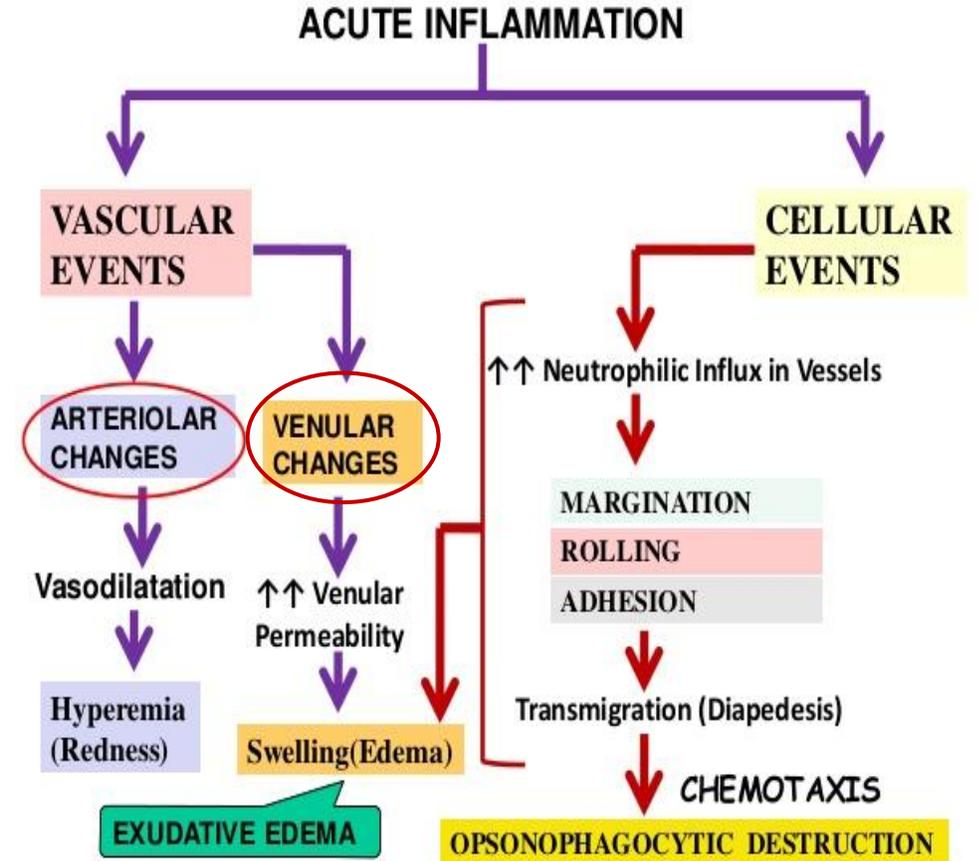
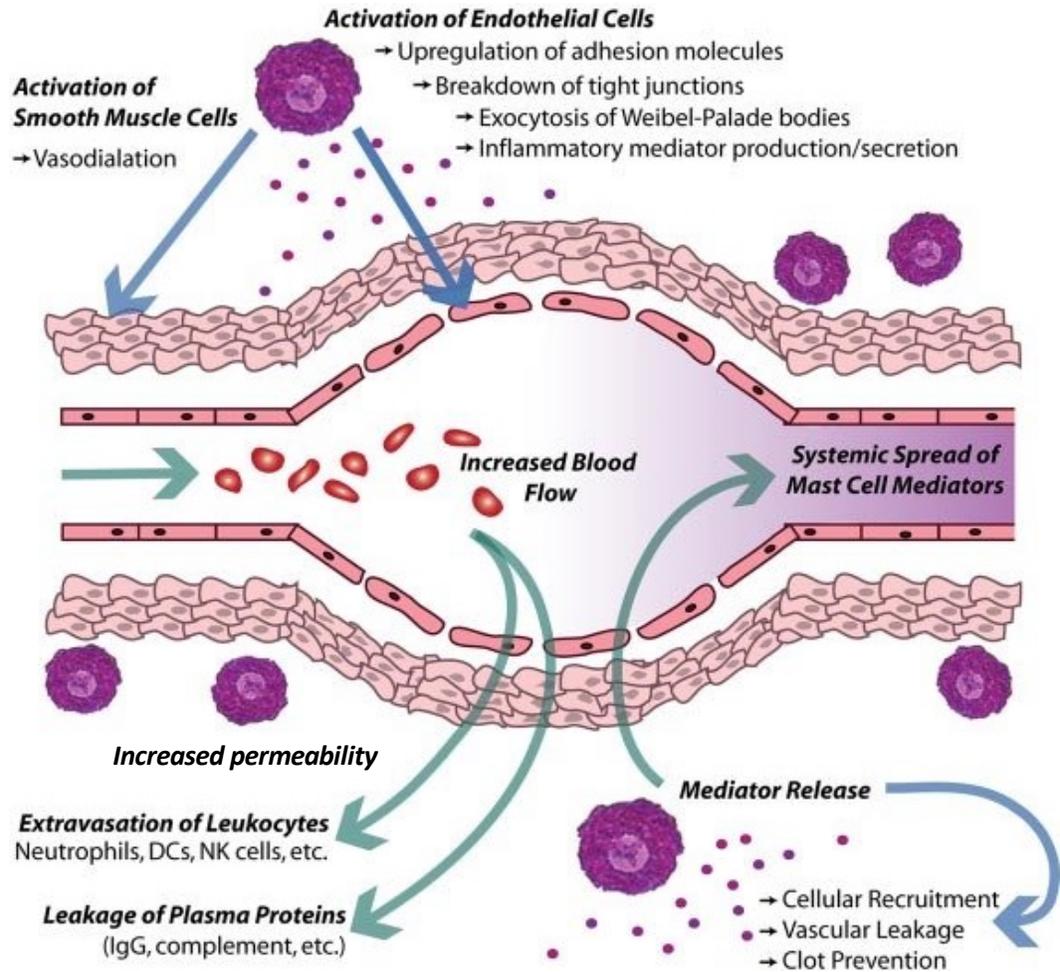
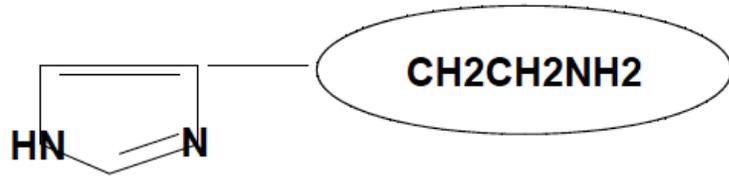


Eventi dell'infiammazione acuta

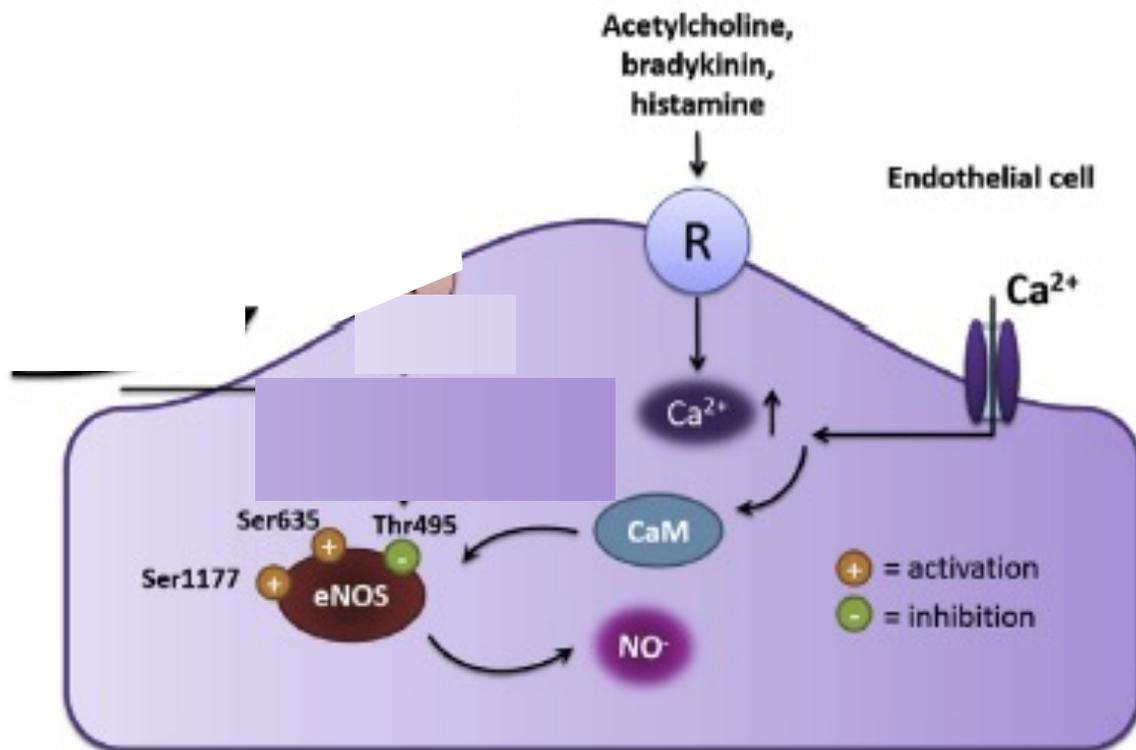


L'istamina

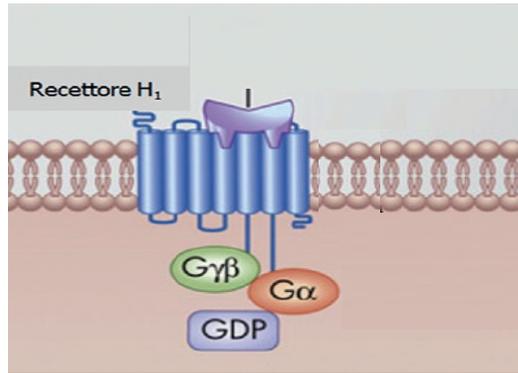


L'istamina deriva dalla decarbossilazione dell'istidina ed agisce legandosi a recettori espressi sulle cellule bersaglio (H1, H2, H3, H4) mediando:

- 1) **Vasodilatazione** attraverso l'attivazione della eNOS (ossido nitrico sintetasi) e la produzione di **NO** che insieme alla **PGI₂** rilassano la muscolatura liscia dei vasi.
- 2) Contrazione delle **cellule endoteliali** (aumento della permeabilità vasale)



L'istamina media la vasodilatazione e l'aumento della permeabilità dei vasi

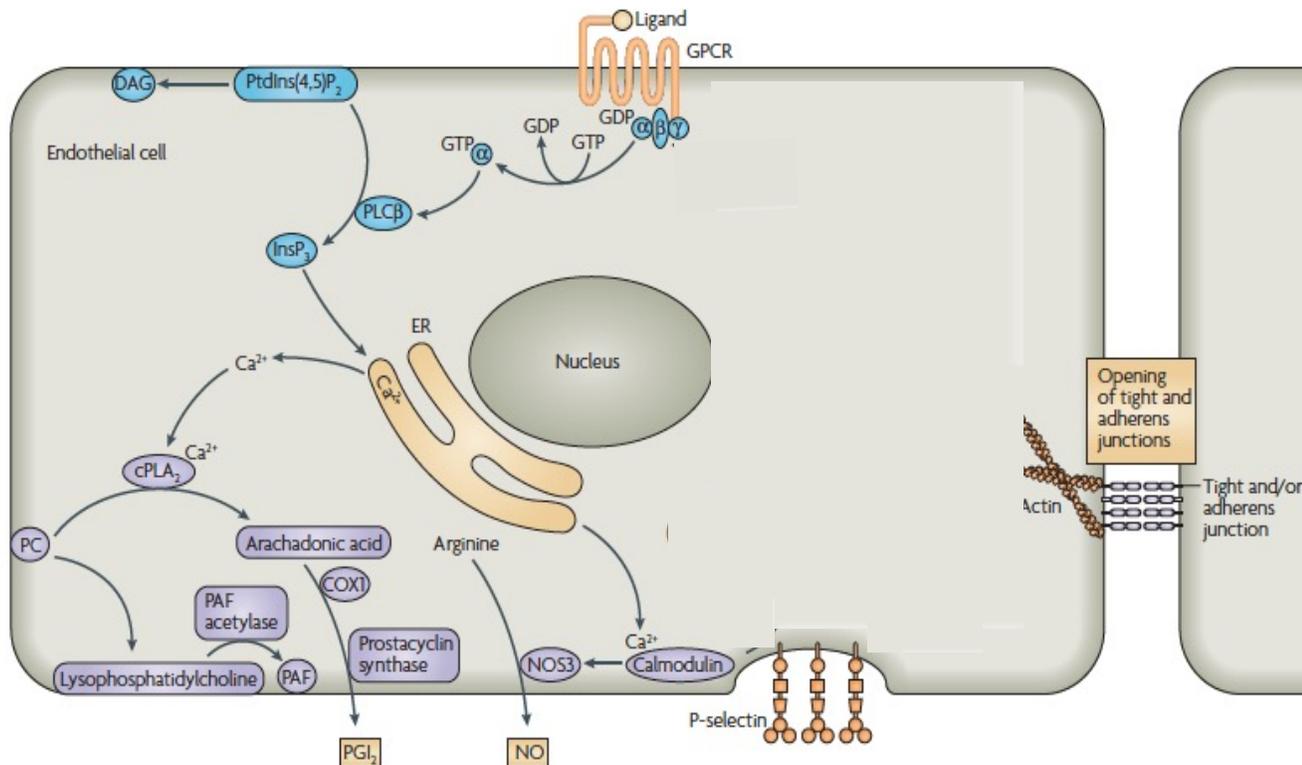


L'istamina lega il recettore H1 sulle cellule endoteliali. Tale recettore è associato alle proteine G (GPCR G-protein coupled receptor).

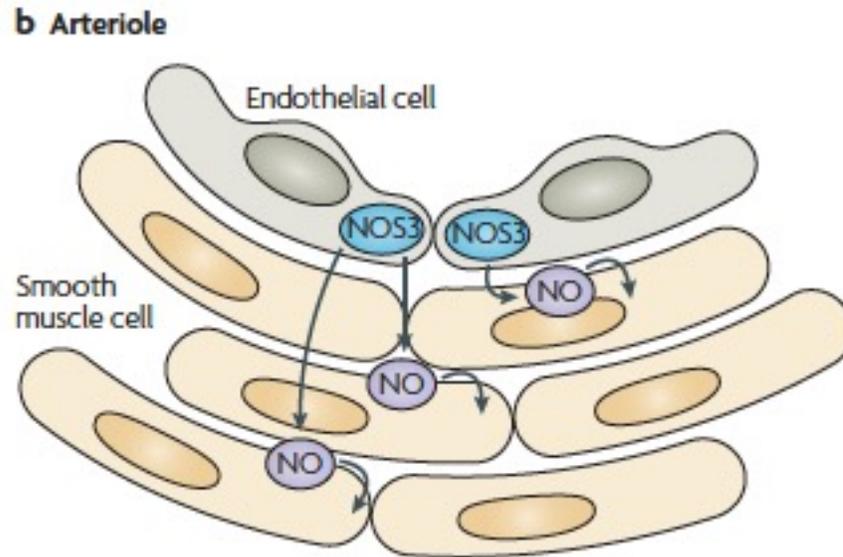
In risposta al legame del recettore con l'istamina, la subunità $G\alpha$ lega il GTP e attiva la PLC β (fosfolipasi C beta). La PLC β scinde il fosfatidil inositolo bifosfato della membrana plasmatica rilasciando inositolo trifosfato (InsP $_3$) che media il rilascio del Ca^{2+} dal RE.

L'aumento di calcio

- lega la calmodulina formando il complesso Ca^{2+} -calmodulina che attiva l'ossido nitrico sintetasi
- attiva la fosfolipasi A2 che media la liberazione di acido arachidonico dai fosfolipidi di membrana



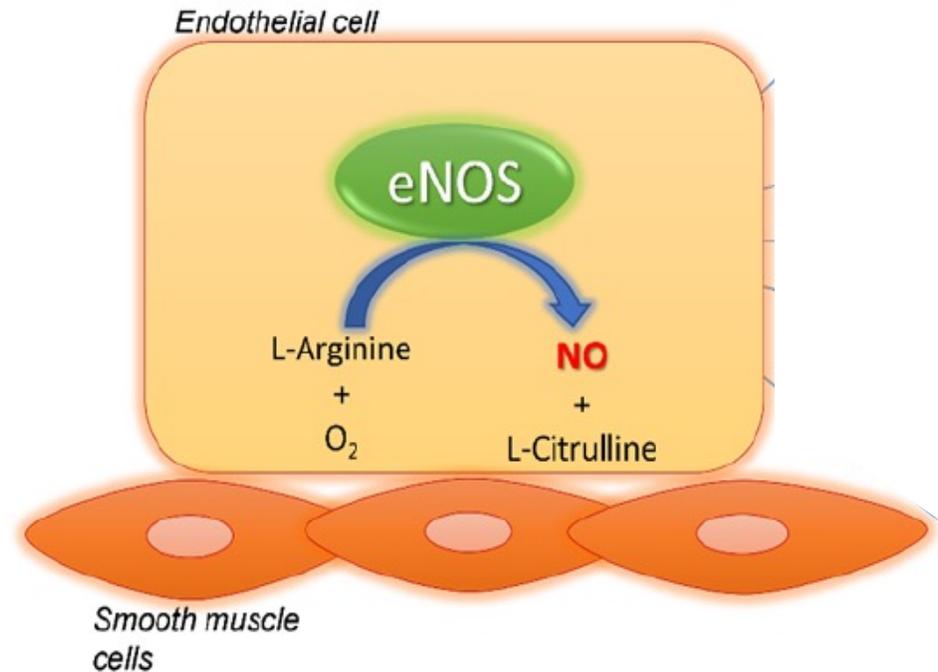
Azione vasodilatante dell'ossido nitrico e della prostaciclina



L'ossido nitrico è sintetizzato a partire da L-arginina, ossigeno molecolare e NADPH dall'enzima ossido nitrico sintetasi. L'ossido nitrico è un radicale libero gassoso che ha diverse azioni fra cui l'azione vaso dilatante agendo sulle cellule muscolari dei vasi.

La prostaciclina (PGI_2) è un metabolita dell'acido arachidonico

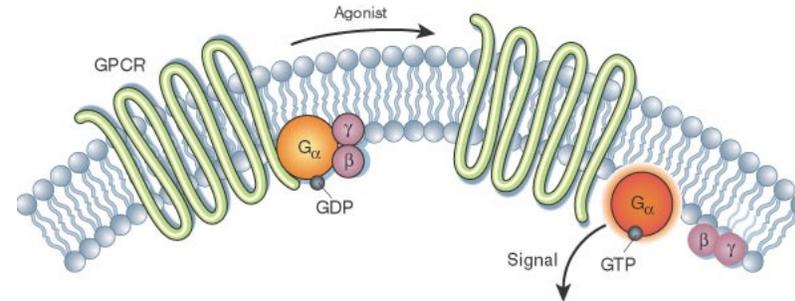
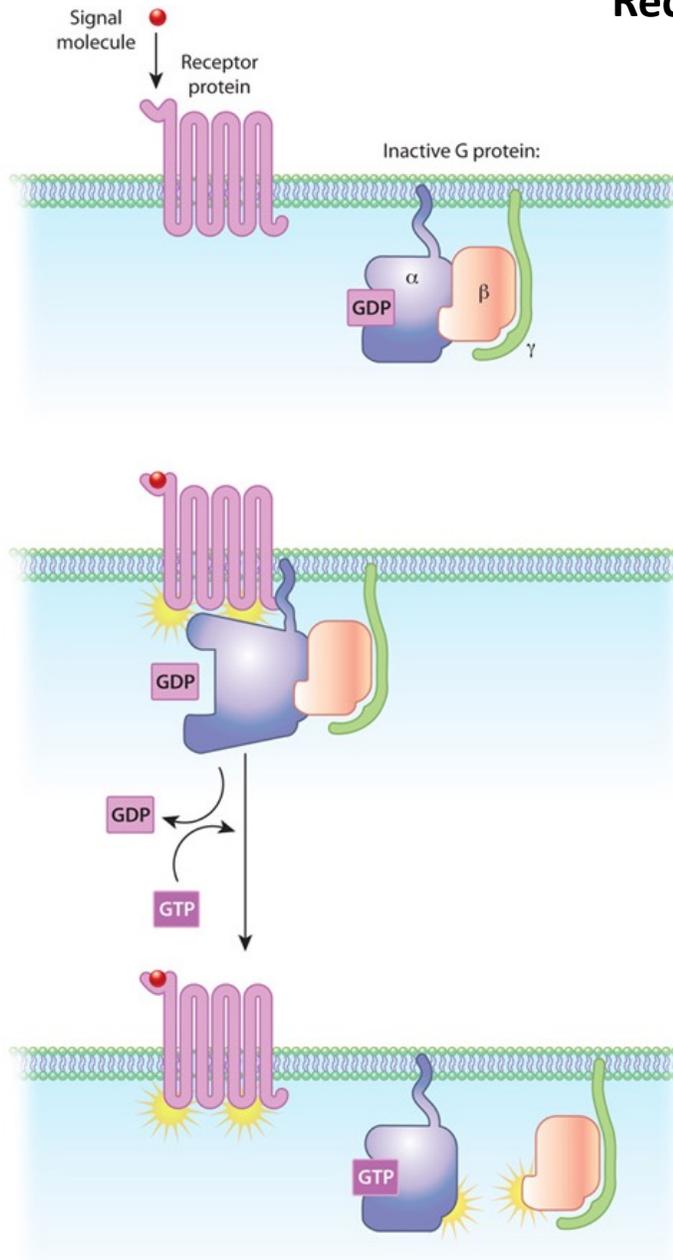
L'istamina stimola le cellule endoteliali a produrre i due mediatori della vasodilatazione: l'ossido nitrico (NO) e prostaciclina (PGI₂)



L'ossido nitrico è sintetizzato a partire da L-arginina, ossigeno molecolare e NADPH dall'enzima ossido nitrico sintetasi. L'ossido nitrico è un radicale libero gassoso che ha diverse azioni fra cui l'azione vasodilatante agendo sulle cellule muscolari dei vasi.

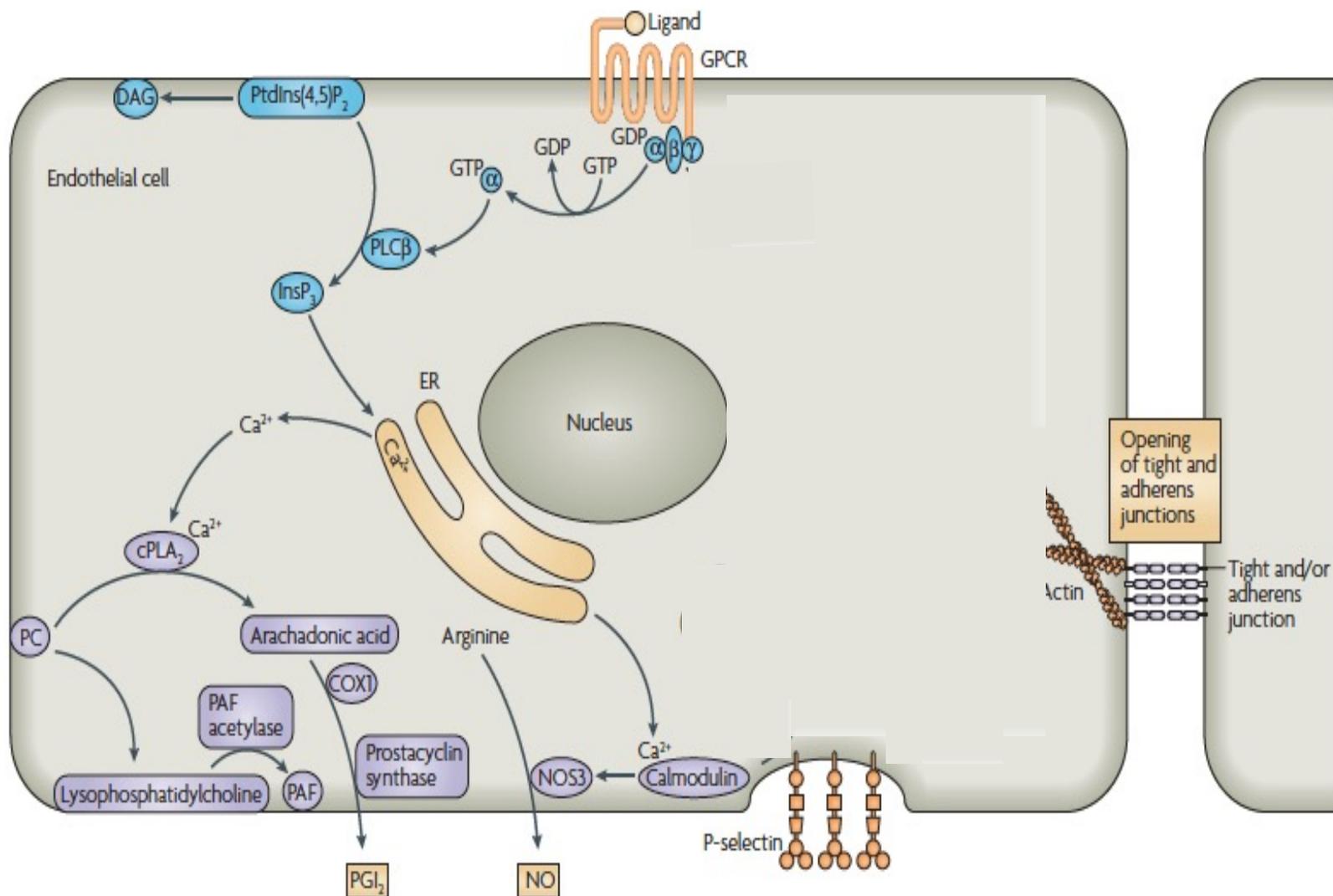
La prostaciclina (PGI₂) è un metabolita dell'acido arachidonico.

Recettori accoppiati alle proteine G (GPCR = G protein coupled receptors)



I recettori accoppiati alle proteine G sono un ampio gruppo di recettori negli eucarioti. Quando un segnale esterno lega un GPCR questo causa un cambiamento conformazionale nel recettore che attiva la subunità alfa che lega il GTP e si dissocia dal recettore e dalle subunità beta e gamma. Sia la sub-unità alfa che beta e gamma rimangono associate alla membrana e possono interagire con altre molecole attivandole. In seguito alla idrolisi del GTP le sub-unità si riassociano a formare il trimero alfa, beta e gamma inattivo.

La prostaglandina I₂ (prostaciclina) causa vasodilatazione mediata dall'istamina

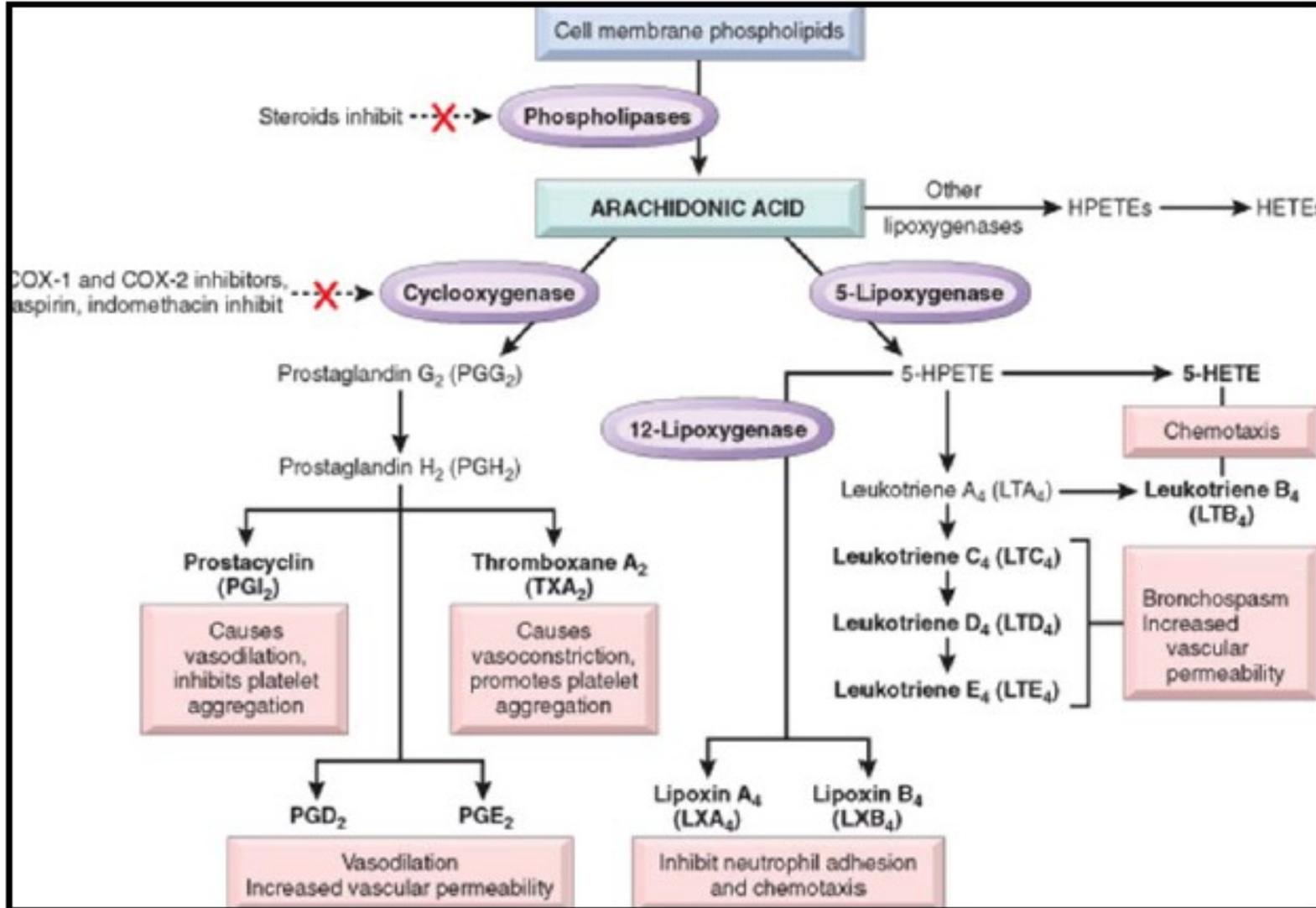


La prostaglandina I₂ o prostaciclina è un metabolita dell'acido arachidonico ed è sintetizzata dalla prostaciclina sintetasi.

La prostaciclina sintasi espressa dalle cellule endoteliali media la sintesi di PGI₂ che rilassando la muscolatura liscia delle arteriole media la vasodilatazione.

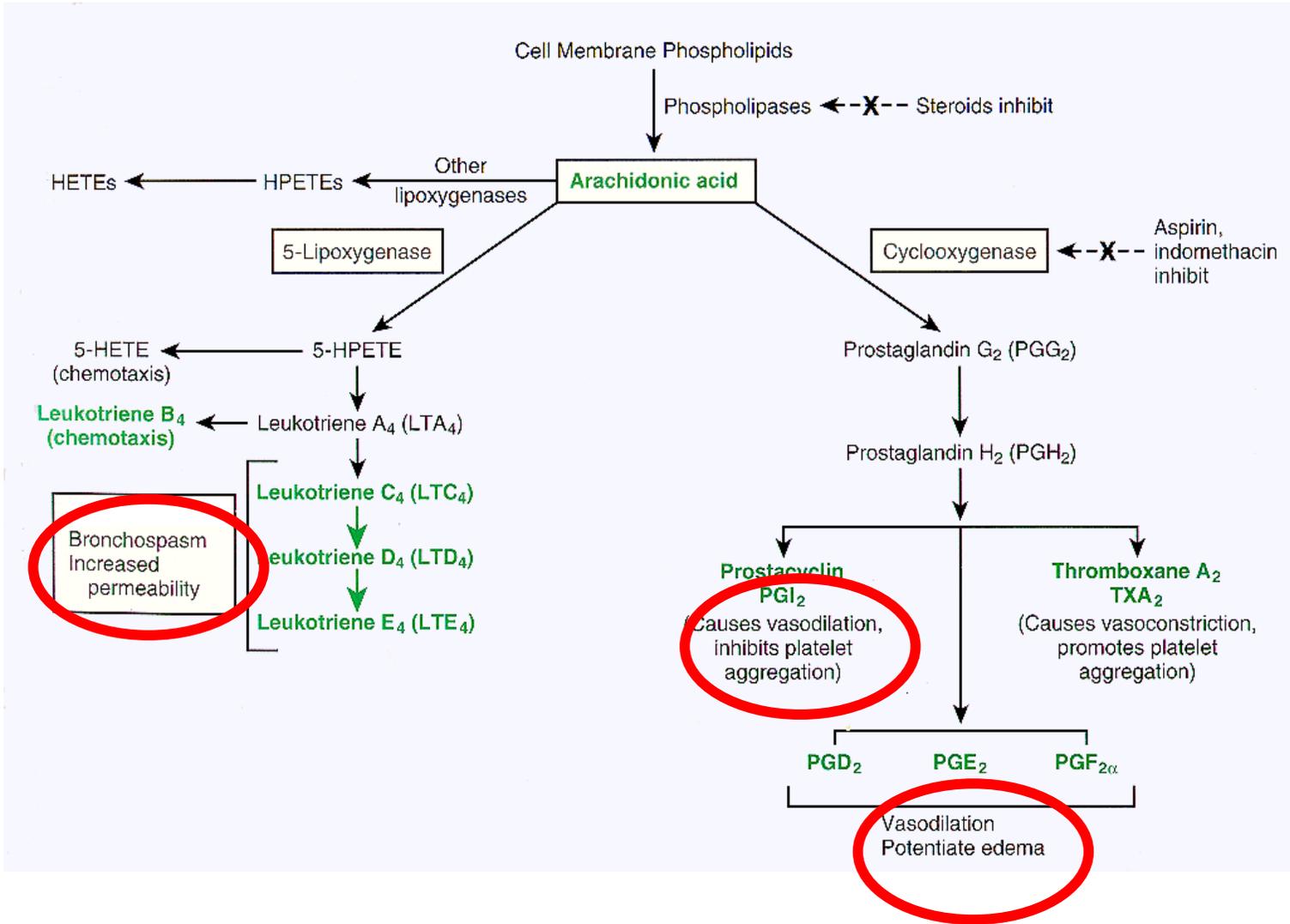
Il legame dell'istamina con il recettore H1 espresso dalle cellule endoteliali attraverso l'aumento di Ca²⁺ intracellulare attiva la fosfolipasi A2 che media la liberazione di acido arachidonico dai fosfolipidi di membrana.

I metaboliti dell'acido arachidonico



Le prostaglandine e i leucotrieni sono mediatori lipidici che promuovono la reazione infiammatoria acuta. Questi mediatori anche denominati eicosanoidi sono prodotti a partire dall'acido arachidonico (AA) presente nei fosfolipidi di membrana. L'acido arachidonico è liberato dalla fosfolipasi A₂; le prostaglandine e i leucotrieni sono sintetizzati da due classi di enzimi: le ciclossigenasi e le lipossigenasi.

Metaboliti dell'acido arachidonico: le prostaglandine

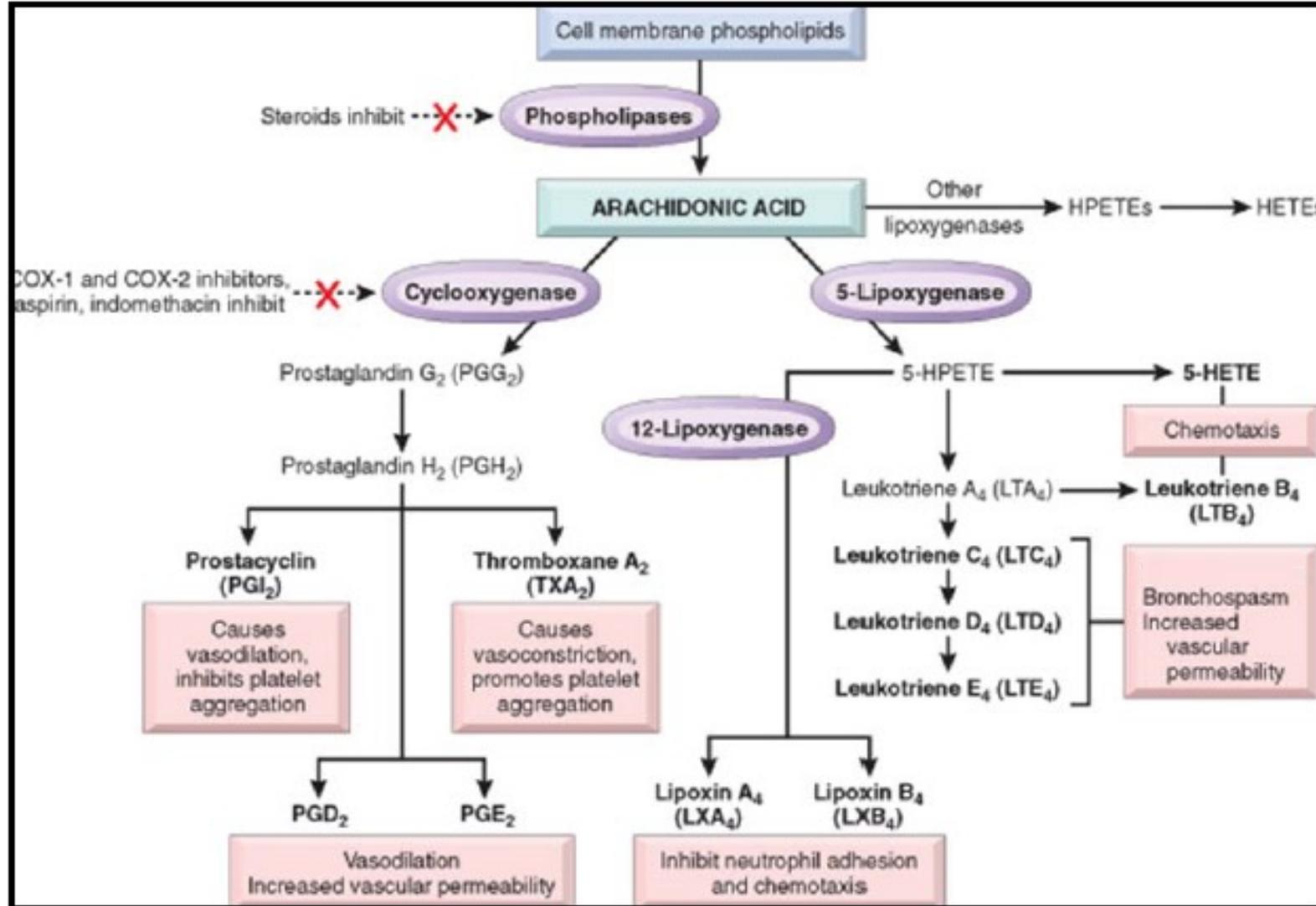


La via della ciclossigenasi mediata dai due enzimi COX-1 e COX-2 porta alla produzione delle **prostaglandine (PG)**.

I prodotti della via della ciclossigenasi includono la PGE₂, la PGD₂, la PGF_{2α}, la PGI₂ e il trombossano A₂.

La COX-1 è costitutivamente espressa dalla maggior parte dei tessuti. COX-2 è indotta nelle cellule che partecipano al processo infiammatorio. La reazione iniziale delle ciclossigenasi trasforma l'acido arachidonico in PGG₂ e la perossidasi in PGH₂. Le diverse PG sono successivamente sintetizzate dall'azione di specifici enzimi che hanno una espressione tissutale ristretta. Per esempio le cellule endoteliali esprimono la prostaciclina sintasi responsabile della produzione di PGI₂ o prostaciclina che è un vasodilatatore.

I metaboliti dell'acido arachidonico: leucotrieni



I leucotrieni sono prodotti dai leucociti e dai mastociti ad opera dell'enzima lipossigenasi. La 5-lipossigenasi converte l'AA in acido 5-idrossieicosatetraenoico (5-HPETE) che è il precursore dei leucotrieni. Il leucotriene B₄ è un fattore chemiotattico per i leucociti. LTC₄, LTD₄, LTE₄ causano un aumento della permeabilità dei vasi.

Anche le lipossine sono prodotte a partire dall'AA. Queste molecole sopprimono l'infiammazione inibendo l'adesione dei neutrofili all'endotelio e la loro migrazione.

Metaboliti dell'acido arachidonico

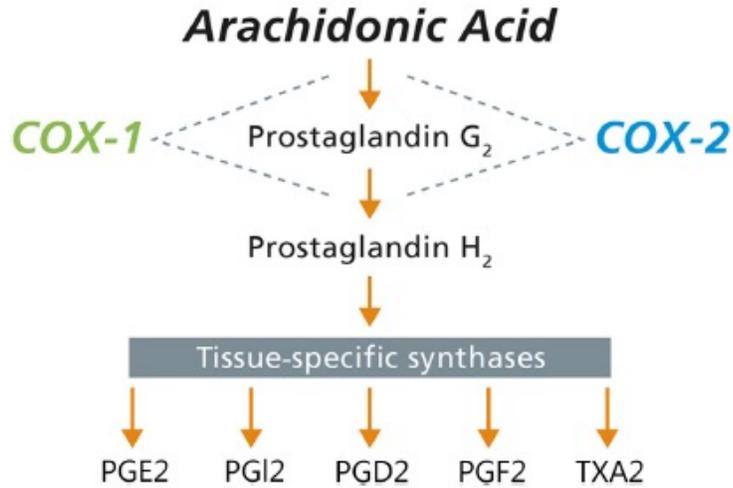


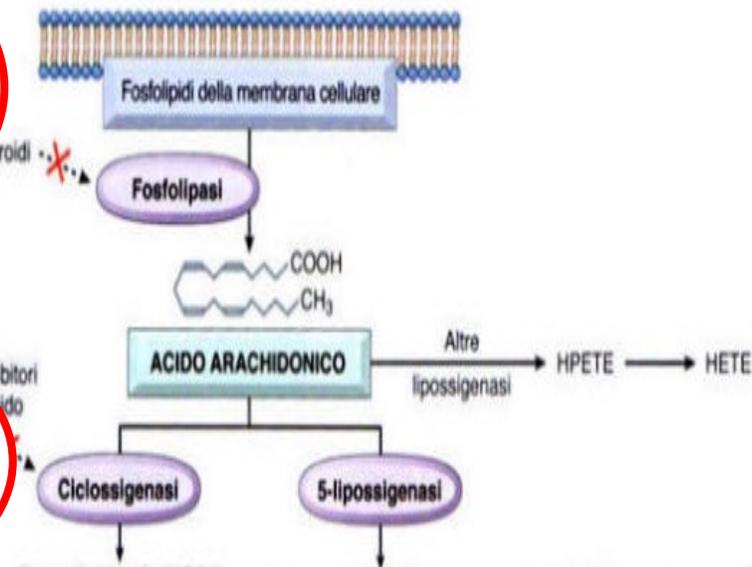
Figure 1. COX pathway of arachidonic acid metabolism. COX-1 or COX-2 converts arachidonic acid to PGG₂ and furthermore to PGH₂ via COX and peroxidase activity. PGH₂ is next metabolized to 5 major bioactive prostanooids—PGE₂, PGI₂, PGD₂, PGF₂, and TXA₂—through their respective tissue-specific synthases. COX, cyclooxygenase; PG, prostaglandin; TX, thromboxane.

Le prostaglandine e i leucotrieni sono prodotti principalmente dai leucociti, mastociti, cellule endoteliali e piastrine.

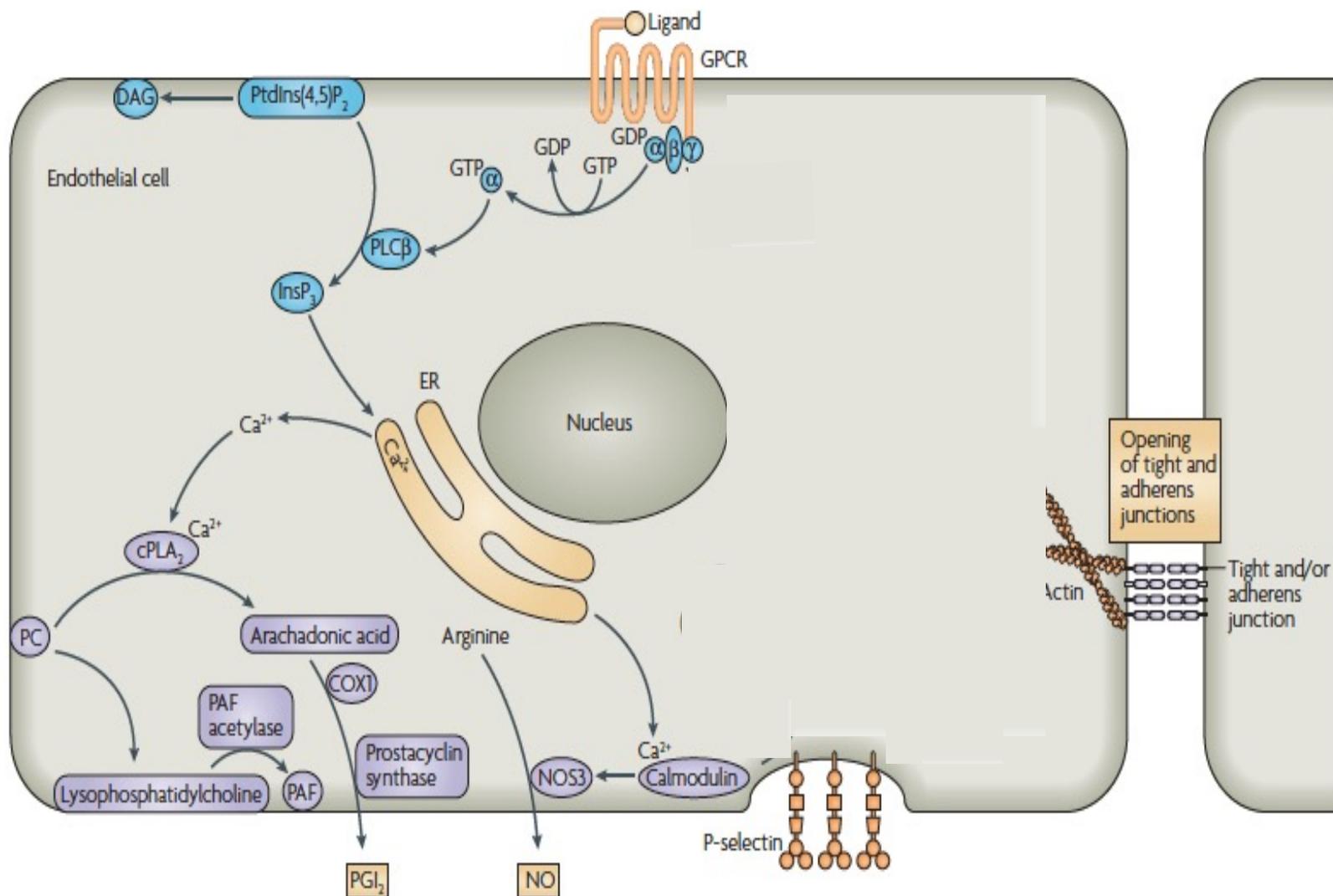
Gli enzimi responsabile della sintesi delle diverse prostaglandine hanno una distribuzione tissutale specifica

Inibizione da farmaci anti-infiammatori steroidei (cortisonici o corticosteroidi)

Inibizione mediata da inibitori di COX-1 e COX-2 FANS (farmaci anti-infiammatori non-steroidi) come L'acido acetilsalicilico (aspirina) e Ibuprofene



La prostaciclina causa vasodilatazione mediata dall'istamina

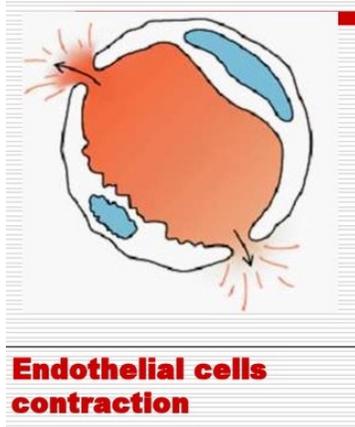


Il legame dell'istamina con il recettore H1 espresso dalle cellule endoteliali attraverso l'aumento di Ca $^{2+}$ intracellulare attiva la fosfolipasi A2 che media la liberazione di acido arachidonico dai fosfolipidi di membrana.

La prostaciclina sintasi espressa dalle cellule endoteliali media la sintesi di PGI $_2$ che rilassando la muscolatura liscia delle arteriole media la vasodilatazione.

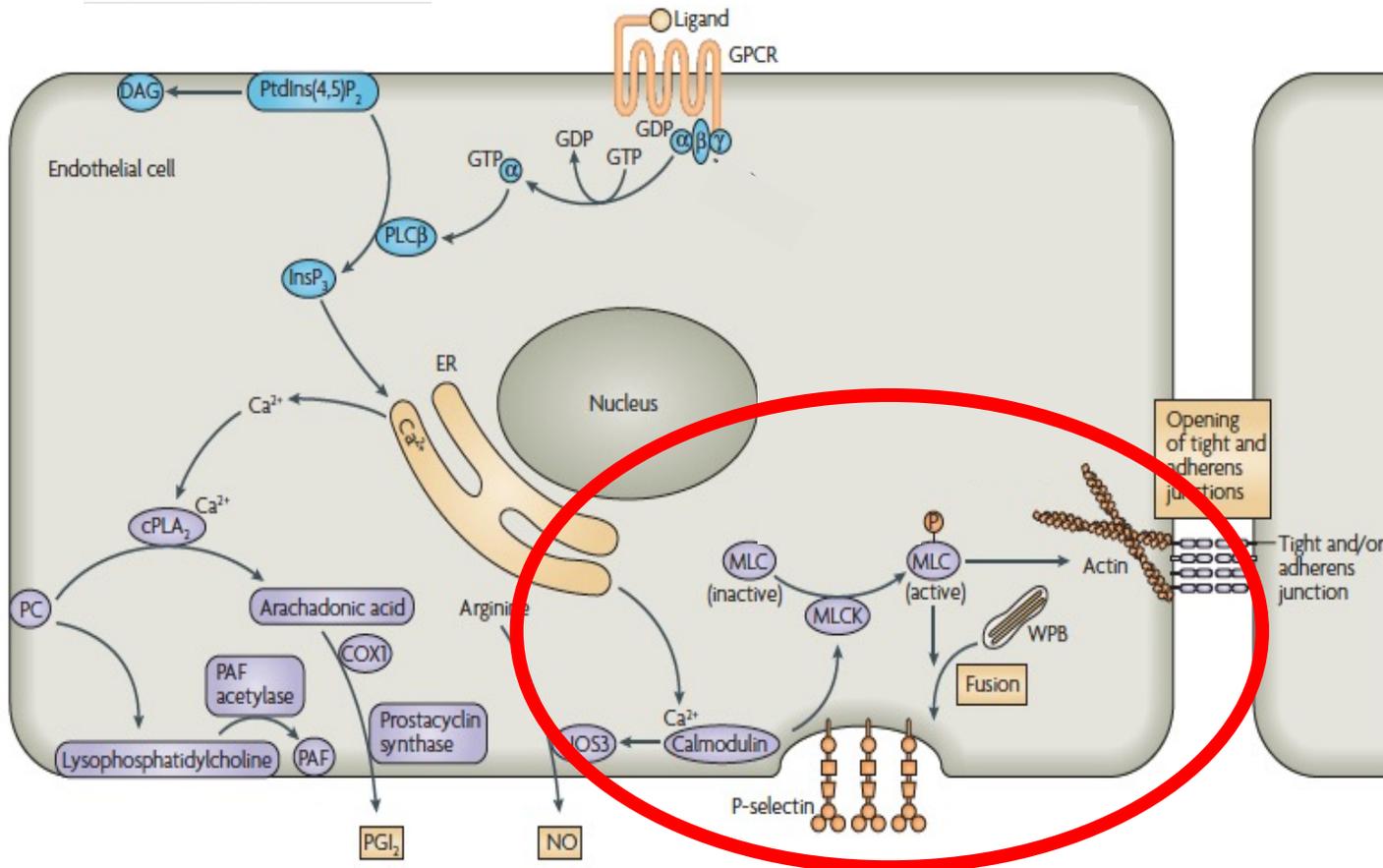
In seguito alla liberazione dell'acido arachidonico dalla fosfatidilcolina viene generata lisofosfatidilcolina che darà origine al PAF (platelet activating factor).

L'istamina aumenta la permeabilità vascolare inducendo la contrazione delle cellule endoteliali



La contrazione delle cellule endoteliali è il meccanismo più comune di aumento della permeabilità vascolare provocata dall'istamina, leucotrieni e altri mediatori.

Questa contrazione avviene rapidamente dopo l'esposizione al mediatore.



Il complesso Ca $^{2+}$ -calmodulina attiva l'enzima myosin-light-chain kinase (MLCK) che fosforila la miosina. La miosina fosforilata inizia la contrazione dei filamenti di actina che sono associati alle tight junctions causando l'apertura di spazi fra le cellule.

Principali meccanismi che causano l'aumento della permeabilità vascolare nella risposta infiammatoria

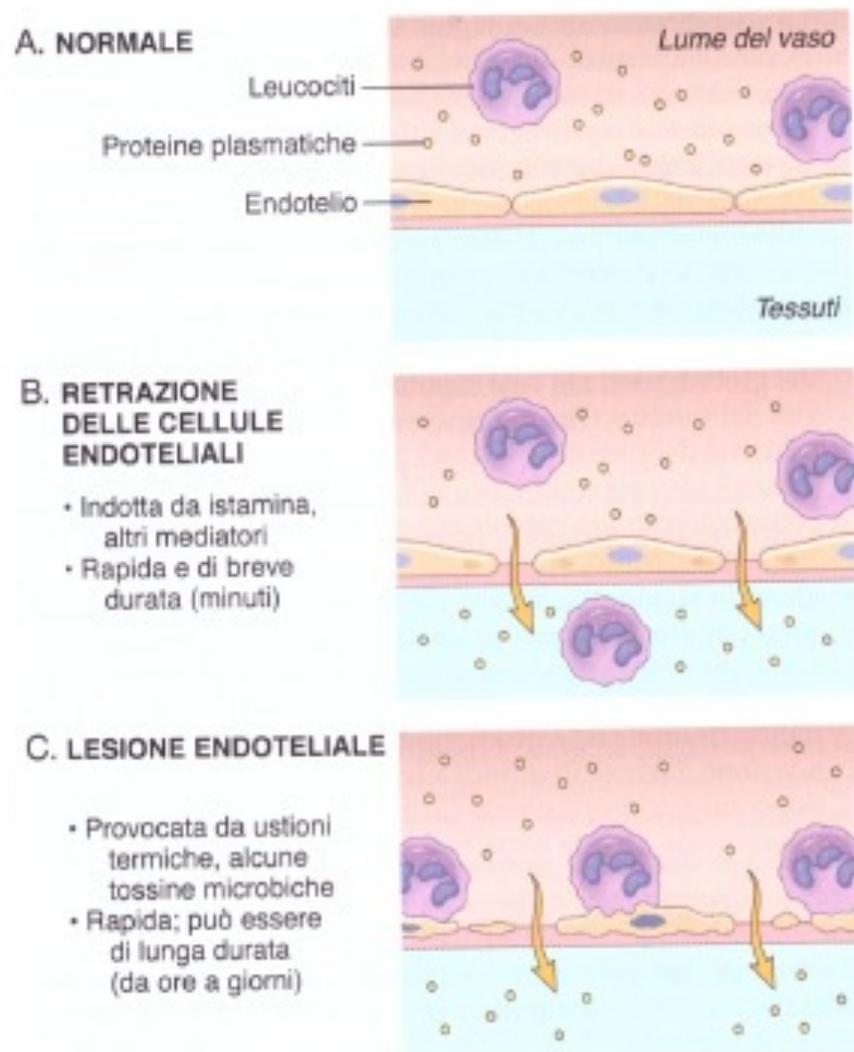
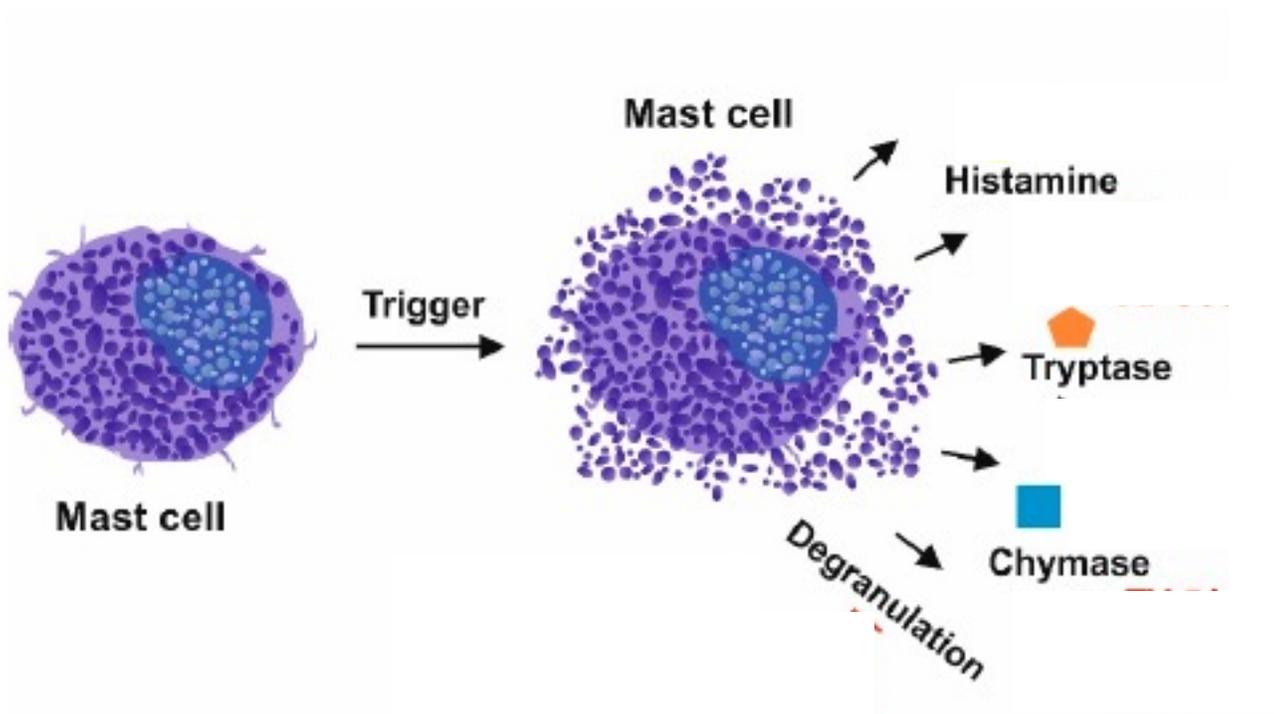


Figura 3.3 I principali meccanismi, le caratteristiche e le cause che determinano l'aumento della permeabilità vascolare nella risposta infiammatoria.

L'aumento della permeabilità vascolare nella risposta infiammatoria può essere dovuto a:

- La **contrazione delle cellule endoteliali** è provocata anche da altri mediatori come la bradichinina e i leucotrieni.
- Il **danno diretto dell'endotelio** si manifesta con necrosi delle cellule endoteliali. Questo può essere causato da danni fisici gravi come ustioni e tossine batteriche.

Stimoli che inducono la degranulazione dei mastociti



La degranulazione dei mastociti con conseguente rilascio di istamina è indotta da diversi stimoli:

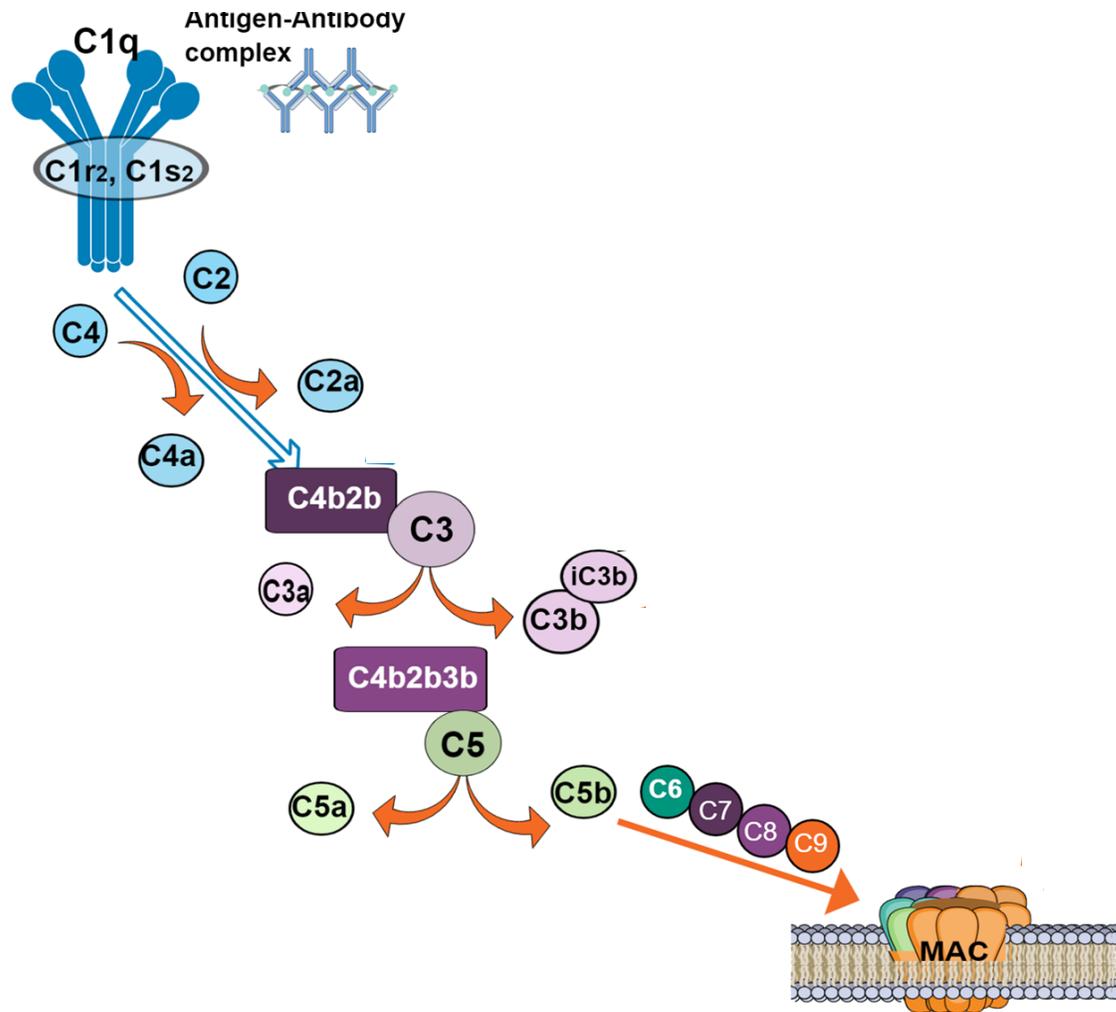
- calore , trauma meccanico
- legame con il fattore C3a e C5a del complemento
- interazione con batteri

Altri mediatori vasoattivi nel processo infiammatorio

Mediatori vasoattivi dell'infiammazione	
Vasodilatazione	Istamina Ossido nitrico Prostaglandine
Aumento della permeabilità vascolare	Istamina C3a e C5a (tramite il rilascio di istamina) Bradichinina Leucotrieni C ₄ ,D ₄ ,E ₄ PAF Sostanza P

Le modificazioni vascolari ed in particolare l'aumento della permeabilità vascolare sono mediate anche da proteine plasmatiche che appartengono ai sistemi delle chinine e del complemento.

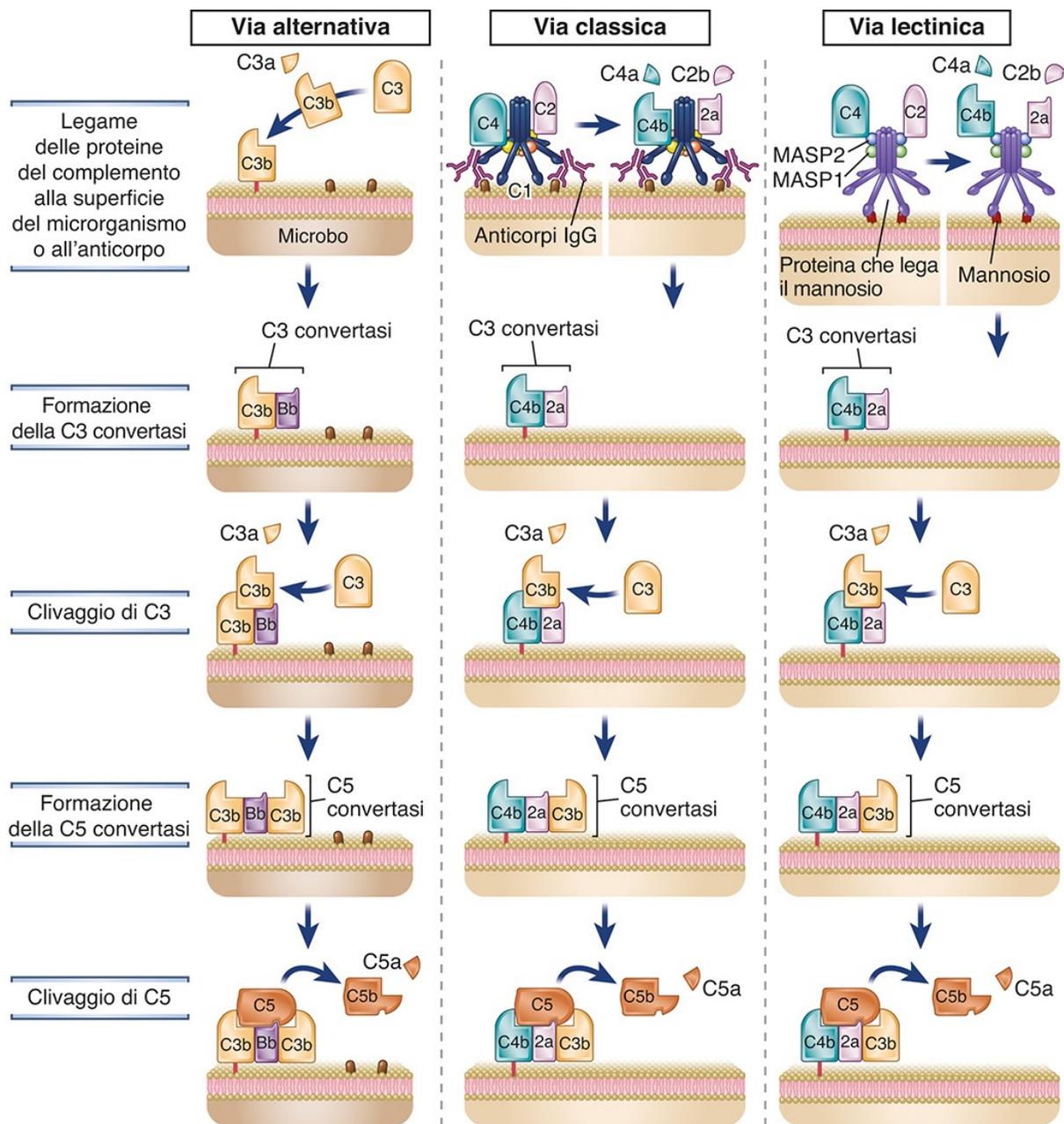
Il Complemento



Il sistema del complemento è costituito da proteine inattive nel plasma e denominate C1-C9. Molte di queste proteine sono attivate in modo da divenire enzimi proteolitici che scindono altre componenti del complemento così da realizzare una cascata enzimatica che culmina con la formazione del complesso di attacco della membrana (MAC) che è costituito da molecole C9.

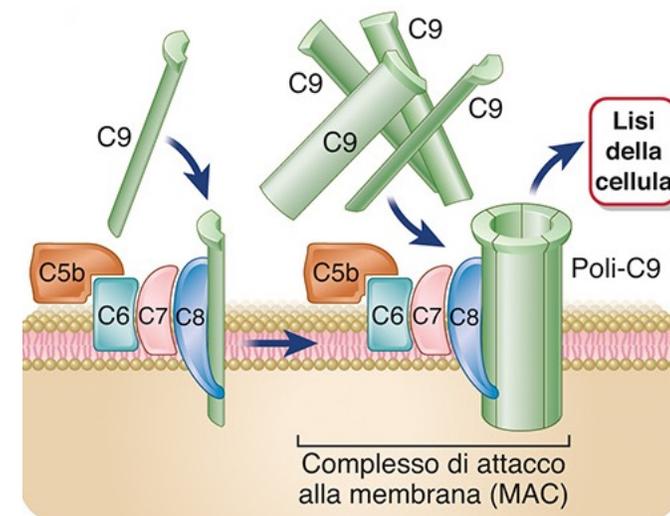
Le funzioni biologiche del complemento sono mediate dal MAC e dall'azione dei frammenti che derivano dal taglio proteolitico dei componenti del complemento.

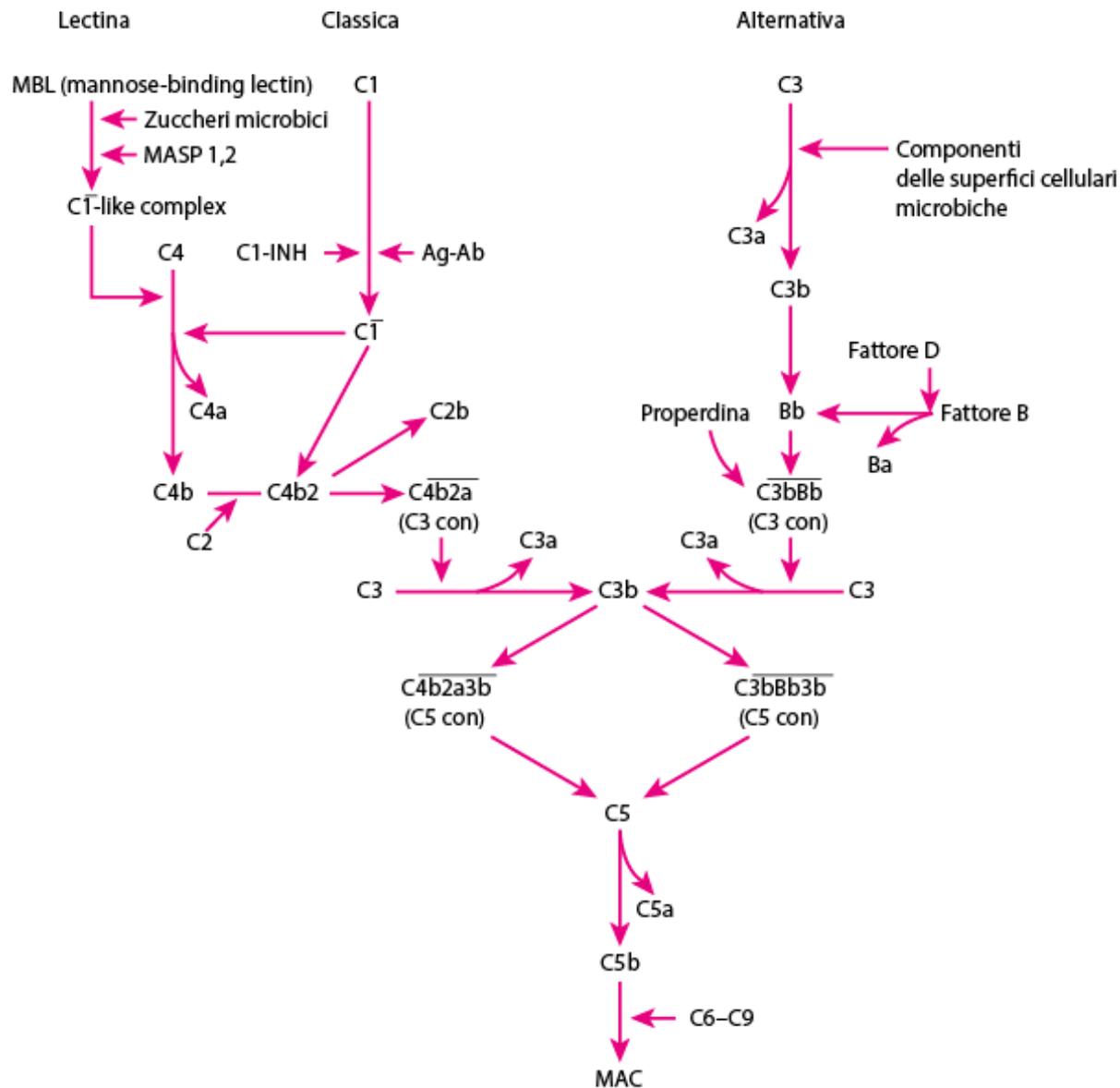
Sistema del complemento



Il sistema del complemento può essere attivato dai complessi antigene- anticorpo (via classica); da componenti delle superfici dei microbi (via alternativa); via lectinica (zuccheri microbici).

Attivazione delle componenti terminali del complemento

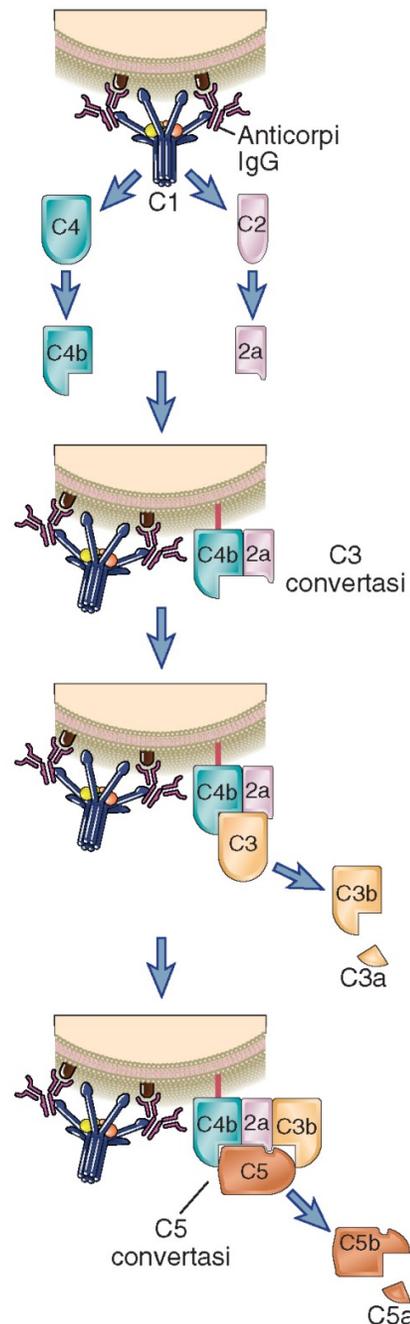




Le tre vie di attivazione del complemento convergono in un tratto finale comune che porta alla formazione del complesso di attacco della membrana (MAC).

Il MAC è un poro che deriva dalla polimerizzazione della componente C9 del complemento. Il MAC provoca la lisi delle cellule estranee.

Via classica



Via classica di attivazione del complemento

La via classica di attivazione del complemento viene avviata dal legame della componente C1 alle IgG o alle IgM legate all'antigene. C1 è composto da C1q, r, s. C1q composta da sei catene lega gli anticorpi mentre C1s e r hanno attività enzimatica.

Il cambiamento conformazionale dovuto al legame C1q-Ig permette l'attivazione del C1r che scinde il C1s attivandolo.

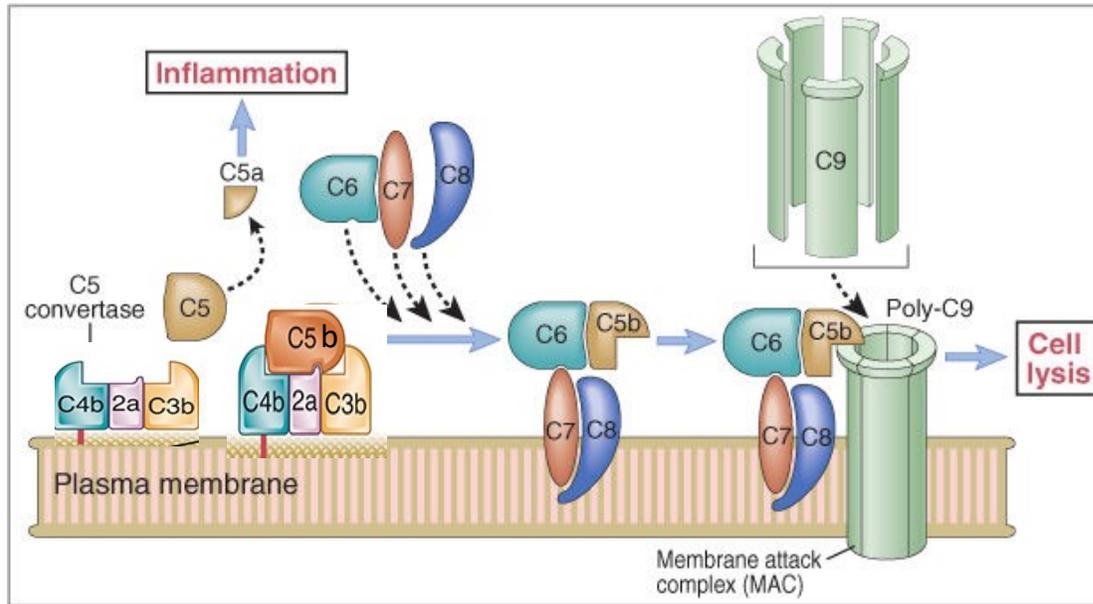
Il C1s scinde il C4 in C4a e C4b che si lega covalentemente all'antigene o all'anticorpo.

Il C2 che ha una tendenza a legare il C4b viene scisso dal C1s in C2a e C2b.

Il complesso C4bC2a è la C3 convertasi.

La C3 convertasi scinde il C3 dando origine ai due prodotti C3a e C3b. Quest'ultimo si lega covalentemente al complesso C4b2a generando la C5 convertasi.

Tappe tardive dell'attivazione del complemento



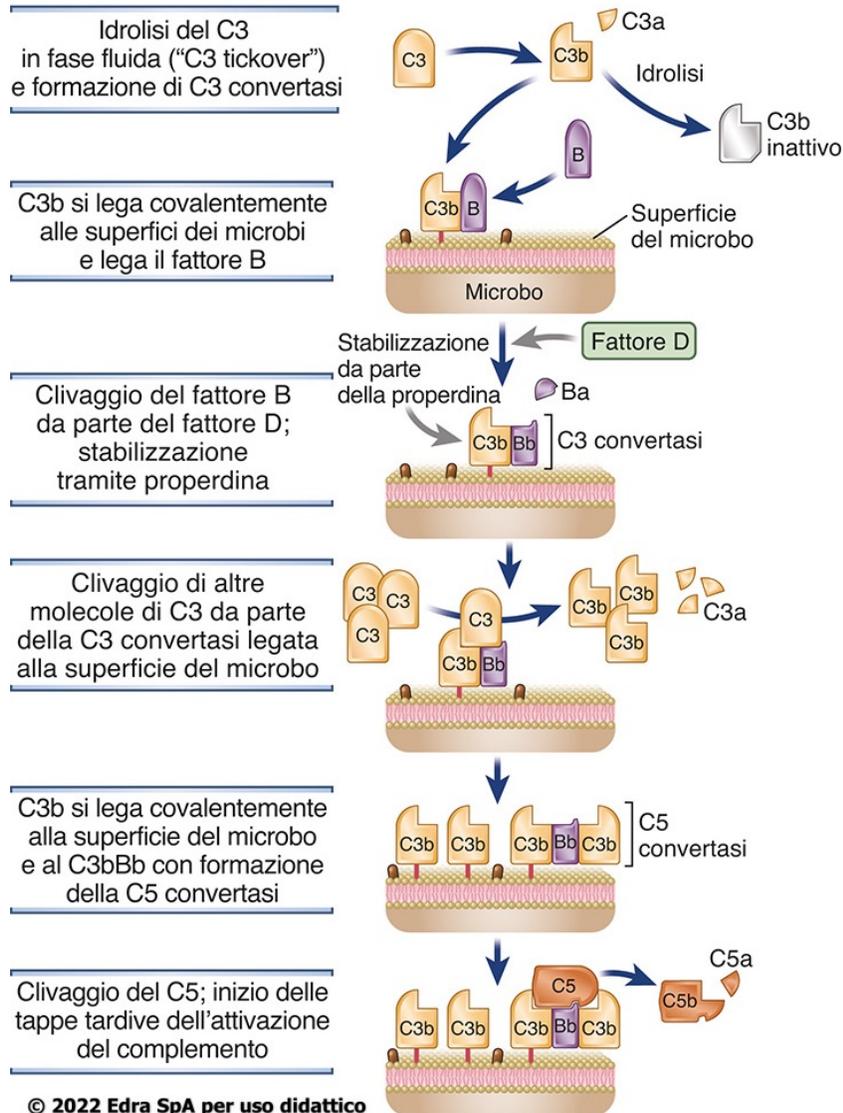
© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com

La C5 convertasi da inizio alla formazione del complesso di attacco della membrana denominato MAC che causa lisi della cellula

Il C5b mantiene una conformazione in grado di legare il C6, successivamente si legheranno C7, C8.

Infine la polimerizzazione del C9 determina la formazione di pori sulla membrana che permettono l'entrata nella cellula di acqua e ioni extracellulari mediando la lisi della cellula.

Via alternativa di attivazione del complemento



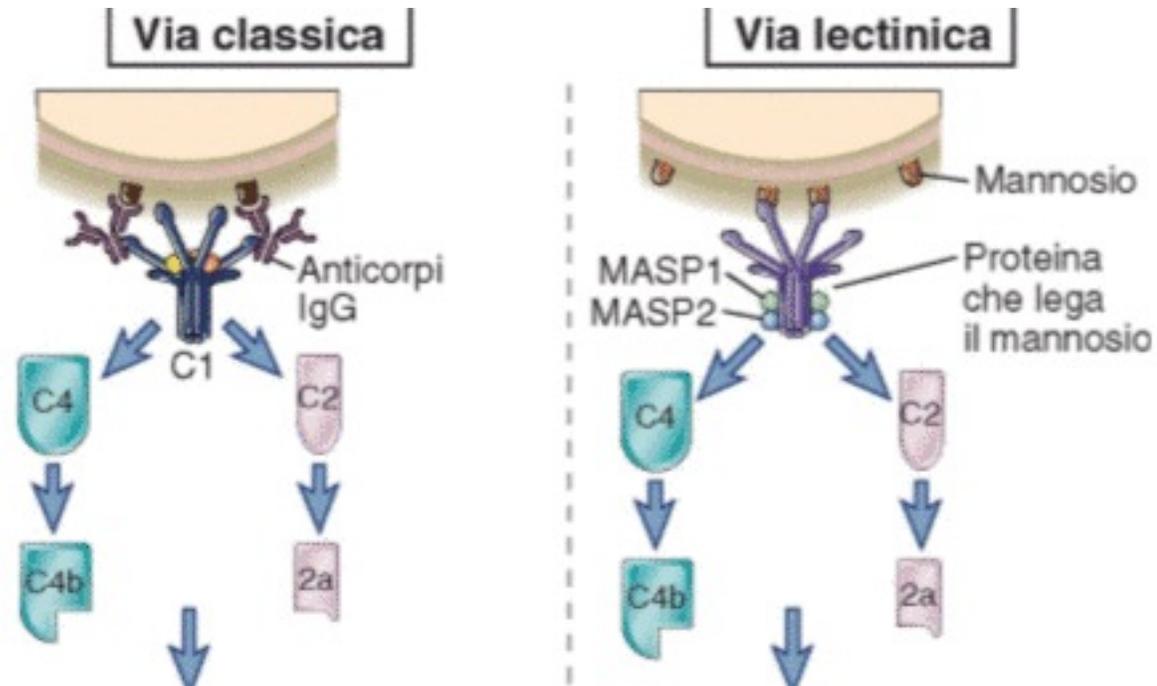
La cascata del complemento può essere attivata attraverso **la via alternativa**.

Il C3 spontaneamente può generare C3b. Questa molecola è altamente reattiva e può legarsi a superfici cellulari. Il C3b sulla superficie cellulare lega la proteina B.

La proteina B legata viene scissa ad opera della fattore D (serin proteasi) rilasciando un frammento Ba mentre il frammento Bb resta legato al C3b formando C3bBb che è la C3 convertasi che quindi scinde il C3 amplificando la produzione C3b.

Questo meccanismo viene innescato in seguito al legame del C3b sulla superficie dei batteri.

Attivazione del complemento attraverso la via lectinica



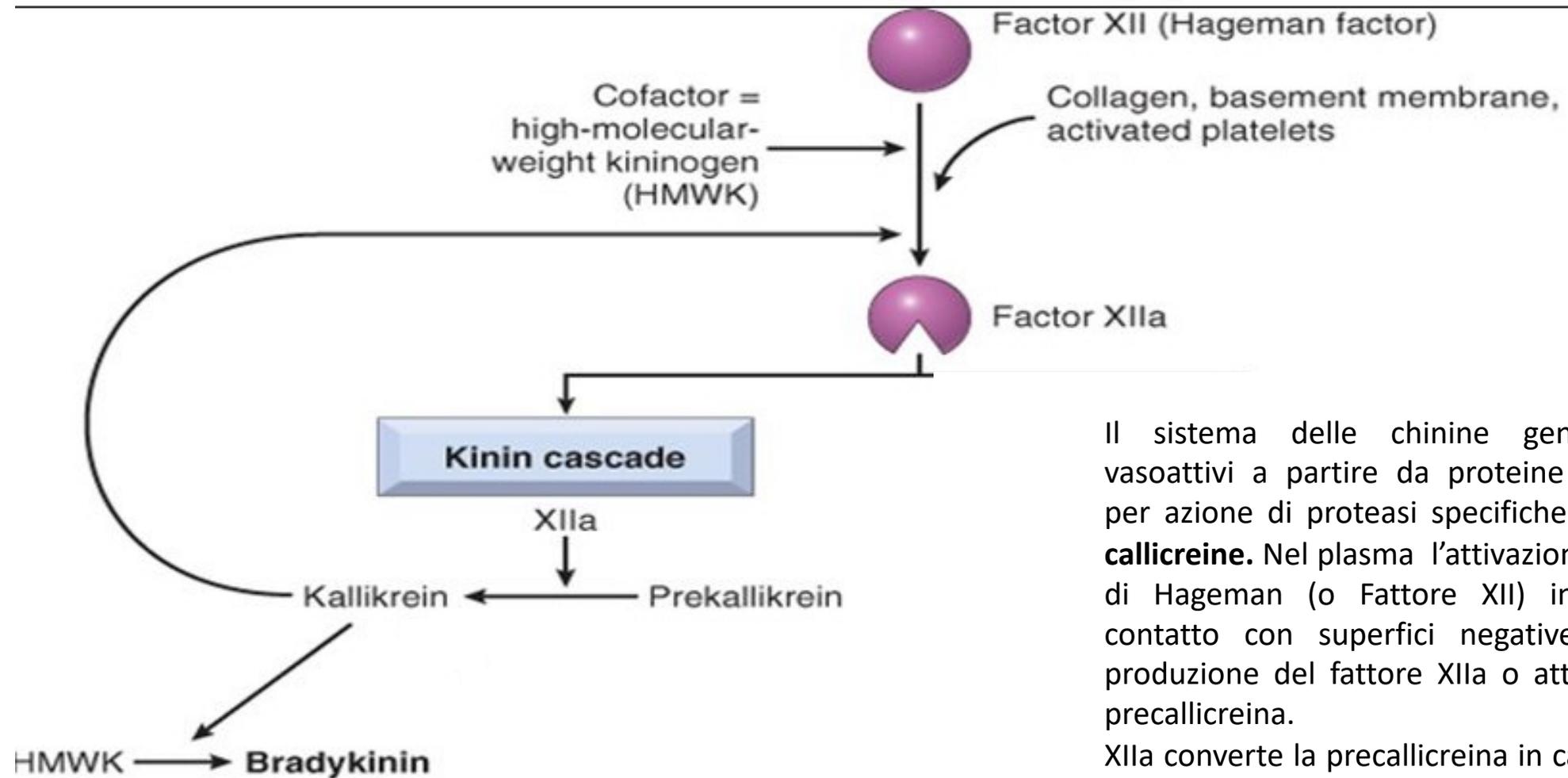
La via lectinica di attivazione del complemento si attiva a partire dall'interazione dei polisaccaridi microbici con le lectine circolanti quali la lectina legante il mannosio (Mannose/mannan binding lectin MBL). La MBL che ha legato gli zuccheri presenti sul microorganismo interagisce con le serine proteasi associate, le MASP; i cui membri sono: MASP-1, MASP-2 e MASP-3. Le proteine MASP hanno una struttura omologa a quella delle proteasi C1r e C1s della frazione C1 e svolgono funzioni molto simili. MASP-2 che forma un complesso con MASP-1 cliva le frazioni C4 e C2. Gli eventi conseguenti a questa reazione sono identici a quelli che avvengono nella via classica.

Altri mediatori vasoattivi nel processo infiammatorio

Mediatori vasoattivi nell'infiammazione	
Vasodilatazione	Istamina Ossido nitrico Prostaglandine
Aumento della permeabilità vascolare	Istamina C3a e C5a (per liberazione di istamina da parte dei mastociti) Leucotrieni C ₄ , D ₄ , E ₄ Bradichinina PAF Sostanza P

Le modificazioni vascolari ed in particolare l'aumento della permeabilità vascolare sono mediate da proteine plasmatiche che appartengono ai sistemi delle chinine e del complemento.

Altri mediatori vasoattivi nel processo infiammatorio: la bradichinina

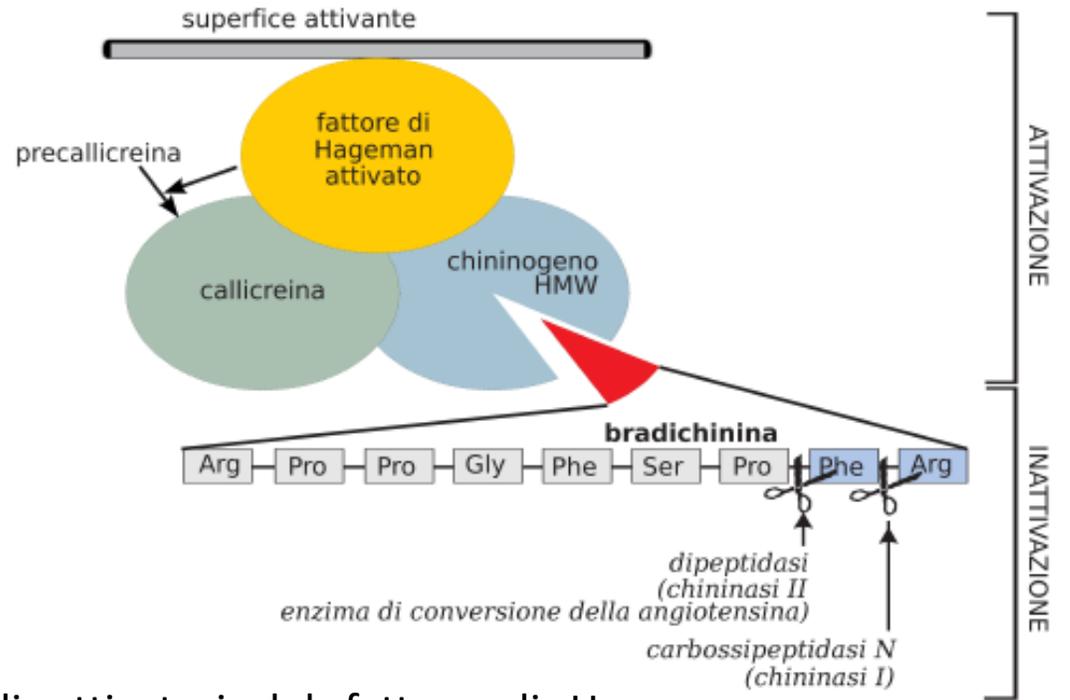
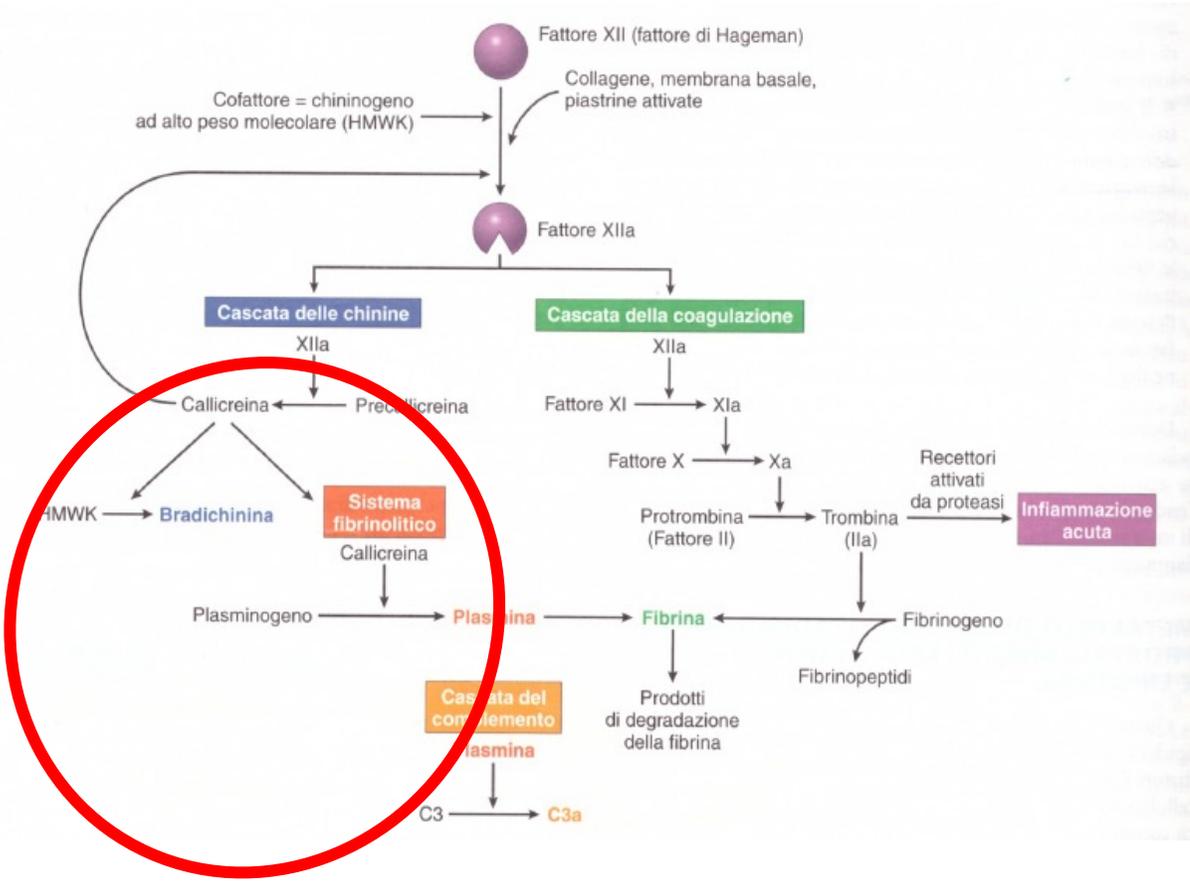


HMWK= chininogeno ad alto peso molecolare

Il sistema delle chinine genera peptidi vasoattivi a partire da proteine plasmatiche per azione di proteasi specifiche denominate **callicreine**. Nel plasma l'attivazione del fattore di Hageman (o Fattore XII) in seguito al contatto con superfici negative porta alla produzione del fattore XIIa o attivatore della precallicreina.

XIIa converte la precallicreina in callicreina che a sua volta scinde il chininogeno ad alto peso molecolare in **bradichinina**.

Produzione della bradichinina

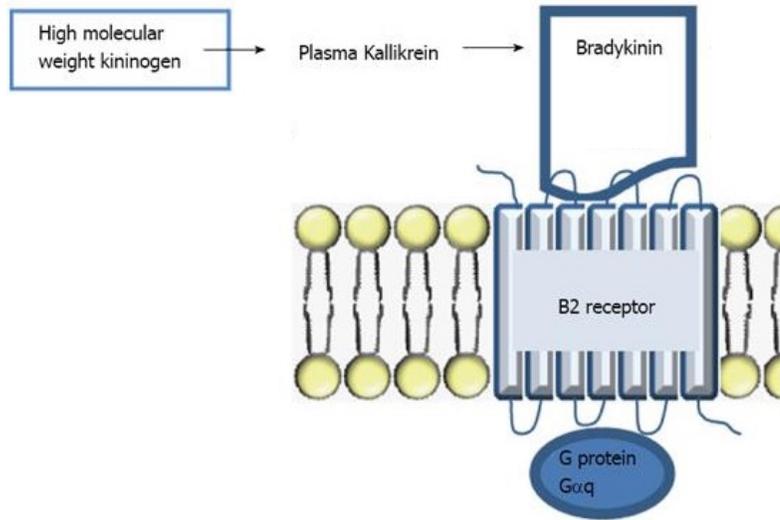


Gli attivatori del fattore di Hageman includono: collagene, membrana basale, o piastrine attivate

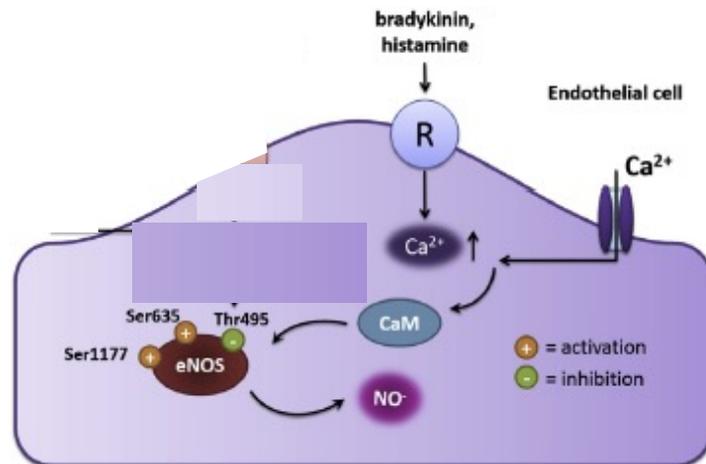
Il fattore di Hageman attivato da origine a 4 sistemi:

- Sistema delle chinine
- Sistema della coagulazione
- Sistema della fibrinolisi
- Sistema del complemento

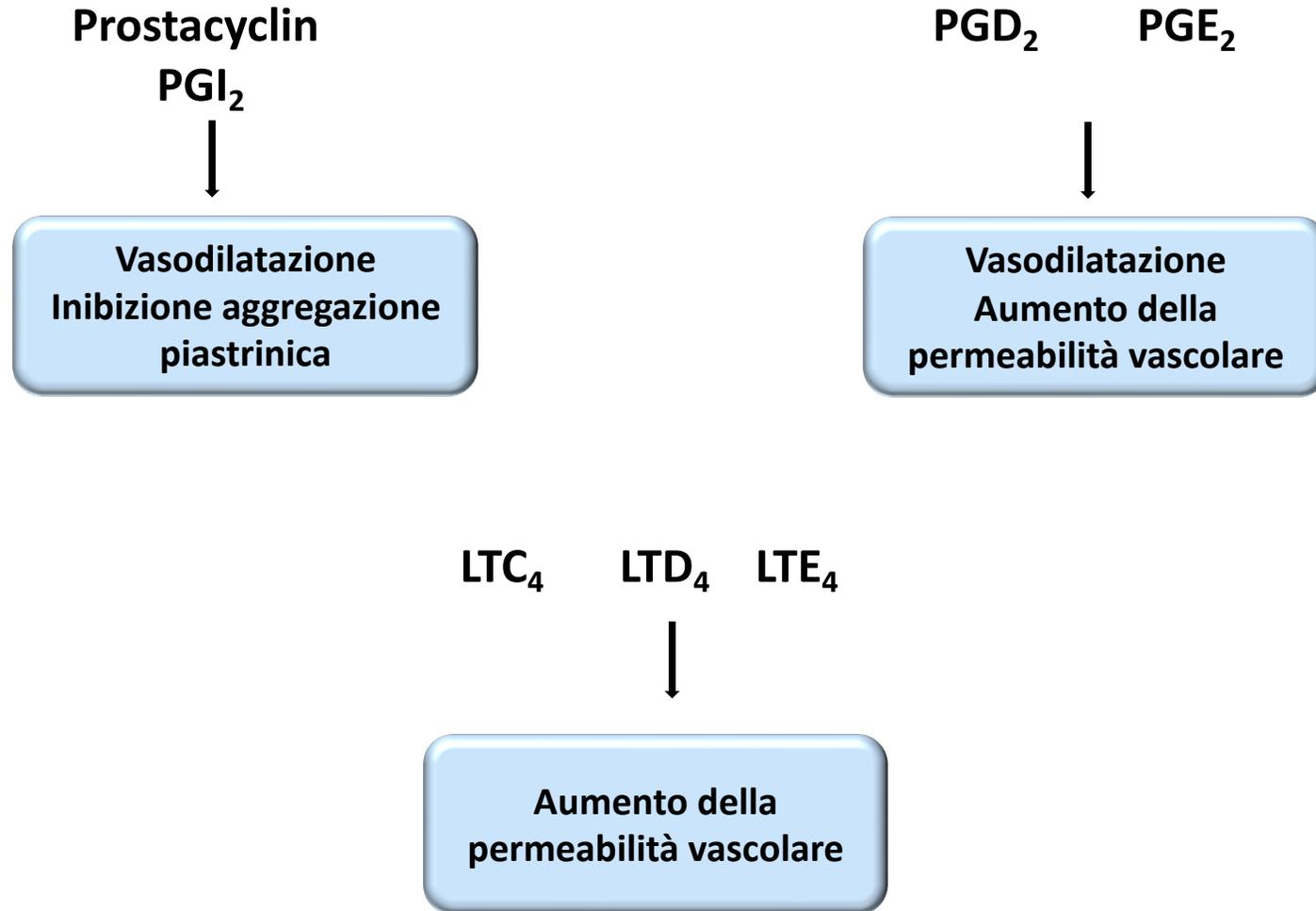
Recettori e meccanismo di azione della Bradichinina



La bradichinina lega recettori espressi sulle cellule endoteliali appartenenti ai «G protein-coupled receptors» (GPCRs) anche definiti seven-(pass)-transmembrane domain *receptors* (recettori che attraversano la membrana 7 volte). Il legame della bradichinina alle cellule endoteliali ha effetti simili a quelli della istamina che includono la contrazione delle cellule endoteliali ➡ aumento permeabilità
Produzione di Ossido Nitrico (NO) ➡ vasodilatazione



Azione biologica delle prostaglandine e dei leucotrieni



Sequenza di eventi in una reazione infiammatoria

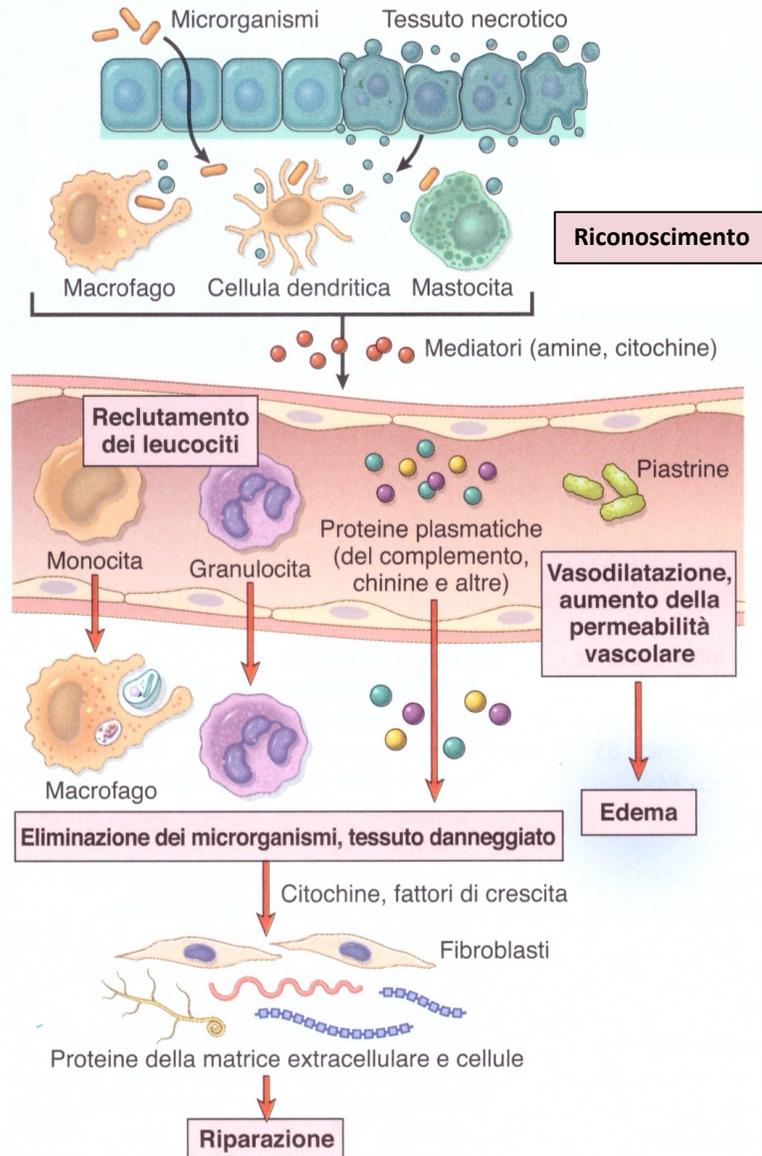


Figura 3.1 Sequenza di eventi in una reazione infiammatoria. Le cellule sentinella presenti nei tessuti (macrofagi, cellule dendritiche, e altre) liberano i mediatori che attivano le reazioni vascolari e cellulari dell'infiammazione in seguito al riconoscimento di microrganismi e cellule danneggiate.

Sequenza di eventi della reazione infiammatoria:

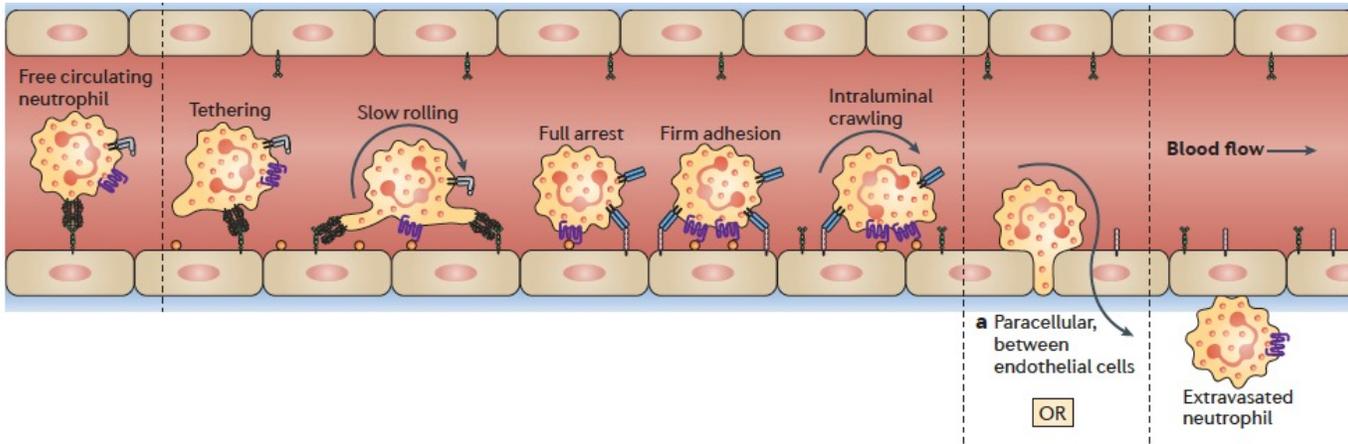
Riconoscimento: le cellule residenti nei tessuti quali mastociti, macrofagi e cellule dendritiche in seguito al riconoscimento dell'agente flogogeno (prodotti microbici, detriti cellulari) da parte di recettori producono mediatori (molecole vasoattive e citochine) che favoriscono le fasi successive del processo infiammatorio (reclutamento dei leucociti e fuoriuscita di proteine del plasma)

Reclutamento i leucociti e le proteine del plasma lasciano i vasi sanguigni per raggiungere il sito dove è presente lo stimolo flogogeno. La fuoriuscita di cellule e proteine plasmatiche richiede delle modificazioni dei vasi sanguigni

Rimozione dello stimolo infiammatorio operata dai fagociti che ingeriscono e degradano i patogeni e i detriti cellulari

Riparazione del tessuto leso attraverso la rigenerazione delle cellule e la formazione di tessuto connettivo (cicattrizzazione)

Fuoriuscita dei leucociti dai vasi nel sito leso

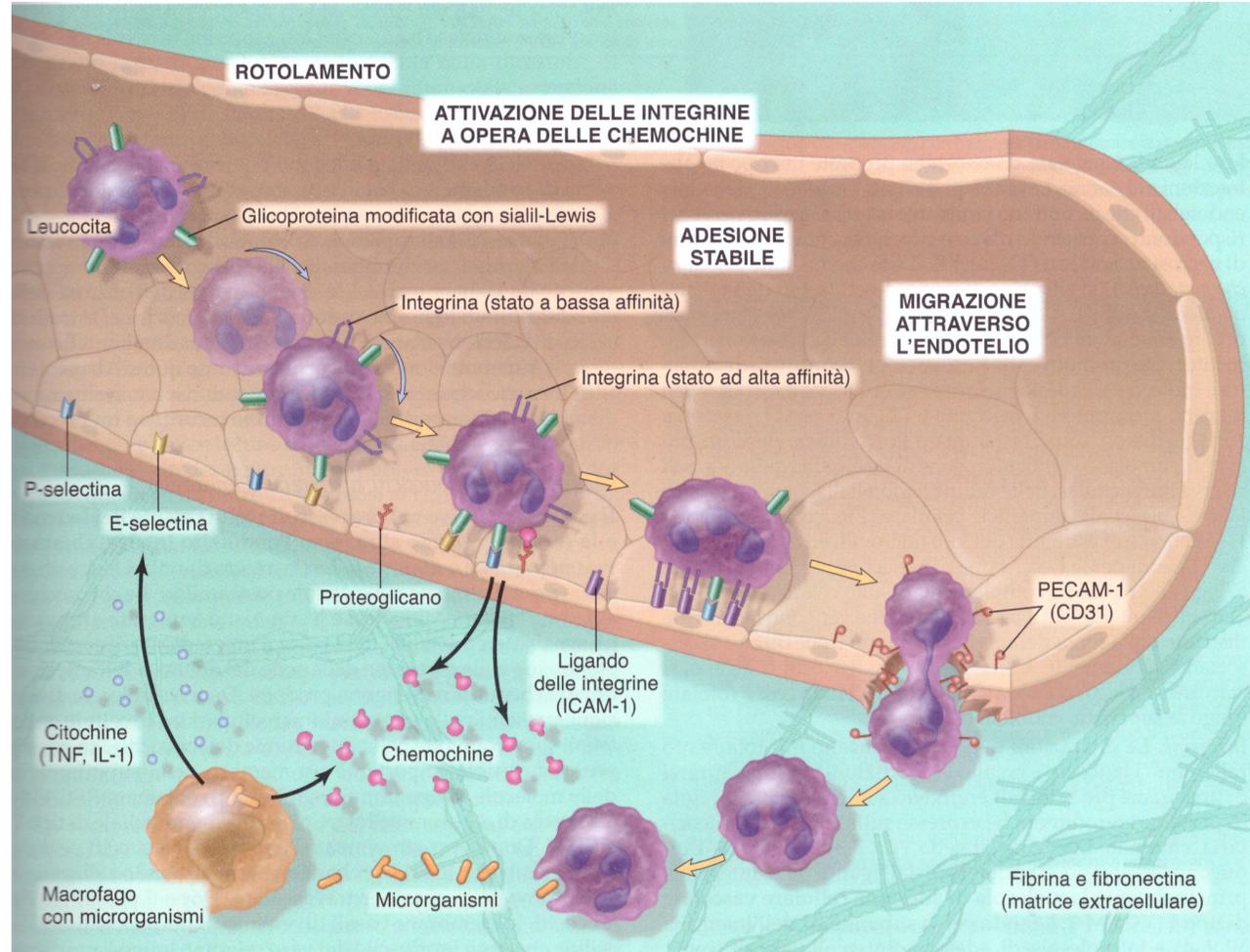


Una funzione principale dell'infiammazione è quella di portare i leucociti nella sede dove è presente lo stimolo flogogeno (microrganismo, tessuto necrotico etc.) in modo che questi (neutrofili, monociti) possano inglobarlo e distruggerlo.

I cambiamenti nel flusso sanguigno e nella permeabilità sono seguiti da un afflusso di leucociti nel tessuto.

I leucociti che sono maggiormente coinvolti nella risposta infiammatoria acuta sono i neutrofili e i monociti.

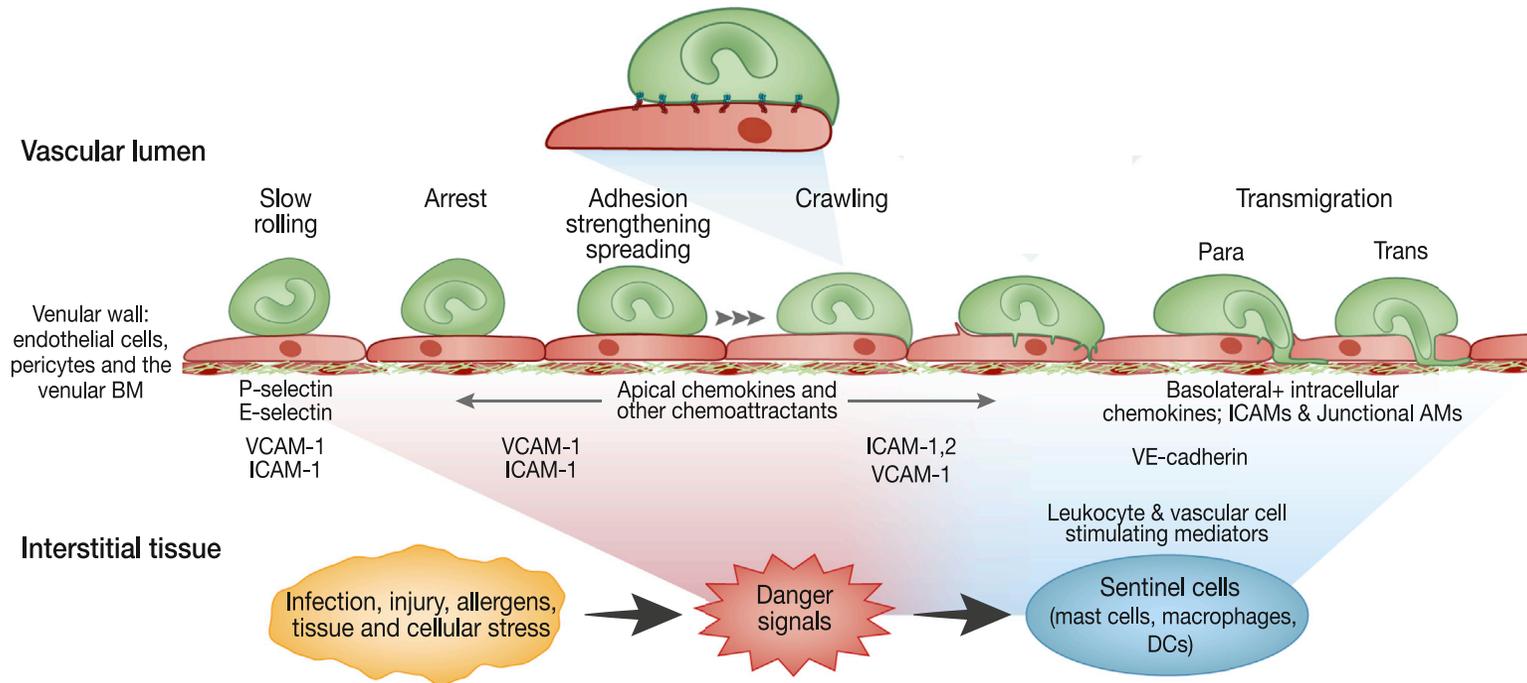
Reclutamento dei leucociti nelle sedi dove è presente lo stimolo lesivo



Gli eventi che caratterizzano il passaggio dei leucociti dal circolo sanguigno al tessuto interstiziale includono:

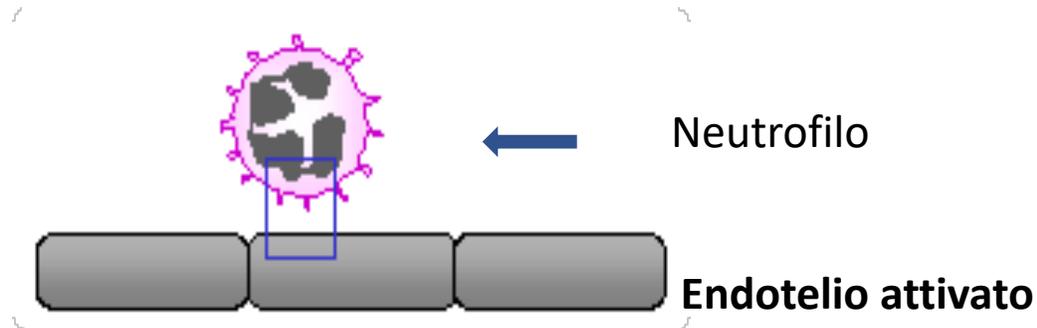
- i) La marginazione, il rotolamento e l'adesione dei leucociti all'endotelio.
- ii) Il passaggio attraverso l'endotelio
- iii) Migrazione nei tessuti interstiziali

Interazioni fra i leucociti e le cellule endoteliali nell'inflammazione



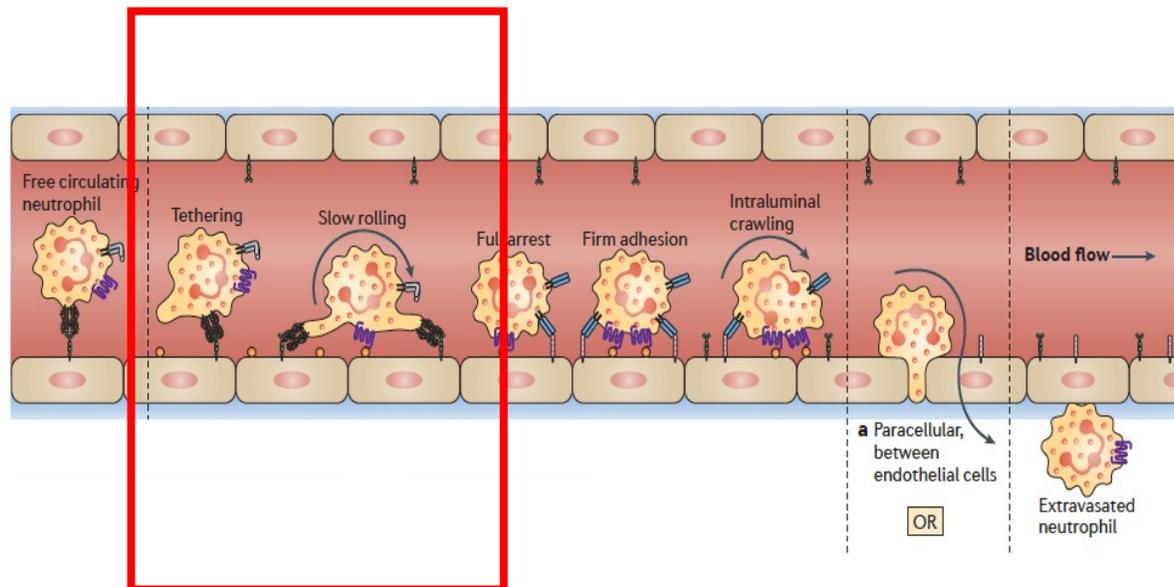
In risposta a stimoli infiammatori, i mediatori (citochine e chemochine) prodotti dalle cellule sentinella dei tessuti (macrofagi, cellule dendritiche, mastociti) stimolano l'adesione dei leucociti all'endotelio vascolare e la motilità dei leucociti. Questo permette ai leucociti di rilevare la presenza delle modificazioni dell'endotelio nelle regioni in cui è presente lo stimolo flogogeno.

Tethering del leucocita all'endotelio

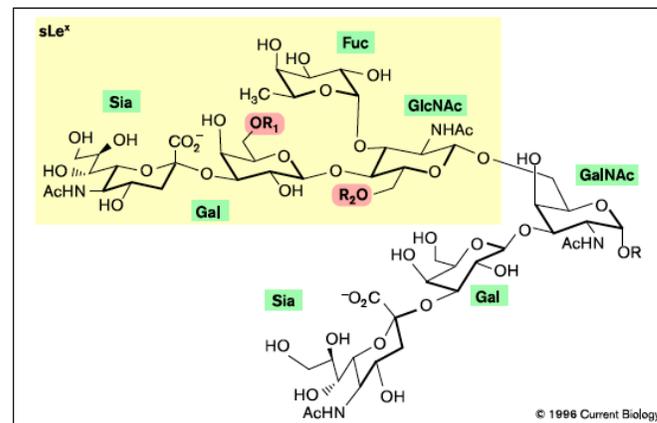
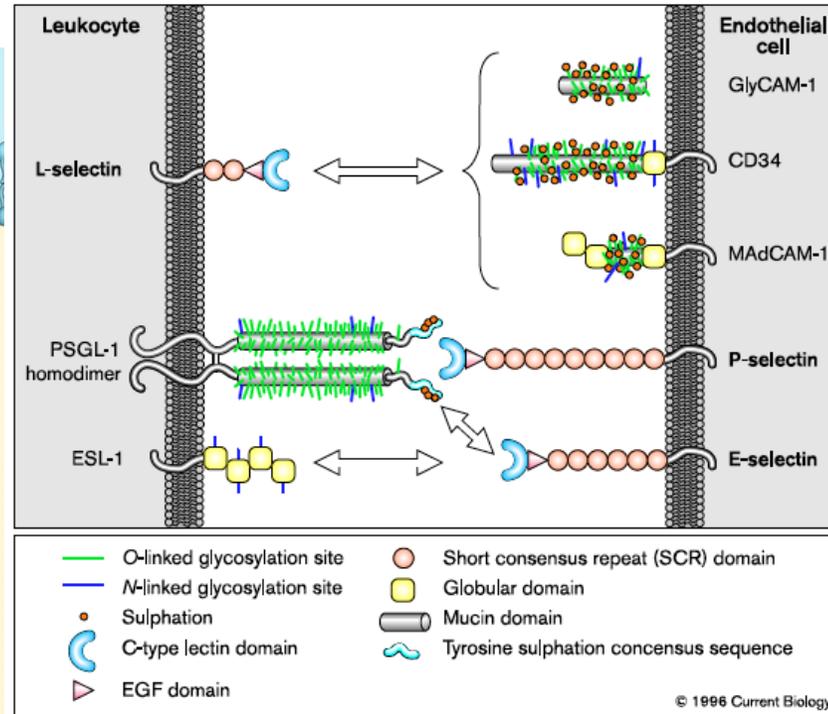
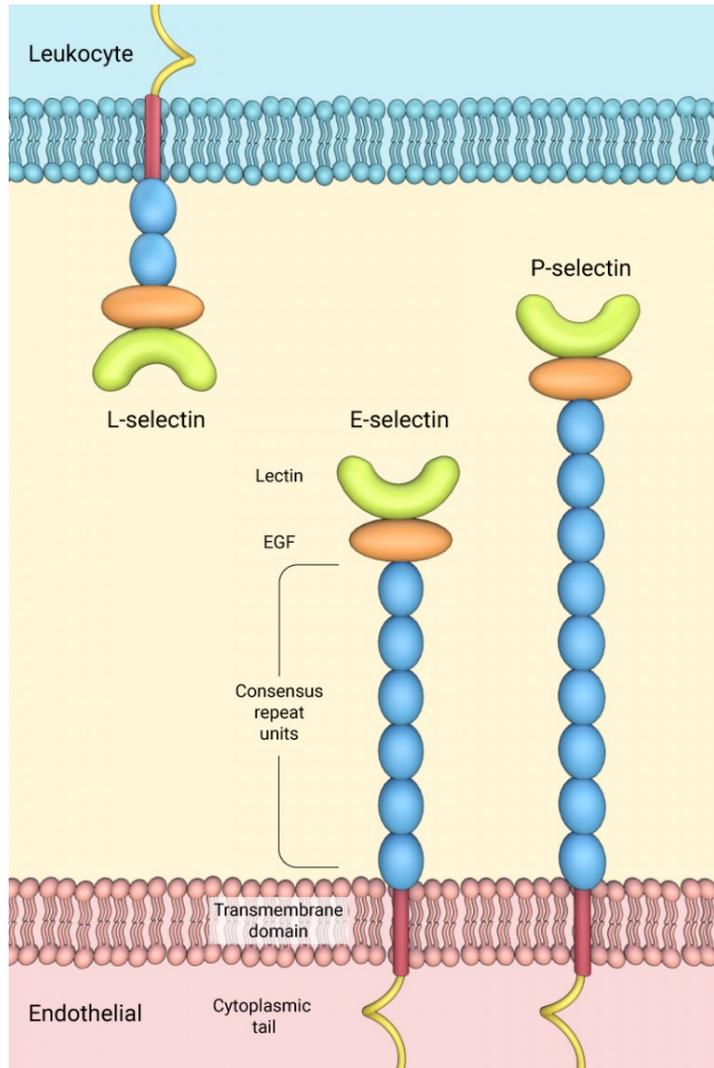


Il processo noto come cattura o “tethering” rappresenta il primo contatto di un leucocita con l’endotelio attivato. La cattura avviene dopo la marginazione che sposta il leucocita in una posizione vicina all’endotelio, lontano dal flusso ematico. Per iniziare la risposta infiammatoria, è necessaria **l’attivazione dell’endotelio**.

L’espressione delle selettine sulle cellule endoteliali è necessaria per l’adesione primaria e l’inizio del “rolling”. Il ligando principale delle selettine è PSGL-1.



Le selectine sono le molecole responsabili del "tethering" e rolling dei neutrofilii sull'endotelio



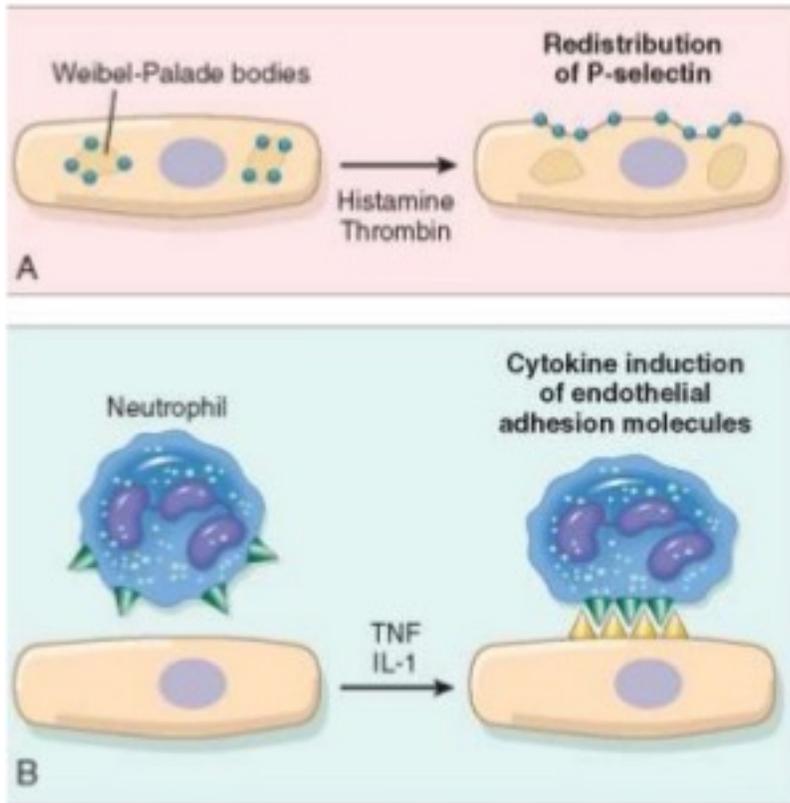
Le selettine sono una famiglia di molecole di adesione cellula-cellula a cui appartengono la P-, L- e E- selettina.

La P- e la E- selettina sono espresse sull'endotelio attivato mentre la L-selettina è espressa sui leucociti circolanti.

Strutturalmente presentano un dominio lectinico di tipo C in grado di riconoscere carboidrati un dominio EGF e domini SCR.

Le selettine riconoscono il tetrasaccaride sialyl-Lewis X (SLe^x) presente su molecole quali PSGL-1 che è il ligando della P-selettina e su altre glicoproteine che sono i ligandi della E-selettina.

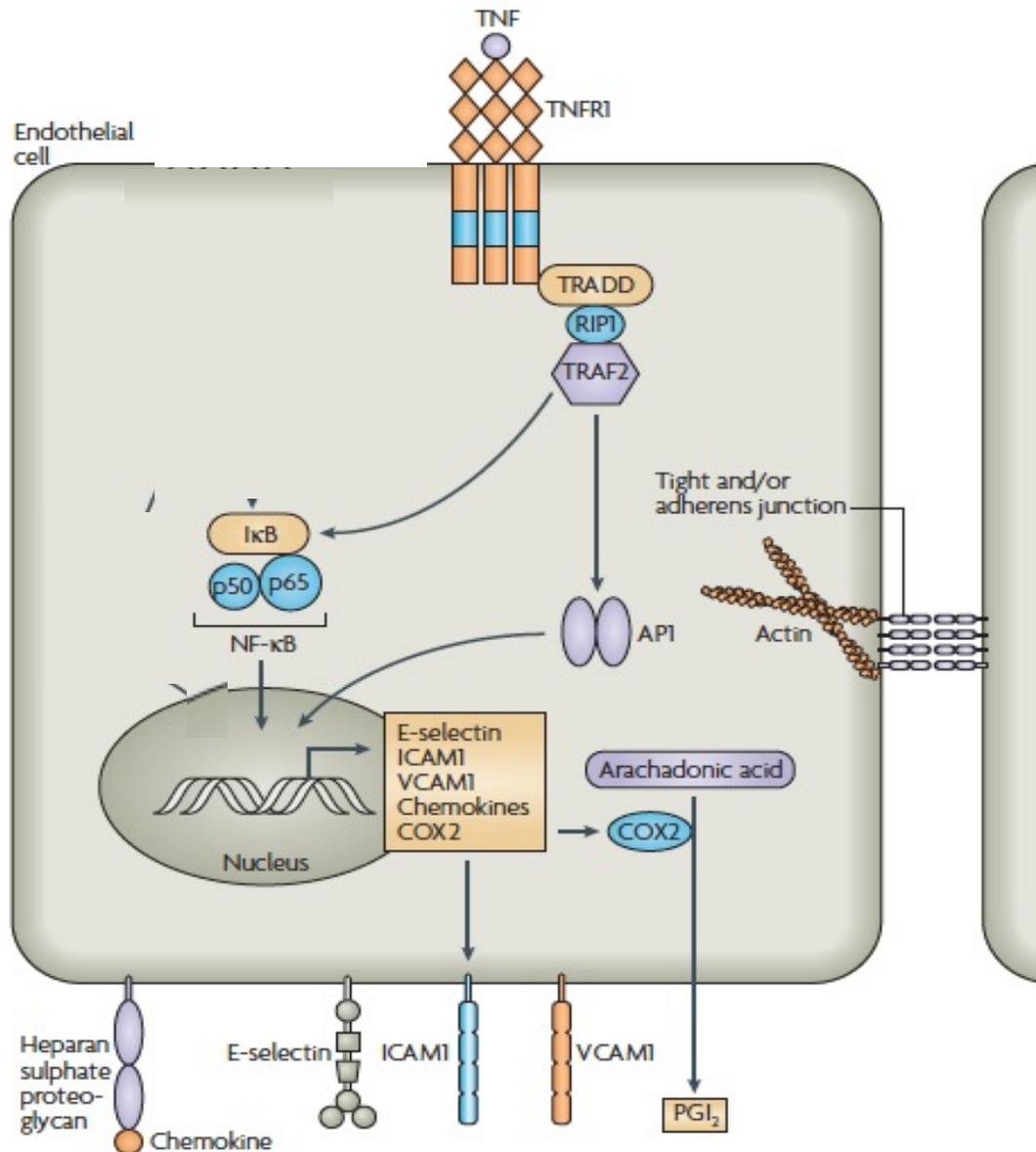
Il processo di extravasazione necessita dell'attivazione dell'endotelio



In seguito ad attivazione l'endotelio esprime le P- e le E-selettine.

- La P-selettina viene ridistribuita dai Weibel-Palade bodies sulla superficie della cellula.
- La E-selettina viene espressa in seguito a induzione della trascrizione.

Attivazione dell'endotelio mediata dal TNF- α



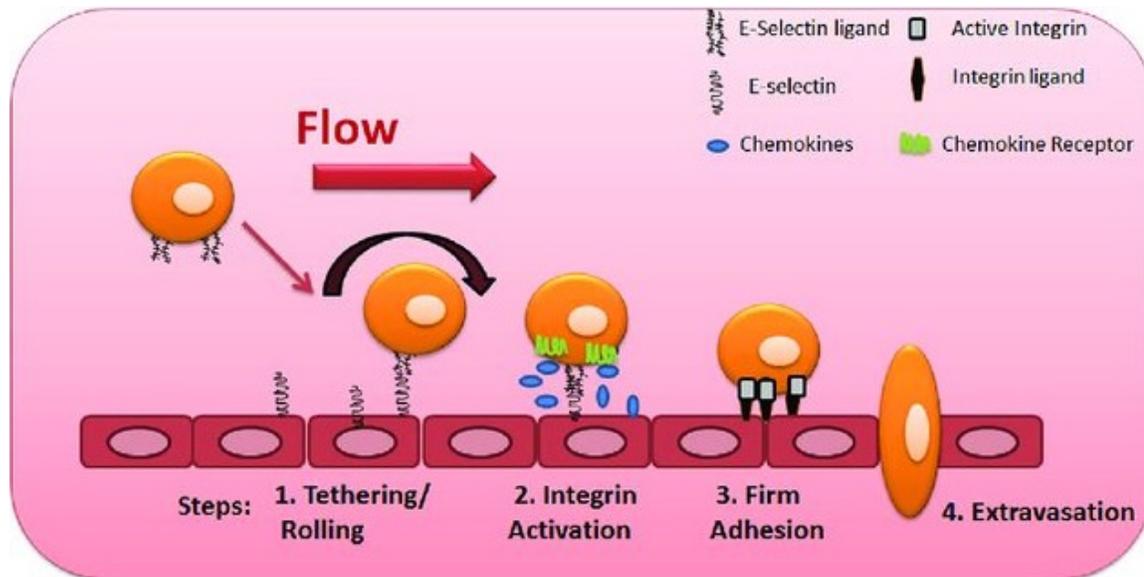
La segnalazione inviata dai recettori associati alle proteine G (es. recettore per l'istamina) ha una durata breve di circa 10-20 minuti). L'attivazione protratta nel tempo dell'endotelio richiede l'azione di citochine quali il TNF- α e l'IL-1 β .

Tali citochine inducono l'espressione di E-selettina, ICAM1, VCAM1 chemochine quali l'IL-8 e COX2. COX-2 media la sintesi delle prostaglandine. L'espressione di tali molecole dipende dai fattori trascrizionali NF- κ B e AP-1.

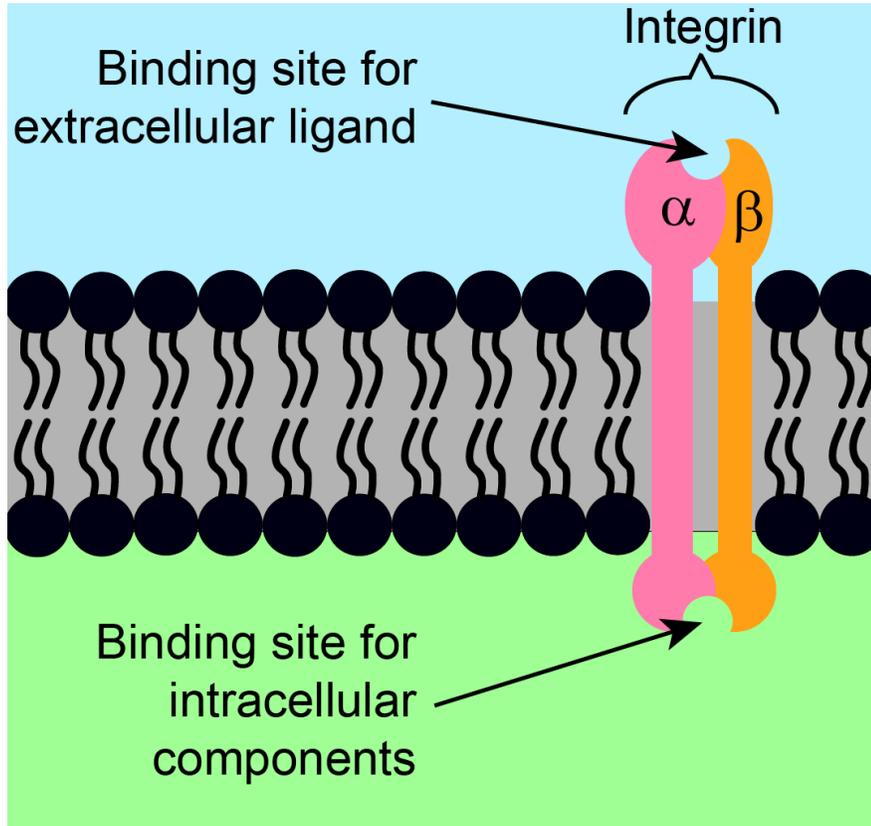
Arresto e adesione forte dei leucociti all'endotelio



L'arresto dei leucociti sull'endotelio è mediato dall'interazione fra le integrine espresse dai leucociti e i loro ligandi ICAM-1, VCAM-2 espressi dall'endotelio attivato. L'adesione forte necessita di un cambiamento dell'affinità delle integrine indotto dall'interazione del leucocita con le chemochine.



Le Integrine



Le integrine sono molecole di adesione coinvolte nel legame delle cellule alla matrice extracellulare o con altre cellule. Sono eterodimeri costituiti da 1 catena alfa e 1 catena beta. Nell'uomo sono stati identificati 9 tipi di subunità β e 18 subunità α .

Le integrine composte dalla catena β 1, formano dimeri con 12 catene α , sono ampiamente espresse sulle cellule dei vertebrati e legano le proteine della matrice extracellulare quali il collagene.

Le integrine composte dalla catena β 2 sono espresse esclusivamente sulla superficie dei leucociti e sono coinvolte nella interazione con le cellule endoteliali.

Le Integrine

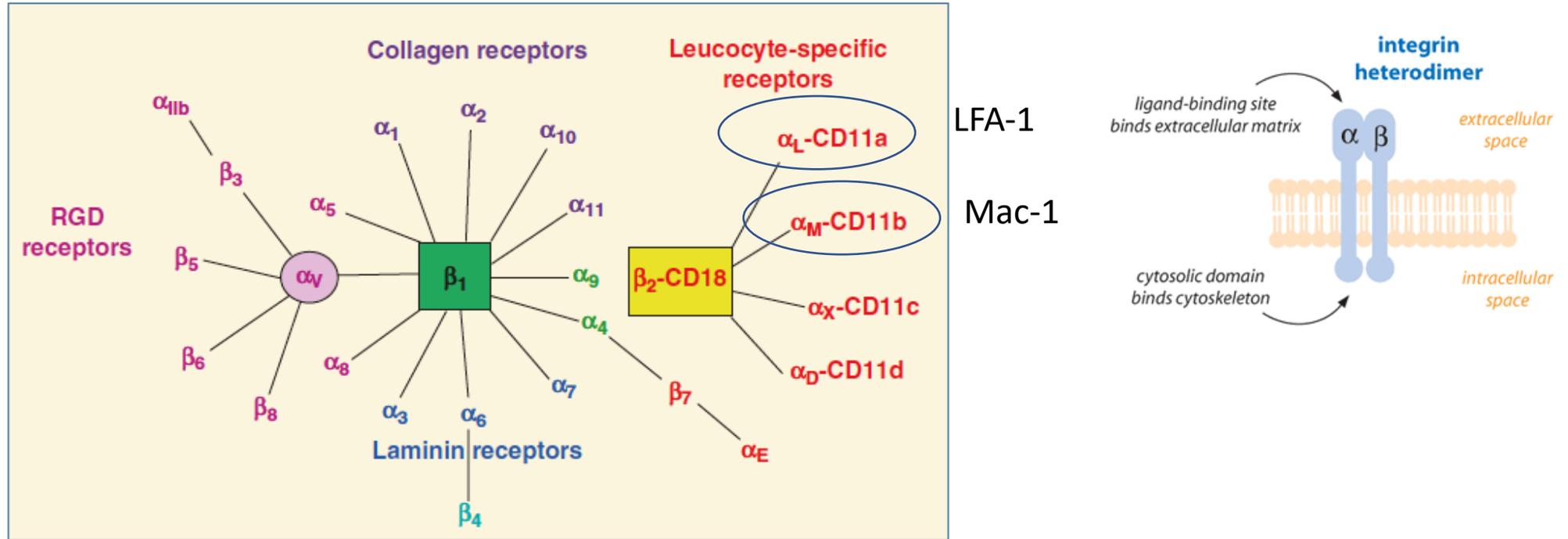


Fig. 1 Classification of integrin family. Integrin heterodimers consists of numerous combinations of α and β subunits. With respect to ligand specificity, integrins are generally classified as collagen-binding integrins ($\alpha_1\beta_1$, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_{10}\beta_1$, and $\alpha_{11}\beta_1$), RGD-recognizing integrins ($\alpha_5\beta_1$, $\alpha_V\beta_1$, $\alpha_V\beta_3$, $\alpha_V\beta_5$, $\alpha_V\beta_6$, $\alpha_V\beta_8$, and $\alpha_{11b}\beta_3$), laminin-binding integrins ($\alpha_3\beta_1$, $\alpha_6\beta_1$, $\alpha_7\beta_1$, and $\alpha_6\beta_4$), and leukocyte integrins ($\alpha_L\beta_2$, $\alpha_M\beta_2$, $\alpha_X\beta_2$, and $\alpha_D\beta_2$). The β_2 integrin subunit (CD18) can pair with one of the four α subunits (α_L -CD11a, α_M -CD11b, α_X -CD11c, and α_D -CD11d), forming leukocyte function-associated antigen-1, Mac1/CR3 (macrophage-1 antigen, complement receptor 3), 150.95/CR4 (complement receptor 4), and CD18/CD11d, respectively. CD11a/CD18 is expressed mainly on all leukocytes, while CD11b/CD18, CD11c/CD18, and CD11d/CD18 are expressed on myeloid cells.^{106,107} The $\alpha_M\beta_2$ integrin (also known as CR3, CD11b/CD18, or Mac-1) is found on phagocytic cells and implicated in the adhesion of leukocytes to endothelium and opsonization of microbes. Ligands for CR3 include the complement component iC3b, the intercellular adhesion molecule (ICAM-1), and coagulation factors like fibrinogen and factor X.