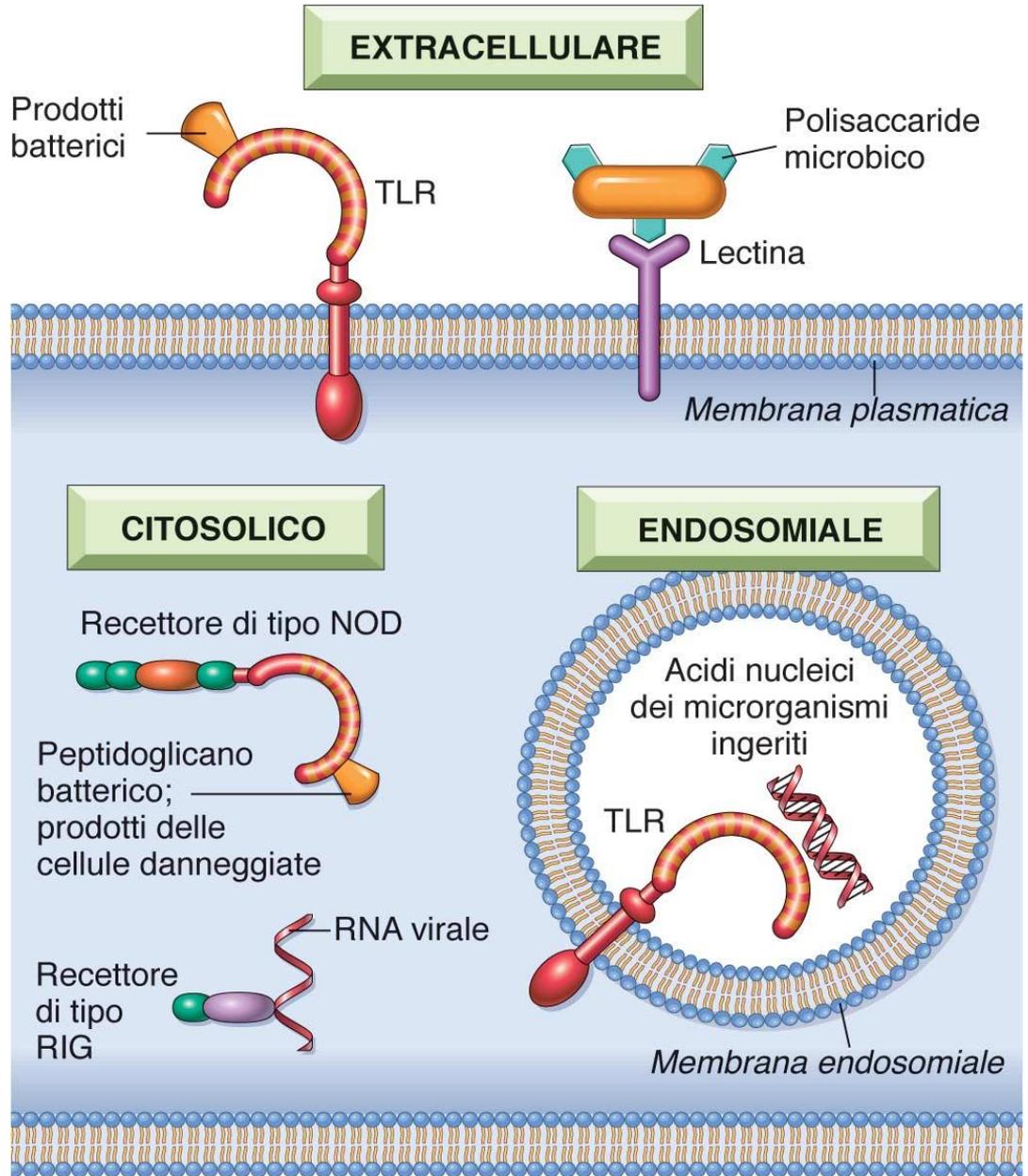
Riconoscono componenti microbiche o di cellule morte



AMPLIFICAZIONE DELLA REAZIONE INFIAMMATORIA

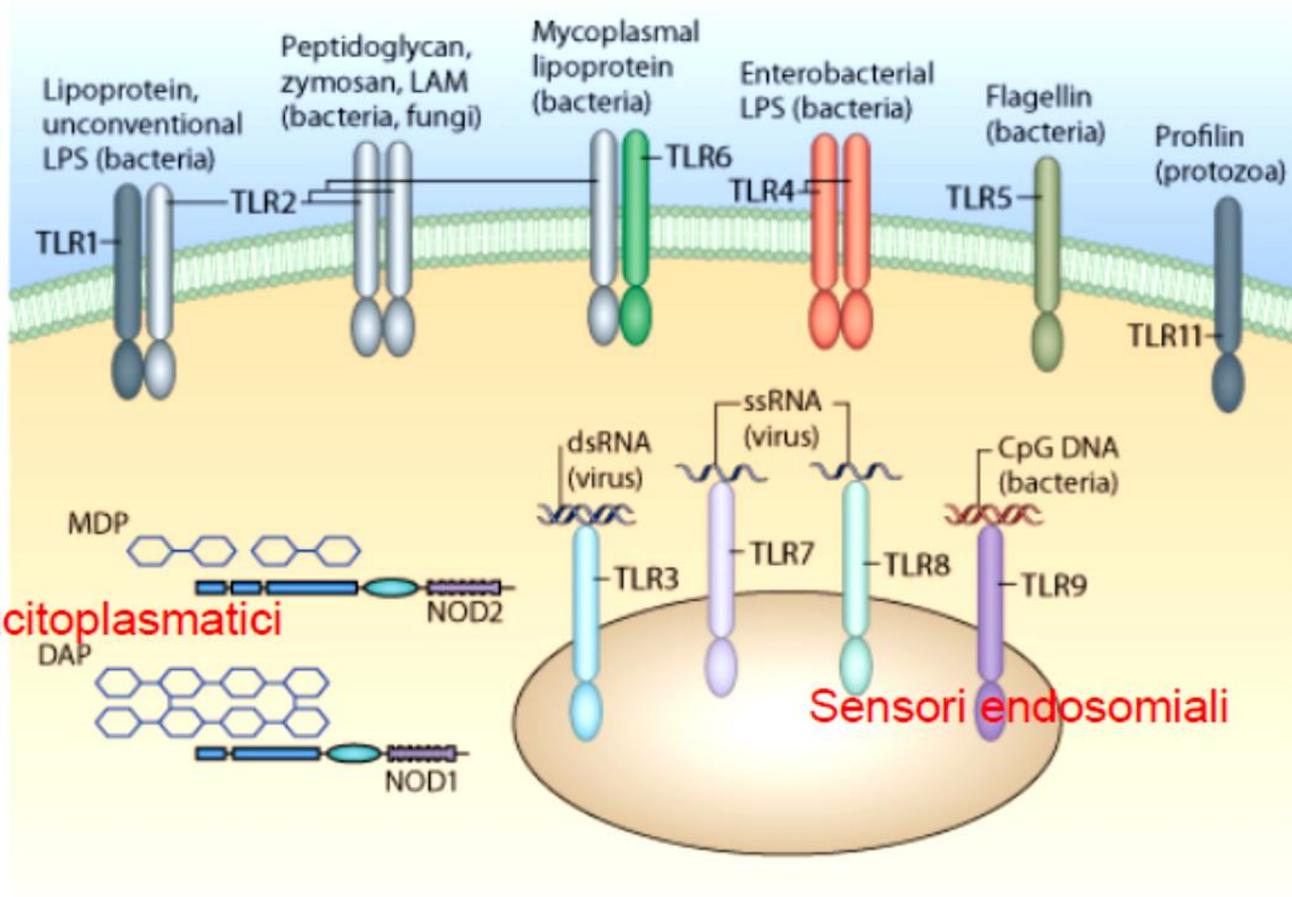
TOLL-LIKE AND NOD-LIKE RECEPTORS

I recettori sulla membrana plasmatica individuano germi extracellulari, quelli endosomiali riconoscono i microrganismi fagocitati e i recettori citosolici si legano ai microrganismi contenuti nel citoplasma



Recettori Toll-Like e Nod-Like : azione cooperativa nel combattere il danno

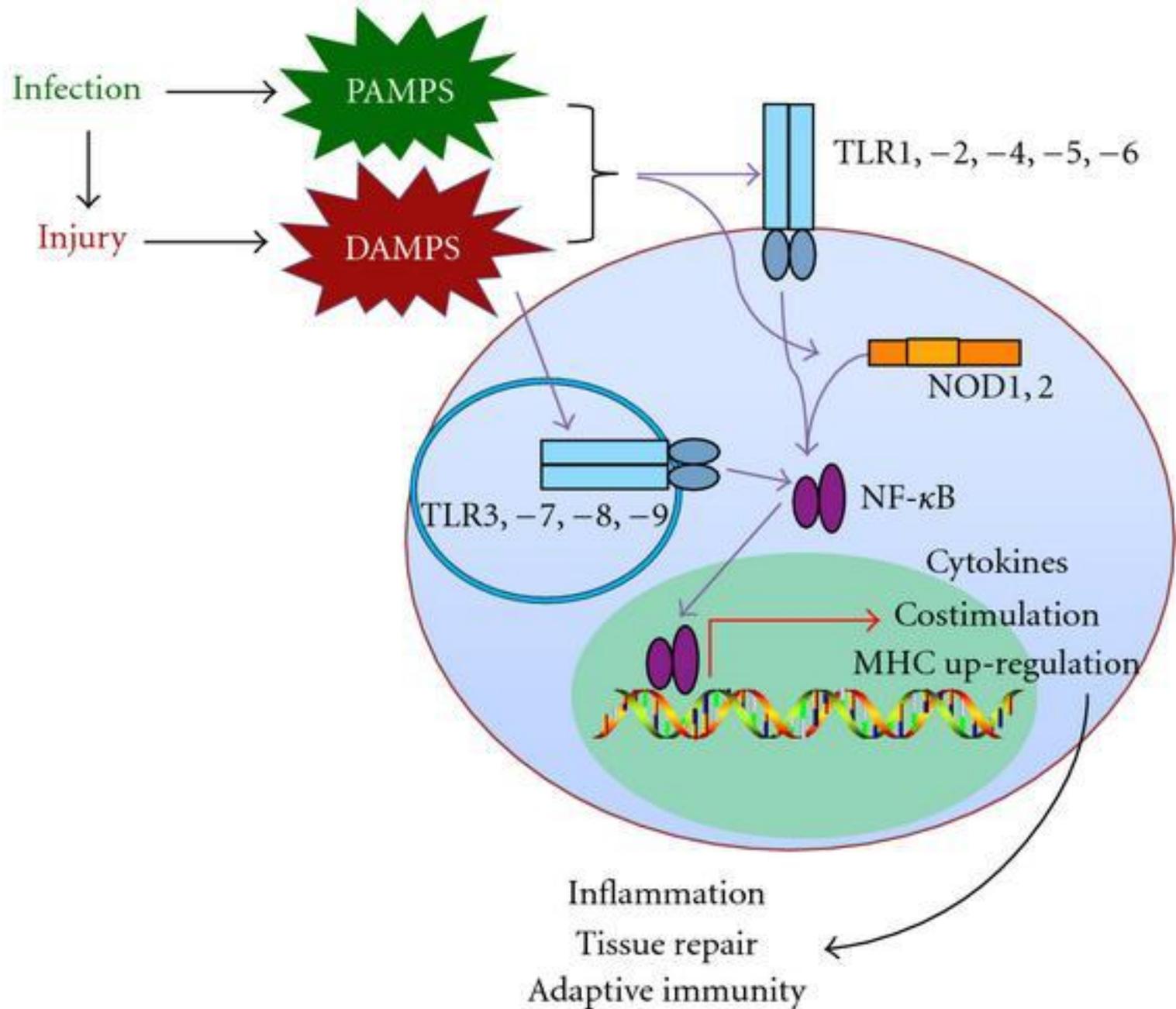
Sensori di membrana



Sensori intracitoplasmatici

Sensori endosomiali

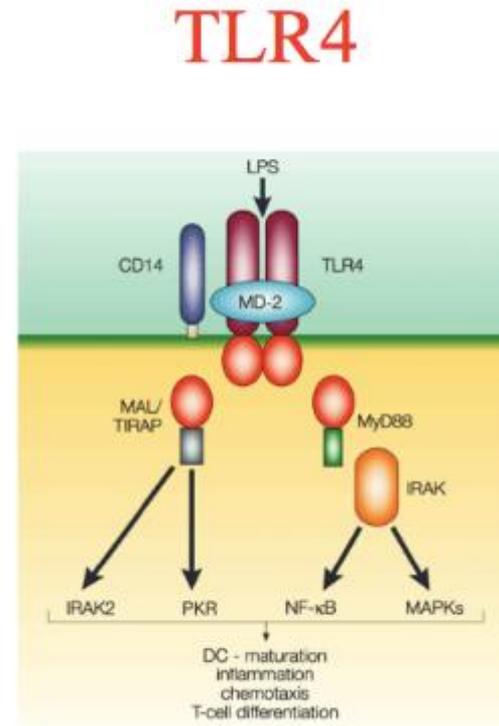
Nature Reviews | Microbiology



Questi recettori collettivamente riconoscono strutture molecolari significative della presenza di patogeni (PAMP) o molecole significative di danno o pericolo (DAMP). La logica evolutiva dei PAMP e dei DAMP, è quella di non essere mai presenti in condizioni normali. Sono strutture che nell'organismo normale non ci sono. Ad esempio il PAMP più antico e più studiato di tutti è il Lipopolisaccaride (LPS). Nessuna delle nostre strutture molecolari assomiglia al lipopolisaccaride. Quindi se TLR4 riconosce il LPS, difficilmente potrà essere attivato "per sbaglio"

TLR 4 rileva la presenza di batteri Gram- attraverso la presenza di LPS.

Il dominio extracellulare di TLR4, cooperando con CD14 e con la proteina accessoria MD-2, riconosce LPS.



TLR Cell Type Distribution

Receptor	Cell Type
TLR1	Ubiquitous
TLR2	DCs, PMLs, and monocytes
TLR3	DC and NK cells, upregulated on epithelial and endothelial cells
TLR4	Macrophages, PMLs, DCs, ECs, but not on lymphocytes
TLR5	Monocytes, immature DCs, epithelial, NK, and T cells
TLR6	High expression in B cells, lower on monocytes and NK cells
TLR7	B cells, plasmacytoid precursor DCs
TLR8	Monocytes, low in NK cells and T cells
TLR9	Plasmacytoid precursor DCs, B cells, macrophages, PMLs, NK cells, and microglial cells
TLR10	B cells, plasmacytoid precursor DCs
TLR11	Not Determined