

10. La fagocitosi

III edizione ebook

Luigi Barbieri



(vedi singoli sotto-capitoli)

10. La fagocitosi.....	281	10.3.3. Prodotti secreti dai macrofagi con attività a distanza (sistemica).....	293
10.1. BIOLOGIA DELLA FAGOCITOSI.....	283	10.3.4. Funzioni dei fagociti mononucleati nella risposta immunitaria specifica.....	294
10.1.1. Classificazione.....	283	10.3.5. Attivazione dei macrofagi.....	295
10.1.2. Le membrane e la fagocitosi.....	284	10.3.6. Macrofagi nei focolai di flogosi cronica.....	298
10.1.3. Auto-fagocitosi.....	285	10.4. IL PROCESSO DELLA FAGOCITOSI.....	299
10.1.4. Funzioni della membrana esterna.....	285	10.4.1. Aderenza e riconoscimento: opsonizzazione.....	300
10.1.5. Recettori e ligandi.....	286	10.5. MACROFAGI E INFLAMMASOMI.....	303
10.1.6. Ripulitura della membrana.....	287	10.5.1. Stimoli che innescano l'assemblaggio di inflammasomi.....	305
10.1.7. Manutenzione della membrana.....	287	10.5.2. Inflammasomi e immunità.....	305
10.1.8. Destino delle particelle fagocitate.....	288	10.5.3. Differenze tra inflammasomi e piroptosomi.....	306
10.1.9. Fagociti professionali.....	289	10.6. INGLOBAMENTO ED EVENTI INTRA-CELLULARI SUSSEGUENTI.....	307
10.2. I FAGOCITI MONONUCLEATI.....	290	10.6.1. Inglobamento.....	307
10.2.1. Sviluppo dei fagociti mononucleati.....	291	10.6.2. Degranolazione (nel caso dei granulociti neutrofili).....	307
10.3. ATTIVAZIONE E FUNZIONI DEI FAGOCITI MONONUCLEATI.....	293	10.6.3. Fagocitosi e metabolismo cellulare.....	308
10.3.1. Principali funzioni dei fagociti mononucleati nell'immunità naturale.....	293	10.6.4. Uccisione e degradazione.....	308
10.3.2. Prodotti secreti dai macrofagi ad attività locale.....	293	10.7. PRINCIPALI FONTI UTILIZZATE.....	311

Figura 10.1. Karl Albert Ludwig Aschoff. Immagine di public domain da: en.wikipedia.org

All'inizio del '900, i morfologi osservarono che alcune cellule assumevano coloranti iniettati per via endovenosa (chiamati "coloranti vitali" perché coloravano le cellule vive)

Aschoff identificò queste cellule come:

- macrofagi nel tessuto connettivo
- microglia nel sistema nervoso centrale
- cellule endoteliali nel pavimento dei sinusoidi vascolari
- cellule reticolari negli organi linfoidei

Aschoff suggerì che questi diversi tipi cellulari funzionassero nella difesa dell'ospite tramite la fagocitosi di agenti estranei quali i microbi, e li raggruppò nel cosiddetto: **sistema reticolo-endoteliale** (reticulo-endothelial system, RES)



10.1. Biologia della fagocitosi

Definizione

La fagocitosi è il meccanismo attraverso il quale una cellula introflette la membrana cellulare esterna formando una vescicola intra-cellulare. Viene generalmente innescata dal legame di recettori sulla superficie cellulare con ligandi di provenienza extra-cellulare

10.1.1. CLASSIFICAZIONE

-  Si possono individuare a scopo didattico vari tipi di fagocitosi:
- **fagocitosi** nella sua accezione più ristretta è innescata da particelle esogene
 - **auto-fagocitosi**: è innescata da particelle endogene
 - **endocitosi** o **pinocitosi**: fagocitosi in fase liquida (liquidi e molecole solubili)
 - **trans-citosi**: endocitosi ad un polo di una cellula polarizzata associata a trasporto intra-cellulare del vacuolo fagocitosico e esocitosi all'altro polo (es.: lipoproteine attraverso le cellule endoteliali)

10.1.2. LE MEMBRANE E LA FAGOCITOSI

☞ La fagocitosi costituisce fa parte del cosiddetto *membrane trafficking*

☞ **Via in uscita:**

- la membrana plasmatica è montata dai suoi elementi costitutivi nel sistema reticolare intra-cellulare
 - porzioni di membrana in via di maturazione migrano al Golgi e poi al trans-Golgi e quindi alle vescicole eso-citosiche
-

☞ **Via in Ingresso:**

- la membrana plasmatica si invagina e forma vescicole che vengono sottoposte al contenuto lisosomiale ed il residuo restituito insieme alle vescicole eso-citosiche alla superficie cellulare
-

☞ **Bilancio**

Attraverso questo sistema la membrana plasmatica viene regolata

- nella sua composizione
 - nella sua dimensione complessiva
-

10.1.3. AUTO-FAGOCITOSI

 L'auto-fagocitosi è un processo catabolico che riguarda la degradazione dei componenti cellulari propri di ciascuna cellula attraverso l'utilizzo dei lisosomi. L'auto-fagocitosi:

- è un meccanismo strettamente regolato che gioca un ruolo essenziale fisiologico nella crescita cellulare, sviluppo cellulare, omeostasi
 - contribuisce al corretto bilanciamento tra sintesi degradazione e riciclo dei componenti cellulari strutturati
 - costituisce il meccanismo attraverso il quale, nelle carenze nutrizionali cellulari, la cellula è in grado di riallocare le risorse verso i costituenti essenziali per la sopravvivenza della cellula stessa
-

10.1.4. FUNZIONI DELLA MEMBRANA ESTERNA

 La cellula ha una superficie enorme di membrana esterna, con una gran quantità di prolungamenti citoplasmatici (fanno eccezione le cellule epiteliali nella porzione che è a contatto con le cellule adiacenti e gli eritrociti)

La membrana cellulare esterna non ha solo la funzione di compartimentalizzare la cellula delimitando l'ambiente intra-cellulare a composizione assai differente da quella del fluido interstiziale: tutte le comunicazioni della cellula con l'esterno avvengono attraverso la membrana cellulare

La cellula comunica per due vie:

- via elettrica (anche se le sinapsi o le giunzioni neuro-muscolari o muscolo-muscolari spesso utilizzano un mediatore chimico)
 - via chimica
-

10.1.5. RECETTORI E LIGANDI

☞ La superficie della cellula è interamente ricoperta da recettori, diversi tra di loro per composizione chimica, per specificità, e per affinità

Questi recettori rendono la cellula molto “appiccicosa”: continuamente molecole si fissano ai recettori cellulari a volte con alta affinità, a volte con bassa affinità o del tutto casualmente

Facendo un esempio estremo:

- una cellula ha due molecole di recettore per cui sono presenti due tipi di ligandi nel fluido interstiziale. Il primo ha una affinità di 10^6 , il secondo di 10^0 (=1)
- del primo, il ligando specifico, ce ne sono 2×10^0 molecole (=2), del secondo tipo ce ne sono moltissime diverse tra loro, ciascuna delle quali in minima quantità e con minima affinità (10^6 volte inferiore), ma il loro numero complessivo è per ipotesi è 2×10^6
- in queste condizioni ad ogni istante avremo che 1 recettore sarà accoppiato al suo specifico ligando, mentre l'altro recettore sarà accoppiato casualmente ad un altro ligando a bassa affinità

Questa situazione comporta che la cellula veda i suoi recettori inevitabilmente prima o poi occupati da molecole pertinenti o non: viene **accecata**

● *Risulta necessario ripulire i recettori*

10.1.6. RIPULITURA DELLA MEMBRANA

☞ La ripulitura della membrana esterna è compito della fagocitosi

- La membrana viene invaginata e si forma un vacuolo in cui quella che era la superficie esterna diviene quella rivolta all'interno del vacuolo
- Il vacuolo viene fuso con organuli contenenti enzimi litici (es.: lisosomi). Gli enzimi litici digeriscono quanto si è legato ai recettori ripulendoli
- Il vacuolo ripulito viene ricondotto alla membrana esterna e fuso con essa: i recettori ripuliti sono di nuovo a disposizione

10.1.7. MANUTENZIONE DELLA MEMBRANA

☞ La fagocitosi viene utilizzata per la sostituzione di parti di membrana danneggiati o per sostituire i recettori
In particolare nel vacuolo di fusione

- gli enzimi litici possono digerire anche il recettore, operando quindi una *down regulation* dei recettori
- può unirsi al vacuolo una vescicola di provenienza dal reticolo endoplasmico che porta recettori nuovi: *up regulation* dei recettori

In conclusione, attraverso la fagocitosi la membrana

- viene mantenuta pulita
 - ha le parti danneggiate sostituite
 - ha i propri recettori regolati quantitativamente e qualitativamente
-

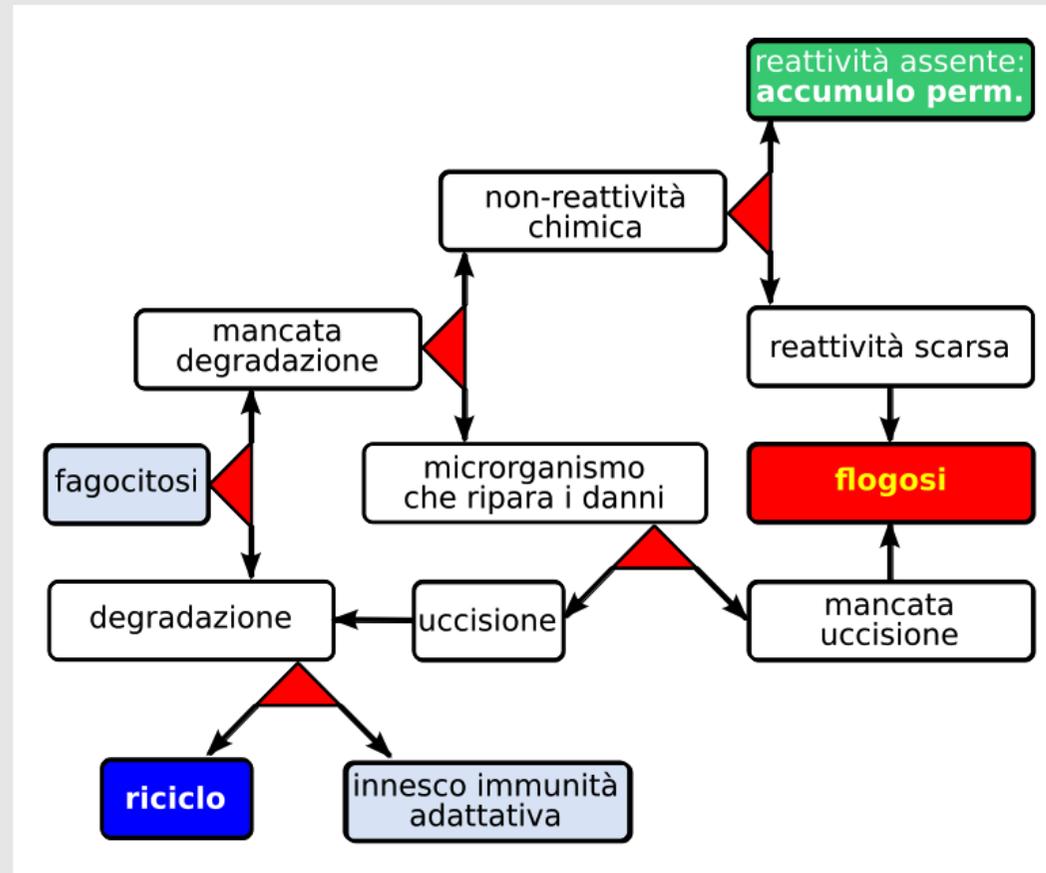
10.1.8. DESTINO DELLE PARTICELLE FAGOCITATE

Figura 10.2. Il destino delle particelle fagocitate

Il destino normale delle particelle fagocitate è rappresentato da degradazione, seguita da riciclo dei componenti, ed eventuale presentazione antigenica di componenti della particella stessa

Quando la reattività chimica della particella fagocitata è così scarsa da non consentirne la degradazione si aprono due possibilità:

- reattività nulla (es.: carbone) che porta ad accumulo permanente senza ulteriori conseguenze
- reattività scarsa che porta a flogosi cronica

Qualora la particella fagocitata sia dotata di proprie capacità riparative (es.: batteri) si aprono due possibilità:

- il batterio viene ucciso, non ripara più e viene degradato
- il batterio non viene ucciso e innesca la flogosi anche attraverso la piroptosi

10.1.9. FAGOCITI PROFESSIONALI

☞ Benché tutte le cellule possiedano questa proprietà, esistono dei *professional phagocytes* (fagociti professionali)

Queste cellule hanno:

- un citoplasma ampio in modo da poter fagocitare particelle di dimensioni proporzionalmente maggiori
- una struttura citoscheletrica (e conseguente forma) non rigida in modo da accomodare all'interno vacuoli di grandi dimensioni senza distruggere il proprio citoscheletro

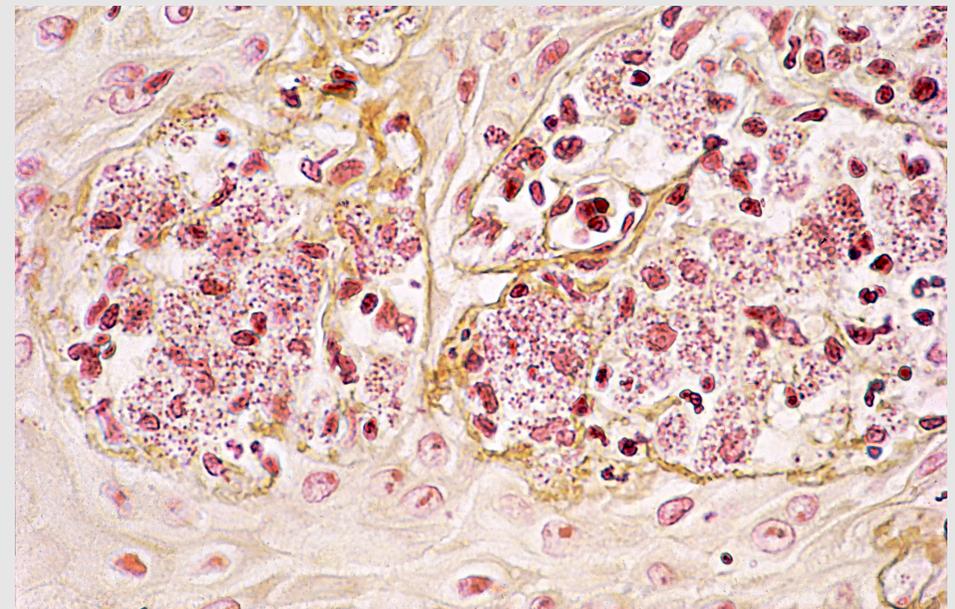
☞ I fagociti professionali hanno ruoli importanti nell'immunità

- come cellule in grado di innescare il processo flogistico-immunitario
- come effettori dell'immunità innata
- come effettori dell'immunità specifica acquisita

☞ Per la loro capacità di inglobare strutture di dimensioni relativamente ampie e di distorcere il proprio citoscheletro senza subire danni eccessivi, i fagociti professionali sono la sede delle principali infezioni da parassiti intra-cellulari (batteri e protozoi)

Figura 10.3. Leishmaniosi della mucosa del naso. Si osservino le strutture granulomatose formate da ammassi di macrofagi ripieni di Leishmanie

Dalla collezione Eugenio Bonetti, Istituto di Patologia generale dell'Università di Bologna



10.2. I fagociti mononucleati

☞ Il sistema dei fagociti mononucleati rappresenta per numerosità la seconda popolazione cellulare del sistema immunitario ed è formato da cellule derivanti da una linea ontogenetica comune:

● *monoblasti/monociti/macrofagi*

Macrofagi tissutali

☞ I macrofagi sono reperibili in tutti gli organi e nei tessuti connettivi

Le morfologie assunte dai macrofagi nei vari tessuti corrispondono a funzioni differenziate, es.:

- mantenere pulite le sierose in modo che possano scorrere tra di loro senza attrito
- rimuovere nel fegato componenti assimilati dal tratto digerente, mantenendo l'omeostasi
- rimuovere i globuli rossi senescenti nella milza
- rimuovere tutte le particelle inalate che giungono sino agli alveoli
- rimuovere gli immuno-complessi circolanti
- rimuovere attraverso i *pattern recognition receptors* una molteplicità di molecole endogene modificate (es.: invecchiate) o esogene

10.2.1. SVILUPPO DEI FAGOCITI MONONUCLEATI

☞ Tutte le cellule appartenenti al sistema dei fagociti mononucleati originano nel midollo osseo e passano nel sangue come monociti con una emivita nel sangue da 1 a 3 d

Dopo maturazione e successiva attivazione, possono assumere aspetti morfologici diversi

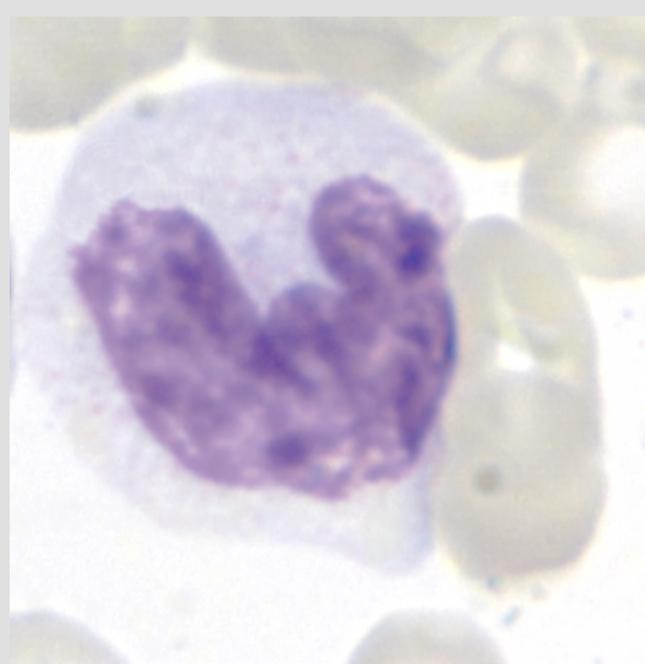


Figura 10.4. Monocito nel sangue periferico. Colorazione di Giemsa

Dalla collezione Eugenio Bonetti, Istituto di Patologia generale dell'Università di Bologna

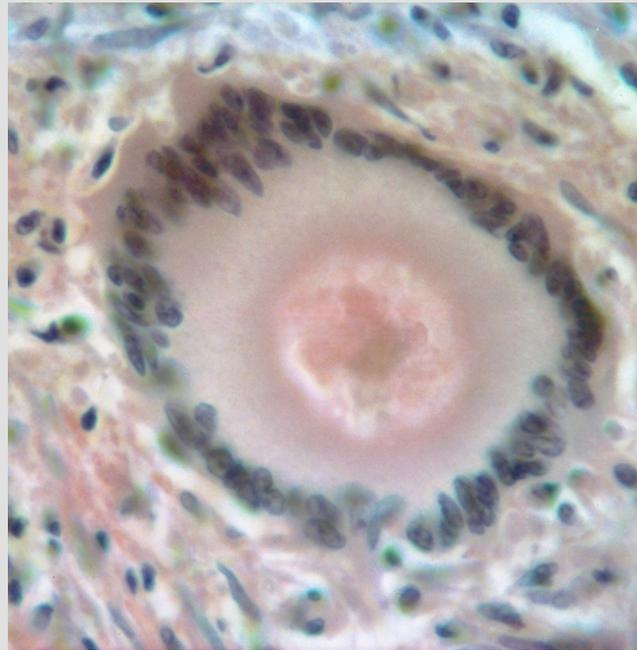


Figura 10.5. Cellula gigante di Langhans derivata dalla fusione di macrofagi in un granuloma tubercolare

Dalla collezione Eugenio Bonetti, Istituto di Patologia generale dell'Università di Bologna

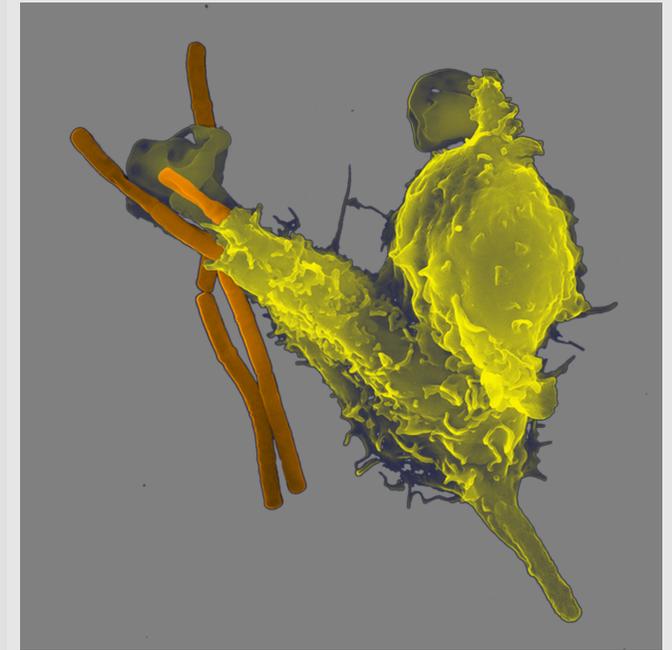


Figura 10.6. Neutrofilo che fagocita bacilli di Bacillus anthracis. Micrografia al microscopio elettronico a scansione

Liberamente tratto da una immagine Creative Commons Attribution da Brinkmann (2005)

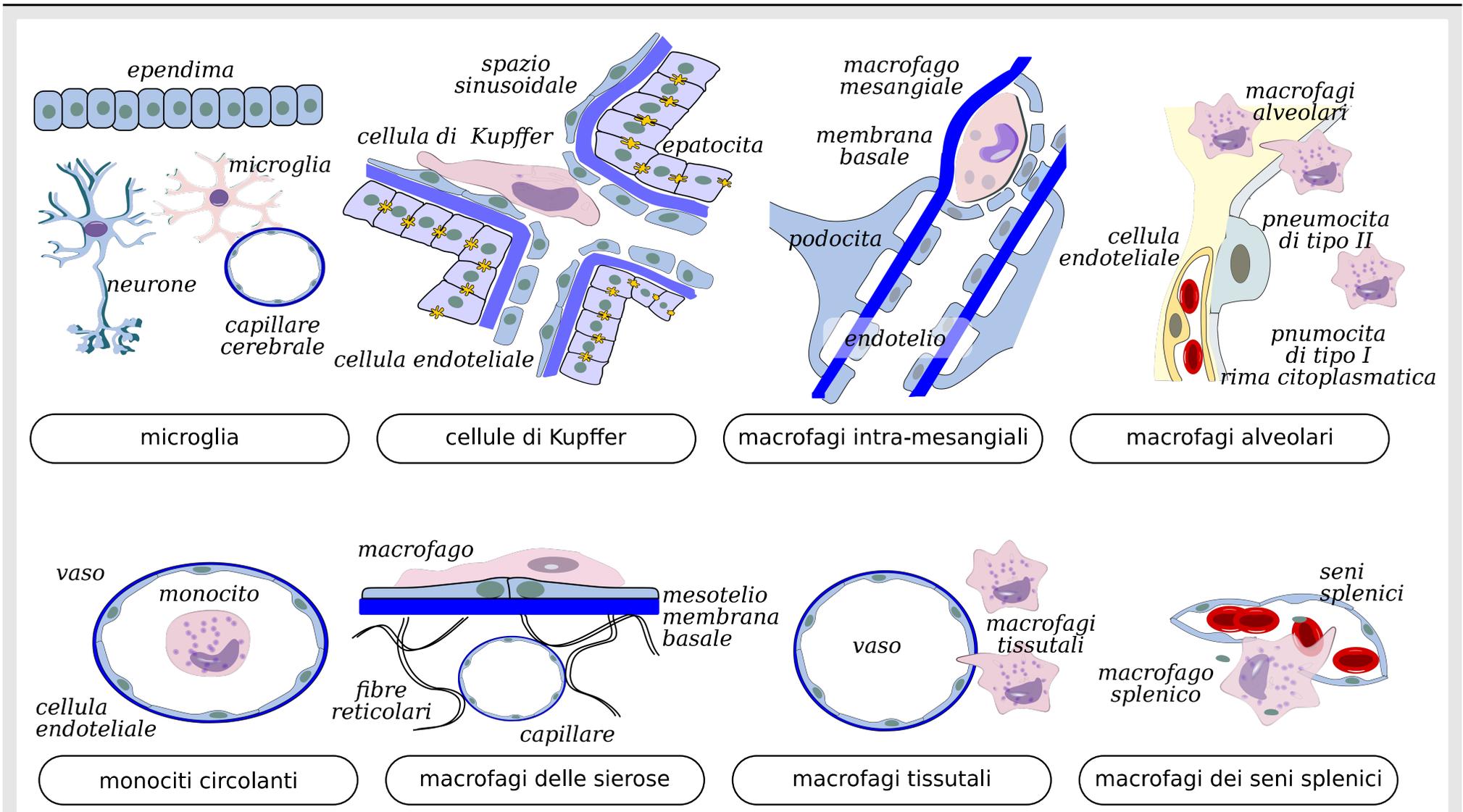


Figura 10.7. Vari tipi di fagociti. Liberamente tratto da Roitt (1993). A questi vanno aggiunte le cellule dendritiche mieloidi e plasmacitoidi, gli osteoclasti ed altre forme di differenziamento secondario

10.3. Attivazione e funzioni dei fagociti mononucleati

10.3.1. PRINCIPALI FUNZIONI DEI FAGOCITI MONONUCLEATI NELL'IMMUNITÀ NATURALE

-  I macrofagi svolgono molte funzioni nella difesa dell'ospite prima che si sviluppi un'immunità specifica. Queste stesse funzioni divengono molto più efficienti nelle sedi dove si sviluppa una risposta immune. La risposta immune potenzia e conferisce specificità a meccanismi di difesa operativi anche in assenza di un riconoscimento antigenico specifico da parte dei linfociti.

10.3.2. PRODOTTI SECRETI DAI MACROFAGI AD ATTIVITÀ LOCALE

-  I macrofagi sono inoltre in grado di secernere
- enzimi
 - forme attive dell'ossigeno
 - ossido nitrico
 - mediatori derivati dal metabolismo lipidico quali le prostaglandine

10.3.3. PRODOTTI SECRETI DAI MACROFAGI CON ATTIVITÀ A DISTANZA (SISTEMICA)

-  Tra i prodotti dei macrofagi:
- citochine, pro-infiammatorie o anti-infiammatorie, che regolano la funzione di altre cellule infiammatorie (ed in particolare neutrofili), e sono responsabili di molti effetti sistemici della infiammazione, quali la febbre
 - fattori di crescita per i fibroblasti e per gli endoteli, che favoriscono la riparazione dei tessuti danneggiati

10.3.4. FUNZIONI DEI FAGOCITI MONONUCLEATI NELLA RISPOSTA IMMUNITARIA SPECIFICA

 I macrofagi funzionano sia come cellule accessorie che come cellule effettrici nelle risposte immuni:

- collaborano nella presentazione dell'antigene e nella attivazione dei linfociti T
- sono effettori dell'immunità cellulo-mediata
- sono effettori dell'immunità umorale

La capacità dei macrofagi e dei linfociti di stimolare reciprocamente le rispettive funzioni costituisce un meccanismo di amplificazione dell'immunità specifica

Presentazione dell'antigene ed attivazione dei linfociti T

 I macrofagi espongono gli antigeni sulla loro superficie in una forma riconoscibile dai linfociti T antigene-specifici: cellule presentanti l'antigene (*antigen presenting cells*, APC) in congiunzione con molecole MHC

I macrofagi esprimono proteine che promuovono l'attivazione dei linfociti T

Effettori dell'immunità adattativa cellulo-mediata

 Nella fase effettrice delle risposte immuni cellulo-mediate, i linfociti T stimolati dall'antigene secernono citochine che richiamano ed attivano i macrofagi rendendoli più efficienti

I macrofagi sono tra i principali effettori dell'immunità cellulo-mediata

Effettori dell'immunità adattativa umorale

 Nella fase effettrice della risposta immune umorale, gli antigeni vengono rivestiti (opsonizzati) da molecole di anticorpi e complemento

I macrofagi esprimono recettori di superficie per gli anticorpi e per alcune proteine complementari, legando e fagocitando le particelle opsonizzate con avidità assai maggiore che non le particelle non rivestite

I macrofagi contribuiscono all'eliminazione degli antigeni riconosciuti nelle risposte immunitarie umorali

10.3.5. ATTIVAZIONE DEI MACROFAGI

☞ L'efficienza della funzione effettrice dei macrofagi influisce grandemente sulla qualità, durata, ed ampiezza della maggior parte delle reazioni flogistiche

I macrofagi sono un gruppo di cellule caratterizzate da fenotipi multipli che esercitano funzioni ed effetti assai differenti sia per via sistemica sia sul microambiente

Si possono identificare due modelli principali di attivazione macrofagica:

via classica di attivazione dei macrofagi

● *fenotipo tipo T_H1 che promuove:*

- flogosi
- distruzione della matrice extra-cellulare
- apoptosi

via alternativa di attivazione dei macrofagi

● *fenotipo tipo T_H2 che promuove:*

- angiogenesi
- costruzione della matrice extra-cellulare
- proliferazione cellulare

Entrambi i fenotipi sono componenti importanti sia dell'immunità innata che dell'immunità adattativa, tuttavia:

- i macrofagi attivati per la via classica tendono a suscitare una risposta flogistica cronica con danno tissutale
- i macrofagi attivati per la via alternativa tendono a portare la flogosi a risoluzione e a facilitare la riparazione delle ferite

Effetti dell'attivazione per le vie classiche dei macrofagi

☞ I fagociti mononucleati attivati per la via classica:

- aumentano il volume cellulare
- aumentano il livello di enzimi lisosomiali
- rendono più attivo il loro metabolismo

potenziando così la capacità di fagocitare e di uccisione dei batteri

☞ I macrofagi attivati sono fagociti molto più efficaci ma anche più dannosi: la loro entrata in funzione provoca spesso danno tissutale anche severo (vedi tubercolosi), per cui è importante che i macrofagi si attivino solo in presenza di uno stimolo molto forte

Segnali di attivazione dei macrofagi

☞ Segnali di attivazione per i macrofagi sono:

- le linfochine (come l'interferone γ) secrete dai linfociti T sensibilizzati
 - alcune endotossine batteriche
 - il contatto con superfici rivestite di fibronectina
 - una quantità di altri agenti chimici, alcuni dei quali aumentano durante l'infiammazione acuta
-

Mediatori prodotti dai macrofagi

☞ A seguito dell'attivazione, il macrofago secerne a sua volta una varietà di prodotti biologicamente attivi, molti dei quali intimamente correlati al loro ruolo nell'infiammazione e nella riparazione

Sono già stati identificati più di 50 prodotti bioattivi

Questo arsenale di mediatori può causare considerevoli danni tissutali e, se prodotti in quantità massicce, anche sistemici:

☞ ● *enzimi. Es.:*

- proteasi come l'elastasi e la collagenasi (mediatori del danno alle strutture interstiziali)
- l'attivatore del plasminogeno, che scatena l'attivazione della plasmina ed ha come prodotto finale la produzione di fibrinopeptidi (potenti agenti flogogeni)

● *metaboliti attivi dell'ossigeno*

● *mediatori lipidici: inclusi i prodotti del metabolismo dell'acido arachidonico ed il PAF-acetil-etero*

● *fattori regolanti la funzione e la proliferazione di altre cellule (citochine e fattori di crescita), tra cui:*

- interferoni
- fattori di crescita dei fibroblasti, delle cellule endoteliali, e dei precursori mieloidi
- interleuchine (tra cui IL-1)

10.3.6. MACROFAGI NEI FOCOLAI DI FLOGOSI CRONICA

- ☞ I macrofagi presenti nei focolai di flogosi cronica:
- derivano dai monociti circolanti
 - fuoriescono dai vasi sotto l'influenza di fattori chemiotattici

- ☞ La liberazione dei fattori derivati dai linfociti specifici
- è un importante meccanismo grazie al quale i macrofagi continuano ad affluire ed accumularsi nei focolai dell'infiammazione cronica
 - conferisce specificità di luogo alla loro azione

- ☞ Una volta nei tessuti, i macrofagi
- hanno la capacità di sopravvivere per tempi lunghissimi
 - hanno scarsa capacità di dividersi
 - se non riescono a portare a termine con successo la fagocitosi si fondono tra loro a formare sincizi: cellule giganti plurinucleate

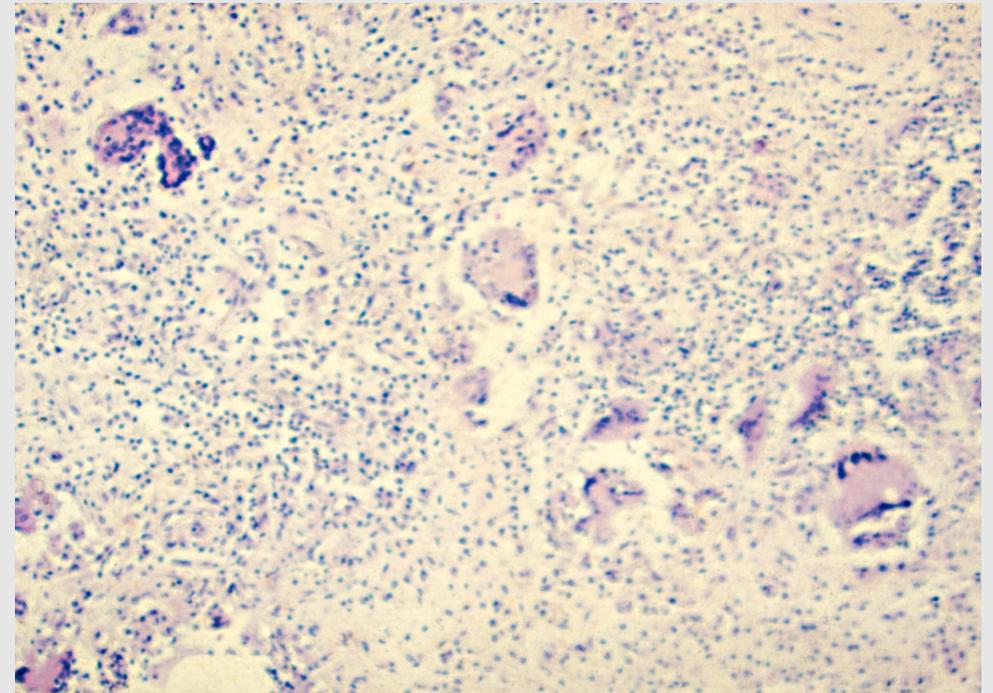


Figura 10.8. Cellule giganti da corpo estraneo. Da: collezione Eugenio Bonetti, Istituto di Patologia generale dell'Università di Bologna
Il vantaggio evolutivo di questo meccanismo sta nella capacità di fagocitare particelle di dimensioni maggiori allo stesso singolo fagocita; questo meccanismo però, essendo innescato dalla difficoltà di portare a termine il processo di fagocitosi, si innesca anche nel caso di particelle relativamente piccole non digeribili; es.: i micobatteri

10.4. Il processo della fagocitosi

 Il fenomeno della fagocitosi può essere distinto in tre fasi:

- adesione delle particelle alla superficie del fagocita
- inglobamento
- degradazione (preceduta dall'uccisione degli eventuali batteri, miceti o protozoi) della particella inglobata

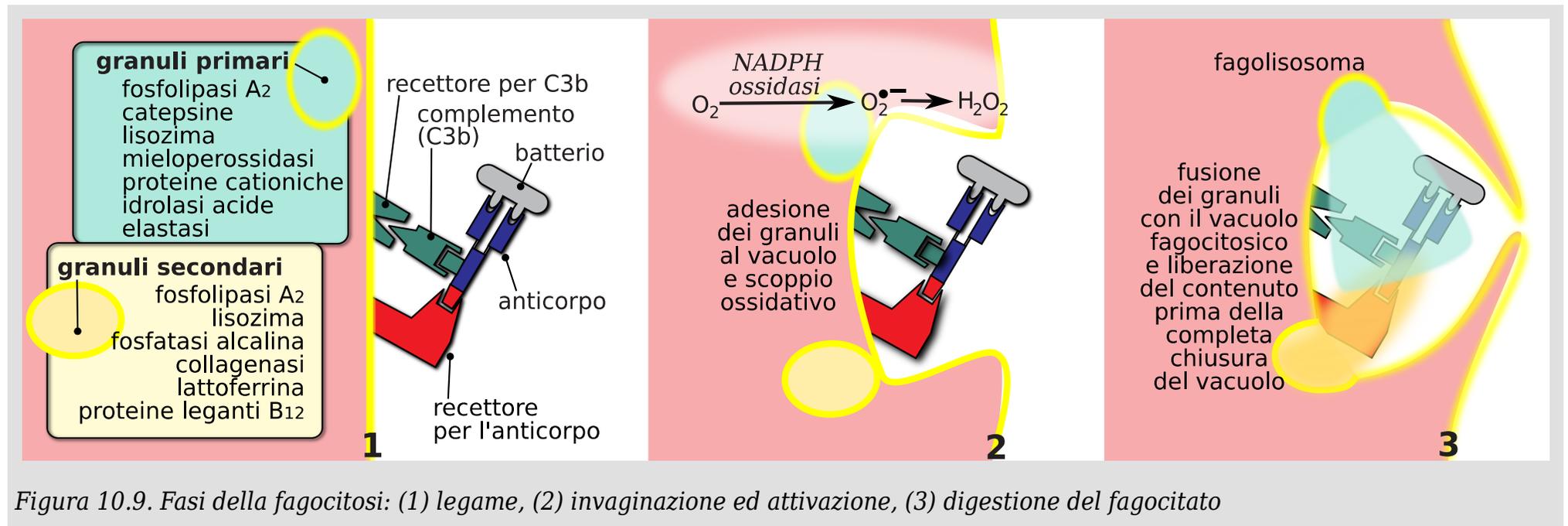


Figura 10.9. Fasi della fagocitosi: (1) legame, (2) invaginazione ed attivazione, (3) digestione del fagocitato

10.4.1. ADERENZA E RICONOSCIMENTO: OPSONIZZAZIONE

 Benché i fagociti possano aderire a particelle inerti ed a batteri senza alcun precedente, specifico processo di riconoscimento, la fagocitosi dei microrganismi è molto facilitata se questi vengono rivestiti dalle opsonine sieriche. Es.:

- immunoglobuline G (IgG)
- componenti del complemento

Recettori per IgG e complemento

 Le superfici cellulari dei granulociti polimorfonucleati neutrofilo e dei macrofagi possiedono recettori per il frammento Fc (frammento cristallizzabile, lo *stem*) delle immunoglobuline IgG e per il terzo componente del complemento (C3b)

Quando un microrganismo è ricoperto da anticorpi IgG presenti nel siero, la porzione Fc della molecola immunoglobulinica fornisce un punto di attacco per il fagocita

La presenza di recettori per il C3b sui fagociti favorisce l'aderenza e la fagocitosi se il C3b viene fissato sulla superficie del microrganismo

Recettori *pattern recognition* (PRR) dei macrofagi

☞ I macrofagi portano parecchi recettori differenti tra loro in grado di riconoscere componenti microbici comuni (pattern) e di indurre fagocitosi e rilascio di citochine (interleuchine, IL; interferoni, IFN)

Tabella 10.1. Pattern recognition receptors (PRRs). HIV: virus dell'immunodeficienza umana, HCV: virus dell'epatite C

famiglia di recettori	ligandi	citochine prodotte in risposta
Toll-like receptors	lipo-peptide batterico, LPS di <i>E. coli</i> , ssRNA, CpGDNA	IL-6, -10, -12, IFN- α
lectine di tipo C	env di HIV, proteina <i>core</i> di HCV, <i>M. tuberculosis</i>	soppressione di IL-12
NOD	muramil dipeptide	IL-10
recettore per il mannosio	strutture batteriche e fungine esponenti mannosio	opsonizzazione

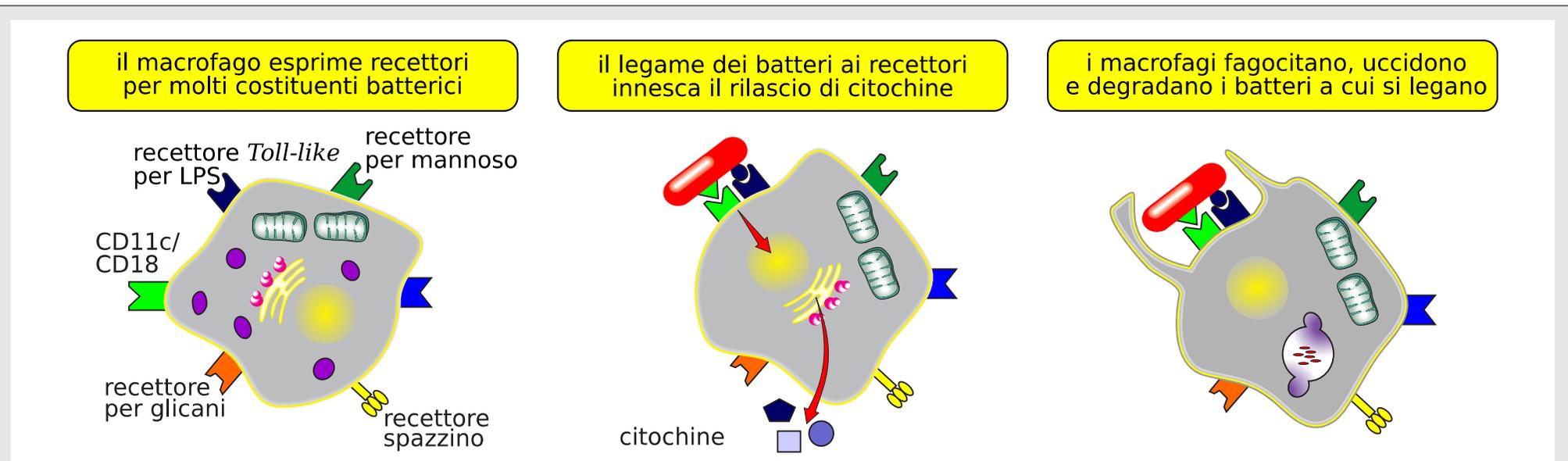


Figura 10.10. Recettori dei macrofagi. La figura illustra il fenomeno per il recettore specifico per il lipopolisaccaride batterico (LPS)

Vari tipi di recettori macrofagici

☞ I recettori *scavenger* (spazzini) o *pattern specific* (specifici per strutture ampiamente diffuse) sono recettori che reagiscono con una varietà di ligandi diversi, da qui il nome

☞ Il mannosio è molto comune nelle strutture glucidiche delle glicoproteine umane, ma, costituendo il core delle molecole, non è normalmente esposto, come invece lo è su pareti e capsule batteriche e fungine

I recettori per il mannosio hanno due funzioni:

- rimuovere le glicoproteine circolanti invecchiate che, avendo perso gli zuccheri terminali, vengono legate per il core mannosidico così esposto, fagocitate e degradate
- rimuovere tutte le strutture batteriche e micetiche contenenti mannosio: strutture ampiamente diffuse

Si afferma che il recettore per il mannosio (come altri recettori dei macrofagi)

- sia dotato di grande specificità chimica (distingue il mannosio dagli altri epimeri del glucosio)
- mentre non sia specifico biologicamente, perché sono molti i microrganismi e le sostanze di derivazione biologica che lo contengono

☞ I **recettori Toll-like (TLRs)** per il lipopolisaccaride LPS sono il tipico esempio di recettore dotato di grande specificità chimica, che è in grado tuttavia di legarsi ad innumerevoli specie batteriche caratterizzate dalla presenza del lipopolisaccaride sulla parete cellulare:

● *un solo recettore quindi rimuove con grandissima efficienza un vasto numero di batteri*

☞ I **recettori NOD-like (NLRs, nucleotide oligomerisation domain like receptors)** sono proteine citoplasmatiche che funzionano da *pattern recognition receptors* (PRRs) per prodotti microbici nel citoplasma, giocando un ruolo importante nell'immunità innata innescando:

- flogosi
- piroptosi

10.5. Macrofagi e inflammasomi

☞ Gli **inflammasomi** sono complessi multi-proteici citoplasmatici che, attraverso l'attivazione di caspasi, portano a:

- processazione e secrezione di citochine pro-infiammatorie, tra cui l'interleuchina **IL-1**
- **piroptosi**, un eccellente innesco per la flogosi

☞ L'assemblaggio di un inflammasoma dipende da vari inneschi, tra cui:

- recettori *Nod-like*
- DNA a doppio filamento nel citoplasma (AIM2, *absent in melanoma*, assente nel melanoma)

Questi recettori si possono trovare

- sulle membrane cellulari (recettori *Toll-like* o TLRs, recettori lectinici tipo-C, o CLR) o CLR))
- nel citoplasma (recettori *Nod-like* o NLRs, recettori per le elicasi *RIG-like* o RLRs)

☞ Esistono vari tipi di inflammasomi; i più comuni sono:

- inflammasoma NALP1
- inflammasoma NALP3
- inflammasoma AIM2

I recettori sopra indicati si oligomerizzano con altri costituenti a formare gli inflammasomi innescando così la risposta flogistica

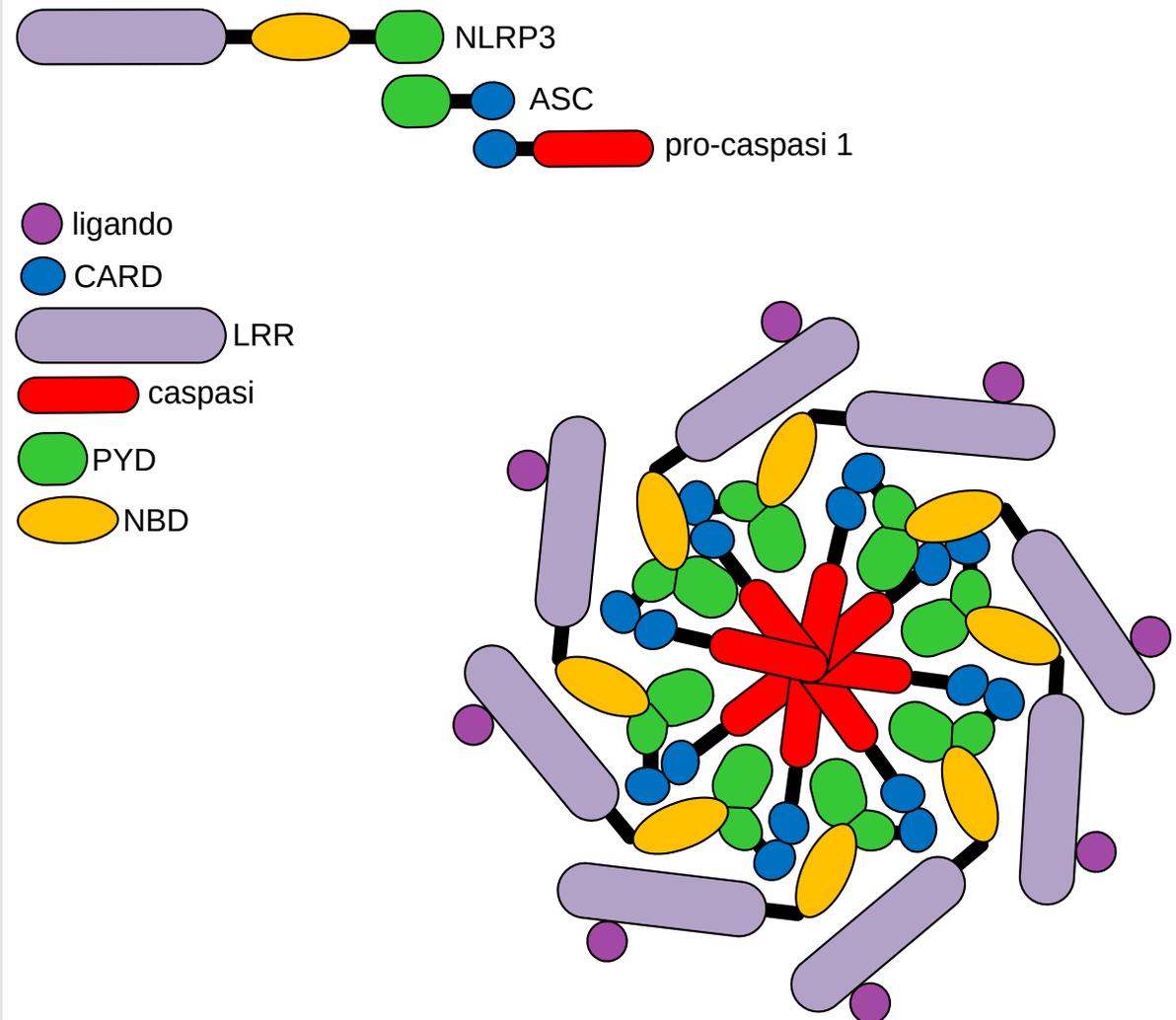
Struttura molecolare della criopirina o inflammasoma NLRP3

Figura 10.11. Struttura molecolare della criopirina o inflammasoma NLRP3

Componenti:

- **CARD**: caspase recruitment domain-containing protein
- **LRR**: leucine-rich repeat
- **NACHT**: dominio proteico evolutivamente conservato
- **NBD**: nucleotide-binding and oligomerization domain
- **PYD**: N-terminal pyrin-containing domain
- **ASC**: apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD
- **NLRP3**: NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3 o criopirina

Liberamente tratto da una immagine con licenza CCCSA in [wikimedia.org/wiki/File:Inflammasome_fin_al1.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Inflammasome_fin_al1.png) su dati originali di Bergsbaken (2009) e Dagenais (2011)



10.5.1. STIMOLI CHE INNESCANO L'ASSEMBLAGGIO DI INFLAMMASOMI

👉 Gli inflammasomi cooperano con i recettori *Toll-like* nel mediare risposte adeguate a

- *noxae* patogene
- *stress* metabolico
- eventi geno-tossici

Gli inflammasomi collegano segnali provenienti da questi eventi alla processazione proteolitica delle interleuchine, che a loro volta innescano e promuovono la risposta flogistica

10.5.2. INFLAMMASOMI E IMMUNITÀ

Inflammasomi e immunità naturale

👉 Durante una infezione, una delle prime forme di difesa attuate dall'immunità innata è rappresentata da un gruppo di *pattern recognition receptors* (PRRs) codificate nella linea germinale per riconoscere *pattern* molecolari altamente conservati nei patogeni

Inflammasomi e malattie auto-infiammatorie

👉 Disregolazione o mutazioni dei componenti degli inflammasomi sono associate a malattie auto-infiammatorie

10.5.3. DIFFERENZE TRA INFLAMMASOMI E PIROPTOSOMI

Tabella 10.2. Differenze tra inflammasomi e piroptosomi. ASC: apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD; CARD: caspase recruitment domain-containing protein, PRR: pattern recognition receptors. Dati da Gavrillin (2011)

	inflammasoma	piroptosoma
localizzazione	intra- ed extra-cellulare	intra-cellulare
dimensione	13 nm	1,000-2,000 nm
morte cellulare	+	+++
infiammazione	+++	+
ASC	+	+
PRR	+	+
caspasi	+	+
processazione di pro-IL-1β	+	+

10.6. Inglobamento ed eventi intra-cellulari susseguenti



Definizione di opsonizzazione

Si chiama opsonizzazione (letteralmente rendere appetibile) il processo attraverso il quale una particella viene resa fagocitabile attraverso l'unione con una molecola per la quale il fagocita possiede recettori

10.6.1. INGLOBAMENTO

- ☞ Quando una particella opsonizzata, od altrimenti legata alla superficie, abbia aderito ad un fagocito, la membrana citoplasmatica di questo scorre attorno alla particella fino ad inglobarla in una invaginazione della membrana stessa
- La bocca della sacca della invaginazione si chiude per la movimentazione di microfilamenti del citoscheletro che agiscono in modo simile al laccio che chiude una borsa di tabacco
- La particella si trova quindi racchiusa in una vescicola citoplasmatica rivestita da una membrana, che prende il nome di fagosoma

10.6.2. DEGRANULAZIONE (NEL CASO DEI GRANULOCITI NEUTROFILI)

☞ Nel caso dei granulociti neutrofili, prima che il fagosoma sia completamente chiuso, i granuli citoplasmatici dei neutrofili si fondono con il fagosoma e scaricando il loro contenuto: degranulazione

Nel citoplasma dei neutrofili sono contenuti due tipi di granuli che sono:

- azzurrofilo (primario) formato da lisosomi che contengono idrolasi acide, proteasi neutre, proteine cationiche, mieloperossidasi e lisozima
- granuli detti specifici (secondari) che contengono, tra l'altro, lisozima (enzima ad attività litica per strutture virali e batteriche) e lattoferrina (capace di sequestrare il ferro sottraendolo al metabolismo batterico)

10.6.3. FAGOCITOSI E METABOLISMO CELLULARE

 Nelle cellule in seguito al processo di fagocitosi si verificano alterazioni metaboliche:

- ↑ della glicolisi
- ↑ del consumo di ossigeno

 L'aumentato consumo di ossigeno non ha alcun rapporto con l'aumentata produzione di energia tramite i mitocondri: l'aumentato consumo di ossigeno è dovuto alla produzione di potenti agenti anti-microbici

 Gli enzimi e metaboliti reattivi ossidanti possono spargersi nell'ambiente extra-cellulare, dato che i granuli scaricano il contenuto prima che il fagosoma si sia chiuso. I prodotti rilasciati all'esterno della cellula possono:

- avere proprietà di mediatori dell'infiammazione
- danneggiare il tessuto circostante

10.6.4. UCCISIONE E DEGRADAZIONE

 Benché la maggior parte dei microrganismi siano efficacemente distrutti dal fagocita, alcuni, particolarmente virulenti, possono invece resistere ed eventualmente essere loro a distruggere il leucocita

Infatti alcuni microrganismi patogeni (es.: i micobatteri) possono sopravvivere all'interno dei fagociti

 I meccanismi microbicidi all'interno delle cellule fagocitanti si possono classificare come:

- *ossigeno-dipendenti*
 - *ossigeno-indipendenti*
-

Meccanismi microbicidi ossigeno-dipendenti

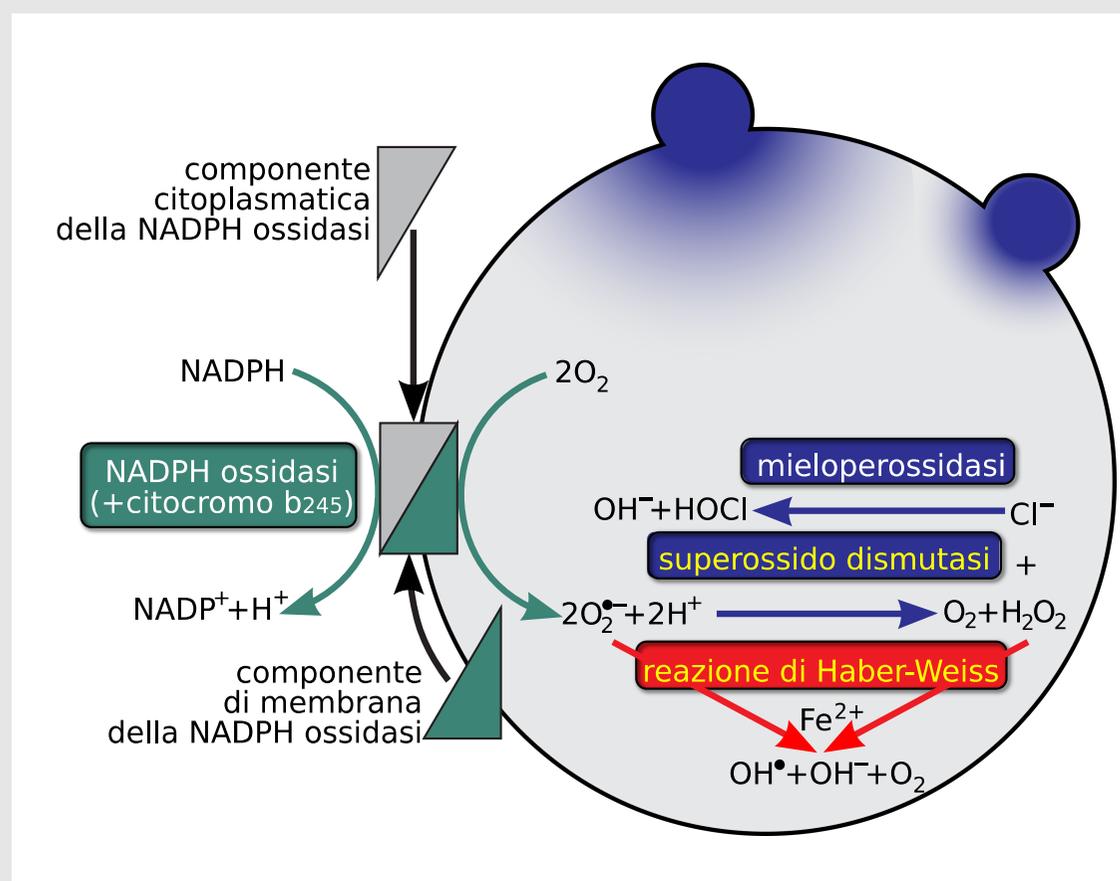
-  Il contatto tra il neutrofilo e lo stimolo rappresentato dalle particelle legate sulla membrana comporta:
- la rapida attivazione della NADPH-ossidasi (enzima legato alla membrana)
 - ossidazione del NADPH a $\text{NADP}^+ \text{H}^+$
 - formazione di ione superossido $\text{O}_2^{\bullet-}$

Meccanismi microbicidi ossigeno-indipendenti

-  Questi includono i seguenti agenti lisosomiali:
- proteine cationiche ricche di arginina
 - enzimi quali il lisozima, l'elastasi
 - lattoferrina (una proteina legante ferro)
 - il pH esistente nei fagosomi (da 3.4 a 4.0)

Gli enzimi lisosomiali sono di solito più importanti per la digestione e la degradazione dei germi già uccisi, che non per la loro diretta uccisione; infatti un germe vivo ripara con efficienza i danni avendo un metabolismo generalmente assai più veloce di quello della cellula ospite

Meccanismi ossigeno-dipendenti nei neutrofili



- Nel fagosoma la maggior parte del O₂^{•-} è convertita in H₂O₂ per scambio spontaneo
- O₂^{•-} e H₂O₂ hanno di per sé solo un modesto potere microbicide, però permettono la produzione di fattori ossidanti con maggiore attività microbicide
- L'enzima mieloperossidasi, presente nei granuli dei neutrofili, fa reagire H₂O₂ con uno ione negativo (es.: cloro, Cl⁻, a formare ipoclorito). Questo è un potente agente microbicide (si usa comunemente la clorazione per la potabilizzazione dell'acqua e nelle piscine)
- In altre reazioni l'anione superossido O₂^{•-} agisce come precursore di radicali liberi potenti quali il radicale ossidrilico OH[•]
- Il sistema H₂O₂-alogenuro-mieloperossidasi viene considerato il principale sistema microbicide all'interno dei neutrofili

Figura 10.12. Meccanismi microbici ossigeno-dipendenti

☞ ● Riassumendo si può dire che i granulociti neutrofili usano acqua ossigenata e varechina per uccidere i batteri

10.7. Principali fonti utilizzate

- Bergsbaken, T.; Fink, S. L.; Cookson, B. T. (2009). Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nature Rev. Microbiol.* 7, 99-109
- Brinkmann, V. (2005) Neutrophil engulfing *Bacillus anthracis*. *PLoS Pathogens* 1 (3), cover page
- Cotran, R.S., Kumar, V., Collins, T. (1999) *Robbins pathologic basis of disease*. VI ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia
- Dagenais, M.; Skeldon, A.; Saleh, M. (2011) The inflammasome: in memory of dr. Jurg Tschopp. *Cell Death and Diff.* 19, 5-12
- Gavrilin, M.A., Wewers, M.D. (2011) Francisella recognition by inflammasomes: differences between mice and men. *Front. Microbio.* 2:11. doi: 10.3389/fmicb.2011.00011
- Gordon, S. (2003) Alternative activation of macrophages. *Nat. Rev. Immunol.* 3, 23-35
- Roitt, I. M., Brostoff, J., Male, D. K. (1993) *Immunology*. III ed. Mosby, Edinburgh
- Stutz, A., Golenbock, D.T., Latz, E. (2009) Inflammasomes: too big to miss. *J. Clin. Invest.* 119, 3502-3511

Siti web

en.wikipedia.org_aschoff	visitato il 23/10/2011	accessibile il 11/07/2013
neutrophil_engulfing_bacillus_anthraxis	visitato il 23/10/2011	accessibile il 29/06/2013
wikimedia.org/wikipedia/en/5/50/Inflammasome_final1.png	visitato il 23/10/2011	accessibile il 11/07/2013



