

I CORPUSCOLI DI VIRCHOW
DALLA PATOLOGIA GENERALE ALLA PATOLOGIA MOLECOLARE

3

Direttore

Massimo CONESE
Università degli Studi di Foggia

Comitato scientifico

Stefano CASTELLANI
Università degli Studi di Foggia

Sante DI GIOIA
Università degli Studi di Foggia

Giuseppe POLI
Università degli Studi di Torino

Bruno MONCHARMONT
Università degli Studi del Molise

I CORPUSCOLI DI VIRCHOW DALLA PATOLOGIA GENERALE ALLA PATOLOGIA MOLECOLARE

La Patologia generale, come disciplina a sé stante, viene concepita come tale a partire principalmente dagli studi di Rudolf Virchow e di Ilie Metchnikoff nella seconda metà del XIX secolo. Dalla scoperta dei “corpuscoli del pus” e dei “macrofagi” molta strada è stata fatta e, oltre l’infiammazione, essa oggi copre molti settori delle moderne Medicina e Biologia: il danno cellulare e l’adattamento dei tessuti, l’invecchiamento, la rigenerazione e la riparazione tissutale, le cellule staminali, la tumorigenesi e l’Oncologia. Ma non solo, perché questa disciplina si è sempre di più correlata ad altre discipline come per esempio l’Endocrinologia e l’Immunologia, ed ha fondato la conoscenza della fisiopatologia delle malattie dei vari apparati e sistemi. Infine, la rivoluzione biotecnologica che caratterizza la fine del XX e l’inizio del XXI secolo ha arricchito la Patologia generale di nuove conoscenze a livello molecolare, permettendo di approfondire a livello sempre più fine i meccanismi alla base delle malattie.

Questa collana mira a presentare nella maniera più vasta e comprensiva possibile tutti gli aspetti più moderni ed aggiornati della Patologia generale, considerata sotto i suoi più diversi approcci metodologici.

Sante Di Gioia, Nicoletta Pignataro
Giuliana Belgiovine, Simona de Nittis
Stefano Castellani, Massimo Conese

High mobility group box 1 e le malattie respiratorie

Ruolo di HMGB1 nella risposta metabolica
di cellule epiteliali respiratorie al lipopolisaccaride batterico



Copyright © MMXVIII
Aracne editrice int.le S.r.l.

www.aracneeditrice.it
info@aracneeditrice.it

via Quarto Negroni, 15
00040 Ariccia (RM)
(06) 45551463

ISBN 978-88-255-1569-5

*I diritti di traduzione, di memorizzazione elettronica,
di riproduzione e di adattamento anche parziale,
con qualsiasi mezzo, sono riservati per tutti i Paesi.*

*Non sono assolutamente consentite le fotocopie
senza il permesso scritto dell'Editore.*

I edizione: maggio 2018

Indice

- 9 *Introduzione*
- 27 *Capitolo I*
Scopo dello studio
- 29 *Capitolo II*
Materiali e Metodi
- 2.1. Linee cellulari epiteliali respiratorie, 29 – 2.2. Stimolazione con LPS, 30 – 2.3. Analisi dei livelli di mRNA mediante Real-Time-PCR, 30 – 2.4. Attività metabolica: MTT-*assay*, 31 – 2.5. FACS: analisi del ciclo cellulare, 31 – 2.6. Valutazione dello stress ossidativo: ROS-*assay*, 32 – 2.7. Trasfezione cellulare, 33 – 2.8. Silenziamento di HMGB1, 34 – 2.9. Analisi statistica, 34.
- 35 *Capitolo III*
Risultati e Discussione
- 3.1. Quantificazione dei livelli di mRNA di HMGB1, 35 – 3.2. Analisi della vitalità cellulare e dell'attività metabolica, 39 – 3.3. Valutazione del ciclo cellulare, 40 – 3.4. Determinazione della produzione di ROS, 42 – 3.5. Silenziamento di HMGB1, 44.
- 49 *Conclusioni*
- 51 *Referenze*

Introduzione

L'epitelio respiratorio: al crocevia della risposta immune

L'epitelio non può essere considerato soltanto come una semplice barriera in grado di opporsi passivamente all'ingresso di microorganismi o tossine di varia natura. Infatti, esso risulta essere fortemente coinvolto nelle risposte difensive, nel ricevere e diffondere segnali infiammatori e nell'agire quale sensore del danno tissutale. Nell'esplicare questa sua fondamentale funzione immunitaria, l'epitelio si avvale di un importante meccanismo di *signaling* intracellulare: l'inflammasoma [1].

Le cellule epiteliali respiratorie agiscono in primo luogo come barriera fisica in grado di proteggerci sia da eventuali sostanze dannose inalate sia da agenti patogeni. Tuttavia, all'epitelio, si riconoscono attualmente, funzioni ben più complesse [2-4]. Difatti, le cellule epi-

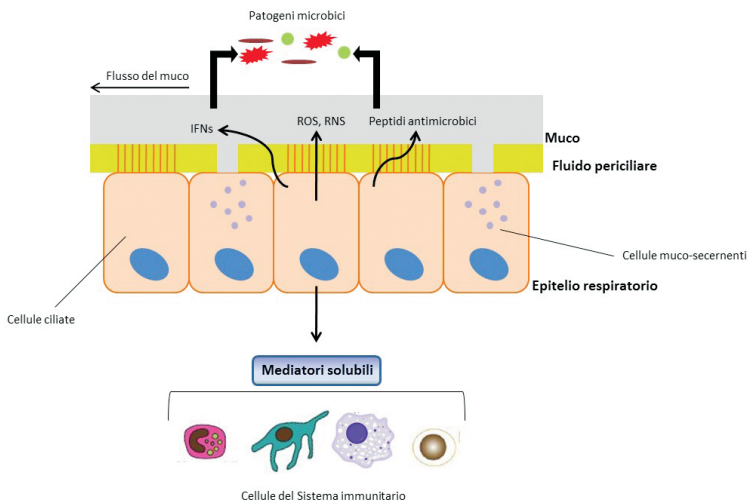


Figura 1. Meccanismi di difesa dell'epitelio respiratorio.

teliali respiratorie esprimono i *Pattern Recognition Receptors* (PRR), i quali agiscono come importantissime strutture recettoriali, in grado di riconoscere i patogeni microbici attivando i meccanismi di difesa delle vie aeree. Tra questi recettori un ruolo di primo piano è sicuramente svolto dai recettori appartenenti alla famiglia dei *Toll-like* (TLR). Vi sono molte altre molecole che possono agire come PRR, e tra questi ricordiamo i recettori di membrana lectinici di tipo C e quelli citoplasmatici che comprendono i *retinoic acid-inducible gene-I-like* (RLRs) e i recettori *NOD-like* (NLRs; dove NOD sta per *nucleotide oligomerization domain*). L'epitelio respiratorio partecipa attivamente alla difesa contro i microorganismi (Fig. 1) non solo mediante la clearance mucociliare ma anche mediante la produzione di peptidi antimicrobici (defensine e catelecidine), specie reattive dell'ossigeno (ROS), specie reattive dell'azoto (RNS), interferoni antivirali (tipo I e tipo III) e meccanismi autofagici.

Mediante la produzione di mediatori solubili, l'epitelio respiratorio attiva e recluta le cellule dendritiche, le cellule T e B, favorisce la produzione di anticorpi ed altre risposte immunitarie adattative [5]. A livello locale, le risposte delle cellule T e la produzione di immunoglobuline sono processi importanti sia per la protezione dai patogeni sia per il loro coinvolgimento nei meccanismi patogenetici di varie condizioni morbose infiammatorie delle vie aeree. Queste risposte coinvolgono la produzione epiteliale di citochine e chemochine, come per esempio BAFF, SLPI, e IL-33.

L'epitelio respiratorio è comunque dotato di una certa capacità rigenerativa e riparativa, grazie alla presenza di "nicchie" di cellule progenitrici [6]. Come tali, le cellule progenitrici endogene polmonari possono servire da popolazione di riserva che può attivarsi sia ai fini dell'omeostasi tissutale sia, in misura più rilevante, in seguito a deplezione del pool facoltativo di progenitori. In questo senso, si è ipotizzato che le malattie respiratorie siano, in parte, la conseguenza della incapacità delle cellule staminali endogene di rigenerare il tessuto danneggiato [7]. È indubbio che l'epitelio respiratorio rigeneri in seguito al danno subito da agenti esogeni come anche da mediatori endogeni. L'aumento della proliferazione delle cellule epiteliali respiratorie è correlato al rimodellamento delle vie aeree che avviene in malattie infiammatorie croniche dell'albero bronchiale come l'asma.