

Inflammation

Definizione

L'infiammazione è una risposta al danno dei tessuti vascularizzati.

Il suo scopo è quello di recapitare i materiali difensivi (cellule ematiche e liquidi) nella sede del danno.

Non è uno stato ma un processo.

G. Majno


FASI DELLA INFIAMMAZIONE

- innesco
- amplificazione
- risoluzione



Cause (eziologia)

- irradiazione con raggi ultravioletti o raggi X
- temperature estremamente alte o basse (ustione o congelamento)
- sostanze chimiche
- organismi viventi quali batteri, virus, parassiti, elminti o miceti
- riduzione dell'apporto di sangue arterioso che causa la morte del tessuto non sufficientemente perfuso (**necrosi ischemica**)
- reazioni inappropriate o eccessive dei meccanismi immunitari di difesa.
- alterazioni genetiche



Conseguenze del “danno” o “insulto”

1. distruzione cellulare
2. rottura dei vasi (sanguinamento)
3. penetrazione di invasori microbici



Come è riconosciuto il danno cellulare

- **proteine intracellulari**
 - proteine heat-shock
 - transcription factor HMGB1 (high mobility group 1)
- **PAMPS**
(pathogen-associated molecular patterns)
 - residui terminali di mannosio
 - fosforilcolina sulle membrane microbiche
 - LPS
 - peptidoglicani
 - dsRNA
 - fMet

Da chi sono riconosciuti i PAMPS

Recettori sulla superficie cellulare

CD14	co-recettore per TLR
TLR (recettori della famiglia Toll)	
recettori scavenger dei macrofagi	LPS, dsRNA
recettore per il mannosio	residui terminali di mannosio

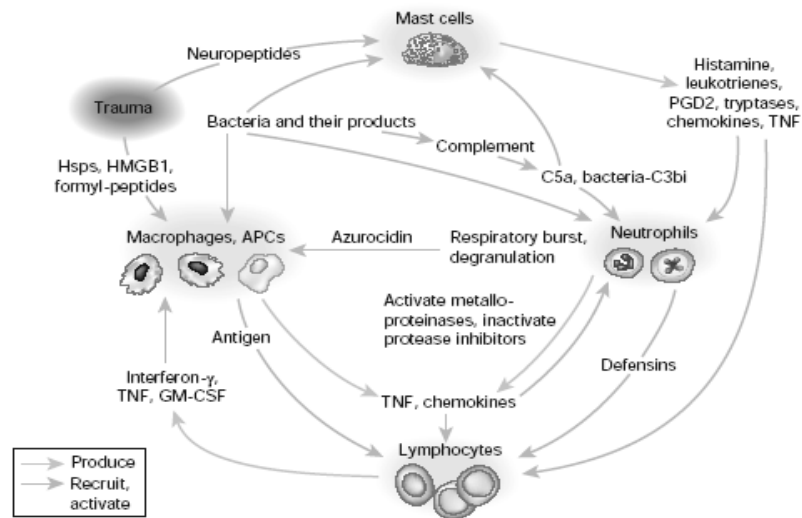
Recettori citoplasmatici

NOD	??
PKR	dsRNA

Recettori solubili

MBL	residui terminali di mannosio
CRP, SAP	fosforilcolina sulle membrane microbiche
LBP	LPS

Il danno cellulare innesca l'inflammatione





Che cosa è importante sapere!

- comprendere il meccanismo patogenetico è importante per fare diagnosi
- l'amplificazione della risposta iniziale è l'evento chiave
- l'infiammazione persiste finché lo stimolo iniziale non è eliminato ed i mediatori non sono inibiti o dissipati
- l'infiammazione è potenzialmente pericolosa e deve essere tenuta sotto controllo nella pratica clinica
- le strategie terapeutiche sono rivolte al controllo dei punti critici dei meccanismi d'azione degli agenti pro-infiammatori



Inflammatione acuta e cronica

- infiammazione acuta (angioflogosi)
 - accumulo di liquidi e componenti plasmatici nel tessuto colpito
 - stimolazione intravascolare delle piastrine
 - presenza di leucociti polimorfonucleati (PMN)
- infiammazione cronica (istoflogosi)
 - plasmacellule, linfociti e macrofagi



Esiti dell'inflammazione acuta

- *risoluzione (il risultato auspicabile)*
- *cicatrice (a volte avviene nonostante l'eliminazione del patogeno)*
- *ascesso (con necrosi colliquativa)*
- *inflammazione persistente (inflammazione cronica) - dovuta alla mancata eliminazione completa della causa flogogena (danno o insulto)*

La continuità dinamica delle modificazioni



* *maggiore è la durata dello stimolo, più estesa sarà la cicatrizzazione.*

Angioflogosi



I quattro segni cardinali (Celso, 2 dC)

- rossore (*rubor*)
- gonfiore (*tumor*)
- calore (*calor*)
- dolore (*dolor*)
- perdita funzionale (*functio laesa*) (il quinto segno cardinale è stato aggiunto successivamente)



Le fasi dell'inflammazione acuta

- innesco -
 - stimolo (danno e/o infezione) con modificazioni del microcircolo
 - cambiamenti strutturali che portano alla extravasazione
 - migrazione dei leucociti verso il sito del danno
- amplificazione - i mediatori solubili e le cellule dell'inflammazione sono attivati ed amplificati
- risoluzione - si accompagna alla inibizione specifica o alla dissipazione dei mediatori




Innesco: La risposta triplice

- Sir Thomas Lewis (1927)
 - vasocostrizione inconstante e transitoria (secondi o minuti)
 - vasodilazione delle arteriole pre-capillari
 - stasi e marginazione dei leucociti, con un aumento della permeabilità della barriera endoteliale

"Classicamente, l'aumento della permeabilità interessa unicamente le venule di 20-60 mm di diametro (venule post-capillari)"



Il microcircolo



Normale regolazione della permeabilità
vascolare

*“Le alterazioni nell’anatomia e nella funzione
del microcircolo sono tra le più precoci
risposte al danno tissutale e sono responsabili
dell’accumulo di liquido nell’interstizio”*

Normale regolazione della permeabilità vascolare

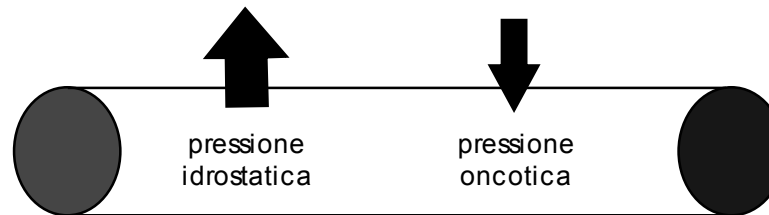
Legge di Starling: la pressione idrostatica del sangue è normalmente **quasi** interamente bilanciata dalla pressione oncotica delle proteine plasmatiche

$$J_v = k [(P_c - P_i) - \pi_c - \pi_i]$$

Il risultato netto è che vi è un continuo flusso dal compartimento vascolare attraverso le arteriole pre-capillari verso l'interstizio da dove è portato via dai vasi linfatici o riassorbito dalla venula post-capillare.

Normale regolazione della permeabilità
vascolare

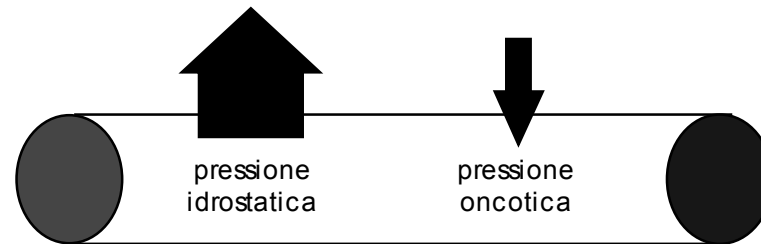
liquido extravascolare
(scarsa concentrazione proteica o pressione)



Aumentata pressione idrostatica

edema – trasudato

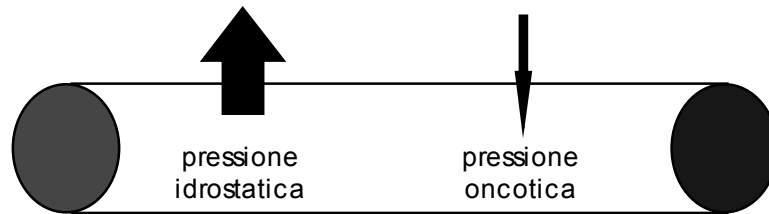
(basso contenuto proteico – densità <1.012)




Diminuita pressione oncotica

edema – trasudato

(basso contenuto proteico – densità <1.015)





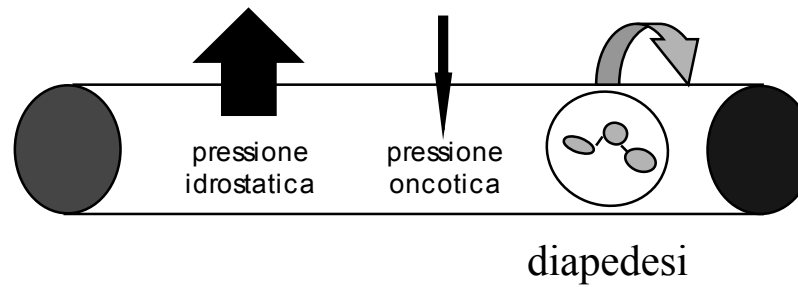
Patogenesi dell'edema

- *edema non-infiammatorio*
 - edema polmonare dovuto ad insufficienza cardiaca (aumentata pressione idrostatica)
 - sindrome nefrosica (diminuita pressione oncotica)
- *edema infiammatorio*
 - danno diretto, irreversibile - tutti i vasi (ustione)
 - aumento transitorio della permeabilità vascolare, cioè, l'effetto dei mediatori sulle venule post-capillari

Aumentata permeabilità vasale

essudato

(alto contenuto proteico: densità >1.015)





MODIFICAZIONI VASCOLARI:

- **Vasocostrizione**
- **Vasodilatazione**
- **Aumento permeabilità vascolare (essudazione)**
- **Stasi (15-30 min)**
- **Marginazione leucocitaria**




EVENTI CELLULARI:

- **Marginazione, rotolamento e adesione**
- **Diapedesi (passaggio attraverso l'endotelio)**
 - **Attivazione leucocitaria**
- **Migrazione verso tessuti (chemiotassi)**

PRODUZIONE DI MEDIATORI CHIMICI

FAGOCITOSI



Principali molecole di adesione implicate nel reclutamento dei neutrofili

Endoteliali:

- P- ed E- selectins: endoteliali, recettori: sialil Lewis X (PSGL-1)
- ICAM-1 (Intercellular adhesion molecule) e VCAM (vascular) interagiscono con le integrine

Leucocitarie:

- 1) L-selectins (interagisce con sialil lewis X)
- 2) Integrine $\beta 2$ (LFA-1 e Mac1) (inter. con ICAM-1)
- 3) Integrine $\alpha 4\beta 1$ (VLA4) (inter. con VCAM-1)



L'attivazione leucocitaria porta a:

- Modulazione molecole di adesione
 - Chemiotassi
- Produzione di mediatori chimici
 - Fagocitosi
- Distruzione dei microbi
- Esplosione ossidativa

Attività battericida neutrofilii

- UCCISIONE OSSIDATIVA
- acido ipocloroso (HOCl) (mieloperossidasi)
 - probabilmente il principale agente battericida nei neutrofilii
 - la mieloperossidasi converte H_2O_2 in HOCl
- uccisione **non-ossidativa** dei batterii
 - idrolasi lisosomiali (granuli 1° e 2°)
 - defensine (granuli 1°)
 - latte ferrina (granuli 2°– chela il ferro)
 - lisozima (granuli 1° e 2°, lisosomi)

MEDIATORI CHIMICI DELL'INFIAMMAZIONE ACUTA

General features:

- quelli plasmatici sono da attivare, cellulari da rilasciare (granuli) o sintetizzati de novo
- si legano a recettori cellulari o attività diretta (proteasi, ROS etc)
- può stimolare il rilascio di altri mediatori con attività agonista (amplificazione) o antagonista (modulazione)
- possono essere specifici per cellule, generici o avere effetti diversi su cellule diverse
- hanno quasi sempre una emivita breve
- quasi tutti sono potenzialmente dannosi



Mediatori chimici dell'inflammazione

- amine vasoattive
- sistema del complemento
- sistema delle chinine
- cascata della coagulazione
- cascata della fibrinolisi
- metaboliti dell'acido arachidonico
- platelet activating factor (PAF)
- citochine
- ossido nitrico



Origine dei mediatori dell'inflammazione

- derivati dalle cellule, es.:
 - amine vasoattive (mast cellule e piastrine)
 - proteine sequestrate nei granuli
 - fosfolipidi di membrana (attraverso il metabolismo dell'acido arachidonico)
- precursori inattivi nel plasma, es.:
 - proteine del complemento (c3a, c5a)
 - proteine attivate dal fattore di Hageman (chinine, cascata coagulazione)

Tra i primi ad agire perché preformati:
amine vasoattive (mast cellule e piastrine)

- istamina - abbondante nei granuli delle mast cellule, che sono disposte intorno ai vasi sanguigni in gran numero

Viene rilasciata in seguito a:

- stimoli lesivi fisici
- reazioni immunitarie con anticorpi legati a mastociti
- frammenti del complemento C3a e C5a (anafilotossine)
- fattori proteici leucocitari
- neuropeptidi (P) - citochine IL-1 e IL-8
- serotonina - azione simile all'istamina; si trova nelle piastrine; è rilasciata dopo l'aggregazione piastrinica o per effetto del fattore attivante le piastrine (PAF).



IL RILASCIO DI ISTAMINA CONDUCE A:

- Vasodilatazione arteriole
- Aumento permeabilità vascolare venule
- Vasocostrizione grandi arterie

Figura: Mastzellen intorno ai vasi pronte per eventuali risposte con rilascio dei granuli

DIATORI CHIMICI INFIAMMAZIONE

metaboliti dell'acido arachidonico

- Eicosanoidi, sintetizzati a partire dai fosfolipidi della membrana cellulare attraverso l'azione di una fosfolipasi (inibita dai corticosteroidi)
- AA: acido grasso poliinsaturo a 20 atomi di C, disponibile in dieta o dalla conversione del acido linoleico (acido grasso essenziale)
- i leucotrieni si formano per azione della 5-lipossigenasi
- le prostaglandine ed i trombossani A_2 si formano per azione delle ciclo-ossigenasi (COX-1 è inibita dall'aspirina e dalla indometacina, gli inibitori della COX-2 sono da poco disponibili sul mercato)

Via Cicloossigenasica (COX-1 e -2)

Porta alla sintesi di prostaglandine

- PGD, PGE, PGI, PGG e PGH. Il numero indica i doppi legami

- I più importanti:

PGE2

PGD2

PGF2alfa

PGI2 (PROSTACICLINA) stabilizzati in PGF1alfa

TxA2 (TROMBOSSANO) inattivato in TxB2

Trombossano sintasi è presente nelle piastrine

Prostacicina-sintetasi è presente sull'endotelio

Trombossano e prostacicine hanno effetti opposti T= vasocostrizi.

e aggreg piastrinica. Prostacicina: vasodilataz. e inibitore di aggregazione piastrinica

-PGE2 ha azione iperalgesica (cute ipersensibile agli stimoli dolorifici)

Lipoossigenasica:

le lipoossigenasi cellula-specifiche

nei neutrofilo 5-LO si attiva interagendo con FLAP (5-LO activating protein)

Conduce alla sintesi di LEUCOTRIENI

più importanti:

-LT4B (chemiotassi, adesione neutrofilo, produzione di ROS, rilascio

-Enzimi lisosomiali)

- cisteinil- leucotrieni (LTC4, LTD4 e LTE4): (intenso broncospasmo e vasocostrizione, aumento permeabilità)

BIOSINTESI TRANCELLULARE: alcuni prodotti intermedi passano ad altre cellule che non hanno i primi enzimi

LIPOSSINE: LTA4 (neutrofilo passa nelle piastrine e viene convertito in LXA4 e LXB4 (lipossine) con azione antagonista

Terapia antiinfiammatoria

- FANS: (ibuprofene, paracetamolo, acetil-salicilico, indometacina, nimesulide, naprossene etc.): bloccano COX-1
- Glucocorticoidi: (cortisone) bloccano la fosfolipasi. Inibiscono i geni per COX2, IL1, TNF α , NO-sintasi. Attivano il gene per la lipocortina1 (che inibisce il rilascio dell'Acido Arachidonico)



EFFETTI EICOSANOIDI SULL'INFIAMMAZIONE:

Effetto	Metabolita
Vasocostrizione:	Trombossano A2, leucotrieni C4, D4 E4
Vasodilatazione:	PGI2, PGE1, PGE2, PGD
Aumento permeabilità vasc.	Leucotrieni C4, D4 E4
Chemiotassi, Adesione	Leucotriene B4, lipossine LXA4 e LXB4
Dolore e febbre	Prostaglandine (PGE2)




PAF
AGISCE ATTRAVERSO UN RECETTORE SPECIFICO
ASSOCIATO AD UNA G PROTEIN

Fonti:

Mastociti/basofili
Neutrofil
Monociti/macrofagi
Endotelio
Piastrine

Azioni:

permeabilità vascolare
aggregazione leucociti
Adesione leucocitaria
Priming chemiotassi
Attivazione piastrinica

- 
- sistema a cascata del complemento: FASI
 - Gli eventi precoci in tutte consistono in una serie di tagli che culminano nella formazione di un enzima C3 convertasi che taglia il C3 in C3b e C3a. La formazione della C3 convertasi è il punto in cui le tre linee convergono e da cui partono le principali funzioni del complemento
 - C3b lega covalentemente la membrana dei batteri (recettori specifici) ed opsonizza i batteri per i fagociti.
 - C3a è un peptide che genera risposta infiammatoria locale (aumento permeabilità vascolare) (anafilotossina)
 - La C5 convertasi viene formata da C3b legato alla C3 convertasi
 - C5a e C5b sono generati dal taglio di C5 dalla C5 convertasi
 - C5a è un potente peptide mediatore dell'infiammazione (aumento permeabilità vascolare) (anafilotossina)
 - C5b stimola gli eventi tardivi nei quali i componenti del complemento si uniscono a formare il MAC (complesso di attacco alla membrana) che danneggia i patogeni (alcuni lisi)



RIASSUNTO ATTIVITA' di C3 and C5

Fenomeni vascolari: C3A e C5A (anafilotossine): vasodilatazione

Trasformazione dell'AA: C5a (via lipoossigenasica)

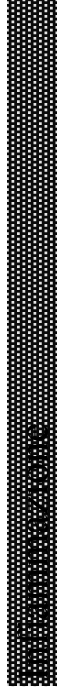
Adesione chemiotassi C5a

Fagocitosi: C3b (opsonizzazione)



Mediatori chimici dell'inflammazione

- cascata della coagulazione
- cascata della fibrinolisi
 - entrambi i sistemi sono innescati dal fattore XIIa attivato (fattore di Hageman)
 - il fattore di Hageman interagisce con il sistema delle chinine e l'attivazione del complemento
 - i sistemi della coagulazione e della fibrinolisi si complementano e controbilanciano reciprocamente
 - le molecole più importanti sono il fibrinogeno, la fibrina, la trombina, il plasminogeno e la plasmina





Mediatori chimici dell'inflammazione

- ossido nitrico (NO): gas solubile
 - formato dalla NO sintetasi (NOS) a partire da L-arginina, ossigeno e NADPH
 - espressa costitutivamente dalle cellule endoteliali (eNOS) e neuronali (nNOS). l'attività può essere rapidamente aumentata dal flusso di calcio
 - NOS inducibile (iNOS) - indotta nei macrofagi dal TNF- α o dall'IFN- γ
 - potente vasodilatatore
 - agisce per pochi attimi (paracrino)
 - coinvolto nella patogenesi dello shock settico
 - NO + ROS= perossinitriti, biossido di azoto (contro batteri e virus e protozoi)
 - - carenza di iNOS: ipertensione, suscett a infezioni



Mediatori chimici dell'inflammazione

- ossido nitrico (NO)
 - formato dalla NO sintetasi (NOS)
 - espressa costitutivamente dalle cellule endoteliali e neuronali. l'attività può essere rapidamente aumentata dal flusso di calcio
 - NOS inducibile - indotta nei macrofagi dal TNF- α o dall'IFN- γ
 - potente vasodilatatore
 - coinvolto nella patogenesi dello shock settico

CITOCHINE



CITOCHINE:

MONOCHINE (citochine espresse dai monociti)

LINFOCHINE (citochine espresse dai linfociti)


INTERLEUCHINE: prodotte da cellule emopoietiche ed agiscono sui leucociti)

CHEMOCHINE: stimolano la motilità e la chemiotassi



Ruolo funzionale delle citochine

- autocrino
- paracrino (effetti locali, chemochine)
- endocrino (risposta sistemica)



Classi di citochine

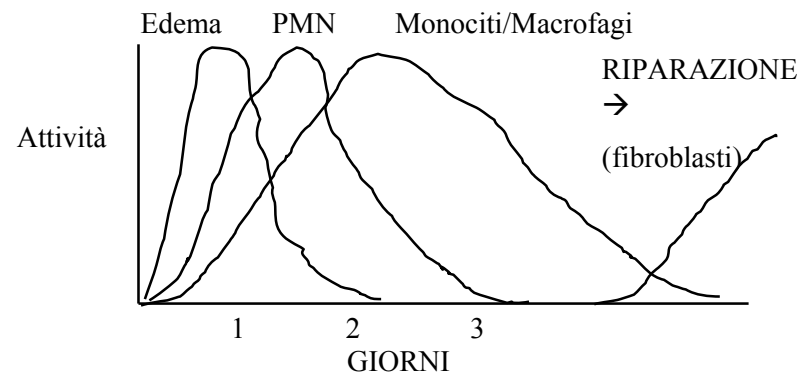
- 1) Citochine che regolano la funzione dei linfociti
IL-2 e IL-4 positivi
TGF β negativo
- 2) Citochine implicate nell'immunità naturale
IL-1, IL-6, TNF- α , IFN- α , IFN- β
- 3) Citochine che attivano i macrofagi et al:
IFN- γ TNF- α e β IL-12
- 4) Chemochine: implicate nella chemiotassi (α , β , γ e CX3C)
- 5) Citochine che stimolano l'emopoiesi
c-kit e vari CSF



Mediatori chimici dell'inflammazione

- citochine importanti nell'inflammazione
 - interleuchina 1 - attivazione delle cellule endoteliali
 - interleuchina 2 (T cell growth factor)
 - tumor necrosis factor a (cachessina)
 - tumor necrosis factor b (linfotossina)
 - vari colony stimulating factors (CSF), denominati per le cellule staminali che stimolano
 - chemochine - importanti per la chemiotassi

Fasi dell'inflammation - Amplificazione





Principi della terapia antinfiammatoria

- la terapia per la febbre e l'infiammazione è diretta all'inibizione del metabolismo dell'acido arachidonico (aspirina, FANS, cortisone)
- la terapia per lo shock è centrata al reintegro dei liquidi ed alla scelta di antibiotici appropriati
- terapie sperimentali per lo shock che utilizzano anti-TNF- α ed altri anticorpi diretti verso le citochine si sono dimostrate, finora, inefficaci a migliorare la sopravvivenza



FANS

1. Salicilati: acido acetilsalicilico (ASA, Aspirina), diflunisal, benorilato
2. Derivati dell'acido arilacetico: ibufenac, diclofenac, indometacina, sulindac, ketorolac
3. Derivati dell'acido arilpropionico: ibuprofene, naprossene, ketoprofene, fenoprofene, flurbiprofene
4. Derivati fenamati: acido mefenammico, acido meclofenammico, acido flufenammico, acido nuflumico
5. Non-acidi: paracetamolo (acetaminofene), metamizolo
6. "Oxicami": piroxicam, meloxicam, sudoxicam, tenoxicam, lornoxicam, cinnoxiam
7. Arilsolfonammidi: nimesulide
8. FANS Cox-2 selettivi: rofecoxib, celecoxib, etoricoxib
9. Enzimi proteolitici ad attivit  antiinfiammatoria: bromelina, serratiopeptidasi, seaprose s



DANNI TISSUTALI DELL'INFIAMMAZIONE

- l'infiammazione è potenzialmente pericolosa e deve essere tenuta sotto controllo nella pratica clinica
- le strategie terapeutiche sono rivolte al controllo dei punti critici delle dei meccanismi d'azione degli agenti pro-infiammatori



Danno tissutale provocato dalle cellule infiammatorie

le azioni difensive dei polimorfonucleati e dei macrofagi nei confronti dei microrganismi invasori sono relativamente primitive e non specifiche; pertanto esse sono capaci di danneggiare l'ospite mediante il rilascio di enzimi e di forme molecolari reattive dell'ossigeno nello spazio extracellulare.



Danno tissutale provocato dalle cellule infiammatorie

- adesività delle cellule fagocitarie

l'adesività dei fagociti alla membrana basale, ad altri componenti della matrice extracellulare e ad altre cellule aumenta il danno causato dalle forme reattive dell'ossigeno e dal lisozima, in quanto i normali inibitori presenti nel plasma non hanno accesso a quello spazio a causa della aderenza della cellula fagocitaria.



FANS

1. Salicilati: acido acetilsalicilico (ASA, Aspirina), diflunisal, benorilato
2. Derivati dell'acido arilacetico: ibufenac, diclofenac, indometacina, sulindac, ketorolac
3. Derivati dell'acido arilpropionico: ibuprofene, naprossene, ketoprofene, fenoprofene, flurbiprofene
4. Derivati fenamati: acido mefenammico, acido meclofenammico, acido flufenammico, acido nuflumico
5. Non-acidi: paracetamolo (acetaminofene), metamizolo
6. "Oxicami": piroxicam, meloxicam, sudoxicam, tenoxicam, lornoxicam, cinnoxiam
7. Arilsolfonammidi: nimesulide
8. FANS Cox-2 selettivi: rofecoxib, celecoxib, etoricoxib
9. Enzimi proteolitici ad attività antiinfiammatoria: bromelina, serratiopeptidasi, seaprose s

Le cellule coinvolte

FASI DELL'INFIAMMAZIONE

Esempio di infiammazione dopo
infarto cardiaco



Danno tissutale provocato dalle cellule
infiammatorie

"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



Danno tissutale provocato dalle cellule infiammatorie

- le forme molecolari reattive dell'ossigeno (ROS)
 - possono passare attraverso la membrana plasmatica intatta
 - innescano la perossidazione dei lipidi
 - reagiscono con il DNA
 - ossidano i gruppi sulfidrilici delle proteine
 - degradano i componenti della matrice extracellulare



Danno tissutale provocato dalle cellule infiammatorie

- enzimi lisosomiali
 - dal momento che questi enzimi sono utilizzati per degradare i microrganismi nei lisosomi, essi possono danneggiare il tessuto se sono presenti nell'ambiente extracellulare.
 - generalmente l'attività delle proteasi è controllate da molteplici inibitori delle proteasi presenti nel plasma (α_1 -anti-tripsina, α_2 -macroglobulina, *etc.*)