

infiammazione	<ul style="list-style-type: none"> • reazione di un tessuto verso il microcircolo in seguito ad un insulto patogenetico • stimolo flogistico rivela mediatori di infiammazione, movimento di fluidi e leucociti verso i tessuti extravascolari • in seguito allo stimolo flogogeno si assiste ad una cinetica che fa sì che i vari mediatori abbiano meccanismi d'azione dati che permettono il passaggio di fluidi da vari spazi extravascolari e che coinvolgono cellule deputate all'eliminazione dell'insulto • questo insulto induce inizialmente la modifica del microcircolo ed il movimento di leucociti con una cinetica di migrazione che vede come protagonisti l'extravasazione e la presenza di neutrofili con la capacità di fagocitare ed eliminare il risultato patogenetico. tale migrazione è seguita da cellule di tipo monocitario che fuori dal vaso nel tessuto infiammato si differenziano in macrofagi • nel connettivo ci sono importanti elementi che possono riconoscere il patogeno ed innescare meccanismi di risposta rilasciando citochine, tnf-alfa, il1 ecc
Prima fase dell'infiammazione	<ul style="list-style-type: none"> • interazione del leucociti con l'endotelio vascolare per il loro reclutamento grazie a delle SELECTINE. • si legano con costante di dissociazione elevata (legame/distacco molto rapidi) • in presenza di stimolo patogeno si hanno eventi sequenziali dovuti ai mediatori di infiammazione che agiscono a livello dell'endotelio, facendo aumentare la permeabilità vascolare ed agendo sulle cellule endoteliali stesse. • le selectine che dall'endotelio sono espresse per permettere il rolling dei monociti inducono la possibilità di fermare il rolling e permettere l'adesione del fagocita, e quindi la migrazione per extravasare • nello stimolo iniziale c'è un meccanismo di modifica del microcircolo, in cui interviene la pressione idrostatica, la pressione oncotica e la pressione osmotica. il bilanciamento tra queste forze induce un richiamo ed un rilascio di liquidi a livello venoso. • questo meccanismo è inteso come passaggio di liquidi nei distretti extravascolari con la formazione prima di un essudato, e poi di un trasudato. • ESSUDATO - pH particolare, maggiore contenuto proteico del trasudato, più consistente del trasudato • può essere <ul style="list-style-type: none"> - catarrale - emorragico - sierofibrinoso
Seconda fase dell'infiammazione	<ul style="list-style-type: none"> • inizia la fase di amplificazione del segnale in seguito al rilascio di vari mediatori dell'infiammazione, che possono essere suddivisi in <ul style="list-style-type: none"> - mediatori di tipo cellulare - mediatori plasmatici • sono sintetizzati a livello epatico e presenti in forma inattiva in circolo, in cui devono essere attivati mediante taglio proteolitico. • uno dei sistemi plasmatici è il sistema del complemento, o anche quello fibrinolitico.
Terza fase dell'infiammazione	<ul style="list-style-type: none"> • è la fase conclusiva e contempla la risoluzione che culmina con la terminazione dello stimolo flogogeno ove possibile. • in caso di forti risposte infiammatorie si possono creare meccanismi di riparazione con esiti cicatriziali che comportano la perdita di funzioni di quella determinata porzione di tessuto. mentre in alcuni casi questi problemi possono ripercuotersi sulla funzionalità dell'organo (functio laesa), in altri casi gli esiti cicatriziali possono essere minimi.
Cause dello stimolo flogogeno	<ul style="list-style-type: none"> • traumi di natura fisica: feire, fratture, ischemie • fattori chimici: veleni, farmaci • fattori biologici: microrganismi • fattori endogeni: reazioni autoimmunitarie

Segni
dell'infiammazione

- rubor - dato da vasodilatazione
- calor - dato da incremento flusso ematico
- tumor - dato da aumento vasopermeabilità e extravasazione con passaggio di liquidi e creazione di trasudato ed essudato
- dolor - dato dal rilascio di mediatori della sensazione dolorifica (prostaglandine e chinine
- funccio laesa

Infiammazione
acuta/cronica

- lo stimolo flogogeno non può essere rimosso efficacemente ed avremo la persistenza dello stimolo passeremo ad un tipo di infiammazione cronica.
- Infiammazione Cronica
 - Modificazioni Vascolari - minime
 - Infiltrato cellulare - Macrofagi, linfociti, plasmacellule
 - Modificazioni stromali - Proliferazione cellulare, fibrosi e generazione di granulomi
- Infiammazione Acuta
 - Modificazioni Vascolari - vasodilatazione, aumento permeabilità
 - Infiltrato cellulare - PMN, PLT, Mastociti
 - Modificazioni stromali - minime
- a seguito dello stimolo flogogeno vengono prodotti i mediatori di infiammazione che possiamo suddividere in:
 - vasoattivi - istamina, serotonina, bradichinina, anafilotossine, leucotrieni, PAF, NO
 - chemiotattici - responsabili del reclutamento cellulare e nella stimolazione delle cellule infiammatorie
- ed ulteriormente in mediatori:
 - di origine plasmatica - sono presenti nel plasma e devono essere attivati grazie a meccanismi a cascata
 - di origine cellulare - sono preformati e rilasciati in seguito a stimolo, altri vengono sintetizzati sul momento
- questi meccanismi intervengono particolarmente nei fenomeni di vasopermeabilizzazione.
- il danno indotto dai mediatori di infiammazione può indurre la retrazione delle cellule endoteliali per danni alle proteine che mediano le giunzioni serrate inducendo nell'arco di minuti la formazione di edema.

Parete vascolare ed edema

- il primo evento consiste nella modificazione della parete vascolare
- si ha inizialmente una vasocostrizione temporanea, che interessa arteriole e precapillari
- successivamente si ha vasodilatazione, prima delle arteriole precapillari con rilascio degli sfinteri precapillari e successivamente delle venule poscapillari. ciò induce un aumento del flusso ematico definito IPEREMIA ATTIVA, a cui segue un rallentamento e poi la stasi.
- riassumendo abbiamo
 - vasocostrizione
 - vasodilatazione capillare (10-60 minuti)
 - rallentamento progressivo del flusso ematico
 - formazione essudato
 - marginazione dei leucociti
- l'ESSUDATO è inizialmente privo di cellule, almeno per i primi 30 minuti. si forma per lesioni a livello endoteliale. successivamente con l'extravasazione dei neutrofili inizia il ripopolamento cellulare dell'essudato, che continua con l'arrivo di monociti, macrofagi e linfociti.
- la formazione di essudato è importante perché si ha la diluizione dell'agente lesivo e la formazione di fibrina, favorendo così degli importanti traguardi
 - ri-congiunzione dei tessuti lesi
 - si ha la formazione di una barriera contro ulteriori invasioni
 - si ha una migliore fagocitosi
- EDEMA: accumulo di liquido nello spazio extracellulare e nei tessuti interstiziali. può essere caratterizzato da
 - scarso contenuto proteico - densità
 - alto contenuto proteico - densità > 1.015: Essudato
- si può avere trasudato anche per cause non infiammatorie come stasi o ipoproteinemia
- l'essudato si forma solo per cause infiammatorie. l'essudato può essere classificato in:
 - sieroso
 - siero-fibrinoso
 - siero-catarrale
 - catarrale
 - fibrinoso
 - allergico
 - muco-purulento
 - emorragico
 - necrotico-emorragico

Infiammazione acuta

- non c'è più equilibrio tra pressione idrostatica, oncologica ed osmotica.
- la pressione idrostatica aumenta in tutti i punti e questo fa sì che ci sia fuoriuscita di liquido sia nelle arteriole che nelle venule.
- durante la fase acuta intervengono diversi elementi:
 - pressione idrostatica spinge fuori i liquidi dai vasi
 - pressione oncologica richiama liquidi nei vasi
 - pressione osmotica
 - drenaggio linfatico

Diapedesi

- regolata da mediatori chemiotattici (C5a C3a, e peptidi di origine batterica)
- la prima fase dell'extravasazione è il rolling, cioè il rotolamento dei leucociti con una interazione debole sulle cellule endoteliali tramite proteine costitutivamente espresse
- in seguito ad attivazione vengono espresse altre molecole dall'endotelio, che frenano il rolling del monocita perché la stessa attivazione induce modificazione conformazionale delle integrine leucocitarie.
- successivamente il leucocita cambia morfologia, ed emette degli pseudopodi che gli consentono l'extravasazione
- le molecole dei linfociti coinvolte sono:
 - L-selectina
 - Integrine beta1 e beta2
 - molecole di adesione varie
- sono espresse in seguito a stimolo flogogeno dalle cellule endoteliali:
 - E-selectine e P-selectine
 - acidi di Lewis
- la mancanza di queste ultime molecole determina un deficit di adesione leucocitaria, con conseguenti infezioni ricorrenti.

mediatori di infiammazione

- è un mediatore preformato, immagazzinato in granuli e rilasciato da mastociti basofili e plt.
- il meccanismo che porta alla degranolazione dell'istamina è di natura immunologica, ma ci sono condizioni particolari in cui in risposta ad uno stimolo di natura non immunologica si ha comunque degranolazione (oppioidi, soluzioni iper-ipo-osmolari=
- l'istamina deve legare specifici recettori per svolgere la sua funzione che varia al variare del recettore legato.
- successivamente viene metabolizzata molto rapidamente attraverso due vie metaboliche: la DIAMINOSSIDASI E L'ISTAMINA METILSTRASFERASI
- i recettori per l'istamina sono H1, H2, H3 e H4. sono espressi anche dai linfociti B, dalle DC, e dai linfociti Th1 e 2
- sono recettori transmembrana accoppiati a proteine G
- Recettori:
 - H1 (SNC e SNP, muscolatura liscia tratto intestinale e delle vie aeree):
 - aumento permeabilità vascolare
 - contrazione musc. liscia
 - vasocostrizione polmonare
 - aumentata secrezione di muco
 - reclutamento leucociti
 - produzione prostaglandine
 - H2 (mucosa gastrica, utero, cuore, SNC):
 - aumentata secrezione HCL da cellule parietali gastriche
 - aumentata secrezione di muco
 - aumentato livello di cAMP intracellulare
 - H3(SNC, SNP):
 - Funzione di feedback per la produzione di istamina
 - H4 (milza, polmoni, fegato, ippocampo):
 - non si sa bene ancora la loro funzione

Istamina

- mediatore chimico di infiammazione
- rilasciato da mastociti basofili e piastrine che contengono granuli con mediatore preformato.
- viene rilasciato in seguito a stimoli di natura immunologica e non immunologica
- His ha emivita molto breve, e lega quattro differenti tipi di recettori
- la liberazione His causa senso di calore, rossore, prurito, riduzione della p. arteriosa, aumento della frequenza cardiaca, cefalea (sintomatologia che si osserva durante una reazione allergica - o di ipersensibilità di primo tipo)
- altri segni sono edema ed orticaria, coliche addominali, nausea, ipersecrezione acida, broncospasmo e aumento delle secrezioni
- le diverse sintomatologie sono date dall'attivazione dei diversi recettori nei vari distretti
- gli effetti biologici sul sistema circolatorio sono:
 - dilatazione capillare H1-H2) - diminuzione delle resistenze vascolari periferiche che inducono calo della pressione arteriosa
 - edema - dato da aumento della permeabilità vascolare e del flusso linfatico
- Recettori H1 sono localizzati su cellule endoteliali, attivano la via della PLC/IP3 con aumento della produzione di NO, che diffonde e attiva per via paracrina le guanilato ciclasi delle cellule muscolari. cGMP induce rilassamento
- Recettori H2 si trovano sulle cellule muscolari lisce. attivano la via dell'adenilato ciclasi e inducono rilassamento cAMP mediato.
- a livello del SNC His svolge un ruolo di neurotrasmettitore. i neuroni che utilizzano His sono localizzati nel nucleo tuberomammillare dell'ipotalamo posteriore.
- questo sistema istaminergico è associato al mantenimento dello stato di vigilanza e attenzione durante la veglia, e alla modulazione delle fasi del sonno.

Serotonina

- mediatore di infiammazione preformato
- deriva dalla decarbossilazione del triptofano e viene immagazzinata nelle piastrine, nelle cellule nervose periferiche nelle cellule enterocromaffini
- Ser è un potente induttore di vasopermeabilità, il suo ruolo però non è prioritario come quello dell'istamina.
- dopo il rilascio di serotonina questa viene rapidamente metabolizzata da una ammino ossidasi. il suo ruolo nel processo infiammatorio è probabilmente secondario.

eicosanoidi

- sono sintetizzati al momento della loro necessità, ed hanno un ruolo biologico più rilevante rispetto a quello dell'istamina
- hanno effetti duraturi nel tempo che vengono esplicati tramite attività autocrina e paracrina.
- derivano dall'acido arachidonico. tale precursore viene rilasciato dai fosfolipidi di membrana in seguito all'azione della fosfolipasi A2 attivata da stimoli flogogeni di varia natura
- l'acido arachidonico viene metabolizzato tramite due vie enzimatiche:
 - via della COX - cicloossigenasi. attraverso questo ciclo vengono prodotte prostaciline, trombossani e prostaglandine.
 - via della LOX - lipoossigenasi

Via della COX

- esistono due forme dell'enzima cox: Cox1 e cox2.
 - COX1: costitutivamente attivo, impegnato nell'omeostasi, impegnato nella gastroprotezione, funzione renale per regolare l'equilibrio di acqua ed elettroliti
 - COX2: produce prostaglandine che agiscono da proinfiammatori o antiinfiammatori a seconda del contesto e del recettore che usano. Le prostaglandine agiscono in sinergia con His e mediano vasodilatazione e vasopermeabilizzazione, sono coinvolte nella veicolazione della sensazione di dolore tramite neuroni del SNC e SNP. In oltre le prostaglandine sono pirogeniche.
- i mediatori prodotti legano specificamente determinati recettori che sono distribuiti su diversi tessuti
- la sintesi dei mediatori può essere inibita da vari farmaci, che agiscono sia su COX1 che su COX2. in ogni caso vengono utilizzati farmaci antinfiammatori non steroidei FANS o NSAIDs
- l'aspirina è uno degli esempi tipici di antiinfiammatorio non steroideo, il cui principio attivo trasferisce un acetile all'enzima inattivandolo irreversibilmente. Altri farmaci, tipo l'ibuprofene, inibiscono l'enzima reversibilmente.
- oggi esistono nuovi farmaci inibitori selettivi della cox1 o della cox2
- altri mediatori lipidici sono i leucotrieni (A4, B4, C4, D4, E4). In particolare il leucotriene B4 ha recettori LTB1 e LTB2. gli effetti biologici sono:
 - iperattività a livello bronchiale
 - incremento della permeabilità vascolare
 - incremento della secrezione di muco
- altri recettori per leucotrieni sono coinvolti in meccanismi di rimodellamento e attivazione di eosinofili.
- esistono anche farmaci antagonisti dell'azione dei leucotrieni, ad esempio il MONTELUKAST, utilizzato nella terapia dell'asma bronchiale.

PAF - fattore attivante delle piastrine

- mediatore di infiammazione di nuova sintesi rilasciato in seguito a stimolo flogogeno da leucociti, piastrine, e cellule endoteliali.
- PAF agisce su recettori a 7 elice trans-membrana ed esplica la sua funzione nei meccanismi di:
 - aggregazione piastrinica
 - chemiotassi ed attivazione dei PMN
 - azione sulle cellule endoteliali, induzione di vasodilatazione da 100 a 1000 volte più efficace di His

Neuropeptidi

- TACHICHININA, SECRETINA, SOMATOSTATINA, GASTRINA, OPIOIDI ENDOGENI
- in particolare è stato studiato il ruolo biologico della sostanza P e della neurochinina A, le quali appartengono alle Tachichinine
- gli effetti dei neuropeptidi sono:
 - trasmissione dei segnali dolorifici
 - regolazione della pressione arteriosa
 - stimolazione alla secrezione di mediatori da parte di cellule endocrine
 - incremento della permeabilità vascolare

Mediatori di origine plasmatica	<ul style="list-style-type: none"> • si trovano in forma inattiva nel plasma, in seguito ad attivazione da contatto, inducono una serie di eventi che portano all'attivazione di diversi sistemi enzimatici, rappresentati da: • sistema fibrinolitico • sistema del complemento • sistema delle chinine • sistema della coagulazione • superfici cariche negativamente (membrane basali, collagene) e in generale sostanze associate al danno tissutale PROVOCANO L'ATTIVAZIONE DEL FATTORE DI HAGEMAN (12A) CHE CON MECCANISMO A CASCATA PROVOCHERA L'ATTIVAZIONE DEI SISTEMI SOPRACITATI.
Sistema delle chinine	<ul style="list-style-type: none"> • le chinine sono molecole biologicamente attive che contribuiscono ad un aumento della vasopermeabilità. • derivano da precursori generalmente chiamati chininogeni ad alto e basso molecolare (rispettivamente HMWK e LMWK) • sono codificati da un singolo gene da cui vengono prodotti per splicing alternativo • il sistema di contatto è assemblato sulla membrana cellulare di neutrofilo e cellule endoteliali probabilmente con la funzione di produrre quantità basali di chinine. • il sistema di contatto assolve anche a funzioni omeostatiche quali: <ul style="list-style-type: none"> - modulazione dell'integrità vascolare e della pressione sanguigna - ruolo nella fibrinolisi e mantenimento della natura costitutivamente anticoagulante del compartimento intravascolare • in oltre il sistema di contatti assolve anche a funzioni non omeostatiche, funzioni simili a quelle esplicate dall'istamina.
Sistema fibrinolitico	<ul style="list-style-type: none"> • sempre mediante il fattore di hageman viene anche attivato il sistema fibrinolitico. • la callicreina agisce direttamente all'attivazione del fattore di hageman e permette la conversione del plasminogeno in plasmina e permetterà la lisi della fibrina in frammenti fibrinolitici, che verranno poi rimossi dal sistema cardioepatico.
Sistema della coagulazione	<ul style="list-style-type: none"> • il sistema della coagulazione ha due vie di attivazione. • Via intrinseca - è attivata quando il sangue viene a contatto con il tessuto connettivo subendoteliale o con superfici cariche negativamente. Il fattore di hageman attiva il fattore XI e da questo si arriva all'attivazione del fattore VIII, che in presenza di calcio e fosfolipidi attivano il fattore X, punto di convergenza con la via estrinseca • Via estrinseca - rappresenta una via di attivazione rapida del fattore X. dopo l'attivazione del fattore Xa si avrà la via comune, che porterà alla formazione della trombina, che agisce sul fibrinogeno per produrre fibrina. fibrina ed eritrociti intrappolati e piastrine costituiscono il coagulo.
Sistema del complemento	<ul style="list-style-type: none"> • ha diverse vie di attivazione: via classica, via lectinica, via alternativa, che convergono in un'unica via che porta alla formazione del complesso di attacco alla membrana fino alla lisi del patogeno. • svolge una funzione biologicamente importante il sistema delle anafilossine, molecole che derivano dal taglio proteolitico degli zimogeni in forma inattiva: <ul style="list-style-type: none"> - ATTRAVERSO LA STIMOLAZIONE DEI MASTOCITI - contrazione della muscolatura liscia - funzioni chemiotattiche • le proteine costituenti tale sistema vengono prodotte a livello epatico come le proteine di fase acuta, e possono fungere da opsonine oppure attivare la via classica o lectinica del complemento. • alcune delle proteine del complemento partecipano anche alla modulazione della clearance renale per alcuni immunocomplessi e nella modulazione della risposta immune.

Riassunto sui mediatori di infiammazione

- Vasodilatazione
 - prostaglandine e NO
- aumento della permeabilità vascolare
 - C3a, C5a, bradichinina, leucotrieni, PAF e sostanza P
- chemiotassi, attivazione dei leucociti
 - C3a, leucotrieni B4, chemochine
- Febbre
 - IL1, IL6, TNF, Prostaglandine
- Dolore
 - prostaglandine e bradichinina
- danno tissutale
 - enzimi lisosomiali dei neutrofili

chemochine in infiammazione e nel cancro

- interleuchina 8 - o CXCL8 è prodotta dalle cellule tumorali e svolge una funzione biologica che determina maggiore proliferazione delle cellule tumorali stesse, agendo al contempo su una serie di fattori di trascrizione che inducono la sintesi di metalloproteasi
- IL8 agisce in maniera autocrina e paracrina inducendo l'attivazione di molti meccanismi, quali l'angiogenesi, ed il reclutamento di neutrofili dal torrente ematico.
- i recettori che utilizza IL8 sono CXCR1 e CXCR2. in alcune condizioni di displasia in particolare nel melanoma, vi è questo meccanismo di tipo autocrino e paracrino dato dal fatto che alcune cellule tumorali e alcune cellule sane esprimono entrambi questi recettori. nelle cellule endoteliali viene indotta angiogenesi mentre nelle cellule tumorali si induce proliferazione e la migrazione in altri distretti ed organi.
- questa chemioquina infatti rappresenta un importante target terapeutico soprattutto in caso di melanoma.
- dal punto di vista prognostico i recettori per le IL e le IL stesse sono valutati come biomarcatori della versatilità tumorali: infatti il grado di espressione dei recettori CXCR8 nei pazienti con melanoma sono indice utile per la comprensione dell'andamento della patologia. in oltre è stato dimostrato che l'utilizzo di anticorpi anti-IL8 inibisce la crescita tumorale. Questa dimostrazione però non garantisce che altre interleuchine che legano i recettori CXCR1 e CXCR2 non inducano gli stessi meccanismi indotti da IL8 bloccata.
- CCL18 è un'altra chemioquina coinvolta nei meccanismi di progressione e soprattutto nei processi di metastatizzazione. In particolare favorisce la differenziazione delle cellule TAM (macrofagi associati al tumore). Il recettore che lega questa chemioquina è un recettore che la lega specificamente (in particolare nel tumore della mammella).
- Importante funzione di recettori per chemiochine è svolto dai recettori di DECOY, che hanno un meccanismo d'azione che contrasta con la funzione biologica delle chemiochine, infatti in seguito al legame chemioquina-recettore si ha lo spegnimento della risposta con meccanismo di trascitosi (detto decoy). I recettori di Decoy più rilevanti sono DARC, D6 e CCXCR.
- Recettore DARC studiato a livello delle cellule vascolari e sugli eritrociti. il recettore D6 lega prevalentemente le chemiochine con funzione omeostatiche (CCL19 e CCL21). La differenza molecolare tra i recettori decoy e non decoy è che in un'area generalmente abbastanza conservata tra i recettori quelli di tipo decoy hanno una sequenza denominata DRY-live modificata che determina la disattivazione dei meccanismi invece della loro attivazione. si può dedurre che questi recettori sono essenziali nella regolazione della risposta infiammatoria.

correlazione infiammazione-cancro

- alcuni fattori riducono il rischio di sviluppo di alcuni tipi di tumore
- molecole infiammatorie sono presenti nel microambiente tumorale
- farmaci specifici per alcune citochine agiscono su fattori di trascrizione e si ha minore incidenza del passaggio da fase preneoplastica a neoplasia

pathway estrinseco

- alcune condizioni di infiammazione possono determinare la sintesi di vari mediatori che agiscono a livello dei fattori di trascrizione determinando una amplificazione della risposta tramite sintesi di altri mediatori dell'infiammazione, con l'induzione di meccanismi di reclutamento cellulare che porta alla progressione tumorale.
- le varie cellule in seguito a segnali citochinici e chemiochinici attivano segnali di trascrizione che sono coinvolti a loro volta nel meccanismo di amplificazione della risposta e nel mantenimento dell'ambiente neoplastico.

pathway intrinseco	<ul style="list-style-type: none"> • si ha l'attivazione di oncogeni che porta all'instaurarsi di una condizione che determina i meccanismi di sopravvivenza cellulare, di proliferazione di cellule tumorali, fenomeni di angiogenesi, tutti potenziati dall'attivazione di fattori di trascrizione proteica da parte di agenti infiammatori.
NF-kB	<ul style="list-style-type: none"> • NF-kB è correlato alla trasformazione delle cellule tumorali. è coinvolto nella prima fase della trasformazione in senso neoplastico, e nell'evoluzione. • ci possono essere condizioni pre neoplastiche che possono durare dai 10 ai 20 anni ed in seguito si può avere il coinvolgimento del fattore NF-kB che nel giro di 10 anni può portare alla neoplasia. • è uno dei fattori implicati nelle prime fasi della trasformazione e nell'espressione di particolare natura antiapoptotica. In più codifica per proteine di adesione e metallo proteasi.
Infiammazione cronica	<ul style="list-style-type: none"> • processo infiammatorio persistente nel tempo e determinante una condizione che porta a lesioni croniche. • lo stimolo flogogeno può essere alimentato da una sostanza di tipo inerte o da un patogeno biologico, ed in base alle caratteristiche stesse del patogeno si può creare una risposta anche grave rappresentata da un danno d'organo con esito fatale. • nell'infiammazione cronica i linfociti t che vengono reclutati nel sito di infezione producono delle citochine che attivano le cellule di tipo monocitario. in realtà sono proprio i macrofagi i protagonisti del danno tissutale proprio a causa del loro rilascio di diversi mediatori che contribuiscono al danno tissutale.
Granulomi	<ul style="list-style-type: none"> • le cellule coinvolte nei processi infiammatori dopo lunghi stimoli flogistici possono differenziare anche dal punto di vista morfologico in cellule epiteliodi, in cellule giganti di langerhans ed il loro raggruppamento con altre cellule determina la caratteristica citoarchitettura denominata granuloma. • nell'infiammazione si assiste alla costante attivazione di alcuni elementi cellulari, la cui citoarchitettura formata è costituita anche da macrofagi, linfociti CD4 o CD8 (a seconda dello stimolo che ricevono i CD4 possono essere Th1,2 o 17). Il danno tissutale conseguente deriva dalla loro IPERATTIVAZIONE. • anche i linfociti b possono essere coinvolti nel meccanismo di formazione del granuloma, infatti, alcune plasmacellule possono essere presenti in diversi tipi di granuloma. • conoscere i diversi tipi citoarchitettonici dei granulomi può essere utile per la diagnosi differenziale tra alcuni tipi di patologie infiammatorie di tipo cronico di natura infettiva per il fatto che all'interno del granuloma può essere presente una necrosi di tipo caseoso oppure no. • esempio di dx differenziale può essere quella che viene svolta per discernere infezione da M. tuberculosis o una infiammazione da sarcoidosi. quando queste due patologie sono indistinguibili la biopsia del granuloma rende possibile effettuare dx differenziale. • quindi all'interno dei granulomi è possibile trovare delle plasmacellule, essenziali per la sintesi degli anticorpi, e i linfociti che in base al tipo di subset sono coinvolti nella risposta protettiva grazie ad una risposta umorale o cellulo mediata. • altre cellule coinvolte nell'infiammazione sono i fibroblasti che possono produrre diversi mediatori di infiammazione • ed essere quindi coinvolti nel danno tissutale. • nel meccanismo di formazione del granuloma deve essere presente la persistenza dello stimolo flogogeno rappresentato da patogeni o sostanze inerti (anche i punti di sutura) e possono condurre a reclutamento di cellule e attivazione di s.i. • il granuloma è definito da WARREL come una RISPOSTA INFIAMMATORIA FOCALE DA ELEMENTO CRONICO CARATTERIZZATA DALL'ACCUMULO E DALLA PROLIFERAZIONE DI LEUCOCITI PREVALENTEMENTE DI TIPO MONONUCLEATO. • in base allo stimolo flogogeno sono state suddivise le reazioni granulomatose in <ul style="list-style-type: none"> - non immunologiche - da corpo estraneo - immunologiche - da ipersensibilità • le caratteristiche citoarchitettoniche del granuloma possono essere varie a seconda del tipo di stimolo flogogeno e a seconda della persistenza del patogeno o della sostanza inerte. • se siamo in presenza di un agente patogeno questo determina meccanismi di attivazione delle diverse componenti cellulari che portano alla formazione di un granuloma definito ad alto turn-over, dato dal fatto che le cellule sono reclutate dal sangue • in altri casi invece troviamo i granulomi denominati a basso turnover.

eziologia	<ul style="list-style-type: none"> • sono diverse condizioni patologiche che portano alla formazione di granulomi: <ul style="list-style-type: none"> - infezioni batteriche - infestazioni di elminti - " " protozoi - infezioni di miceti - avvelenamenti da particolari metalli (Be) • al contempo ci sono alcune patologie definite ad eziologia ignota e ad eziologia indeterminata, in cui possibilmente si ha l'instaurarsi di processi infiammatori per infezioni batteriche o virali senza avere la possibilità di correlare l'insorgenza del granuloma con il patogeno sospettato.
granuloma da corpo estraneo	<ul style="list-style-type: none"> • è il caso del granuloma non immunologico • alcune molecole possono essere suddivise in molecole inattive o attive • la citoarchitettura è lievemente differente dai granulomi da ipersensibilità • è possibile indurre sperimentalmente granulomi utilizzando delle molecole che non vengono rimosse efficacemente, e quindi portano alla formazione del granuloma per uno studio più completo.
granuloma tubercolare	<ul style="list-style-type: none"> • per il granuloma tubercolare bisogna considerare le cellule di natura macrofagica ed i linfociti come protagonisti. • gli eosinofili sono un'altra tipologia di cellule che possono essere presenti in alcuni tipi di granuloma così come le plasmacellule ed i linfociti. • la presenza di necrosi è un'altra valutazione da osservare in questo tipo di granuloma • è molto importante valutare la presenza di necrosi per valutare la differenza tra granuloma tubercolare e sarcoidosi.
caratteristiche dei vari granulomi	<ul style="list-style-type: none"> • nelle varie patologie il granuloma viene definito con nomi vari • in caso di tubercolosi lo chiamiamo tubercolo • nella lebbra leproma • nella sifilide viene definito gomma luetica • il granuloma viene quindi definito con il nome specifico e poi si vanno a cercare gli infiltrati di tipo cellulare. nell'evoluzione le cellule di tipo macrofagico ricoprono un ruolo importante per le varie citochine rilasciate indotte dal profilo molecolare del patogeno. • l'iperattivazione dei macrofagi può portare queste cellule ad assumere un aspetto più grande del solito, e possono essere definite EPITELIOIDI • queste cellule epitelioidi possono poi fondersi tra loro e formare delle cellule definite multinucleate o di Langerhans che possono avere fino a 50 nuclei. • nel caso di infezione tubercolare la lesione porta alla perdita di tessuto elastico e quindi alla compromissione della funzionalità polmonare, anche se la localizzazione del granuloma può essere anche extrapolmonare
formazione e citoarchitettura	<ul style="list-style-type: none"> • nella formazione del granuloma l'evoluzione della necrosi di tipo caseoso può portare alla calcificazione ed alla formazione di tubercoli, ed il materiale contenuto all'interno di questa necrosi (enzimi lisosomiali, macrofagi, batteri vivi) può configurare un ambiente particolarmente ipossico favorevole al contenimento della crescita del micobatterio. • i materiali liberati dalla necrosi possono talvolta prendere la strada dei bronchi ed essere causa di contaminazione per via aerea attraverso il rilascio di batteri vivi, oppure possono prendere la via ematica e determinare la localizzazione dei batteri in sede extrapolmonare. • la particolare evoluzione che porta alla formazione del granuloma è data dal fatto che il sistema immunitario cerca di arginare la disseminazione batterica. il costante stimolo infiammatorio iperattiva i macrofagi, e questa iperattivazione può essere causa di esiti di tipo cicatriziale con compromissioni delle funzioni d'organo. • di conseguenza può essere presente una sorta di equilibrio con il patogeno che può rimanere in forma inerte nel granuloma, oppure può presentarsi la riattivazione del batterio in funzione delle condizioni del s.i. del paziente. (età, stress, uso di particolari farmaci) • a seconda della gravità dell'alterazione delle difese si può avere la scompaginazione della citoarchitettura del granuloma e la diffusione del patogeno. • nella formazione del granuloma inizialmente possiamo vedere il reclutamento dei monociti che si differenziano in macrofagi. se c'è una particolare persistenza del patogeno i macrofagi iniziano a differenziarsi inizialmente in foamy cells, e poi in cellule epitelioidi. le cellule schiumose sono le responsabili della formazione della necrosi caseosa e di una ulteriore calcificazione del granuloma.

granuloma da sarcoidosi

- sarcoidosi è una patologia cronica e sistemica ad eziologia sconosciuta. in alcuni casi a livello del granuloma è stato identificato il m. tuberculosis anche il paziente non manifestava patologia tubercolare
- la sarcoidosi colpisce i polmoni ma anche altri organi soprattutto a livello cutaneo. possono anche essere interessati i linfonodi, la milza e si può assistere alla rpresenza di granulomi anche a livello oculare.
- la sarcoidosi si manifesta tra i 20 ed i 40 anni ed ha un'incidenza di 1-40 casi su 100.000.
- una corretta diagnosi perverte inizialmente lo studio della lesione granulomatosa, che nello specifico deve contenere un infiltrato di linfociti CD4 Th1 e macrofagi.
- è asintomatica nel 10-20% dei casi, nel 30-40% si ha esordio con sintomatologia sistemica, e nel 70% dei casi si verifica una compromissioni polmonare e dei linfonodi profondi degli altri organi
- nell'aspirato polmonare possono essere reperibili **granulomi** con TALCO: nelle droghe leggere possono essere presenti tracce di talco che rendono possibile la formazione di granulomi a livello polmonare

Trattamento dei granulomi

- nel caso in cui il granuloma sia di natura immunologica, cioè nel caso in cui contiene un corpo inerte o un autoantigene, l'utilizzo di farmaci immunosoppressori potrebbe limitare il danno tissutale.
- se la citoarchitettura è di tipo protettivo a causa della presenza di un patogeno biologico è sconsigliato l'uso di immunosoppressori, ma si procede cercando di isolare il patogeno per poter iniziare una terapia antibiotica specifica per inibire il protrarsi dello stimolo infiammatorio.
- nel caso di granulomi ad eziologia ignota o da malattia autoimmune è preferibile l'uso di farmaci biologici piuttosto che immunosoppressori.

Proteine della fase acuta

- in seguito ai vari tipi di infiammazione si ha una risposta di fase acuta sistemica a prescindere dalle sostanze infiammatorie che possono essere
 - infiammatori fisici - traumi, operazioni chirurgiche, ferite
 - infiammatori chimici - farmaci, tossin, allergeni
 - infiammatori infettivi - batteri etc
- come risposta di fase acuta abbiamo una vasta e complessa serie di risposte fisiologiche che iniziano in seguito ad un insulto patogenetico indipendentemente dall'agente eziologico.
- queste risposte sistemiche di fase acuta possono essere febbre, anoressia e cachessia, leucocitosi, aumento della VES attivazione del sistema fibrinolitico, proliferazione dei linfociti, aumento di alcuni ormoni (ADH e glucocorticoidi)
- in seguito ad una risposta di fase acuta si assiste ad una diminuzione dei valori fisiologici di quelle proteine che vengono sintetizzate giornalmente a livello epatico per favori la sintesi, sempre a livello epatico, delle proteine di fase acuta.
- quindi durante la fase acuta si assiste ad un cambiamento del profilo biosintetico del fegato, che per aumentare la sintesi di proteine di fase acuta deve diminuire la sintesi di proteine che produce giornalmente in maniera fisiologica. queste ultime possiamo chiamarle proteine negative della fase acuta.
- oltre alle proteine principali della fase acuta hanno un ruolo importante anche altre proteine sintetizzate affinché lo stimolo flogogeno sia limitato. oltre alle proteine del complemento ed alle proteine della coagulazione sono rilasciate delle proteasi che contrastano l'azione di vari enzimi, rilasciati in seguito all'attivazione dei leucociti, e che potrebbero causare un danno al tessuto self.

inibitori delle proteasi

- svolgono un ruolo importante nell'impedire l'eccessivo rilascio di proteasi.
- tra questi inibitori ricordiamo l'alfa-1 antitripsina, il cui deficit può causare patologie come l'enfisema polmonare
- ricordiamo anche proteine come la famiglia delle pentrassine come la PTX3 suddivise in pentrassine corte e lunghe in base al loro ripiegamento.
- l'alfa-1-antitripsina ha il compito di contrastare l'elastasi neutrofila contenuta nei neutrofili. il gene che codifica questa proteina viene espresso negli epatociti ed in alcune cellule ematopoietiche quali fagociti MNC e macrofagi
- essa si localizza prevalentemente a livello polmonare perché i macrofagi contrastano eventuali stimoli flogogeni
- l'elastasi rilasciata deve essere neutralizzata da questa proteina, e questo avviene ad esempio con il fumo. in altri casi invece ci possono essere condizioni patologiche tipo l'enfisema nel caso in cui questa proteina venga sintetizzata a bassi livelli, inducendo l'instaurazione del processo infiammatorio.
- deficit di alfa-1-antitripsina può insorgere per:
 - delezione del gene
 - eliminazione di mRNA instabile
- questa proteina può essere sequestrata anche a livello del reticolo endoplasmatico e può portare ad un danno degli epatociti con insorgenza di cirrosi epatica.
- il valore sierico di questa proteina è importante per valutare queste due patologie.
- al deficit di alfa-1-antitripsina sono correlate quindi due patologie: l'enfisema polmonare e l'epatopatia neonatale.

antitripsina e Enfisema polmonare

- in questo caso il ruolo di questa proteina è da attribuirsi all'inibizione dell'elastasi rilasciata nei polmoni, tant'è vero che nei soggetti che non esprimono questa proteina si ha la distruzione del connettivo che può portare all'enfisema.
- insorge tra i 34-45 anni e il sospetto diagnostico emerge dal fatto che l'enfisema insorge senza alcun tipo di fattori di rischio.
- nel caso dell'azione di tale proteina non è più garantita la ridotta azione dell'elastasi neutrofila rilasciata in sede polmonare, e questo è collegato al danno.

antitripsina e Epatopatia neonatale

- in questa patologia si ha la sostituzione in posizione 542 dell'acido glutammico con la lisina.
- questa mutazione fa sì che la proteina rimanga legata a livello del rER e quindi non sia rilasciata, causando forme di epatite o cirrosi.

pentrassine

- divisibili in pentrassine a catena corta ed a catena lunga sono caratterizzate da dischi pentagonali a singolo o doppio filamento
- un esempio è la PTX3, è a lunga catena, e presenta una lunga coda citoplasmatica.
- in seguito al riconoscimento di particolari profili molecolari queste proteine sono coinvolte nell'attivazione della trascrizione genica per la sintesi di citochine o mediatori che possono intervenire nella risposta antivirale, ma anche nel potenziamento dell'espressione di varie molecole come l'espressione di recettori che innescano la fagocitosi per riconoscimento
- tra le varie famiglie delle pentrassine troviamo che la proteina c reattiva e ptx3 hanno un ruolo importante perché possono essere valutate come marcatori di risposta di fase acuta.
- la proteina c reattiva è sintetizzata dopo qualche ora dall'inizio dello stimolo flogogeno, di solito si ha un picco tra le 6-8 ore, ed i suoi livelli si mantengono alti per qualche giorno dopo la cessazione dello stimolo.
- questa proteina è importante in quanto non viene sequestrata dal sistema monocito-macrofagico, così come avviene invece per la proteina amiloide A che fa parte sempre della famiglia delle pentrassine
- la proteina c reattiva è prodotta a livello epatico a seguito della liberazione di citochine proinfiammatorie, in particolare di IL3, mentre la PTX3 viene rilasciata da diversi tipi di cellule
- la ptx3 viene valutata ad esempio in seguito a danni a livello cardiovascolare o interventi di angioplastica.
- oltre alla valutazione sierica di questa proteina, la funzione biologica è differente a seconda del tipo di proteina di fase acuta. molte di queste proteine possono essere utilizzate anche per contrastare delle reazioni sistemiche indesiderate, ad esempio dovute al rilascio massivo di TNF-alfa.
- altro meccanismo di inibizione importante è quello della generazione dei radicali liberi che possono portare ad un danno dei tessuti self, oppure il meccanismo di induzione dell'apoptosi. questi ultimi sono meccanismi di spegnimento dell'eccessiva attivazione del s.i.
- ricapitolando
 - la proteina SAP e la C reattiva vengono sintetizzate a livello epatico, ed intervengono nell'immunità innata per lo spegnimento della risposta infiammatoria.
 - la proteina ptx 3 è sintetizzata in seguito a stimoli flogogeni da parte delle c. dendritiche, dai macrofagi, dalle cellule endoteliali etc.

proteina C reattiva

- in caso di esame emocromocit. si valuta la proteina c reattiva proprio a seguito della sua cinetica di risposta (picco tra le 8-9 ore e poi i livelli tornano normali).
- se lo stimolo flogogeno rimanesse ciò porterebbe ad un mantenimento degli alti valori di proteina c reattiva.
- si avranno valori elevati in caso di infiammazioni croniche e malattie autoimmunitarie.
- l'utilizzo di corticosteroidi può inibire la produzione di proteine di fase acuta
- in caso di infezione batterica la cinetica di sintesi proteica è molto rapida. se si interviene rapidamente nell'arco di 10gg si potrà trovare una normalizzazione di tali proteine. se invece si sbaglia terapia si troveranno alti livelli di proteine di fase acuta.
- la valutazione della proteina c reattiva in seguito a infezione batterica si esegue nello stato infiammatorio di tipo acuto o di infiammazioni di tipo cronico, per valutare l'efficacia di una terapia.
- la proteina c reattiva ha valori molto bassi, nel range di 1mg/L; nel caso di stimolo flogogeno può aumentare fino a 1000 volte proprio perché non è sequestrata dalle proteine del sistema immunitario.
- la qt di proteina c reattiva nel sangue rappresenta quindi l'effettica quantità di proteina prodotta dal fegato.
- le funzioni biologiche di questa proteina sono diverse, una delle più rilevanti è quella di eliminare materiale nucleare che potrebbe dare luogo a reazioni di tipo autoimmunitario.
- è stata trovata nel siero di pazienti affetti da Streptococcus pneumoniae, che reagiva al suo polisaccaride C.
- tra le altre funzioni biologiche ricordiamo
 - azione opsonizzante
 - lega diversi elementi nucleari evitando-spegnendo la risposta immunitaria
 - aumenta l'attività dei NK e l'attività anti tumorale dei macrofagi

proteina SAP	<ul style="list-style-type: none"> • SAP - forma circolante della componente P dell'amiloide • ha una omologia di sequenza con la proteina c reattiva del 51%. la differenza risiede nel fatto che la sap è costotuita da due anelli pentagonali, a differenza della c reattiva che ne ha uno soltanto. • entrambe legano ribonucleoproteine, istoni ed altri Ag nucleari • la SAP inibisce l'aggregazione piastrinica a differenza della proteina c reattiva • innesca chemiotassi e fagocitosi da parte dei MNC • lega fibronectine e proteoglicani • interviene nella modulazione della coagulazione • coinvolta nella deposizione della sostanza beta-fibrillare nei tessuti, ed è quindi responsabile dell'amiloidosi. • i valori sierici di questa proteina non rispecchiano la sua sintesi a livello epatico perche questa proteina è sequestrata da diverse cellule del sistema monocitico macrofagico come riserva energetica • ha un ruolo sovrapponibile a quella della PCR. • come valori di riferimento questo proteina è presente in 30mg/L, e mantiene livelli costanti anche in corso di infiammazione. • ha un ruolo patogenico soprattutto in alcune patoogie come l'amiloidosi • rappresenta una proteina di accumulo di sostanza amiloide, quindi in questo caso avremo un'infiammazione di tipo cronico.
proteine leganti i metalli	<ul style="list-style-type: none"> • queste proteine competono al sequestro dei vari metalli per contrastare la crescita dei batteri che nel loro metabolismo utilizzano ferro ed altri elementi pesanti. ricordiamo la <ul style="list-style-type: none"> - aptoglobina - emopessina - ceruloplasmina
Componente SA	<ul style="list-style-type: none"> • è la componente sierica P dell'Amiloide, che è un componente importante che lega il LPS presente nella membrana dei Gram- che serve da riserva energetica per i macrofagi. • è da ricordare anche l'aumento di fibronectina che favorisce l'adesione cellulare ed i meccanismi di riparazione tissutale
altre componenti di fase acuta	<ul style="list-style-type: none"> • proteine del complemento <ul style="list-style-type: none"> - C2, C3, C4, C5, C9, Fattore B • Proteine della coagulazione <ul style="list-style-type: none"> - fibrinogeno - fattore di WB
Fegato cambia profilo biosintetico	<ul style="list-style-type: none"> • in seguito a stimolo patogeno il fegato inizia a sintetizzare la PROTEINA C REATTIVA in sostituzione, ad esempio, all'albumina, grazie alla mediazione delle citochine IL-1, IL-6 ecc... le quali agiscono sia a livello locale che sistemico. <ul style="list-style-type: none"> - le citochine vanno ad agire: <ul style="list-style-type: none"> - a livello ipotalamo-ipofisario favorendo un aumento della temperatura corporea, per cui si assiste a diverse condizioni di risposta di fase acuta. - a livello di ghiandole endocrine, con la produzione di insulina, glucagone, T3, T4, - a livello de M.osseo e del S.i. favorendo la leucopoiesi • l'aumento di alcune proteine presenti a livello plasmatico determinano una caratteristica VES degli eritrociti in provetta: se sono presenti proteine quali il fibrinogeno, o altre proteine di fase acute, la VES aumenta perchè queste proteine contrastano con le forze di van der Waals. • proteine di fase acuta che hanno una cinetica di sintesi e rilascio differente non sono rilasciate tutte nello stesso momento a seguito dell'aumento delle IL proinfiammatorie, infatti alcune si attivano più tardivamente poichè svolgono una funzione biologica differente. Vi è una cinetica caratteristica: alcune sono sintetizzate 6-8h dopo, altre 24-48h dopo • possiamo in oltre operare una distinzione tra proteine positive della fase acuta e proteine negative della fase acuta: una proteina la cui concentrazione aumenta fino a valori superiori al 25% rispetto alla concentrazione fisiologica è detta proteina positiva di fase acuta (proteina amiloide A, fibrinogeno, aptoglobina)

funzioni importanti delle p. di fase acuta	<ul style="list-style-type: none"> • azione di potenziamento dell'immunità sia innata che acquisita • azione di potenziamento dei meccanismi di eliminazione di un patogeno • azione di potenziamento dei meccanismi di riparazione e rigenerazione dei tessuti • ripristino dell'omeostasi • limitazione della proliferazione del patogeno • funzione chemiotattica per avviare risposte infiammatorie con potenziamento della risposta • limitazione danno tissutale
PTX3	<ul style="list-style-type: none"> • lega specifici antigeni patogeni • è stato visto che può attivare il complemento sia per la via alternativa che per la via lectinica. • oltre ad avere un ruolo importante nell'attivazione e amplificazione della risposta innata, interviene anche in altri processi importanti proprio perché il dominio N terminale ha diverse funzioni biologiche. • altra funzione biologica è quella di intervenire nella fertilità femminile, perché interagisce con altre proteine quale l'inter-alfa-tripsina-inibitore. l'interazione con queste proteine è importante per la formazione delle cellule del cumulo ooforo nei processi di ovulazione. infatti la mancanza di questa proteina può portare ad infertilità femminile
proteine di fase acuta	<ul style="list-style-type: none"> • a livello clinico è importante valutare <ul style="list-style-type: none"> - le variazioni dei livelli sierici di queste proteine e la ricerca delle cause - il tempo di insorgenza della malattia - la durata della malattia - l'estensione della malattia. • nella dx il clinico può incontrare alcune difficoltà, quali: <ul style="list-style-type: none"> - capire quando c'è stato lo stimolo flogogeno, proprio per la cinetica differente di queste proteine. - capire la differenza delle risposte della fase acute nelle diverse patologie in termini quantitativi e qualitativi - valutare queste proteine perché non c'è una standardizzazione della procedura per la valutazione delle varie proteine. • la PCR è la proteina più importante perché ha una cinetica di risposta molto rapida. • può essere valutata in una serie di risposte infiammatorie, sia di natura infettiva che non infettiva. • alcune di queste patologie in cui si ha un rapido aumento di PCR sono: LES, DERMATOMIOSITE, RETTOCOLITE ULCEROSA, LEUCEMIA... • nella routine clinica questa proteina è comunque indicativa di un danno d'organo e viene valutata in diverse patologie infiammatorie croniche o di natura infettiva. • questa proteina può mantenere livelli elevati a seguito di terapia antibiotica, quindi se rimane a livelli elevati si può dedurre che la terapia non è quella indicata) • in associazione alla proteina C reattiva viene valutata anche la VES

Amiloidosi

- sono delle patologie determinate dalla deposizione di subunità proteiche con formazione secondaria a β -foglietto che si aggregano in particolari strutture ordinate a livello degli spazi extracellulari, a livello perivascolare ed in diversi organi con conseguente danno.
- le proteine causa di amiloidosi subiscono un danno proteolitico con la formazione del foglietto β , con conseguente deposizione di filamenti che causano la patologia.
- il termine amiloidosi è dovuto al fatto che queste fibrille formano questa sostanza definita amiloide perché si colora con il tipico colore dell'amido, che è il blu di porpora.
- si colora anche con ematossilina eosina, cristalviolettone o con il rosso congo.
- la classificazione delle amiloidosi è stilata sulle proteine di origine che vanno ad unirsi e a formarsi polipeptidi β fibrillari
- esempi di amiloidosi:
 - amiloidosi AA - se la proteina amiloide è aa, ossia il precursore è la proteina amiloide a
 - amiloidosi Ah - data dalla deposizione della catena pesante delle Ig nella malattia di Waldenström
 - amiloidosi A- β - data da deposizione del precursore delle proteine β , implicata nel morbo di Alzheimer
 - amiloidosi APrP - amiloidosi da deposizione di proteine prioniche
 - amiloidosi ACal - data da deposizione di calcitonina, che si accumula nelle c. parafollicolari C della tiroide
- in alcune forme di amiloidosi sono stati identificati i precursori, ed a seconda del tipo di precursore è possibile intervenire con terapie specifiche. le amiloidosi possono essere suddivise clinicamente in
 - amiloidosi primarie - associata alla deposizione delle catene leggere delle Ig
 - a. associate al plasmocitoma
 - a. secondarie o reattive - in cui si ha l'espressione del fattore delle plasmacellule che controlla il rilascio e la sintesi di immunoglobuline monoclonali
 - a. locali - che interessano organi isolati
 - a. associate alla senilità
 - a. degli emodializzati.
- possiamo avere delle forme di tipo sistemico e delle forme isolate, in quanto la sostanza amiloide si può depositare nei vasi andando ad interferire con la funzionalità di quel particolare organo e portando poi a disfunzioni in tutto l'organismo.
- tra i precursori della sostanza amiloide esiste una proteina, la transtiretina, che viene utilizzata anche a livello epatico, e agisce sul trasporto degli ormoni tiroidei e del retinolo. sono state studiate almeno 60 mutazioni di questa proteina che conducono a polineuropatia amiloidotica familiare FAP.
- la stessa proteina è in grado di depositarsi anche nel suo folding normale, causando amiloidosi senile, negli anziani. in questo tipo di amiloidosi si hanno problemi cardiaci.
- la presenza di diverse proteine causa di amiloidosi fa sì che sia presente un particolare microambiente all'interno delle cellule (macrofagi soprattutto) che favorisce la formazione di precursori non digeriti normalmente nella cellula. tali precursori così formati vengono rilasciati e si depositano sotto forma di sostanza fibrillare.

Diagnosi dell'amiloidosi

- in caso di sospetta amiloidosi si segue una prassi ben precisa che prevede:
 - prelievo del grasso preombelicale e la valutazione di sostanza amiloide tramite biopsia.
 - questo tipo di analisi dà al 95% esito positivo, con ritrovamento della sostanza
 - nel caso in cui l'esito dovesse essere negativo si procede con biopsia di una ghiandola salivare minore. se anche in questo caso l'esito dovesse essere negativo, dato che alcune amiloidosi interessano organi isolati, avremo la necessità di prelevare un campione dal quel determinato organo, sede di deposizione.
 - una volta isolata la sostanza si procede cercando la sequenza amminoacidica per risalire al precursore e per determinare la terapia.

Terapia
dell'amiloidosi

- è molto efficace in quanto mirata.
- la febbre mediterranea familiare p dovuta alla deposizione di una proteina precursore della sostanza amiloidogenica detta pirina.
- in questi soggetti la terapia consiste nell'utilizzo della colchicina, farmaco che inibisce quelle proteine che stabilizzano la sostanza amiloide.
- nel caso delle forme polineuropatiche familiari in cui abbiamo la deposizione della forma mutata della trantiretinale terapia è il trapianto di fegato o utilizzo di legandi fisiologici naturali di questa proteina che la stabilizzano e non permettono che possa dare vita a sostanza amiloide.
- nel caso del plasmocitoma utilizziamo una terapia con un farmaco in forma iodata: la doxorubicina

VES

- altro esame associato alla dx della malattia amiloidea
- ci da un segno clinico aspecifico di infiammazione.
- tale velocità varia a seconda della presenza di infiammazioni di tipo cronico, di tipo acuto, negli emodializzati etc
- è un esame che viene valutato in congiunzione con altri parametri in quanto aspecifico (come per esempio le proteine di fase acuta)
- tale esame si avvale della capacità degli eritrociti di impilarsi l'uno sull'altro formando le cosiddette ROULEAUX all'interno di una provetta posta in verticale per un dato periodo di tempo in una soluzione contenente un anticoagulante.
- in particolare la VES ha comd obiettivo quello di misurare la velocità con la quale i globuli rossi sedimentano sul fondo della provetta.
- anche gli antichi greci notarono che il sangue degli ammalati sedimentava più rapidamente di quello dei soggetti normali con la formazione di un deposito che chiamavano bile.
- nei tempi moderni la valutaizione viene effettuata tramite leggi fisiche, di cui la legge di Stokes in particolare è particolare espressione valutativa, in quanto esprime la velocità di movimento di una particella sferica in un liquido.
- tanto più le emazie si organizzano in rouleaux tanto più elevata è la ves.
- questa velocità tiene conto di molti valori, tra cui il raggio, la densità delle particelle, la densità del fluido e la viscosità del liquido.
- in realtà dobbiamo considerare anche determinate proteine che contrastano il movimento degli eritrociti. i globuli rossi infatti, avendo cariche negative esposte sulla membrana (es. a. sialico) tendono ad allontanarsi l'uno dall'altro per le forze di repulsione.
- le proteine agiscono proprio su queste forze, indebolendole e facilitandone l'impilamento.
- alcune proteine infiammatorie come il fibrinogeno possono fare aumentare la ves.
- è possibile notare un ulteriore aumento della ves causato da una forma alterata degli eritrociti in alcune patologie che inducono la sferocitosi, come alcune forme di anemia ecc.
- per ovviare al fatto che altre condizioni fuori dal campo delle proteine infiammatorie possono influenzare la ves è più utile effettuare una misurazione della viscosità del sangue che non risente della forma degli globuli rossi ed è quindi più affidabile.

VES 2

- parametri della VES
 - concentrazione - dipende dal campione di sangue e dall'ematocrito
 - caratteristiche delle emazie - considera eventuali irregolarità delle emazie che potrebbero falsare l'esame
 - policitemia - fa ridurre la ves, in quanto aumenta la viscosità del sangue
 - forza di repulsione - tra gli eritrociti, agiscono diverse proteine a riguardo, aumentando o diminuendo la ves
- valori della VES
 - uomo adulto - 1-3mm in 1h
 - donna adulta - 4-7mm in 1h - aumentato durante le mestruazioni
 - bambino - fino a 20mm in 1h
- in caso di gravidanza questi valori aumentano
- in caso di infiammazione possono raggiungere picchi maggiori di 100mm/h e variano a seconda di patologia, se acuta o cronica.
- la VES può essere utilizzata per la valutazione dell'efficacia di una data terapia confrontando i valori prima e dopo la somministrazione del farmaco.

patologie per la
VES

- patologie associate alla VES
 - BASSA VES
 - a. falciforme
 - carenza del fattore V
 - insufficienza cardiaca congestizia
 - ipoalbuminemia
 - policitemia vera
 - ALTA VES
 - a. emolitica
 - arterite a cellule giganti
 - artrite reumatoide
 - coccidiomicosi
 - infarto
 - ferite
 - dolore
 - infiammazione
 - lupus
 - morbo di Crohn
 - polimialgia reumatica

Esame
emocromocit.

- utile per determinare la presenza di una situazione infiammatoria
- l'esame si avvale dell'utilizzo di marcatori atti a riconoscere alcune sostanze presenti, ad esempio, nelle fasi di accrescimento dei vari tipi cellulari con conseguente possibilità di distinguere le tipologie neoplastiche o la presenza acuta o cronica di linfomi o altre patologie.
- si esegue con il contaglobuli, e necessita dell'affiancamento di altri approfondimenti diagnostici.
- Valori evidenziabili:
 - WBC
 - RBC
 - HGB - emoglobina
 - HCT - ematocrito
 - MCV - volume corpuscolare medio
 - MCH - contenuto medio emoglobinico
 - MCHC - concentrazione corpuscolare media emoglobinica
 - PLT - piastrine
 - RDW - indice di distribuzione volumetrica dei globuli rossi, è possibile grazie a questo valore distinguere anemia megaloblastica o macrocitica nei casi in cui avremmo RDW aumentato o normale. RDW in poche parole indica il la "quantità" di disomogeneità di volume delle cellule esaminate in un campione (anisocitosi)
 - MPV - volume piastrinico medio
 - PDW - indice di distribuzione volumetrica delle piastrine
 - PCT - piastrinocrito
- in oltre tramite colorazione dei rbc è possibile classificare le anemie in normocromiche, ipercromiche ed ipocromiche
- tali caratteristiche tintoriali dipendono dal contenuto di Hb.

Esame emocromocit. 2

- in base all grandezza delle emazie è possibile classificare le anemie in tre forme: microcitiche, normocitiche e macrocitiche o megaloblastiche.
- il contenuto medio emoglobinico, insieme alla concentrazione corpuscolare media sono utili per considerare queste patologie.
- il conteggio totale delle piastrine da indicazioni circa le piastrinosi o piastrinopatie, causate da condizioni in cui si ha eccessiva distruzione o mancata produzione delle stesse
- la distribuzione volumetrica dei globuli rossi calcola la media del volume dei RBC
- grazie all'esame emocromocitometrico si possono delineare le anisocitosi, cioè le variazioni degli eritrociti distinguendo emazie microcitiche e macrocitiche.
- le variazioni di forma dei RBC sono contemplate nelle patologie chiamate poichilotosi. tali modifiche morfologiche possono essere dovute alla presenza di soluzione glucosata.
- in questi tipi di esame è spesso effettuata anche la conta dei reticolociti, cioè il numero di globuli immaturi in circolo. tale numero è importante in quanto indice di rigenerazione dei globuli. nelle anemie è importante perché è necessario che la formazione delle emazie sia molto veloce a causa di una ipofunzionalità di esse.
- i reticolociti possono essere valutati anche successivamente alla ripresa funzionalità renale in quanto il rene riprende a rilasciare in circolo l'eritropoietina. questo valore è anche indice di buona funzionalità renale.
- altro parametro importantissimo è il contenuto in emoglobina, che non deve scostarsi dai parametri di riferimento, altrimenti, se inferiore a 12g/dl determinerebbe una quasi certa diagnosi di anemia.
- nell'esame emocromocitometrico consideriamo anche patologie dei globuli bianchi. in particolare, quello che viene fatto è determinare le percentuali di eosinofili, granulociti etc, ed è necessario effettuare le distinzioni tra linfociti t e b.
- importanti fattori da considerare sono la sideremia (ferro nel sangue) e le qt di transferrina e ferritina (ferro legato a trasportatori e nei depositi)
- l'ematocrito rappresenta il volume percentuale della frazione corpuscolata del sangue rispetto al volume totale. viene espresso in percentuale ed è importante in quanto il discostamento dei valori rispetto a quelli di riferimento è un parametro molto utile per fare diagnosi.

Esame emocromocit. 3

- il risultato della centrifugazione è un liquido in cui distinguiamo diversi strati e la presenza del precipitato (RBC). dal basso verso l'alto avremo globuli rossi, globuli bianchi (buffy coat), piastrine e plasma.
- la viscosità del sangue è proporzionale all'ematocrito.
- è possibile classificare le anemie mediante diversi parametri di laboratorio, tra i quali HDW, che rappresenta l'ampiezza di distribuzione statistica della concentrazione di emoglobina.
- tale parametro può essere utile per valutare l'ANISOCITOSI FISIOLÓGICA, il valore che rappresenta HDW .
- mediante la valutazione dei WBC è possibile estrapolare la formula leucocitaria.
- nella formula leucocitaria le cellule maggiormente rappresentate sono i neutrofili, seguiti in ordine decrescente, da linfociti, monociti, eosinofili e basofili.
- un'altro importante parametro è il volume delle piastrine MPV
- le plt si trovano nel sangue in un range che va da $150-450 \cdot 10^9/L$. di questo totale, circa i 2/3 circolano, mentre 1/3 risiede nella milza o in sedi extra vascolari.
- il range fisiologico di riferimento dell'MPV è tra 9n.7 e 12n.8 fL, nei casi in cui si ha un ridotto volume delle piastrine si può pensare ad una piastrinopenia iporigenerativa oppure ad una piastrinopenia da distruzione periferica.
- in relazione alle piastrine si può considerare anche il PDW(ampiezza di distribuzione piastrinica) che esprime il grado di variabilità delle dimensioni piastriniche. un ipotetico aumento potrebbe indicare una trombocitemia essenziale.

anemie

- ANEMIA - concentrazione di Hb nel sangue inferiore a 13 g/dL e 12 g/dL rispettivamente nell'uomo e nella donna.
- le anemie possono essere classificate secondo parametri di laboratorio:
 - dimensioni dei RBC
 - macrocitiche, normocitiche, microcitiche
 - colorazione
 - ipercromiche, normocromiche, ipocromiche
- le anemie possono essere altresì classificate fisiopatologicamente a seconda del verificarsi di diverse situazioni
 - Ridotta produzione di eritrociti
 - come avviene ad esempio in caso di carenza di B12 o folati. tali anemie sono classificate secondo la definizione di laboratorio in anemie macrocitiche o megaloblastiche in riferimento ai valori di MCV e RDW
 - una ridotta produzione di RBC la troviamo nel caso di aplasie midollari o di ingombro di cellule neoplastiche a livello midollare, che bloccano l'eritropoiesi.
 - Anomala o ridotta sintesi delle catene globiniche
 - condizione che si riscontra nell'anemia sideropenica, nell'anemia da disordini cronici e nelle sindromi talassemiche.
 - aumentata distruzione eritrocitaria
 - dovuta a cause extracorporeali, come cause meccaniche, malattie emolitiche isoimmuni ed autoimmuni
 - dovute a cause intracorporeali, come alterazioni qualitative dell'emoglobina, deficit a livello della membrana eritrocitaria, o deficit enzimatici causanti ossidazione.
- la classificazione di laboratorio si basa sul valore del volume corpuscolare medio e del contenuto emoglobinico medio, ma anche di RDW.
- mediante l'uso di citometri a luce rifratta è possibile valutare oltre che le dimensioni degli eritrociti anche la concentrazione di emoglobina.
- la disposizione degli eritrociti in uno schema secondo questi due ultimi parametri danno un CITOGRAMMA.
- in un CITOGRAMMA è presente una griglia presente tra colonne verticali e tre righe orizzontali, troviamo sull'asse delle X la densità di concentrazione di Hb e sulle y la dimensione degli eritrociti.
- possiamo distinguere 9 zone in cui si interfacciano le forme ipo, normo e ipercromiche con le forme macro, normo e microcitiche (es.: regione normocromica e macrocitica)

anemia sideropenica

- parametri presi in considerazione:
 - MCV
 - ipocromia cellulare (rilevabile in striscio di sangue periferico)
 - anisopoichilocitosi (nel citogramma andranno a disporsi in basso a sx per l'ipocromia e l'ipoHb)
 - la ferritina, la sideremia e la transferrina vanno considerati in quanto rappresentano il ferro libero in circolo e quello legato a proteine di trasporto. in condizioni di anemia da carenza di ferro risultata aumentata la transferrina, mentre la concentrazione di sideremia e ferritina diminuiscono.
 - i recettori solubili per la transferrina aumentano
 - reticolociti bassi
 - RDW aumentato
- il ferro svolge diversi ruoli nel nostro organismo, è importante per la funzionalità di diversi enzimi coinvolti nella respirazione cellulare, si trova nei muscoli nella mioglobina e per il trasporto e lo scambio di ossigeno.
- la quota giornaliera di ferro necessaria per la formazione di composti funzionali è stimata in 50mg/Kg.
- la differenza tra le anemie da carenza di ferro marziale e l'anemia sideropenica consiste nel fatto che nella prima il ferro manca nei depositi, è poco per la sintesi di mioglobina, ma è comunque disponibile per la sintesi di Hb, mentre nella seconda il ferro non basta per sintetizzare Hb

anemia
sideropenica 2

- la transferrina è sintetizzata nel fegato e i valori normali vanno da 240 a 360 mg/dL. può risultare
 - elevata - in caso di anemia sideropenica, o nell'uso di alcuni farmaci come estrogeni e/o contraccettivi
 - basso - per la perdita di proteine in corso di diarrea o malnutrizione o in caso di deficit ereditari.
- questa proteina subisce l'influenza di diversi farmaci come corticosteroidi e testosterone.
- la sideremia è la valutazione del ferro libero nel sangue, ha valori normali attestati in circa 50 - 160µg/dL. può risultare
 - aumentata - nelle anemie aplastiche e nelle anemie mediterranee, nell'epatite virale ed in alcune leucemie.
 - diminuita - in allattamento e gravidanza, o nelle anemie da deficit introdotto. nelle emorragie e nelle parassitosi, in età avanzata e nel diabete.
- la ferritina rappresenta il deposito di ferro intracellulare a livello epatico, che può essere prontamente mobilitato in seguito alla necessità dello stesso per la formazione degli enzimi emici e non. i livelli medi si attestano tra 20 e 200µg/dL.
- i valori inferiori alla norma sono utili in caso di dx di anemia da carenza di ferro. la ferritina
 - aumenta - in seguito a trasfusioni multiple, nel corso di patologie infiammatorie
 - diminuisce - in artrite reumatoide, emorragie e gravidanze

anemia
sideropenica 3

- transferrinemia, saturazione della transferrina e sideremia vengono utilizzate per valutare quelle condizioni di anemia carenziale marziale, sideropenica o anemia secondaria, e risultano diverse di caso in caso
- transferrinemia - valuta la capacità della transferrina di legare il ferro. questa viene definita come Total Iron Binding Capacity (TIBC)
 - >400 nell'anemia sideropenica
 -
 -
 -
- la saturazione della transferrina si misura come il rapporto percentuale tra sideremia e transferrinemia
 -
 -
 - >50% in presenza di anemie secondarie
 - >75% in emocromatosi e emosiderosi
- la ferritinemia ha un valore fisiologico di 1microgrammo, corrispondente a 8mg di ferro nei depositi. (il danno tissutale da infiammazione, infezione e tumori aumenta la ferritinemia indipendentemente dalla quantità di ferro nei depositi)
 -
 - >200 in caso di anemie secondarie
 - >1000 per emocromatosi e emosiderosi

terapia per
l'anemia

- per somministrare la terapia corretta è necessario individuare le cause. la terapia consiste nell'assunzione di ferro, che può essere praticata anche per via orale o per via endovenosa (nel caso in cui ci siano conclamati problemi di assorbimento intestinale)
- per correggere una carenza marziale sono necessari circa 1000mg di ferro al giorno, mentre per correggere una anemia sideropenica possono essere necessari da 1500 a 3000 mg Ferro/die

talassemie

- possono essere causa di anemie
- si intendono talassemie i defici strutturali delle catene glniche che rientrano nelle emoglobinopatie oppure le ridotte o mancate sintesi delle catene stesse.
- le talassemie vengono suddivise in alfa⁰ alfa⁺ e beta⁰ e beta⁺ che sono riferibili a delezioni geniche
- nelle beta talassemie il deficit può interessare
 - un solo gene - si presenta la condizione del trait talassemico
 - una delezione a carico di entrambi i geni, e si potrà avere un quadro intermedio che varia dalle forme lievi alle forme gravi, oppure un quadro di tipo major.
- talassemia - Parametri ematocrito
 - MCV ridotto
 - RDW normale
 - Reticolociti normali o aumentati
 - sideremia normale o aumentata
 - ferritina normale o aumentata
 - transferrina normale
- l'esame emocromocitometrico risulta utile per la dx differenziale tra un trait talassemico e l'anemia sideropenica, in cui RDW risulta normale nel primo caso mentre è aumentato nel secondo.
- per completare la dx differenziale va fatto uno studio sulla composizione delle catene globiniche, e si ricerca l'espressione delle catene globiniche dell'adulto (per la maggior parte) concomitante con l'espressione dell'emoglobina fetale.

talassemie 2

- i meccanismi molecolari che determinano le talassemie sono vari e la ridotta sintesi delle catene dipende da deficit:
 - a livello genico, causa una delezione o deficit a carico del promotore che codifica per le catene
 - al momento dello splicing
 - mutazioni che riguardano il sito di poli-a
 - deficit della maturazione
- a seconda del deficit a carico dei geni globinici si possono avere diversi quadri patologici più o meno gravi.
- la modalità di trasmissione delle beta talassemie è autosomica recessiva
- per cui lo screening dei genitori è molto importante per evitare che il nascituro possa avere la malattia: il 25% dei nascituri sarà malato mentre il 50% sarà sano + un altro 25% sarà portatore sano.
- stati clinico-ematologici dei b-tallemici:
 - portatore asintomatico - talassemia minor, detta anche microcitemia, caratterizzata da ridotta sintesi di catene beta.
 - talassemia intermedia - si può verificare per omozigosi recessiva o per doppia eterozigosi
 - talassemia major o Morbo di Cooley - è un'anemia di tipo grave dovuta alla ridotta o assente sintesi delle catene globiniche beta. nel caso della sintesi delle sole globine alfa si ha la precipitazione delle stesse IN SEDE MIDOLLARE per cui si ha una ERITROBLASTOSI endomidollare ed una ridotta sopravvivenza degli eritrociti in circolo. il rilievo clinico è effettuato nei primi mesi di vita tramite segni clinici più o meno evidenti, come pallore, epato-splenomegalia. questi soggetti devono essere trasfusi per sopperire alla mancanza di eritrociti, per cui si può avere anche un accumulo di ferro che nei quadri più gravi, può sfociare in insufficienze cardiache, diabete e cirrosi. per la dx di laboratorio i valori di Hb devono essere
- esiste anche l'alfa talassemia, prevalente nel sud est asiatico.
 - se mancano 1-2 geni alfa vi è un quadro riferibile alla talassemia b-minor
 - se mancano 3-4 geni alfa si assiste all'IDROPE FETALE incompatibile con la vita.
- nelle talassemie alfa il deficit è dovuto ad alterazioni della sintesi delle catene alfa, NON SI ASSISTE AD EMATOPOIESI INEFFICACE perché gli eritroblasti superano il ciclo maturativo ed escono dal midollo perché le Hb sono più stabili
- l'anemia falciforme è un'altra emoglobinopatia in cui vi è una sostituzione di un aa nelle catene beta. anche qui i segni clinici si avranno in caso di omozigosi. gli eterozigoti sono asintomatici. la dx si esegue mediante elettroforesi dell'emoglobina, valutando anche l'aspetto degli eritrociti al microscopio

anemia
macrocitiche ed
emolitiche

- le anemie macrocitarie vengono valutate mediante i parametri MCV e RDW
- possiamo distinguerle in anemia macrocitarie megaloblastiche e non megaloblastiche
- nelle anemie megaloblastiche MCV è superiore a 110fL mentre in quelle macrocitarie il valore è sempre superiore a 95 fL
- alcuni risultati di laboratorio possono falsare i valori per la dx di a. megaloblastica, come ad esempio dopo l'utilizzo di soluzione glucosata. la presenza eccessiva di glucosio fa sì che vi sia un richiamo di acqua all'interno delle cellule, che appaio può grandi attestando MCV tra 85 e 95fL
- oltre che basarsi MCV si può tenere conto del valore di RDW, infatti:
 - in caso di carenza di vit. B12 e folati, o nelle anemie RDW risulta aumentato
 - in caso di ipoplasia midollare, o in alcune forme mielodisplastiche e nell'ipotiroidismo i valori si attestano tra normali e lievemente aumentati.

Vitamina B12 e
anemia perniziosa

- circolo entero epatico della vitamina B12:
 - la B12 si lega nella saliva alla proteina R, detta aptocorrina, e successivamente a livello dell'ileo avviene il distacco dal legante R e il legame con il fattore intrinseco rilasciato dalle pareti gastriche
 - una volta giunta a livello del duodeno/digiuno prossimale viene assorbita per transitosi all'interno dell'enterocita si avrà il distacco della vitamina dal fattore intrinseco.
 - una volta giunta sul versante basale si lega a tre trasportatori: la transcobalamina 1, 2 e 3.
 - la B12 è presente nel sangue portale e lega le cobalofiline biliari e viene versata nel duodeno per essere riassorbita
- la B12 è un coenzima essenziale per la produzione del succinato, per la trasformazione dell'omocisteina in Metionina e per la formazione del folato.
- il deficit di B12 può essere valutato oltre che con i dato di laboratorio attraverso la misurazione della B12 sierica, anche attraverso la misurazione dell'acido metilmalonico nel siero.
- in caso di carenza di folati ritroviamo nelle urine un metabolita particolare: il fosfatidilglutammato
- il deficit di B12 si manifesta dopo anni dal mancato apporto poiché nell'organismo risiedono numerose riserve di vitamina
- giornalmente l'apporto di folato si attesta tra i 50 e i 100 microgrammi. il mancato apporto determina anemia megaloblastica (sintomi: stanchezza, pallore, palpitazioni)
- l'anemia megaloblastica si presenta all'esame emocromocitometrico con i valori di HCT, Hb e RBC molto diminuiti correlati ad una leucopoiestrinopenia, ed un aumento di MCV
- le CAUSE del deficit dei folati può essere riconducibile a:
 - alcolismo
 - cirrosi epatica
 - ipotiroidismo
 - sindromi mielodisplastiche
 - anemia aplastica
 - farmaci citotossici ed antivirali
 - gravidanza

Deficit di Folati

- Cause:
 - apporto insufficiente (in caso di):
 - malassorbimento intestinale
 - resezione digiunale
 - enteropatia da glutine
 - sprue tropicale
 - dermatite erpetiforme
 - linfomi intestinali
 - aumentato consumo di acido folico (in caso di):
 - gravidanza e allattamento
 - neoplasie
 - aumento turnover midollare
 - malattie infiammatorie croniche
 - perdita eccessiva (in caso di):
 - dialisi
- nel caso di deficit di vitamina B12 si distinguono **FORME PERNICIOSE** e **FORME PERNICIFORMI**
- **ANEMIA PERNICIOSA** - è dovuta ad una predisposizione genetica oppure ad una predisposizione di tipo immunitario (anticorpi anti-Fattore Intrinseco o anti-cellule parietali gastriche)
- **ANEMIA PERNICIOSIFORMI** possono essere di tipo **acquisito** o di tipo non autoimmunitario.
- La terapia consiste nella somministrazione di B12 e folati sia per via orale che parenterale. se la terapia è corretta si noterà un aumento di reticolociti nel giro di 7gg e una stabilizzazione di Hb nel giro di 60gg.

Anemie normocitiche

- possono verificarsi in casi di ridotta produzione di eritrociti
 - anemie croniche
 - problemi a livello del midollo osseo o renale
 - eccessiva distruzione degli eritrociti
 - perdita di sangue in seguito a traumi acuti

Conta dei reticolociti

- esame importante nel caso in cui vi sia una eccessiva distruzione di reticolociti, ma con emopoiesi efficace.
- in caso di deficit alimentari oppure post trapianto la valutazione del numero dei reticolociti ci fornisce indice di ripresa attività midollare.
- i reticolociti sono globuli rossi la cui colorazione con coloranti basici (blu di metilene, blu di cresile) evidenzia RNA e altre sostanze acide granulo-filamentose (residui nucleari?)
- va altresì valutata la morfologia dei reticolociti, che sono inizialmente di dimensioni notevoli e successivamente iniziano ad acquisire l'aspetto biconcavo.
- le dimensioni di queste cellule variano durante la transizione, per cui possiamo valutare il grado di maturazione delle stesse.
- durante la maturazione dei reticolociti assistiamo a:
 - aumento di densità
 - perdita di ribosomi, mitocondri e frammenti di membrana
 - riduzione di RNA e mRNA ad attività enzimatica.
 - cambiamento morfologia da plurilobata a biconcava
 - perdita di adesività, motilità e aumento della deformità
- sulla base della fluorescenza e dell'assorbimento di queste cellule si valuta il parametro IRF (frazione dei reticolociti immaturi) più sono immaturi più aumenta la capacità di queste cellule di emettere fluorescenza al passaggio sotto luce laser.
- la valutazione IRF è valutata per:
 - monitorare la ripresa midollare dopo trapianto o chemio
 - monitorare attecchimento dopo trapianto renale
 - monitorare terapie a base di EPO
 - monitorare terapie per anemie
 - rilevare crisi aplastiche in caso di anemie

anemie emolitiche

- possiamo iniziare a distinguere
 - anemie instaurate a causa di una eccessiva distruzione degli eritrociti per cause non legate ad eritropoiesi inefficace
 - anemie per eritropoiesi inefficace
- nelle anemie emolitiche normocromiche e normocitiche si valuta:
 - la conta dei reticolociti
 - qt di urobilinogeno (aumentato)
 - bilirubina (aumentata)
 - saturazione dell'aptoglobina
- la patologia si manifesta con emoglobinemia o emoglobinuria e valore della lattato deidrogenasi molto aumentato
- possiamo altresì distinguere attraverso il test di Coombs le anemie emolitiche in
 - intraglobulari - causate da:
 - istiocitosi
 - difetti enzimatici (G6PD, piruvato chinasi)
 - emoglobinopatie
 - extraglobulari - causate da:
 - esoanticorpi
 - anemie emolitiche da anticorpi (es. incompatibilità Ag AB0 - Rh... N.B.: l'incompatibilità madre-feto riguarda solo Rh: incompatibilità madre-feto Rh può causare anemia emolitica nel nascituro)
 - anemie da farmaci o veleni, le cui molecole posizionatesi sulle superfici degli RBC vengono riconosciute dagli Ab.

anemie emolitiche2

- nelle anemie emolitiche notiamo
 - aumentata distruzione degli eritrociti nel sangue periferico
 - assenza di eritropoiesi inefficace a livello midollare
 - iperplasia eritroide a livello midollare.
- le anemie possono essere di carattere CONGENITO O ACQUISITO
 - deficit congenito: difetto intrinseco per emoglobinopatie, anemia falciforme, difetti enzimatici, deficit di G6PD, difetti di membrana, sferocitosi etc
 - deficit acquisito: la causa è da ricercare in traumi meccanici a causa di impianti valvolari, o danni autoimmuni
- nelle anemie emolitiche si può operare un'ulteriore distinzione a seconda che l'emolisi avvenga in sede INTRAVASCOLARE O EXTRAVASCOLARE, SPLENICA. per risalire a quale tipo di emolisi ricorre la patologia è sufficiente un esame dello striscio di sangue periferico o un esame delle urine.
- può essere comunque utile il test di Coombs nella valutazione della sede di emolisi: in caso di lisi intravascolare il test di Coombs darà esito negativo; mentre in caso di lisi splenica darà esito positivo, perché gli anticorpi, una volta legati all'eritrocita possono promuovere la sua lisi solo in sede splenica.
- per eseguirlo esistono due modalità:
 - test diretto - valuta la presenza di Ab già adesi ad RBC o al complemento
 - test indiretto - valuta la presenza di anticorpi liberi nel siero.

Sferocitosi e test di Simmel

- Patologia a trasmissione autosomica dominante nel 75% dei casi e autosomica recessiva nel 25%.
- dovuta ad un deficit di proteine essenziali al corretto assemblamento-funzionamento del citoscheletro, con conseguente mancata assunzione della forma biconcava fisiologica.
- le proteine deficitarie, essenziali per il corretto ancoraggio del citoscheletro alla membrana, sono:
 - specrina
 - anchirina
 - proteina di banda 3
- gli eritrociti, con difetto morfologico vengono riconosciuti eliminati a livello della polpa rossa della milza dai macrofagi.
- terapia d'elezione per queste patologie può essere la splenectomia.
- test per confermare la dx di sferocitosi, oltre ai segni clinici quali splenomegalia, ipercromia urinaria, ittero, coliche biliari e anemia emolitica cronica ereditaria, è molto utile il TEST DI SIMMEL, il quale valuta la resistenza osmotica delle cellule.

Emoglobinuria
Parossistica
Notturna

- patologia che causa emoglobinuria in cui gli episodi di emolisi sono dovuti a infezioni o stress.
- la patologia si manifesta in seguito ad una mutazione su un gene del cromosoma X che codifica per il fosfatidilinositolo: questo difetto fa sì che questo fosfolipide non venga espresso sulla membrana.
- come conseguenza i recettori CD55 e CD59, fisiologicamente ancorati al fosfatidil inositolo, non possono essere esposti sulla membrana.
- la funzione di questi recettori consiste nella disattivazione del componente c5b del complemento, il quale, rimanendo attivo, induce il proseguimento della cascata di attivazione della via comune del complemento, con esito finale avente la lisi intravascolare della cellula.
- questa patologia solitamente si verifica in seguito ad una mutazione somatica di una cellula staminale dalla quale origina sia la linea eritrocitaria che quella granulocitaria e linfocitaria, ne consegue che nessuna cellula a valle del percorso di maturazione abbia i recettori CD55-59.
- nell'anemia parossistica notturna esiste una TRIADE VALUTATIVA, composta da:
 - emolisi
 - trombosi
 - citopenia
- una marcata anemia è data dalla lisi di queste cellule, e la manifestazione clinica della patologia ha un impatto importante sia sulla sopravvivenza che sulla morbilità.
 - le cellule (definite "cloni PNH 1,2 o 3" a seconda del deficit parziale o completo) della staminale mutata che risentono della mutazione sul gene sono:
 - eritrociti
 - linfociti B e granulociti (neutrofili MANCA CD24)
 - monociti
 - NK (MANCA CD14)
 - linfociti T
- si può valutare con certezza la presenza della patologia attraverso esame citofluorimetrico con l'ausilio di un anticorpo monoclonale che valuta la presenza sulle cellule degli antigeni CD55-59-24-14.

M vivere
edicina

citogramma e
malattie
ematologiche

- attraverso l'esame citofluorimetrico è possibile trovare ed eventualmente bloccare un processo patologico, che deve essere poi approfondito comunque con altre tecniche di indagine.
- attraverso questo esame possiamo valutare il numero di tutti i leucociti
 - linfociti
 - monociti/macrofagi
 - granulociti, neutrofili, eosinofili e basofili
- il numero di queste cellule può essere valutato attraverso marcatori specifici espressi normalmente solo durante lo sviluppo e spenti nella cellula matura.
- in citofluorimetria le cellule possono essere valutate mediante semplici parametri che sono ascrivibili alle dimensioni e alle peculiarità della cellula.
- dalla combinazione di questi due parametri viene evidenziato un citogramma definito FORWARD SCATTER (per le dimensioni) e SIDE SCATTER (riferito alla granularità)
- sulla base di questi due semplici parametri le cellule si dispongono nel citogramma, andando a costituire delle popolazioni abbastanza uniformi
- ulteriori indagini possono essere fatte sulla base dell'espressione di marcatori, grazie all'ausilio di anticorpi monoclonali
- sulla base di questi parametri possono essere evidenziate le cellule atipiche per le dimensioni e la disposizione le citogramma
- nel caso dell'analisi citofluorimetrica è importante utilizzare come campione lo striscio di sangue periferico, oppure l'aspirato midollare
- dal punto di vista morfologico i leucociti possono essere differenziati per il contenuto di enzimi particolari, quali le mieloperossidasi, MPO, nei granuli citoplasmatici
- Formula leucocitaria:
 - 70-90% - Neutrofili
 - 20-40% - linfociti
 - 1-10% - monociti
 - 0.2-1% - basofili
- Disturbi qualitativi nei globuli bianchi
 - ipersegmentazione del nucleo (carenza di ferro, carenza di B11)
 - granulazioni tossiche (infezioni, infiammazioni)
 - Anomalia di Pelger Huet (autosomico dominante)
 - Deficit di MPO (autosomico recessivo)
 - Sindrome di Chediak-Higashi (autosomico recessivo)
 - Anomalia di May-Hegglin (autosomico dominante)

Leucopenia

- Leucopenia: Leucociti
- variazioni del numero di leucociti si può verificare in caso di processi infiammatori, infettivi o in caso di neoplasie.
- granulocitopenie:
 - Neutropenia - inf. a 1500 cellule/microlitro
 - eosinofilopenia - inf. a 40 cellule/microlitro
 - basofilopenia - inf. a 10 cellule/microlitro
 - monocitopenia - inf. a 200 cellule/microlitro
- nella leucopenia possono verificarsi molte condizioni ascrivibili a
 - aumento del pool di riserva e del pool marginare, nei casi di emodialisi, infezione viremica o emolisi idiopatica
 - cause ipogenerative, indotte da farmaci o a causa di aplasia-ipoplasia midollare congenita o acquisita
 - ridotta sopravvivenza, per esposizione a patogeni

Leucocitosi

- incremento del numero di leucociti oltre le $10 \cdot 10^9$ unità/L.
- condizione accertata dal fatto che l'esame emocromocitometrico non abbia subito influenze per presenza di artefatti che possano falsare l'esito del contaglobuli

linfociti

- range di riferimento: $1,5-3,5 \cdot 10^9$ unità/L
- possono dare linfocitopenie o linfocitosi
- è importante valutare qual è la popolazione linfocitaria variata per ulteriori approfondimenti

linfocitosi	<ul style="list-style-type: none"> • può essere di tipo <ul style="list-style-type: none"> - assoluto - a causa di processi infettivi batterici o virali, malattie ematologiche. prima di diagnosticarle una linfocitosi assoluta è consigliabile avvalersi dell'esame emocromocit. dello striscio di sangue periferico e valutare sia morfologia che citochimica - relativo (quando diminuiscono alcune delle popolazioni cellulari) - fisiologica nei bambini sotto i 2 anni, si può avere nell'adulto per infezioni virali acute, nell'ipertiroidismo e nel morbo di Addison
linfocitopenia	<ul style="list-style-type: none"> • valori <ul style="list-style-type: none"> - - • le ipotesi di causa sono di tipo infettivo o infiammatorio (lupus, sarcoidosi, Guillain Barrè)
monociti	<ul style="list-style-type: none"> • i monociti sono essenziali a livello periferico, mentre i macrofagi risiedono in distretti tissutali extravascolari. • in caso di monocitosi i valori devono essere superiori a 800 unità/microlitro, e possono verificarsi in caso di infezioni batteriche, leucemie etc • le monocitopenie si attestano per valori inferiori a 150/200 unità/microlitro e sono dovute a stressa da glucocorticoidi, farmaci immunosoppressori o aplasia midollare
Neutrofili	<ul style="list-style-type: none"> • il numero dei neutrofili in circolo è circa $2.5-7.5 \cdot 10^9/L$ • Neutrofilia - può essere PRIMARIA e SECONDARIA • Cause di neutrofilia: <ul style="list-style-type: none"> - mobilitazione dei neutrofili dalle riserve midollari in caso di stati infiammatori cronici - diminuita migrazione dei neutrofili immaturi nei tessuti - incremento della granulocitopoiesi per differenziazioni della staminali, con spinta dell'ematopoiesi verso le cellule neutrofile a causa dell'ambiente cellulare ricco di GF di tipo infiammatorio. - NEUTROFILIA PRIMARIA - cause: <ul style="list-style-type: none"> - Neutrofilia ereditaria a carattere dominante - neutrofilia cronica idiopatica - leucemia mieloide cronica - anomalie congenite con reazioni leucemoidi (numero aumentato di neutrofili fa sospettare leucemia, in realtà sono manifestazioni legate a infezioni intossicazioni malattie neoplastiche, stimolazioni midollari etc) - LAD <ul style="list-style-type: none"> - orticaria familiare da freddo con leucocitosi (neutrofilia, febbre, rash, astenia, sintomi che compaiono dopo 10 ore dall'esposizione al freddo e persistono per 12-24 ore) • NEUTROFILIA SECONDARIA - cause: <ul style="list-style-type: none"> - infezioni acute - neutrofilia da stress - farmaci - neoplasie maligne - colpi di calore, stimolazione cronica del midollo, asplenia, gravianza • Neutropenia - per neutropenia si intende una diminuzione marcata dei neutrofili e può essere di tipo grave, moderato o lieve. • può instaurarsi per utilizzo di farmaci, aplasia midollare, deficit autoimmuni, infezioni batteriche, sequestro splenico o cirrosi • i sintomi clinici sono febbre, dolore, rubor, tumor o infezioni ricorrenti batteriche, sia cutanee che intestinali. • nella valutazione delle cause da neutropenia si possono distinguere cause INTRINSECHE ED ESTRINSECHE • Neutropenie intrinseche: <ul style="list-style-type: none"> - da riferirsi a condizioni patologiche ereditarie • Neutropenie estrinseche <ul style="list-style-type: none"> - dette di tipo acquisito, si verificano in corso di infezioni batteriche, virali, micosi o durante l'uso di farmaci

Eosinofili	<ul style="list-style-type: none"> • il loro numero varia da 0.2 a $0.8 \cdot 10^9$ unità/litro • EOSINOFILOPENIA: unità inferiori a 70 cellule/microlitro, causata da possibili infezioni batteriche acute o aumentata sintesi di glucocorticoidi • EOSINOFILIA: distinguibili in lieve, moderata e grave • la condizione si presenta per valori superiori ai 800 unità/microlitri • i contesti in cui si manifesta tale condizione sono: allergie, uso di farmaci, immunodeficit, leucemia acuta, linfoma di Hodgkin.
Basofili	<ul style="list-style-type: none"> • Anche queste cellule intervengono nelle risposte infiammatorie allergiche. • possono essere presente in numero elevato causando delle basofilie nel caso in cui superino le 20 unità/microlitro. anche in alcune patologie neoplastiche, ad esempio nelle sindromi mieloproliferative di tipo cronico. • un numero ridotto di basofili (basofilopenia) può essere correlato ad una situazione di stress, infezione di tipo acuto, alterazioni steroidee e sindrome di Cushing.
Piastrine	<ul style="list-style-type: none"> • bisogna valutare numero e distribuzione volumetrica. • PLT intervengono nella trombosi, nella regolazione della permeabilità vascolare e nell'emostasi. • il loro numero oscilla nel range di $150-450 \cdot 10^9$ unità/L • le piastrinopenie sono dovute a ipoplasia-aplasia megacariocitica midollare. • PIASTRINOPENIE PRIMARIE <ul style="list-style-type: none"> - sono ereditarie - presenti in forme congenite, che possono essere trasmesse secondo un carattere autosomico dominante o recessivo - Classificazione <ul style="list-style-type: none"> • Deficit della piastrino poiesi • Alterata distribuzione della massa piastrinica • Pseudopiastrinopenia da EDTA • PIASTRINOPENIE SECONDARIE <ul style="list-style-type: none"> - sono acquisite - determinate da un ridotto numero di piastrine . in questo caso la spinta a livello midollare può essere data fattori ematopoietici. - tra questi disordini ematologici si può avere un esito infausto, un'emorragia devastante come per la leucemia mielocitica. - le cause sono date da esaltata distruzione o aumentato consumo a livello periferico, e possiamo distinguere: <ul style="list-style-type: none"> • meccanismi di natura immunologica - autoanticorpi, HIV • meccanismi non immunologici - CID, circolazione extracorporea, infezioni • le piastrinosi sono aumenti di piastrine distinguibili in piastrinosi primitive o secondarie • PIASTRINOSI PRIMITIVE <ul style="list-style-type: none"> - presenti in corso di malattie mieloproliferative • PIASTRINOSI SECONDARIE <ul style="list-style-type: none"> - date da stati fisiopatologici (stress, ipossia, esercizio fisico, gravidanza) • il conteggio automatico delle piastrine può essere fatto mediante indagini citofluorimetrica, impedenziometria, elettro ottica.
malattie ematologiche	<ul style="list-style-type: none"> • insorgono in seguito ad alterazioni dei processi di ematopoiesi, di produzione, differenziazione e sostituzione delle cellule ematiche. • nel citogramma sulla base di parametri fisici, si sottolinea la distribuzione delle cellule. • IN CONDIZIONI NORMALI se si utilizza un marcatore specifico del pathway linfocitario espresso nelle cellule mature, posso evidenziare le varie popolazioni sulla base dell'espressione della molecola e sulla base delle dimensioni cellulari. • in condizioni patologiche non è sempre possibile evidenziare tutte le caratteristiche • Tipi di malattie ematologiche: <ul style="list-style-type: none"> - disordini linfoproliferativi - disordini di tipo mieloproliferativo - disordini mielodisplastici (in alcuni casi sono il preludio di leucemia acuta) • gli anticorpi monoclonali marcati che utilizzo per la citofluorimetria ricercano marcatori di linea cellulare, di maturazione, marcatori aberranti. • i marcatori sono utili per seguire la terapia nel paziente e comprendere se c'è un followup • a seconda della popolazione che cerco posso utilizzare marcatori specifici.

Analisi citofluorimetrica	<ul style="list-style-type: none"> • è possibile tramite anticorpi marcati analizzare particolari tipi cellulari di diversi parametri, tra cui anche l'espressione di marcatori di superficie o intracellulari, che possono avere attività enzimatica, oppure antiapoptotica • analizzando le dimensioni e la granularità di queste cellule, oppure solo i parametri fisici è importante poter evidenziare quella particolare popolazione di interesse e quindi fare un gate su quella determinata popolazione: <ul style="list-style-type: none"> - gate fisico - Ab Monoclonale (utile per delineare una cellula) • i linfociti e i monociti si dispongono nella forma scatter o side scatter in base alle dimensioni delle granularità tra 50 e 100 e nel gate è possibile evidenziare il numero dei linfociti CD8, che sono CD3 positivi, ed in numero di CD4, sempre nell'ambito del recettore CD3. (CD3 è associato al recettore TCR, sia alfa che gamma) • ogni pannello è suddiviso in quadranti, ed in ogni quadrante è riportato il numero percentuale di eventi e la percentuale delle cellule
Marcatori cellulari	<ul style="list-style-type: none"> • altra strategia è valutare popolazioni cellulari su sangue periferico o midollare, e analizzare i vari compartimenti, perché alcune condizioni come le sindromi mielodisplastiche o i linfomi o le leucemie possono essere evidenziate attraverso alcuni marcatori di linea di differenziazione e marcatori aberranti. • i marcatori aberranti servono per valutare la malattia minima residua ed il follow up del paziente • con la fluorescenza mediante anticorpo CD45 è possibile delineare diverse popolazioni non solo sulla base della percentuale, ma anche fenotipizzando quella particolare cellula perché possiamo avere un processo proliferativo all'esordio.
Maturazione mieloide	<ul style="list-style-type: none"> • nella maturazione mieloide il mielo/monoblasto (precursore immaturo che dà origine a monociti e a neutrofili) esprime la molecola CD34 (marcatore di staminalità) e CD117 (recettore per c-kit per citochine ematopoietiche) • altri marcatori mielo/monoblastici <ul style="list-style-type: none"> - molecola HLA-DR che poi verrà persa nei granulociti neutrofili - CD13 e CD33 molecole tipiche mieloidi che sono espresse in elevate quantità • tramite citofluorimetria è possibile andare a valutare la densità recettoriale di questi marcatori che viene mantenuta nei promielociti. • VARIAZIONE NEL PASSAGGIO DA MIELO/MONOBlasto A PROMIELOCITA <ul style="list-style-type: none"> - non si ha più espressione di CD34 - mantenuta espressione del recettore CD117 - persa l'espressione di HLA-DR - si avrà l'espressione di CD13 e CD33 - inizia ad essere evidente a livello di promielocita un marcatore che verrà mantenuto anche nello stadio di granulocita: la molecola CD15 • il percorso di maturazione può essere valutato mediante curva di maturazione: in un soggetto normale a livello midollare troveremo rappresentate le varie popolazioni mieloidi, che quindi formeranno una vera e propria curva di maturazione.
Classificazione FAB e WHO	<ul style="list-style-type: none"> • nei soggetti con particolari patologie, come le sindromi mielodisplastiche e in alcune forme di leucemia, questa curva di maturazione può risultare alterata, quindi la valutazione della maturazione dei granulociti è un parametro importante da considerare. a seconda dell'espressione di questi marcatori, potremo delineare le varie forme di leucemia acuta secondo LA CLASSIFICAZIONE FAB E LA CLASSIFICAZIONE WHO.

Classificazione FAB

- la classificazione FAB valuta morfologia, indagini citochimiche e immunofluorochimiche.
 - aspetti morfologici delle cellule nello striscio di sangue periferico tramite marcatori atti ad evidenziare particolari attività enzimatiche o espressioni recettoriali (es. la mieloperossidasi che deve essere rilevata in tutte le leucemie)
 - il numero dei blasti leucemici secondo la classificazione FAB deve essere superiore al 30% (nella WHO superiore al 20%)
- in più nell WHO vengono impiegate indagini citogenetiche considerando il fatto che alcune leucemie possono insorgere da alterazioni cromosomiche, o mutazioni. vi sono delle indagini molto importanti che delincono queste alterazioni.
- ad esempio nella leucemia mieloide cronica si ha la fusione del gene BCR-ABL. attraverso citofluorimetria si può andare a ricercare l'espressione della fusione del gene BCR-ABL. si può anche effettuare un approccio molecolare utile ad **evidenziare** la presenza del gene BCR-ABL.
- secondo la classificazione FAB è importante la percentuale dei blasti presenti. i blasti vanno classificati secondo l'espressione di molecole di maturazione permettendo una classificazione che va da M0 a M7.
- es: per quanto riguarda i neutrofili nella fase mielocitica si ha l'espressione della molecola CD11b oltre ai marcatori classici CD13, CD33 e CD15; nella fase successiva detta metamielocitica inizia ad esprimersi la molecola CD16, e poi nella fase di granulocita neutrofilo maturo avremo espressione delle molecole CD13 CD33 ed una densità recettoriale più bassa accompagnata da una maggiore espressione delle molecole CD11b e CD16. N.B.: l'intensità di espressione recettoriale è valutata mediante uso di fluorocromi.

Classificazione FAB 2

- per quanto riguarda i monociti vengono valutate nel percorso maturativo la molecola HLA-DR (assente nel percorso maturativo dei neutrofili), Cd13, Cd33, Cd11b (tipici della serie mieloide in maturazione) e la presenza della molecola CD15 (che viene persa nel macrofago e nel monocita residente, ma che è presente nel monocita circolante). nella fase di monocita maturo iniziano ad essere evidenti dei marcatori quali CD14, CD64. nello stadio di macrofago possiamo notare l'espressione di HLA-DR CD13 CD33 Cd11b e Cd14. l'espressione contemporanea di Cd64 e CD14 indice di maturazione - l'espansione clonale di cellule con questo fenotipo è caratteristica delle leucemie mielo-monocitiche.
- per quanto riguarda la maturazione eritroide il percorso maturativo è evidenziabile per la molecola CD71 (recettore per la transferrina) e la molecola CD235a (glicoforina). successivamente la fase di pro-eritroblasto è caratterizzata dalla presenza del recettore C-Kit o dalla molecola Cd117 con l'espressione di CD45 (cd45 viene persa nell'eritroblasto e nell'eritrocita). negli eritroblasti si avrà espressione contemporanea di CD71 e Cd235a, mentre negli eritrociti si avrà la sola espressione di CD235a. è utile studiare queste espressioni per valutare la presenza degli eritroblasti a livello midollare per avere informazioni utili sulla diagnosi di leucemie acute (nel caso delle leucemie acute si ha una proliferazione clonale dei precursori ematopoietici immaturi che originano dalla staminale orientata in senso mieloide), sindromi mielodisplastiche ed alcune sindromi mieloproliferative. Può essere utile per diagnosticare la policitemia vera e la trombocitopenia essenziale.
- Per la maturazione linfoide si riprendono alcuni marcatori che delincono la cellula staminale pluripotente che è orientata in senso linfoide, e quindi nel midollo osseo troveremo la forma Pro B, in cui ci sarà l'espressione della molecola CD34 e di un marcatore precoce: la molecola CD22. la fase successiva è rappresentata dalla forma pro-pre b in cui conferma l'espressione della molecola CD34 e dell'enzima TdT. inizia già a delinarsi la molecola CD19, tipica dell'espressione dei linfociti maturi. altro marcatore della fase pro-pre b fino alla fase di linfocita b è la molecola CD10 che verrà persa nella fase di linfocita maturo. nella fase Pre-B si avrà l'espressione di CD20.

Stadi della
Classificazione FAB

- M0 - leucemia mieloblastica di tipo indifferenziato
 - caratterizzata da cellule dello stadio più immaturo (esprimono CD34, indice di staminalità , e non hanno mieloperossidasi in quanto blasti immaturi)
 - M1 - mieloblastica senza maturazione
 - M2 - mieloblastica con segni di maturazione
 - M2 può avere delle varianti; ad esempio può avere variante con segni di maturazione
- BASOFILA**
- M3 - promielocitica
 - M4 - mielomonocitica
 - M5 - monoblastica
 - M6 - eritroblastica
 - M7 - megacarioblastica
- comunque la classificazione in ogni classe viene fatta attraverso la valutazione delle molecole Cd34, HLA-DR, Mieloperossidasi, CD13 e CD33 in quanto in tutte le classi possono esserci delle varianti atipiche.
- N.B.: oltre le indagini citofluorimetriche per la classificazione di cui sopra nella FAB bisogna anche considerare la percentuale delle cellule in una certa classe.

classificazione dei
Linfomi

- nella citoarchitettura di un linfonodo sono definite la zona marginale, zona mantellare ed i centri germinativi, in cui sono presenti diversi tipi cellulari in differenti fasi di attivazione.
- la citoarchitettura è determinata dalle chemiochine, prodotte costitutivamente, sono importanti per l'organizzazione delle aree b del linfonodo. possono trovarsi sparsi dei piccoli linfociti b nella zona del mantello e i centrociti.
- i linfociti per morfologia sono definiti centroblasti e immunoblasti a seconda della grandezza , e possono essere di tipo B e di tipo T.
- l'interazione tra i vari tipi cellulari è importante per l'attivazione dei linfociti; infatti i T a livello dei follicoli secondari si differenziano da cellule naive in cellule di tipo memory e cellule effettrici, che, dopo il riconoscimento dell'antigene potranno contribuire al riconoscimento dell'Ag da parte della cellula dendritica, oppure rimanere come cellule della memoria nel linfonodo.
- negli organi linfatici secondari abbiamo l'attivazione dei linfociti B e la conseguente risposta anticorpale. (tipo dipendente o timo non dipendente)
- nella risposta timo-dipendente il linfocita t che ha riconosciuto quel determinato antigene e si è attivato esprimendo un TCR per quell'antigene, si può spostare in aree particolari al confine con le aree b. i linfociti b hanno allo stesso modo riconosciuto l'antigene di natura proteica, l'hanno internalizzato e sarà presentato ai linfociti t.
- è importante dal punto di vista immunologico dire che negli organi linfoidi secondari avvengono queste interazioni che poi dettano il tipo di risposta immunitaria più appropriata per la diversificazione delle cellule effettrici e una risposta anticorpale che deve essere più efficace.

classificazione dei linfomi 2

- in alcuni linfomi vedremo che l'espansione di cellule CD5+ è identificativo di un processo neoplastico.
- perché se questa cellula ha un blocco durante il percorso maturativo, oppure se questa cellula migra negli organi linfoidi secondari e si va a localizzare nei centri germinativi della zona mantellare, o zona marginale, a seconda della alterazione cromosomica o funzionale, la cellula può andare incontro ad espansione, e quindi è una cellula che origina da quel distretto anatomico e potremo parlare di un linfoma mantellare, marginale, centro follicolare, e li posso distinguere in base ai marcatori espressi dai linfociti B e quindi è possibile eseguire dx differenziale.
- a livello dei centri germinativi possiamo trovare cellule che caratterizzeranno il linfoma follicolare, o centro follicolare, il linfoma di Burkitt (linfoma a grandi cellule B che sono andate incontro ad attivazione antigene specifica, e che hanno dimensioni particolari. questo linfoma è caratterizzabile grazie alla presenza di anticorpi specifici.)
- nel linfoma di Hodgkin non è effettuata la immunofenotipizzazione, ed il reperto da andare a caratterizzare sono le cellule di Reed-Sternberg.
- queste cellule sono di tipo naive e possono subire una alterazione cromosomica o funzionale dando origine a forme di leucemia linfatica cronica oppure un linfoma splenico della zona marginale. la caratterizzazione fenotipica si ha valutando quindi l'espressione delle catene leggere delle immunoglobuline, l'espressione di vari sottotipi anticorpali a livello della membrana.
- nel caso delle leucemie capellute o della prolinfocitica sono caratterizzate dalla tipica espressione di marcatori presenti nelle cellule che risiedono nei centri germinativi così come gli altri tipi di linfoma: linfoma linfoplastico, o mieloma.
- questi ultimi sono caratterizzati dalla presenza di cloni neoplastici delle plasmacellule con presenza di marcatori che evidenziano l'espressione di plasmacellule tumorali
- la leucemia linfatica cronica è un disordine linfoproliferativo di tipo cronico, caratterizzato di espansione di cellule che sono apparentemente di tipo maturo, caratteristica è la presenza di queste cellule a livello del sangue periferico, nel m. osseo e negli organi linfatici (non è possibile escludere la presenza da sedi più rare come quelle extralinfatiche)
- a seconda della dimensione e soprattutto se danno origine a linfadenopatie o a masse tumorali viene utilizzato il termine di linfoma a piccoli linfociti.
- l'età media di insorgenza è 65 anni. i linfomi che non sono subito diagnosticati sono più aggressivi.
- la leucemia linfatica cronica può essere caratterizzata fenotipica per l'espressione aberrante da parte dei linfociti B dell'antigene CD5 e di altri marcatori di linea (CD79b, CD22, FMC7 etc) e poi altri marcatori utili per la diagnosi differenziali come CD23 e CD200
- un'altra caratteristica immunofenotipica è la monoclonalità delle catene leggere kappa e lambda. La presenza di alcuni marcatori sono indicativi di prognosi sfavorevole; CD38 su linfociti B, e CD138.
- Le plasmacellule esprimono CD38 CD138, i marcatori utili invece per identificare le plasmacellule di tipo tumorale sono CD56 e l'espressione o l'assenza di CD57.
- altro linfoma caratterizzabile è il linfoma centrofollicolare che rappresenta la contoparte maligna dei linfociti B che sono presenti nei centri germinativi dei follicoli. Ha maggiore incidenza negli stati uniti su pazienti di età di circa 60 anni. dal punto di vista immunofenotipico si assiste ad una infiltrazione di questi linfociti a livello linfonodale.

- in questo caso il termine viene utilizzato in maniera equivalente ma è necessario, nei casi linfoproliferativi cronici di tipo B e T, valutare se c'è un'espansione di queste cellule, oppure se c'è prevalente interessamento linfonodale e quindi di neoplasie solide (linfomi)
- per quanto concerne i linfomi non-Hodgkin vengono utilizzati dei termini diversi:
 - leucemia a cellule capellute
 - leucemia linfatica cronica
 - leucemia prolinfocitica
- a livello linfonodale è possibile caratterizzare fenotipicamente la zona scura, la zona chiara e zone atipiche, con diversa intensità di colorazione.
- nella zona scura si ha attiva proliferazione dei linfociti T ed una ipermutazione somatica.
- per ipermutazione somatica si considerano mutazioni puntiformi a carico delle catene leggere nelle porzioni variabili per il fatto che queste regioni costituiscono la regione FAB, che deve interagire con l'antigene, e si generano perciò cellule con maggiore affinità per l'antigene stesso.
- nella zona chiara del linfonodo sono presenti cellule B della memoria e plasmacellule a lunga vita ed a breve termine.
- quelle a lunga vita escono dagli organi linfoidi secondari e si vanno a localizzare a livello midollare grazie all'espressione di chemochine necessarie per la loro localizzazione.
- sono poi presenti linfociti tipici della zona mantello e, a seconda della cellula che si differenzia nel clone neoplastico potremmo caratterizzare fenotipicamente questi vari tipi cellulari.
- nella caratterizzazione delle varie cellule è possibile eseguire l'indagine morfologica. la presenza di vari tipi cellulari ad esempio dei linfociti B a livello dei follicoli primari, nella zona del mantello dei follicoli secondari e nei cordoni midollari
- i linfociti T e B sono caratterizzati grazie ad una serie di marcatori specifici e sono marcatori di linea. nel caso in cui ci sia una condizione di tipo neoplastico è possibile analizzare fenotipicamente quel linfocita che è andato incontro a proliferazione che può essere studiato per l'espressione di tipici marcatori.
- possono esservi altre neoplasie dovute all'espansione clonale dei linfociti B durante il loro sviluppo, quindi distingueremo le differenti neoplasie dovute alla proliferazione incontrollata e per blocco proliferativo in quello stadio di maturazione, linfocita T, l'espansione clonale di quel particolare tipo cellulare può essere individuata per la presenza di marcatori di linea, e poi se esprimono dei marcatori di linea che identificano una cellula nello stadio immaturo parleremo di linfomi e o leucemie di tipo ACUTO, che riguardano i linfociti T.
- possiamo essere in presenza di un clone di tipo maturo.
- per identificare B e T abbiamo individuato alcuni marcatori di linea CD3, CD19, corecettori CD4 e CD9, ed in più CD20, che è il marker associato alla maturità del linfocita.
- una immunofenotipizzazione di base identifica le cellule B e T mature.
- l'utilizzo dei marcatori di maturità è utile per ricercare cellule che non dovrebbero essere presenti negli organi linfoidi secondari allo stadio immaturo e viceversa. Utile per i linfociti T perché la maturazione avviene a livello timico e le cellule T escono da lì come cellule singole positive per quanto riguarda il corecettore (CD4/8) le cellule natural killer di origine midollare così come i linfociti che seguono un percorso differenziativo.

classificazione dei linfomi

- si utilizzano marcatori di linea di tipo maturo e di tipo immaturo.
- secondo la classificazione WHO si distinguono i linfomi di Hodgkin e i linfomi di tipo B o di tipo T, che non sono di Hodgkin tanto vero che nella classificazione vengono distinti i linfomi di tipo Hodgkin e i linfomi di tipo non Hodgkin
- nel caso dell'immunofenotipizzazione questo tipo di indagine avviene nei linfomi di tipo non Hodgkin proprio per l'evidenziazione di quei marcatori di linea b o t che sono espressi nelle fasi di immaturità di quella cellula o presenti come cellule t e b mature, (cioè espansione clonale di un clone di tipo maturo)
- i linfomi rappresentano il gruppo più eterogeneo dei tumori umani.
- possono essere distinti i linfociti maturi e immaturi e dobbiamo ricordare che esistono linfomi di tipo T con recettore alfa-beta e linfomi di tipo T gamma delta, leucemie e linfomi plasmacellulari, neoplasie a carico delle cellule natural killer.
- e poi l'indagine citogenetica poiché molti di questi linfomi presentano anomalie cromosomiche, per eventuali traslocazioni e inversioni cromosomiche.
- inquadrano la leucemia linfatica cronica e in generale i linfomi di tipo non Hodgkin.
- nella classificazione dei linfomi non Hodgkin vi sono:
 - leucemia prolinfocitica
 - il linfoma linfoplastico
 - il linfoma follicolare
 - la leucemia a cellule capillate
 - il linfoma della zona marginale
 - il linfoma MALT
 - il linfoma splenico
 - il linfoma a grandi cellule
 - il linfoma linfoblastico



M vivere
edicina

classificazione dei linfomi 2

- di solito questi linfociti che vengono studiati sono generalmente CD5 negativi
- in alcuni linfomi vedremo che l'espansione di cellule CD5+ è identificativo di un processo neoplastico.
- perché se questa cellula ha un blocco durante il percorso maturativo, oppure se questa cellula migra negli organi linfoidi secondari e si va a localizzare nei centri germinativi della zona mantellare, o zona marginale, a seconda della alterazione cromosomica o funzionale, la cellula può andare incontro ad espansione, e quindi è una cellula che origina da quel distretto anatomico e potremo parlare di un linfoma mantellare, marginale, centro follicolare, e li posso distinguere in base ai marcatori espressi dai linfociti B e quindi è possibile eseguire dx differenziale.
- a livello dei centri germinativi possiamo trovare cellule che caratterizzeranno il linfoma follicolare, o centro follicolare, il linfoma di Burkitt (linfoma a grandi cellule B che sono andate incontro ad attivazione antigene specifica, e che hanno dimensioni particolari. questo linfoma è caratterizzabile grazie alla presenza di anticorpi specifici.)
- nel linfoma di Hodgkin non è effettuata la immunofenotipizzazione, ed il reperto da andare a caratterizzare sono le cellule di Reed-Sternberg.
- queste cellule sono di tipo naive e possono subire una alterazione cromosomica o funzionale dando origine a forme di leucemia linfatica cronica oppure un linfoma splenico della zona marginale. la caratterizzazione fenotipica si ha valutando quindi l'espressione delle catene leggere delle immunoglobuline, l'espressione di vari sottotipi anticorpali a livello della membrana.
- nel caso delle leucemie capellute o della prolinfocitica sono caratterizzate dalla tipica espressione di marcatori presenti nelle cellule che risiedono nei centri germinativi così come gli altri tipi di linfoma: linfoma linfoplastico, o mieloma.
- questi ultimi sono caratterizzati dalla presenza di cloni neoplastici delle plasmacellule con presenza di marcatori che evidenziano l'espressione di plasmacellule tumorali
- la leucemia linfatica cronica è un disordine linfoproliferativo di tipo cronico, caratterizzato di espansione di cellule che sono apparentemente di tipo maturo, caratteristica è la presenza di queste cellule a livello del sangue periferico, nel m. osseo e negli organi linfatici (non è possibile escludere la presenza da sedi più rare come quelle extralinfatiche)
- a seconda della dimensione e soprattutto se danno origine a linfadenopatie o a masse tumorali viene utilizzato il termine di linfoma a piccoli linfociti.
- l'età media di insorgenza è 65 anni. i linfomi che non sono subito diagnosticati sono più aggressivi.
- la leucemia linfatica cronica può essere caratterizzata fenotipica per l'espressione aberrante da parte dei linfociti B dell'antigene CD5 e di altri marcatori di linea (CD79b, CD22, FMC7 etc) e poi altri marcatori utili per la diagnosi differenziali come CD23 e CD200
- un'altra caratteristica immunofenotipica è la monoclonalità delle catene leggere kappa e lambda. La presenza di alcuni marcatori sono indicativi di prognosi sfavorevole; CD38 su linfociti B, e CD138.
- Le plasmacellule esprimono CD38 CD138, i marcatori utili invece per identificare le plasmacellule di tipo tumorale sono CD56 e l'espressione o l'assenza di CD57.
- altro linfoma caratterizzabile è il linfoma centrofollicolare che rappresenta la contoparte maligna dei linfociti B che sono presenti nei centri germinativi dei follicoli. Ha maggiore incidenza negli stati uniti su pazienti di età di circa 60 anni. dal punto di vista immunofenotipico si assiste ad una infiltrazione di questi linfociti a livello linfonodale.

Leucemia linfatica cronica

- nella leucemia linfatica cronica e nel linfoma di tipo mantellare vengono valutate, inizialmente le cellule CD19 e CD5+, e poi vengono valutati i marcatori cd23, FMC7 e poi altre molecole come CD38 e ZAP70.
- si va a valutare a livello intracellulare ZAP70.
- Nel linfoma mantellare questi marcatori sono espressi con una diversa intensità.
- perché in questo caso il linfoma mantellare è cd200- ?
 - possono esservi forme atipiche. i due marcatori sono cd200 e cd23. in seguito a variazioni cromosomiche vi possono essere varianti più rare.
- nel caso di forme atipiche, come si può fare una dx?
 - dal punto di vista immunofenotipico è difficile inquadrare quel tipo di clone neoplastico distinguendo tra leucemia linfatica cronica e linfoma di tipo mantellare, ci si avvale di altre tipologie di indagini citogenetiche.
- i marcatori fenotipici sono utili per inquadrare e per aiutare nella diagnosi ma non è un referto diagnostico, è necessario fare sempre indagini diagnostiche citogenetiche.

citofluorimetria
per dx di linfomi

- marcatori utili all'identificazione di vari tipi di linfomi sono l'espressione di:
 - CD10+ - linfoma centrofollicolare
 - CD5+ CD23+ leucemia linfatica cronica
- il linfoma b a grandi cellule diffuso comprende una serie di neoplasie a decorso aggressivo di tipo curabile e in questo caso la patologia prevale nei soggetti anziani tra i 60 e 70 anni. la dx avviene attraverso l'individuazione nei linfociti b della presenza dei marcatori della linea b, primi fra tutti CD19 e CD20.
- per quanto riguarda la serie linfoide T sono utili i marcatori di linea specifici alla serie linfoide, e quelli che deliniano la maturazione in senso T, sia in caso di TCRalfabeta, che di TCRgammadelta.
- nell'indagine citofluorimetrica è utile identificare:
 - marcatori che indicano lo stato di maturità della cellula, come CD34
 - molecole che durante la maturazione sono espresse a livello intracellulare
 - coespressione dei recettori CD4 e CD8 fisiologica durante la maturazione timica, la cui presenza nel sangue periferico potrebbe essere dovuta all'espansione clonale di cellule indifferenziate
 - marcatori espressi durante l'ontogenesi della cellula staminale pluripotente orientata verso un precursore linfoide comune.
- i timociti sono caratterizzati da:
 - marcatori specifici espressi dai T maturi CD5, CD7, CD2 (marcatori di cellule pro-T e pre-T)
 - marcatori presenti nello stadio differenziativo precoce quali ad esempio l'enzima TdT
- nella leucemia linfoblastica acuta di tipo T le cellule possono esprimere tipicamente CD4 e CD8 coespressi in vari stadi.

Fisiopatologia
della febbre

- la febbre è una tipica risposta di fase acuta all'insulto patogenetico di tipo locale che si presenta per una alterazione della termoregolazione.
- la termogenesi è quel meccanismo che consente la produzione di calore indotta dagli ormoni tiroidei, dai glucocorticoidi, dall'adrenalina dalla contrazione involontaria dei muscoli striati e dalla vaso costrizione, per favorire la termoconservazione
- i meccanismi che regolano la termodispersione sono veicolati dalle modificazioni funzionali dei vasi superficiali, l'evaporazione del sudore, la respirazione e l'espulsione delle feci delle urine.
- temperatura fisiologica: 37.6°C
- si distinguono due eventi nei quali si ha l'innalzamento della temperatura corporea oltre i 37°C la febbre e l'ipertermia.
 - in caso di febbre si ha l'aumento della temperatura corporea, grazie a fenomeni di termogenesi con innalzamento del set point a livello ipotalamico tramite l'azione di mediatori come citochine e prostaglandine con cambiamento dell'attività metabolica a livello epatico.
 - in caso di ipertermia si ha l'aumento della temperatura corporea senza coinvolgimento ipotalamico ma solo con eccessiva termogenesi senza l'intervento di meccanismi di termodispersione. l'andamento della febbre può essere descritto tramite una curva termica, attraverso la quale si possono ipotizzare alcuni tipi di patologie
- il decorso della febbre può essere suddiviso in diverse fasi:
 - insorgenza - rialzo della temperatura corporea per aumento della termogenesi
 - persistenza (fastigio) - tipo di rialzo della temperatura corporea mantenuta dalle citochine e dalle PGE2 che agiscono a livello dei centri termoregolatori dell'ipotalamo con innalzamento del set point. durante questa fase si percepisce una sensazione di calore mantenuta dai mediatori dell'infiammazione.
 - defervescenza - riduzione dell'azione diretta dei mediatori sui centri termoregolatori ipotalamici con ripristino della soglia fisiologica di temperatura a 37°
- in base all'osservazione dell'andamento delle curve termiche distinguiamo vari tipi clinici di febbre:
 - febbre continua - andamento della curva nell'arco del giorno al di sopra dei 37°C con variazioni inferiori al grado dove però non si raggiunge la defervescenza.
 - febbre remittente - rialzo superiore al grado senza raggiungere la defervescenza
 - febbre intermittente: con rialzo della temperatura corporea a intervalli regolari di tempo (3/4 giorni)
 - febbre ricorrente e ondulante: rialzo termico seguito da fasi nelle quali la temperatura si mantiene normale. i due tipi si differenziano in base al tipo di defervescenza per lisi o per crisi (es. infezione batterica o linfoma di Hodgkin)

- I nuclei preottico, paraventricolare e la formazione reticolare sono importanti centri di termoregolazione.
- nella regione preottica dell'ipotalamo sono presenti formazioni neuronali che intervengono in meccanismi di termoregolazione e termodispersione, riuscendo ad avvertire variazioni di tipo positivo, o negativo intorno al valore di 37°C tra cui:
 - neuroni W che intervengono nei meccanismi di termodispersione
 - neuroni C coinvolti nella termoconservazione
 - Neuroni I che hanno ruolo nel meccanismo di feedback
 - neuroni W che regolano termo dispersione con sensazione di calore
- al contrario, al di sotto dei 37°C si verificano meccanismi di termoconservazione e termogenesi, col pallore per costrizione dei vasi superficiali e produzione di calore.
- nella patogenesi della febbre intervengono mediatori tipici detti pirogeni endogeni, per differenziarli dai pirogeni esogeni, che sono quei microrganismi che direttamente intervengono nella sintesi e rilascio di citochine proinfiammatorie in seguito a stimolo antigenico.
- le citochine IL1, IL6, TNFalfa, sono coinvolte nel meccanismo di rialzo della temperatura corporea perché intervengono nella sintesi di PGE2.
- esse agiscono a livello epatico e a livello del nucleo preottico, con innalzamento del set point ipotalamico. importante è che l'azione delle PGE2 si espleta a partire dall'azione degli enzimi COX2 e dalla prostaglandina E2 di tipo ribosomiale.
- il ruolo diretto della PGE2 è stato studiato mediante modelli sperimentali con iniezione diretta di questo mediatore a livello del nucleo ipotalamico anteriore che determina immediato innalzamento della temperatura corporea. un'altra evidenza della sua efficacia in tal senso è l'aumento della sua concentrazione ipotalamica in concomitanza con il decorso febbrile, e il fatto che le citochine pro-infiammatorie intervengono nella produzione delle PGE2 in maniera dose dipendente.
- le prostaglandine sono essenziali per la regolazione della temperatura corporea. la somministrazione di LPS causa l'aumento della temperatura corporea che si verifica ancora prima della sintesi delle citochine plasmatiche, per cui si suppone che ci sia una conduzione locale di citochine che fa sì che si aumenti la produzione di PGE2 in modo che tale quantità possa agire a livello dell'area preottica, determinando un aumento della temperatura ancora prima dell'azione delle citochine pro-infiammatorie.
- in alcuni pazienti si ha un condizione patologica in cui si verifica un aumento della temperatura corporea oltre i 37-38°C che si mantiene per diverse settimane. in questo caso parliamo di febbre di origine sconosciuta con cause di tipo differente. alcune condizioni possono essere indice di infezioni, di neoplasie in corso, di patologia infiammatoria cronica o hanno diagnosi difficile.
- la febbre di tipo sconosciuta è classificata in tipo classico, nosocomiale, neutropenia o associata ad infezione.
 - tipo classico - il paziente non risulta neutropenico e non ha infezione da HIV. La causa può essere dovuta ad infezioni, tumori, infiammazioni croniche.
 - tipo nosocomiale - la febbre insorge tre giorni dopo il ricovero, es.: polinucleotide, la sinusite o l'utilizzazione di farmaci.
 - tipo neutropenico - si ha un aumento del numero di neutrofili inferiore a 500cellule/microlitro. la cura della febbre è di almeno tre giorni durante la quale si ha la valutazione delle culture microbiologiche.es.: infezioni da candida, aspergillus o ascesso perianale.
- altra tipologia è la febbre dei pazienti affetti da HIV per cui durante gli accertamenti in ospedale si ha la persistenza nei tre giorni.
- ci sono alcune condizioni patologiche, soprattutto negli anziani, che fanno insorgere questo tipo di febbre di origine sconosciuta, in altre forme è difficile identificare l'agente eziologico del rialzo della temperatura.
- i farmaci antipiretici servono ad abbassare la temperatura corporea e alcuni sono dotati di effetto antinfiammatorio:
 - farmaci con paracetamolo privi di effetti antinfiammatori sistemici
 - farmaci antipiretici dotati di effetto antiinfiammatorio
 - farmaci contenenti steroidi, che causano anche effetto sistemico immunodepressivo

meccanismi
riparativi delle
ferite

- in seguito alla risoluzione dell'insulto patogenico insorgono meccanismi che riparano in danno tissutale contribuendo alla guarigione delle ferite.
- la migrazione cellulare viene indotta da alcuni mediatori rilasciati dalle stesse cellule del tessuto danneggiato o dai granuli delle vescicole dei basofili.
- l'organizzazione ed il rimodellamento della matrice avviene mediante il sostentamento dei processi che coinvolgono la membrana basale, il tessuto connettivo e la matrice provvisoria.
- nella proliferazione cellulare intervengono le citochine che contribuiscono al reclutamento dei vari tipi cellulari, quindi al meccanismo di rimodellamento e riparazione tissutale.
- le fasi in cui è possibile suddividere i processi sono:
 - migrazione dei leucociti mediante passaggio attraverso le cellule endoteliali (diapedesi)
 - migrazione delle cellule endoteliali attraverso la matrice con formazione di nuovi vasi (angiogenesi)
 - migrazione dei periciti che si staccano dalle cellule epiteliali e vanno a livello della matrice
 - migrazione dei fibroblasti che si dirigono verso la sede del danno tissutale
 - i cheratinociti si staccano dalla membrana basale e migrano verso la ferita.
- i protagonisti della riparazione delle ferite quindi sono: la membrana basale, costituita da strati sottili di matrice extracellulare, e le cellule del tessuto connettivo che la sintetizzano. tra queste cellule vi sono EPITELIOCITI, MIOCITI, CELLULE DI SHWANN E ENDOTELIO CAPILLARE.
- l'architettura della membrana basale è costituita da proteoglicani, come eparansolfato, la lamina e il collagene di tipo 4. il collagene è il principale costituente delle membrane basali ed è formato da un'associazione di fibrille di vario tipo nella sua forma aggregata, o in filamenti nella forma a granuli.
- altri costituenti della matrice stromale di natura non collagenasica sono la fibronectina e l'elastina, la fibrillina, il versicano e l'acido ialuronico.
- in base al tipo di matrice extracellulare sono presenti diverse forme di collagene che ne caratterizzano la specificità. nella matrice stromale sono presenti il collagene 1 e 2; nella membrana basale abbiamo la laminina ed il collagene di tipo 4; nella cartilagine il collagene di tipo 2 e nella matrice provvisoria della ferita sono presenti molecole indicative del danno tissutale e cellule sostitutive delle provvisorie.
- sono importanti alcuni enzimi in grado di degradare la matrice extracellulare e sostituire il tessuto con uno di tipo definitivo.
- nuove cellule in seguito a migrazione e a proliferazione sostituiscono completamente il tessuto danneggiato grazie al coinvolgimento di molecole preposte alla riattivazione del ciclo cellulare. la sequenza di eventi prevede:
 - formazione del coagulo dovuta all'instaurarsi della reazione infiammatoria.
 - la presenza e la formazione di tessuto di granulazione, presente in base al tipo di ferita a seconda se si tratta di ferita di I o II intenzione
 - proliferazione di fibroblasti e accumulo di matrice
 - la presenza di fattori di crescita con ipoplasia e meccanismi di angiogenesi
 - riepitelizzazione, contrazione e resistenza della ferita

Fasi della riparazione

- possono essere distinte in 3
- fase precoce:
 - si ha formazione del coagulo, in quanto esso costituisce una barriera fisica che delimita la ferita dall'ambiente circostante. si ha la creazione di una barriera fisica che delimita la ferita dall'ambiente circostante. per evitare che altri patogeni causino uno stato di sovrainfezione.
 - altro effetto importante è la tensione che consente l'accostamento dei lembi. la presenza di microorganismi e di materiale necrotico deve essere rimossa efficacemente e la presenza di macrofagi è indicativa di riparazione del danno tissutale in quanto essi rilasciano mediatori in grado di attivare i fibroblasti, determinarne la loro migrazione e indurli a sintetizzare il collagene e gli altri costituenti della matrice che andranno a sostituire la matrice provvisoria.
 - sempre in questa fase si ha la riepitelizzazione che è importante per evitare l'uscita di fluidi ed il rischio di infezione da parte di altri microrganismi.
- fase intermedia: formazione del tessuto di granulazione importante nelle ferite che non hanno i lembi giustapposti dove è necessario avere un tessuto altamente vascolarizzato con presenza di plasmacellule che rilasciano anticorpi e intervengono nell'eliminazione di eventuali microrganismi e creando un ambiente settico resistente all'infiammazione.
 - questo tessuto contribuisce alla secrezione di tutti i componenti della matrice extracellulare.
 - avviene la contrazione della ferita per aumentare la forza tensiva, che può essere più o meno resistente e dipende dalla migrazione di miofibroblasti, con deposizione di collagene e dei vari fattori di crescita, quali fgf e tgf-β.
 - in base alla deposizione del collagene con la formazione di legami crociati si ha maggiore forza tensiva e la ferita viene chiusa determinando una resistenza importante per evitare che insorga nuovamente la rottura della ferita.
- fase tardiva: rimodellamento con diminuzione della vascolarizzazione e formazione di proteine da stress a livello cutaneo.

suddivisione ferite

- possono suddividersi per prima o seconda intenzione
- 1 intenzione: con lembi giustapposti, i cui processi di guarigione prevedono la proliferazione con scarsa vascolarizzazione e con la presenza di una lieve cicatrice. in questo caso non assistiamo alla formazione di tessuto di granulazione
- 2 intenzione: i lembi della ferita non sono giustapposti, e si verifica proliferazione e vascolarizzazione lenta che intervengono nella giustapposizione dei lembi con formazione di un tessuto cicatriziale abbastanza evidente e si ha la presenza del tessuto di granulazione.

riassunto su meccanismi riparativi

- formazione coagulo - barriera fisica, intervento delle piastrine e vari elementi cellulari, fenomeni di migrazione e proliferazione di cellule che sostituiscono il tessuto compromesso (riepitelizzazione)
- contrazione della ferita - grazie a migrazione miociti
- risposta di tipo infiammatoria - reclutamento di c. infiammatorie che provvedono a eliminare eventuali patogeni e contribuiscono alla liquefazione del tessuto necrotico grazie all'azione dei macrofagi. durante questa fase la fibronectina promuove il meccanismo della fagocitosi con eliminazione dei tessuti necrotici
- il tessuto di granulazione che si forma nelle ferite i cui lembi non sono giustapposti è costituito dalla presenza di varie cellule tra cui i fibroblasti e gli eritrociti con intensa angiogenesi che consente una intensa attività antibatterica dovuta al fatto che sono presenti le plasmacellule.
- meccanismi che possono contrastare con lo stato di riparazione dipendono dalla sede della lesione, dall'apporto ematico e da fattori sistemici.
- deficit di coagulazione si verificano in pazienti con anemia ok a seguito di somministrazione di corticosteroidi che possono causare un rallentamento della riparazione.
- fasi della coagulazione
 - formazione del coagulo 3-4ore
 - presenza di macrofagi: 1-3gg
 - reclutamento di altre cellule nelle ferite 2-4gg
 - rimozione del coagulo 3-4gg tramite fagocitosi con contemporanea deposizione di matrice provvisoria.
 - presenza di cellule ad elevata attività mitotica 5-8gg con sostituzione del collagene dal tipo 3 al tipo 1 e la sintesi del tessuto definitivo

Interazioni s.i. -
tumore

- possibile utilizzare anticorpi monoclonali leganti molecole specifiche per eliminare un tipo cellulare particolare, oppure si possono utilizzare le cellule del sistema immunitario per una azione anti tumorale attraverso un potenziamento che si può applicare direttamente in vivo, oppure dopo aver prelevato cellule dalla sede del tumore.
- in alcuni casi di tumore si può attuare un'azione combinata sia della risposta cellulare mediata (anti-tumorale) sia della risposta umorale tramite l'impiego di farmaci biologici.
- le cellule dei vari tipi di tumori esprimono diversi marcatori e su questo meccanismo si basa l'impiego degli anticorpi monoclonali (es. cetuximab).

immuno
sorveglianza

- in esperimenti di induzione di sarcomi nelle cavie murine si osservò che la risposta immunitaria prevedeva il reclutamento di linfociti T in grado di eliminare le cellule tumorali. in seguito si vide che non solo si aveva una regressione del tumore, ma in più si poteva avere l'instaurazione di una memoria immunologica (all'inoculazione successiva di cellule tumorali non si assisteva alla formazione di noduli).
- nella cellula anti-tumorale non erano coinvolte solo cellule dell'immunità adattativa, ma anche cellule dell'immunità innata, come i linfociti NK.
- in realtà, fra le cellule immunitarie e le cellule tumorali si instaura una sorta di equilibrio fino al punto che il sistema immunitario non è più in grado di controllare la crescita delle cellule tumorali.
- esiste una correlazione fra risposta immunitaria deficitaria e manifestazione clinica di tumore
- non tutti i tumori sono immunogenici permettendo una maggiore latenza fino a quando non si manifesterà il tumore. in questo caso si evidenzia quanto sia dannoso un mancato riconoscimento da parte della risp. immunitaria acquisita di determinati antigeni tumorali.
- altre cellule immunitarie come i linfociti NK e i gamma delta permettono di svolgere un'azione antitumorale anche in caso di fallimento del riconoscimento da parte dei linfociti T. Infatti alcuni tipi di tumore vengono trattati con protocolli terapeutici che prevedono un potenziamento dei linfociti NK (con azione sia citotossica sia con produzione di citochine)
- altro aspetto importante (osservato nei topi) è il deficit immunitario che può insorgere in età avanzata. infatti in alcuni soggetti con patologie infiammatorie croniche si può avere insorgenza di alcune neoplasie.
- in pazienti con deficit immunitari si assiste all'insorgenza di neoplasie come il tumore al colon, alla mammella, della prostata e si osserva anche una aumentata incidenza per i linfomi ed i tumori di origine virale.

Immunogenicità
tumorale

- la immunogenicità varia nei diversi tipi di tumore.
- esistono antigeni particolari, specialmente di natura proteica, che sono tipici per una determinata tipologia di tumore
- questi antigeni sono stati classificati...

antigeni di differenziazione

- altri antigeni sono stati identificati come antigeni di differenziazione, cioè alcuni di questi che sono normalmente espressi in una data popolazione, vengono iper-espressi nella forma tumorale.
- esempio è l'espressione eccessiva di catene leggere (da parte dei linfociti B), che è indicativa del linfoma
- nel caso del linfoma dell'ovaio e della mammella può osservarsi l'iper espressione di HER2-NEU, le mucine sono iper espresse nel carcinoma della mammella e del pancreas e altre proteine oncovirali sono associate al carcinoma della cervice uterina.
- alcune proteine che fisiologicamente sono espresse in basse concentrazioni possono presentarsi sovra espresse in alcune neoplasie, e possono determinare attivazione del S.I. esempio classico è la tirosinasi, che nel caso dei melanomi viene iperespressa.
- anche gli antigeni MAGE (melanoma-associated antigens), che sono espressi costitutivamente nel tessuto testicolare, nel caso di alcuni tipi di tumore rappresentano un bersaglio da parte del s.i.
- alcuni di questi antigeni sono espressi in condizioni patologiche "benigne" come in infiammazioni croniche. ciò implica che la presenza di questi marcatori implichi la presenza di neoplasia.
- la gonadotropina corionica è indicativa dei tumori al testicolo, ma nei periodi di gravidanza la sua espressione è fisiologica. altro antigene, usato routinariamente è il PSA, indicativo del carcinoma alla prostata ma anche di semplice ipertrofia prostatica.
- quindi questi biomarcatori possono essere dosabili nel plasma e possono servire a monitorare l'andamento della terapia.
- esiste una correlazione fra l'espressione di determinate chemiochine da alcuni tipi cellulari tumorali ed il grado di espressione dei recettori per questi fattori.
- alcune di queste chemiochine sono coinvolte nei processi di metastatizzazione, perché inducono produzione di metalloproteasi o di fattori angiogenetici.
- per quanto riguarda i linfociti T coinvolti sono stati studiati soprattutto i CD4/8+ ed anche i linfociti T naive (questi ultimi associati a prognosi infausta in quanto possono essere ritrovati nella regione di espansione del tumore, ma non sembrano avere funzione effettrice)

Microambiente tumorale

- nel microambiente tumorale le cellule che dovrebbero svolgere azione antitumorale possono essere inibite.
- è importante il ruolo delle chemiochine, e dei gf
- un esempio del ruolo del microambiente tumorale è la presenza dei macrofagi che da fenotipo m1 (funzione antitumorale) si trasformano in m2 (capacità anti-tumorale persa)
- le cellule m2 rilasciano chemiochine, metallo proteasi ed altri fattori che inibiscono la proliferazione (ad esempio) dei linfociti T e che possono favorire la metastasi
- in alcune situazioni le cellule m2 possono ritornare nuovamente al fenotipo m1 grazie alla presenza di certi ligandi.
- sono stati identificati 2 diversi subtipi cellulari anche per i neutrofili che sono stati correlati da un lato alla inibizione e dall'altro alla progressione tumorale

Inibizione risposta anti - tumorale

- uno dei meccanismi della terapia anticorpale è sicuramente quello della ADCC, quindi potenziamento della risposta citotossica cellulomediata. anche le cellule dendritiche presentando gli antigeni tumorali possono permettere l'attivazione della risposta t CD4/8
- una delle sostanze prodotte da queste cellule dendritiche è la IL12, importante per la formazione di cellule Th1.
- alcuni protocolli terapeutici prevedono il potenziamento delle DC, ad esempio utilizzando fattori di crescita oppure somministrando cellule adjuvanti la risposta delle cellule dendritiche.
- altri meccanismi di inibizione della risposta immunitaria prevedono nel caso di microambiente tumorale l'espressione di alcuni fattori angiogenetici che vanno a bloccare l'espressione di alcuni fattori angiogenetici che vanno a bloccare l'espressione di molecole di adesione essenziali per l'extravasazione dei leucociti, impedendo il reclutamento dei linfociti T nel microambiente tumorale.
- altra modalità di inibizione è l'espressione di ligandi come PDL1 PDL2, la molecola CD31 e altre molecole che contribuiscono all'inattivazione funzionale.
- un altro meccanismo è la diretta uccisione delle cellule effettrici, in quanto le cellule tumorali possono esprimere molecole che inducono all'apoptosi dei linfociti T: in questo caso le molecole sono Fas, TRAIL e TWEAK
- nel microambiente tumorale può altresì verificarsi la presenza di cellule che con diverse modalità possono inibire la proliferazione dei linfociti T.
- un meccanismo molto noto è la diversificazione dei linfociti T: questi vengono reclutati nel sito tumorale e, sulla base della presenza di particolari citochine e fattori costimolatori, avviene una diversificazione di cellule effettrici verso cellule di tipo regolatorio. in questo caso viene studiata la diversificazione di cellule dendritiche verso cellule che esprimono bassi livelli di molecole costimolatorie e questo è uno dei presupposti più importanti per deviare la risposta immunitaria effettrice.
- vari fattori di crescita di tipo angiogenetico e anche le prostaglandine di tipo e2 hanno ruolo inibitorio. le molecole ad azione inibitoria vanno poi a rappresentare un target terapeutico come la CTLA-4 e la PD1

Macrofagi nella risposta anti - tumorale

- esistono dei meccanismi finemente regolati dovuti al fatto che le cellule tumorali possono produrre delle chemiochine che selettivamente determinano il reclutamento, dal sangue periferico nella sede del tumore, di monociti che poi si differenziano in macrofagi.
- non tutti i macrofagi residenti nei vari distretti sono di origine midollare; alcuni derivano dal sacco vitellino.
- uno dei sistemi di inibizione del reclutamento potrebbe essere l'utilizzazione di Ab che vanno a bloccare i GF o le chemiochine specifiche per un determinato subset.
- un'altro sistema potrebbe prevedere l'eliminazione diretta delle cellule di tipo monocito/macrofagico attraverso l'uso di particolari farmaci.
- oggi un farmaco utilizzato è la trabecidina, che ha una azione antitumorale perché agisce uccidendo selettivamente monociti e macrofagi e inibendo la sintesi di chemiochine come ccl2.
- questo farmaco è di uso clinico nel carcinoma dell'ovaio e nei sarcomi. in più è studiato nelle fasi precliniche in modo da poterlo utilizzare anche per altre neoplasie.
- per la trabecidina sicuramente il percorso è quello di utilizzarla in altri tipi di tumore solido in cui è necessario eliminare le popolazioni coinvolte nei meccanismi di progressione.

Vaziiazione dei macrofagi da m2 a m1

- Nel caso dei macrofagi m2 si hanno diversi fattori che contribuiscono al meccanismo di crescita tumorale e alla formazione di nuovi vasi mediante il rilascio di fattori angiogenetici e di metallo proteasi, che determinano la degradazione dell'ECM e quindi la progressione del tumore.
- i macrofagi M1 sono caratterizzate dal classico pattern studiato nella risposta cellulo-mediata, in quanto rilasciano fattori di crescita che contribuiscono alla differenziazione delle cellule dendritiche e molecole come l'interferone gamma, che ha un ruolo apoptotico sulle cellule tumorali
- in oltre i macrofagi m1 promuono la risposta di tipo Th1, importanti nella presentazione degli antigeni di natura proteica ai linfociti T.
- i segnali che determinano la differenziazione verso questo subset sono i profili molecolari associati ai patogeni come LPS o IFN γ . secondo il riconoscimento di quel particolare profilo molecolare si può variare la risposta dei macrofagi in senso M
- le molecole IL-1, IL-12, IL-23, IL-6 e TGF β prodotte dai macrofagi m2 sono coinvolte nella differenziazione verso le cellule th1 e th17.
- i macrofagi m2 esprimono recettori particolari, come quello per il mannosio o anche CD163, il recettore per IL1, e altre molecole che li caratterizzano fenotipicamente. le citochine classicamente coinvolte nella differenziazione verso th1 e th17 e NK sono di meno, e di conseguenza si hanno minori livelli di IL-12. l'alta produzione di IL-10 di tipo inibitorio da parte dei macrofagi m2 inibisce l'azione dei linfociti T. a determinare la differenziazione sono citochine presenti nel microambiente tumorale come IL-4 e IL-13.
- le cellule M1 ed M2 hanno ruoli completamente opposti. le cellule di tipo m2 contribuiscono allo spegnimento della risposta antitumorale, e promuovono tutti quei subsets che promuovono la progressione del tumore.
- in presenza di IFN γ e LPS si hanno cellule di tipo M1.
- ERGO in base alle sostanze presenti nel microambiente si ha uno shift da M1 a M2
- le cellule TAM (dovrebbero essere i macrofagi associati al tumore in senso M2) hanno azione pro tumorale, agiscono mediante espressione di citochine e chemiochine che selettivamente determinano il reclutamento dei Th2 o comunque di cellule di tipo regolatorio.
- nella progressione tumorale abbiamo diversi aspetti da considerare: le citochine che consentono il reclutamento di linfociti e macrofagi, i fattori angiogenetici (in alcuni tipi di tumore si utilizzano molecole anti-angiogenetiche, per esempio anti-VEGF)
- conoscendo la regolazione della risposta PRO-tumorale è possibile intervenire terapeuticamente con l'uso di molecole inibitrici della progressione del tumore.
- altre molecole possono essere utili per far differenziare i macrofagi in M2 quando si vuole potenziare la risposta antiparassitaria ed anti-elmintica.

Neutrofili nella risposta anti-tumorale

- altre cellule coinvolte nella risposta tumorale sono i neutrofili, presenti anche nella risposta anti infiammatoria.
- in questo caso si può fare una distinzione di cellule: abbiamo neutrofili di tipo N1 e N2, caratterizzati dall'espressione di particolari marcatori già visti in precedenza come CD16 e CD11b
- queste cellule possono avere spiccata attività anti tumorale (N1) a causa del fatto che sono implicate nell'attivazione di radicali liberi dell'ossigeno, oppure avere attività pro tumorale (N2) a causa della produzione di chemiochine coinvolte nel reclutamento di neutrofili e monociti, di arginasi e di fattori di tipo angiogenetico e metallo proteasi.
- la differenziazione N1 -> N2 avviene grazie alla presenza di TGF- β
- uno dei protocolli terapeutici può prevedere per esempio il blocco attraverso anticorpi monoclonali anti CTLA-4 o anti PD1 del TGF β
- la presenza di neutrofili pro-tumoralis è stata correlata a quella in sede tumorale di linfociti T Helper17 di cui non si capisce il ruolo
- se sono presenti th17, linfociti CD8 $^{+}$ e th1 i neutrofili hanno ruolo antitumorale.
- se il microambiente porta alla differenziazione nel tipo N2 si avrà promozione tumorale. i th17 sono importante oggetto di studio per cercare di capire sono anche essi produttori di tumore.

Immunoterapia dei tumori

- Nell'immunoterapia tumorale i CD8 hanno un ruolo di difesa contro i patogeni intracellulari, in quanto riescono a riconoscere i peptidi antigenici presentati dai complessi MHC.
- anche i peptidi di origine tumorale possono essere presentati dalle molecole MHC. i linfociti dopo il riconoscimento possono svolgere la loro azione citotossica tramite vari meccanismi (fas-fasL, o attraverso il rilascio di molecole ad azione citotossica come perforina granzyme ed altro=)
- in più possono operare tramite il rilascio di citochine che inducono l'apoptosi, come il tnf alfa, o altre molecole come TRAIL.
- le citochine rilasciate dai CD8 possono potenziare la risposta di altri tipi cellulari.
- tra i linfociti CD8+ possiamo distinguere 4 diversi subtest sulla base di: marcatori di membrana, capacità proliferativa, capacità di produrre citochine; e possiamo distinguere:
 - cellule naive - in grado di proliferare in risposta all'antigene, non producono molte citochine e molecole citotossiche, esprimono recettori di **homing** per gli organi linfoidi secondari
 - cellule central memory - esprimono CD62-L ed altri **recettori** per l'homing in organi linfoidi secondari. producono in oltre bassi livelli di citochine
 - cellule effettrici - perdono i recettori di homing, esprimono recettori per chemiochine infiammatorie, producono citochine
 - cellule effettrici terminalmente differenziate - sono in grado di produrre citochine specifiche, hanno minore capacità proliferativa ed un'emivita molto breve
- recentemente sono state scoperte le cellule stem-like memory t cell, sono in grado di differenziare a cellule effettrici e terminalmente differenziate, ma anche di automantenersi, e quindi di garantire una quota di cellule in grado di controllare costantemente la crescita tumorale.
- questa loro caratteristica è utile ai fini della terapia antitumorale. infatti, le altre cellule utilizzate a tale scopo (CD8, NK, gammadelta) non hanno un'emivita molto lunga. si cerca quindi di avere delle cellule effettrici che siano in grado di rimanere attive per molto tempo.

Approccio immuno terapeutico

- si isolano le cellule naive dal paziente e vengono attivate con l'antigene specifico del tumore, mimando sia il primo sia il secondo segnale.
- a questo punto si hanno due possibilità:
 - un protocollo standard prevede l'utilizzo di IL2 che induce una espansione cellulare e una differenziazione a cellule central memory, cellule effettrici, e cellule terminalmente differenziate. queste verranno reinfuse nel paziente ed avranno un effetto immediato, ma non duraturo a causa della breve vita di queste cellule differenziate
 - un protocollo più recente è stato messo a punto grazie alla scoperta delle stem like memory t cells. per ottenerle vengono utilizzate IL7 e IL15 e TWS119, inibitrice della beta glucuronidasi (inibisce il processo differenziativo delle naive verso le cellule terminalmente differenziate). le cellule che si ottengono dopo l'esposizione a queste molecole, una volta esposte all'antigene immunogenico tumorale e somministrate al paziente hanno un effetto immediato ed un effetto a LUNGO TERMINE, in quanto hanno caratteristiche di staminalità
- ci sono casi in cui gli antigeni tumorali perdono la loro immunogenicità, in funzione soprattutto della frequenza con cui i tumori vanno incontro a mutazioni, questa infatti è una delle problematiche nell'immunologia e nell'immunoterapia dei tumori
- in oltre le cellule tumorali spesso perdono i complessi MHC1, impedendo ai CD8 (anche se attivati) di riconoscere la cellula per espletare la loro funzione citotossica.
- la restrizione di MHC è un grande ostacolo dell'immunoterapia, perche rende necessario l'utilizzo di protocolli personalizzati.

Cellule NK nell'immunoterapia

- Le cellule Nk possono riconoscere le cellule neoplastiche che hanno perso l'espressione di MHC1. si usano dei protocolli al riguardo che possono fare aumentare l'espressione di molecole indotte a seguito di stress cellulare.
- le cellule NK sono usate in immunoterapia sia per la loro azione citotossica, sia nel corso del trapianto di midollo osseo aploidentico in pazienti con leucemia mieloide acuta.
- le NK hanno spiccata attività citotossica, e possono inibire i meccanismi della graft vs host disease
- l'identificazione fenotipica dei NK avviene grazie alla presenza contemporanea dell'espressione dei recettori CD16 e CD56 valutata con la citofluorimetria.
- le cellule prettamente citotossiche esprimono ad alta intensità cd16 e a bassa intensità cd56
- queste cellule sono capaci di ADCC mediata da cd16, in oltre possono avere attività LAK in presenza di IL2
- le cellule che hanno capacità immunoregatorie sono cd16 dim e cd56 bright
- in più i NK sono in grado di discriminare tra cellule self integre e cellule self infettate da virus o neoplastiche (ipotesi missing self)
- le cellule che subiscono stress cellulare perdono le molecole MHC1 ed esprimono le molecole da stress. in questo modo vengono attivati i recettori delle NK in base alla somma algebrica di KIR e KAR
- le NK riconoscono le MHC1 con i recettori KIR. le cellule tumorali perdono MHC1 ed esprimono molecole da stress.
- i NK possono differenziare in cellule a diretta attività citotossica o in cellule immunoregatorie.
- in più in presenza di determinate citochine (IL2 per esempio) i NK possono produrre altre citochine che potenziano l'attività delle cellule dendritiche. queste, così potenziate, sono in grado di inglobare gli Ag tumorali per poi presentarli ai cd8.
- abbiamo quindi visto come nell'attivazione dei NK in verso un subset specifico influiscano vari fattori e i legami con varie molecole.
- alcuni approcci terapeutici puntano a potenziare le capacità antitumorali delle cellule NK tramite appunto l'utilizzo di anticorpi e citochine.
- l'importanza dei recettori KIR e KAR va ribadita perche quando un Nk deve attivarsi è necessario che tra il segnale attivatorio e quello inibitorio sia più intenso il primo. è per questo che nei trapianto aploidentici con KIR incompatibili si ha la scarsa incidenza della Graft vs Host disease, scarsa incidenza di recidiva e rigetto.

Cellule gamma delta

- queste cellule riconoscono i fosfoantigeni (molecole di natura non peptidica prodotte da microrganismi mediante il ciclo di Romer, oppure nei mammiferi stessi tramite il ciclo del Mevalonato) e hanno la capacità di migrare negli organi linfoidi periferici, ma si trovano anche nel sangue circolante.
- possono essere suddivisi per
 - espressione di molecole di superficie
 - identificazione di citochine e molecole ad azione citotossica a livello intracellulare.
 - in base a queste due particolarità possono essere ordinate in 4 differenti subsets:
 - cellule naive - possono andare in contro a proliferazione se esposte a particolari antigeni, producono poche citochine e non hanno attività citotossica
 - cellule della memoria centrale - caratterizzate dall'espressione di tipici marcatori di homing, hanno altra capacità proliferativa e producono **poche** citochine.
 - cellule effettrici - possono proliferare meno delle cellule della memoria centrale, ma producono molte citochine e bassi livelli di perforina
 - cellule terminalmente differenziate - producono alti livelli di molecole ad azione citotossica e bassi livelli di citochine.
- questo ultimo subset si ritrova nel sangue periferico in percentuale di 1-5% sulla popolazione totale di gammadelta
- il riconoscimento dei fosfoantigeni potrebbe essere dannoso per le cellule self, dato che nel nostro metabolismo è prevista la produzione di queste sostanze. ciò non accade perché le quantità prodotte fisiologicamente non sono sufficienti all'attivazione dei gammadelta. se le quantità aumentano si ha una attivazione dei gammadelta che iniziano una via differenziativa verso il subset di cellula effettrice acquisendo capacità di azione citotossica mediante il rilascio di sostanze come la perforina o i granzimi, o l'espressione di recettori ad azione pro-apoptica.
- queste conoscenze possono essere utilizzate nell'approccio terapeutico a tumori, malattie autoimmunitarie e da infezione. è possibile infatti attivare i linfociti gammadelta sia in vitro (per poi reinfonderli) sia direttamente in vivo in senso antitumorale
- in queste stesse situazioni, studiano i gammadelta fenotipicamente è possibile inibirli direttamente. questi linfociti in oltre possono essere utilizzati contro il virus HIV o contro il M. tuberculosis.
- da ciò risulta evidente la poliedricità e la plasticità di queste cellule che possono quindi svolgere molte funzioni:
 - azione citotossica - rilascio di perforina e granzimi
 - ADCC - caratteristica delle cellule terminalmente differenziate, che esprimono la molecola CD16
 - rilascio di citochine - IL-4, IL-10, IL-13, IL-17, IFN gamma ed IFN alfa a seconda del tipo di subset avente funzione regolatoria o adiuvante
 - espressione di recettori induttori di apoptosi - recettori come FAS-L o TRAIL
- le citochine prodotte possono avere la funzione di potenziare le cellule dendritiche.
- per via della produzione citochinica in oltre i gammadelta possono essere utilizzati come adiuvanti somministrabili direttamente attivati, o infondendo direttamente le citochine specifiche.
- allo stesso tempo i gammadelta possono avere funzione regolatoria inibendo risposte autoreattive.
- per influenzare l'efficacia dei linfociti gammadelta è possibile utilizzare dei farmaci che inibiscono la sintesi del colesterolo come le statine, che bloccano l'enzima idrossimetilcoariduttasi (HMG-CoA riduttasi) inducendo una diminuzione della produzione di fosfoantigene, oppure farmaci come i bifosfonati e amminofosfonati.

Cellule NKT

- sono presenti nel sangue periferico in percentuali che vanno dallo 0.1 al 1%
- hanno meccanismi intrinseci di induzione di citotossicità nei confronti di cellule tumorali e per questo vengono utilizzate in particolari trattamenti terapeutici nei quali vengono isolate ed attivate in vitro per essere reinfuse rendendole quindi capaci di attivare le DC le quali potenziano notevolmente l'azione dei CD8
- hanno azione ADIUVANTE in quanto sono in grado di produrre citochine che permettono l'attivazione delle cellule NK (in particolare IFN gamma)

Immuno-evasione tumorale

- alcuni meccanismi di immuno-evasione possono essere di tipo tumore dipendente nel caso in cui si abbia una incapacità del tumore stesso ad indurre una adeguata risposta immunitaria (vuoi per assenza di epitopi antigenici, o assenza di molecole MHC ecc)
- l'assenza di segnali potrebbe essere un altro meccanismo importante perché ancora una volta le DC rivestono un ruolo importante nell'uptake delle cellule tumorali e nella presentazione ai linfociti T
- durante la risposta immunitaria ci sono dei checkpoint importanti per l'azione dei linfociti T: vi sono infatti delle molecole che rappresentano il target terapeutico in tre diverse neoplasie solide, questi anticorpi ripristinano la funzionalità dei linfociti T
- molto importante è l'antigenicità dei peptidi tumorali, e la modalità di presentazione di questi peptidi tumorali che possono indurre tolleranza sia nelle DC che nelle capacità intrinseche dei linfociti T.

Solubilizzazione - perdita di MHC

- i NK riconoscono delle molecole espresse in seguito allo stress cellulare, può accadere che queste si ritrovino in forma solubile (è un meccanismo di evasione della risposta immunitaria)
- la perdita di espressione di MHC1 è un altro meccanismo di evasione, e favorisce a creare un ambiente a favore della crescita tumorale.
- oltre all'immunodeficit ci sono dei meccanismi deficitari dell'ospite che fanno sì che ci sia una progressione del tumore antigenico.
- le cellule APC non sono in grado di presentare l'antigene tumorale e le cellule effettrici che dovrebbero raggiungere la sede tumorale non sono in grado di farlo perché non vengono reclutate quelle molecole importanti come i recettori per le chemiochine affinché le cellule effettrici possano sapere dove arrivare.
- in sintesi i tumori possono inibire la risposta delle cellule immunitarie predisposte ad eliminare: immunopatogenicità; così come possono interferire nell'espressione degli antigeni tramite un meccanismo di endocitosi di peptidi antigenici.

Vivere
Medicina