

TULATROMICINA

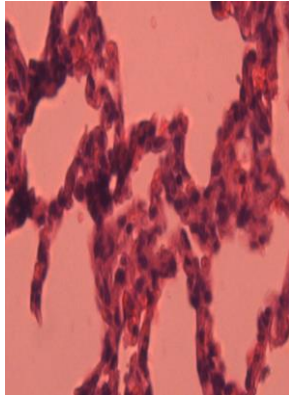
EFFETTI SULL'INFIAMMAZIONE

Paola Zanardelli

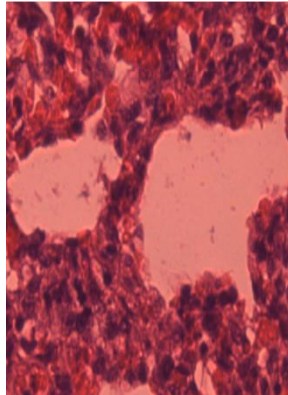
Mantova, 03/03/2017

zoetis

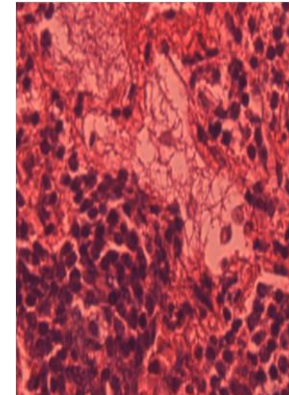
IL PROCESSO INFIAMMATORIO



Tessuto sano



3 h post infezione con APP



24 h post infezione con APP

Buret A, Can J Vet Res 2010

L'infezione, causata dall'introduzione e moltiplicazione di un batterio in un organismo animale, scatena un **processo flogistico** al quale l'organismo risponde attivando il sistema immunitario.

GRANULOCITI



NEUTROFILO



EOSINOFILO



BASOFILO



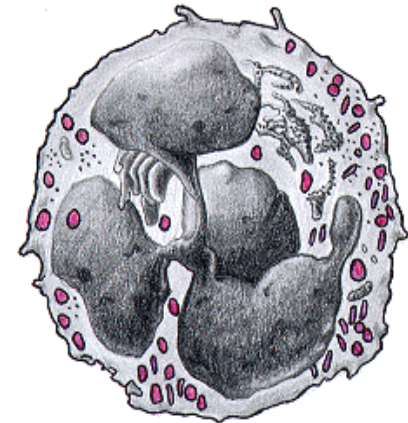
I neutrofili sono cellule molto mobili che intervengono nelle fasi iniziali della risposta infiammatoria. Dotati di **attività fagocitaria**, contengono vari enzimi idrolitici, perossidasi, lactoferrina, ed enzimi antibatterici quali fagocitina e lisozima. Per questi motivi sono deputati a:

- Difendere l'organismo dalle infezioni batteriche
- Fagocitare e distruggere l'agente patogeno

GRANULOCITA NEUTROFILO

Normalmente terminano la propria vita andando incontro ad **apoptosi**

In alcuni casi i batteri fagocitati sono in grado di resistere all'interno del neutrofilo e di generare la sua morte cellulare per **necrosi**

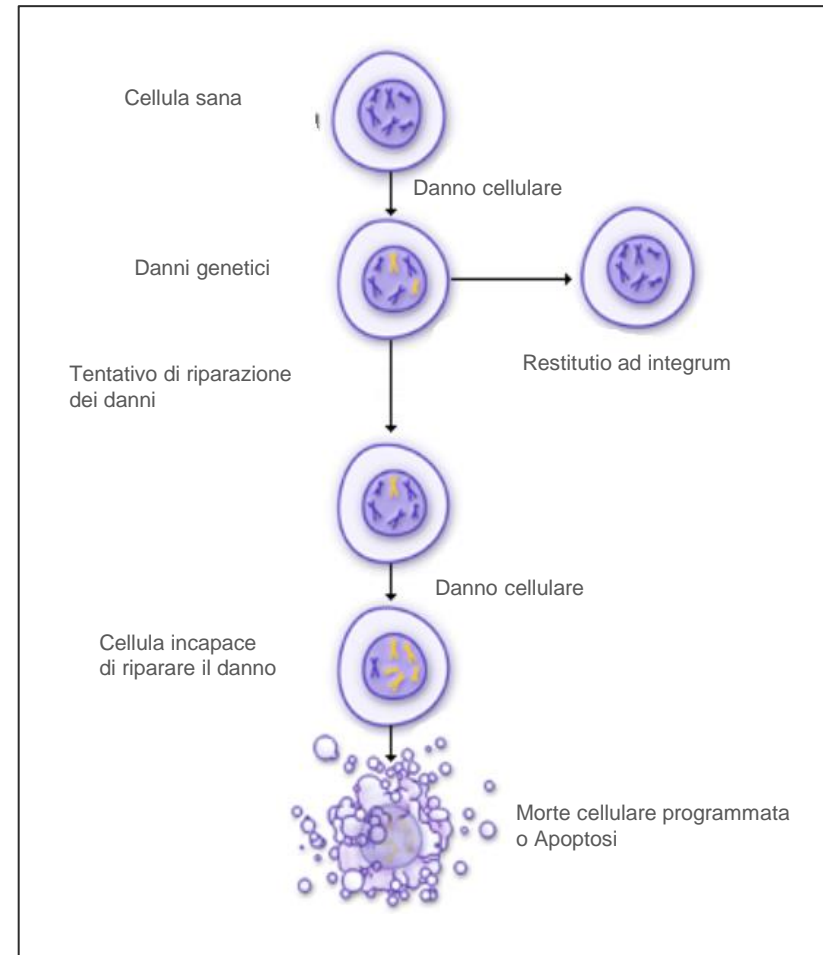


APOPTOSI

L'apoptosi, detta anche **morte cellulare programmata**, avviene a seguito della fagocitosi dei batteri da parte dei granulociti neutrofili, ed è mediata da enzimi cellulari detti caspasi.

La morte cellulare programmata permette:

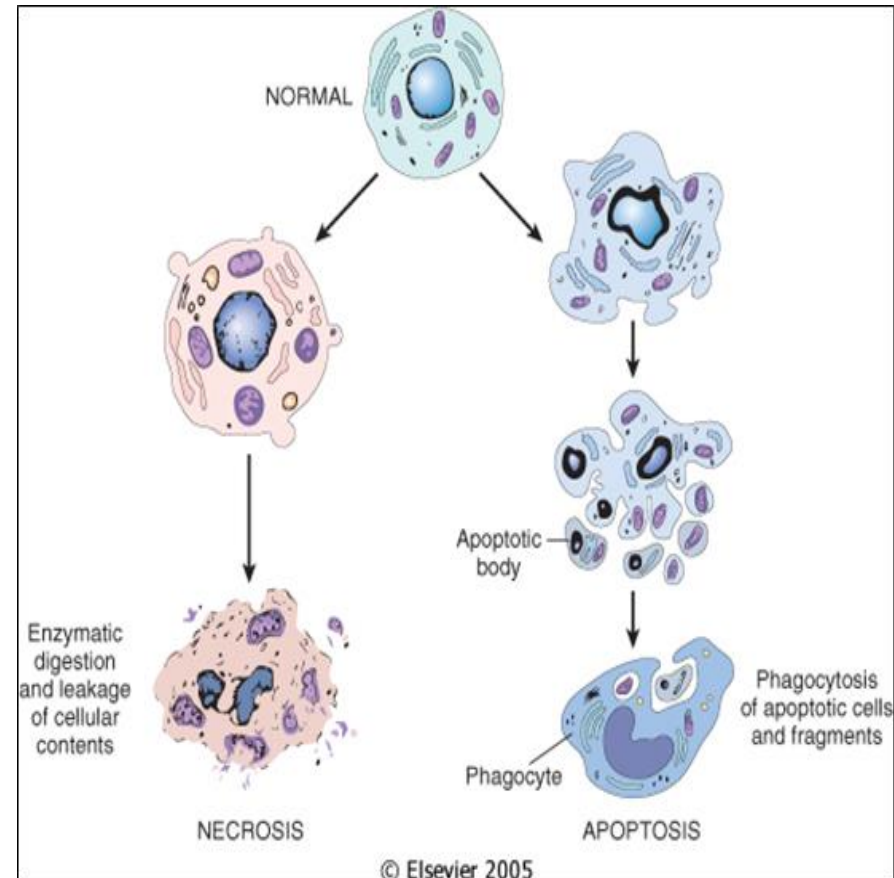
- *Turnover cellulare* nei tessuti proliferativi
- Morte delle *cellule tumorali*
- Distruzione programmata di alcune cellule durante l'embriogenesi
- Morte dei neutrofili durante un normale processo infiammatorio



NECROSI

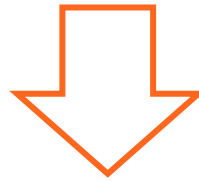
Al contrario, la **necrosi** è l'insieme dei fenomeni morfologicamente osservabili cui la cellula va incontro in seguito a *morte prematura* per cause non naturali.

- Cause: ipossia, temperature estreme, tossine, traumi etc.
- Quasi sempre dannosa
- Produzione di scorie e detriti difficili da smaltire
- Meccanismo che alimenta il processo infiammatorio



EFFEROCITOSI

Recupero e fagocitosi delle cellule apoptotiche e necrotiche effettuata dai **macrofagi** e cellule dendritiche circolanti.



PRODOTTI RILASCIATI DAI NEUTROFILI IN GRADO DI GENERARE UN DANNO TISSUTALE

- *Ioni superossido*
- *Perossido di idrogeno*
- *Acidi (ac. Ipocloroso)*
- *Enzimi (mieloperossidasi, lisozima, elastasi)*
- *Leucotrieni (ltb4 – potente agente pro-infiammatorio)*

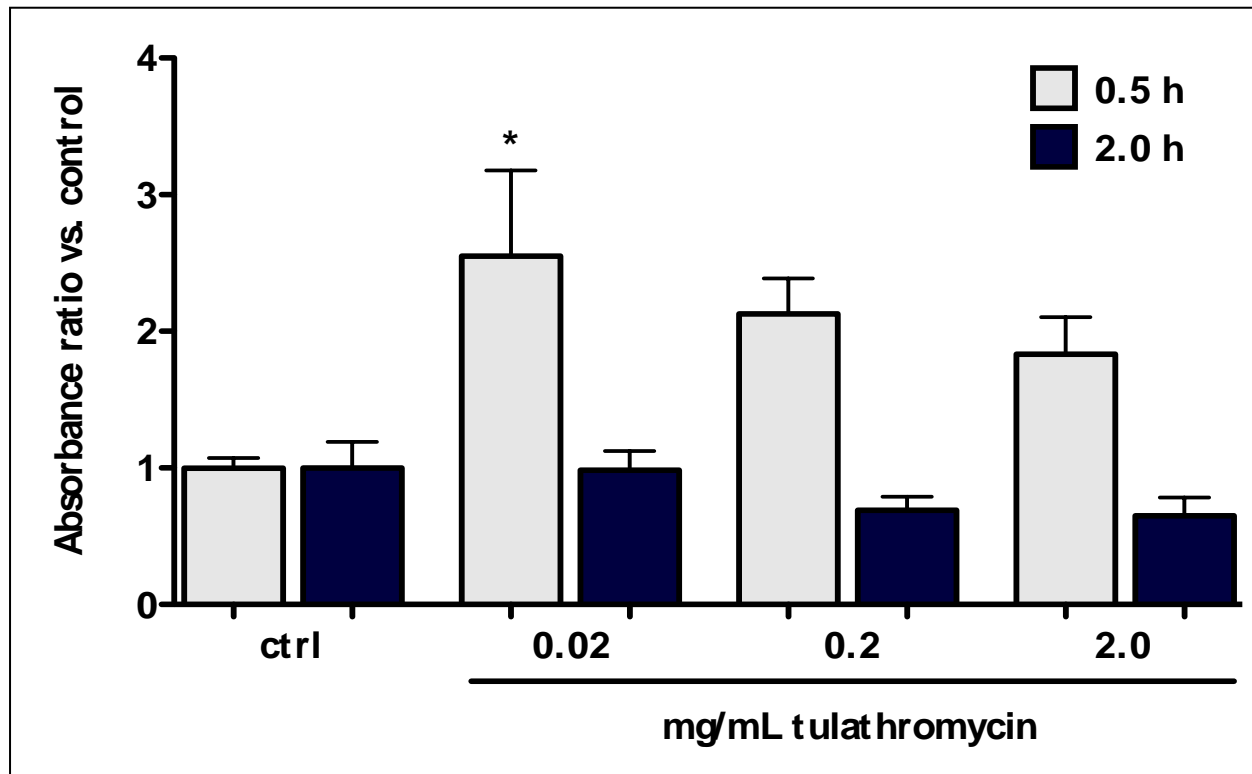
RIASSUMENDO...

- I neutrofili sono programmati per una morte con apoptosi
- Quando i neutrofili muoiono tramite necrosi viene perpetuato lo stato di infiammazione
- L'apoptosi dei neutrofili ha un effetto antinfiammatorio
- La fagocitosi dei corpi apoptotici dei neutrofili operata dai macrofagi ha effetti anti-infiammatori diretti

UNA MOLECOLA IN GRADO DI INDURRE L'APOPTOSI - E NON LA NECROSI - DEI NEUTROFILI, AVRÁ PROPRIETÁ ANTINFIAMMATORIE.

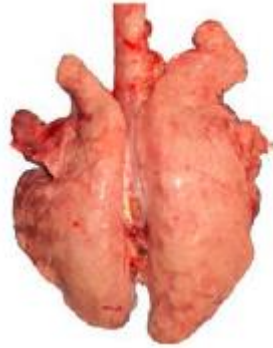
EFFETTO DELLA TULATROMICINA

La Tulatromicina induce apoptosi dei neutrofili in una maniera tempo e dose dipendente

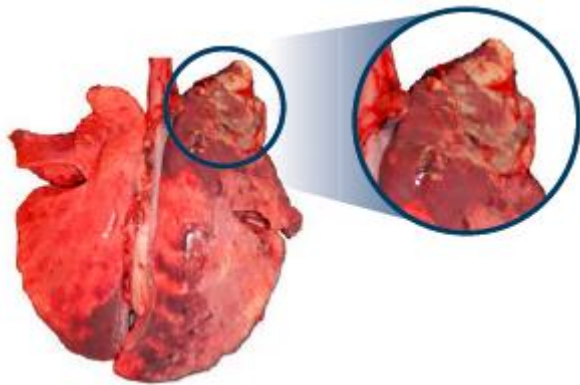


Cell death detection **ELISA**

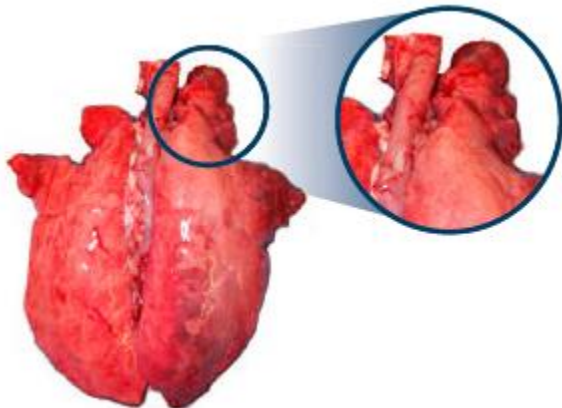
EFFETTO MACROSCOPICO DELLA TULATROMICINA



CONTROLLO



APP



APP + TUL

Polmoni 24 ore dopo l'infezione con APP con trattamento Draxxin® (APP + TUL) e senza trattamento (APP) confrontati con controllo negativo senza infezione.

QUALCHE DEFINIZIONE

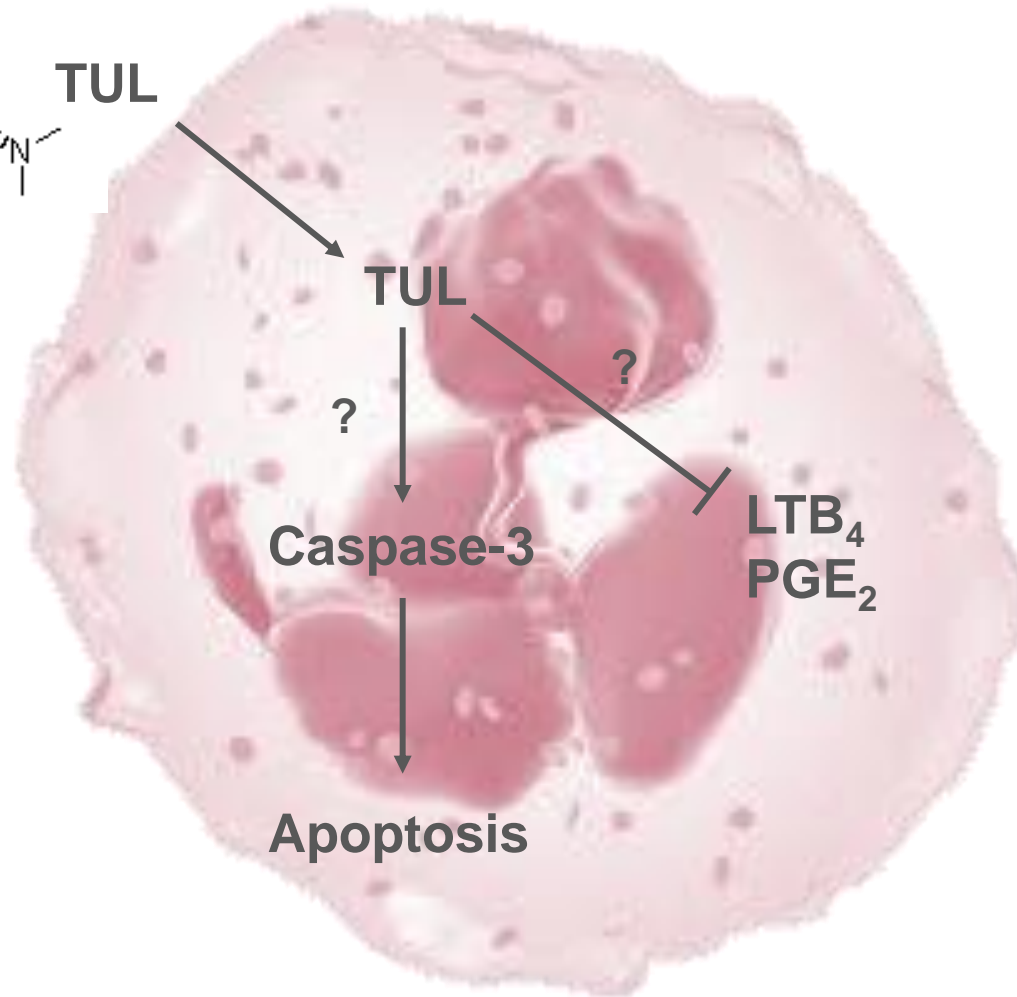
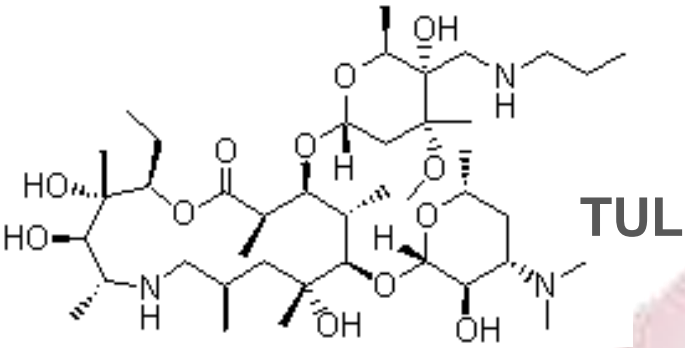
CASPASI-3 : Le caspasi sono un gruppo di proteasi presenti a livello intracellulare che danno inizio all'apoptosi (digeriscono il citoscheletro della cellula). Questi enzimi in condizioni normali sono soppressi dalla proteina IAP.

LTB₄ : I leucotrieni sono molecole lipidiche con funzioni pro-infiammatorie, in questo caso il leucotriene-4 oltre a sostenere e amplificare localmente i processi infiammatori, ha un ruolo chemiotattico nella diapedesi di neutrofili.

PGE₂ : rivestono un ruolo biologico importante come mediatori flogistici, derivati dall'acido arachidonico vengono prodotte attraverso la via ciclossigenasica.

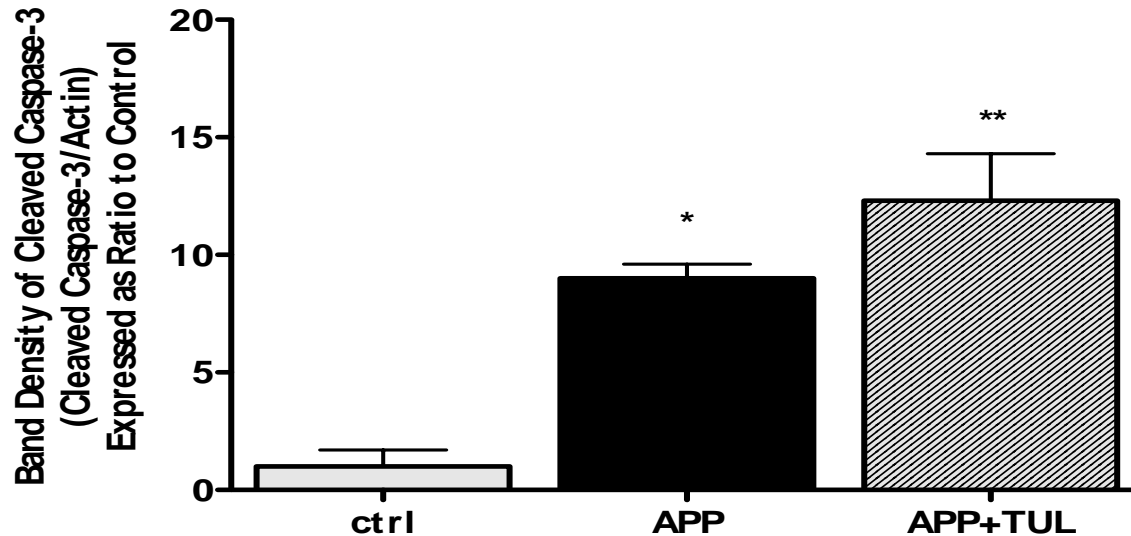
CXCL₈ : (detta anche interleuchina 8 o IL-8) questa chemochina prodotta dai macrofagi è un importante mediatore della risposta immunitaria innata. Induce chemotassi dei granulociti ed anche la fagocitosi da parte degli stessi.

EFFETTI DI TULATROMICINA SUI NEUTROFILI



APOPTOSI DEI NEUTROFILI DURANTE L'INFEZIONE

Activation of Caspase-3 Detected by Western Blot
Neutrophils co-incubated with APP (MOI 4:1) and TUL (0.02 mg/mL) for 0.5h
n=4

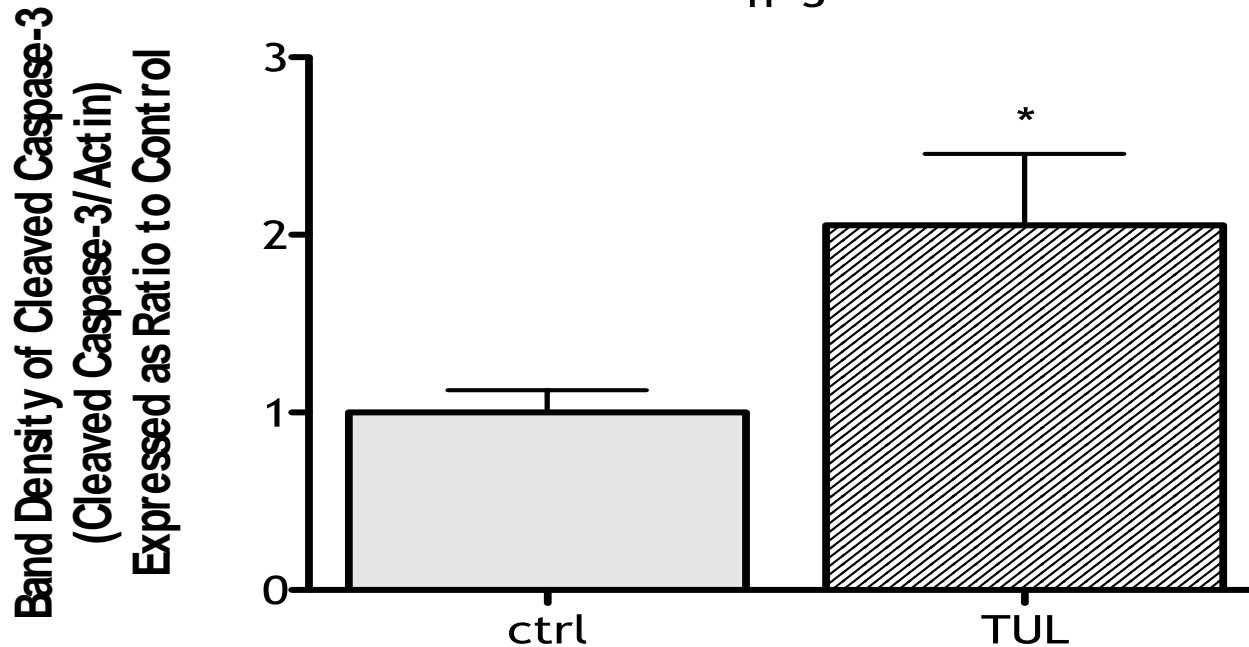


Una porzione di neutrofili, va incontro a naturale apoptosi ANCHE durante un'infezione come quella dell' APP.

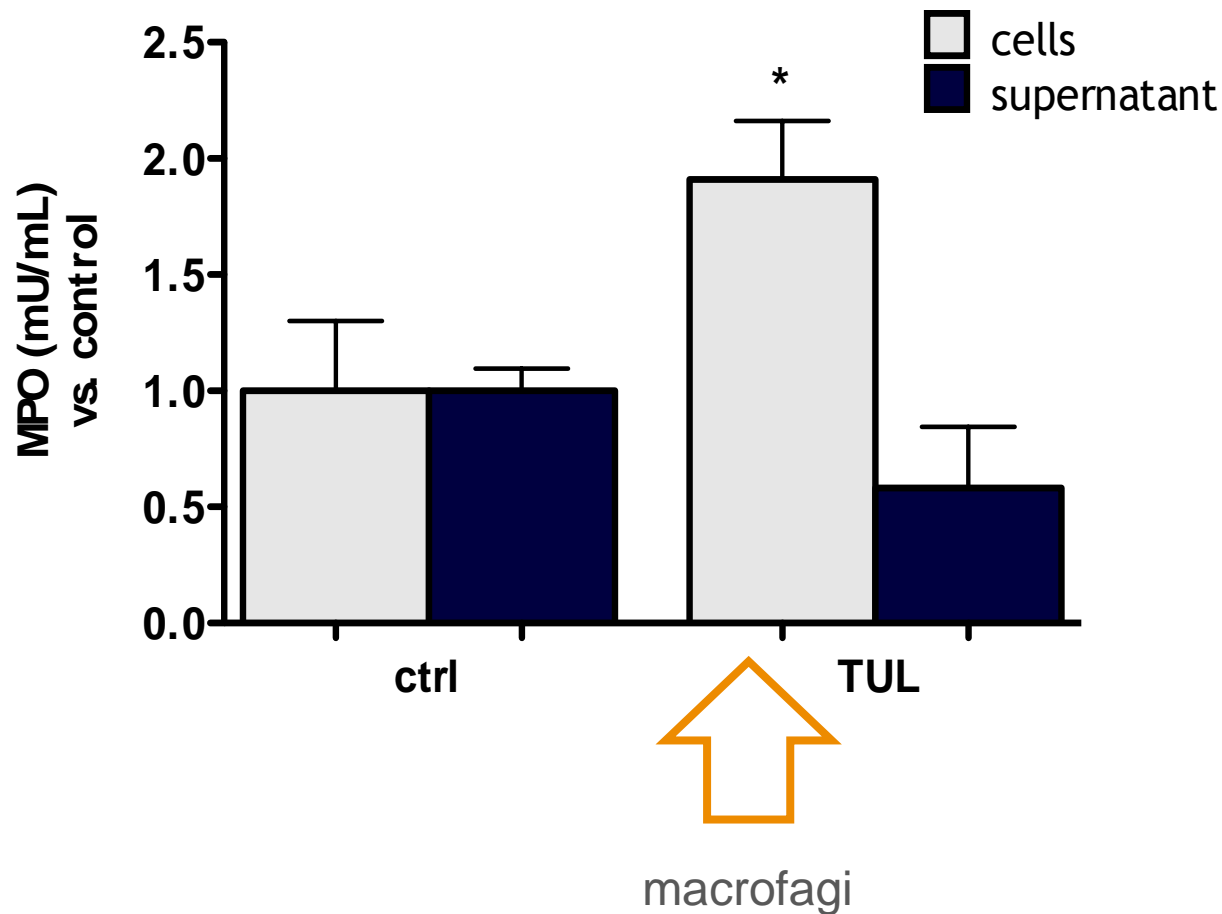
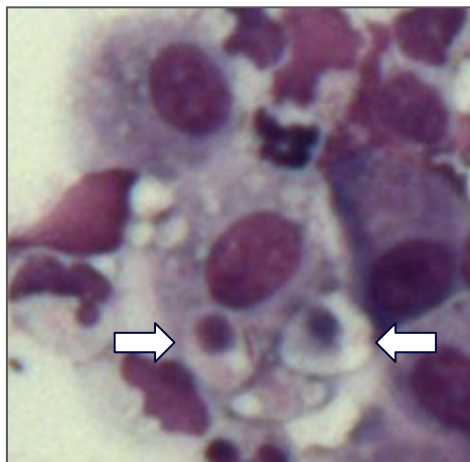
La co-incubazione con presenza tulatromicina *accresce* la parte di neutrofili che vanno in apoptosi.

TULATROMICINA INDUCE L'ATTIVAZIONE DELLA CASPASI 3 (ATTIVITÀ DI CLIVAGGIO)

Activation of Caspase-3 Detected by Western Blot
Neutrophils treated with TUL (0.02 mg/mL) for 0.5h
n=3

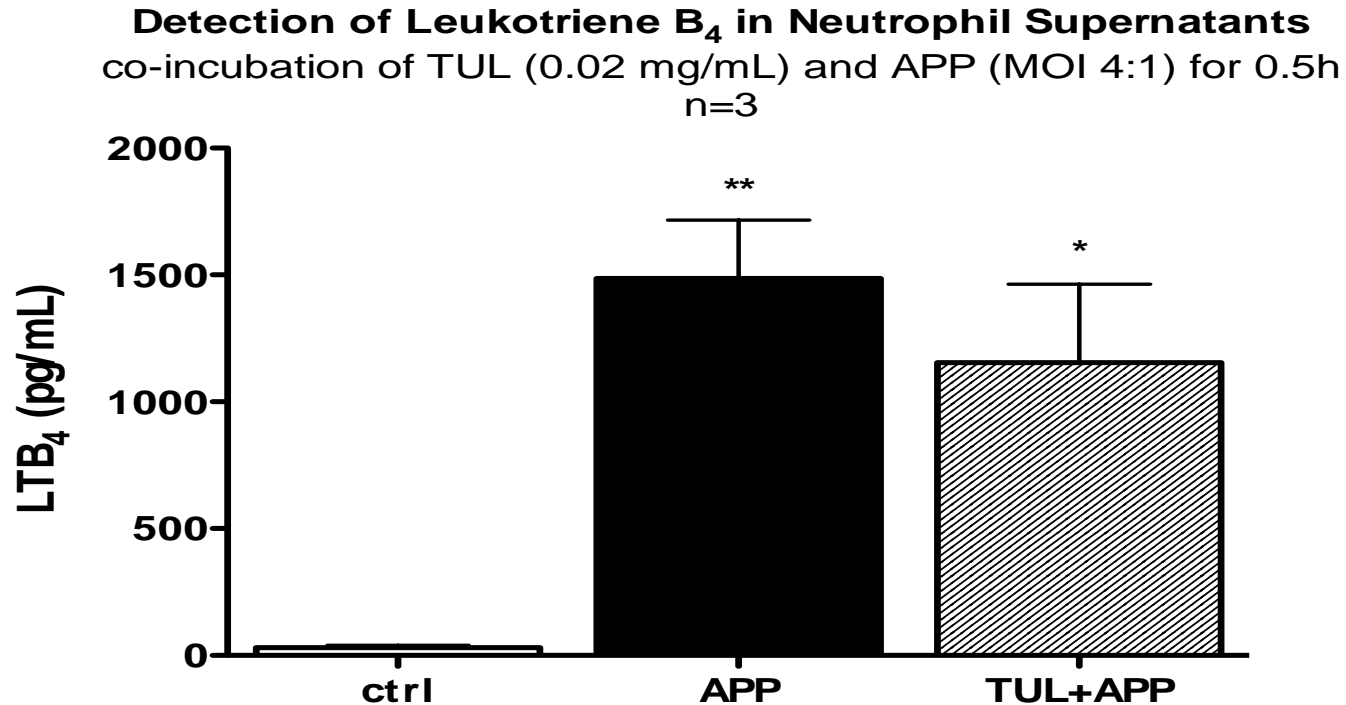


EFFEROCITOSI DI NEUTROFILI TRATTATI CON TULATROMICINA

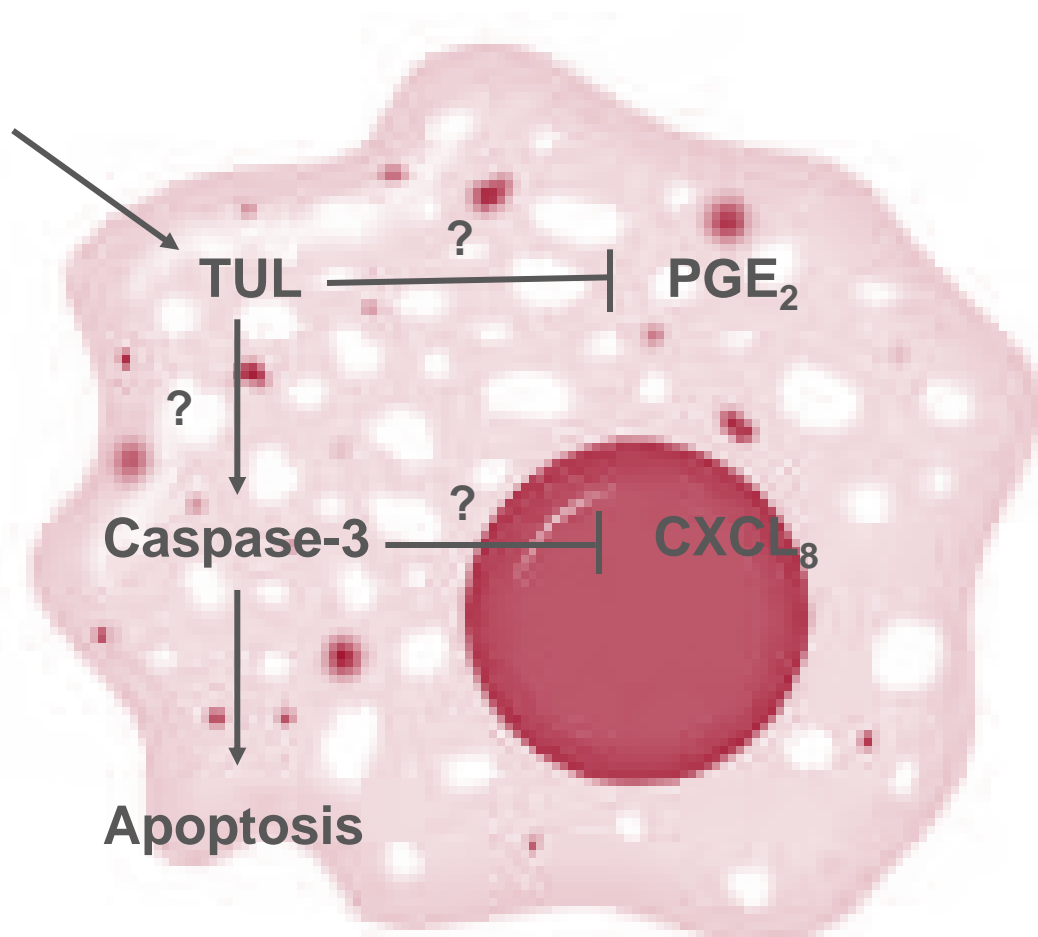
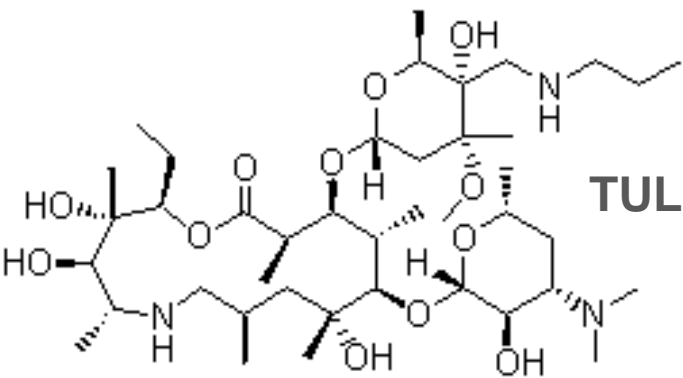


ULTERIORE EFFETTO ANTINFIAMMATORIO

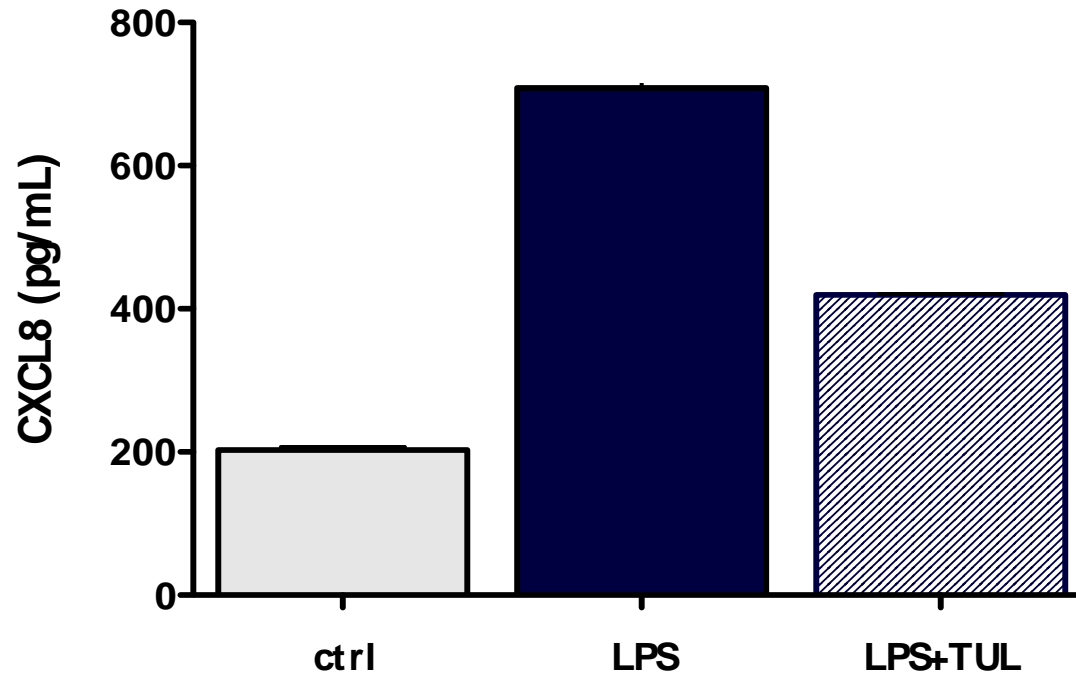
Tulatromicina induce una minore produzione di LTB_4 (indotta da APP) da parte dei neutrofili



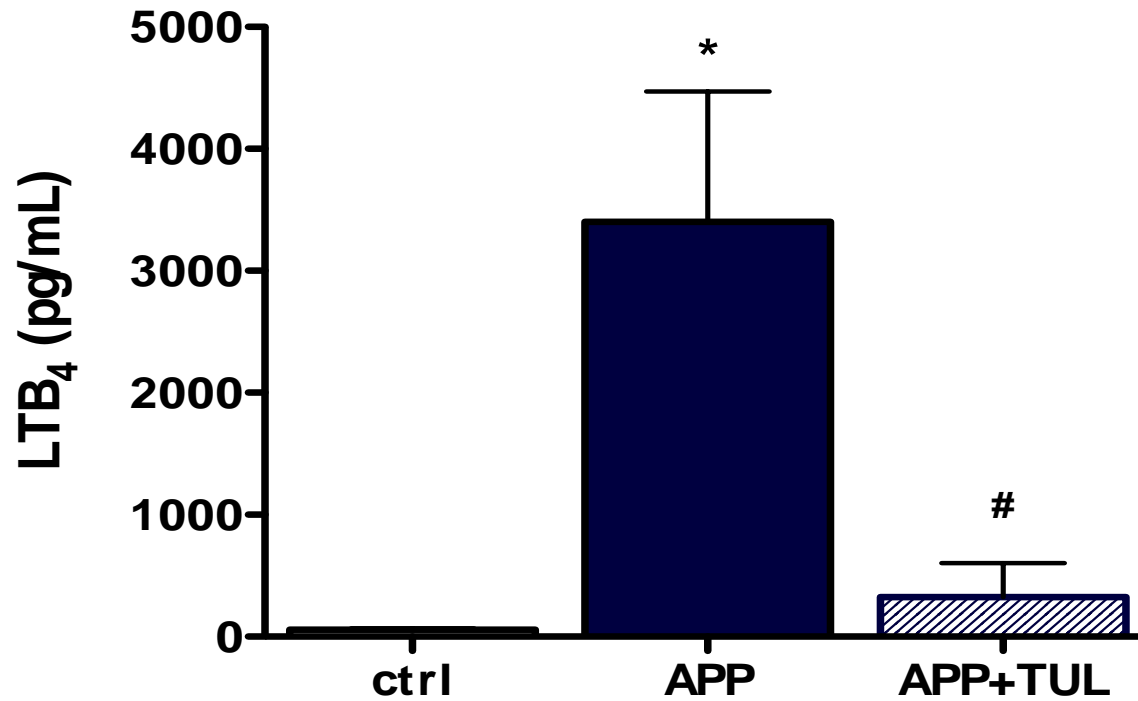
EFFETTI DI TULATROMICINA SUI MACROFAGI



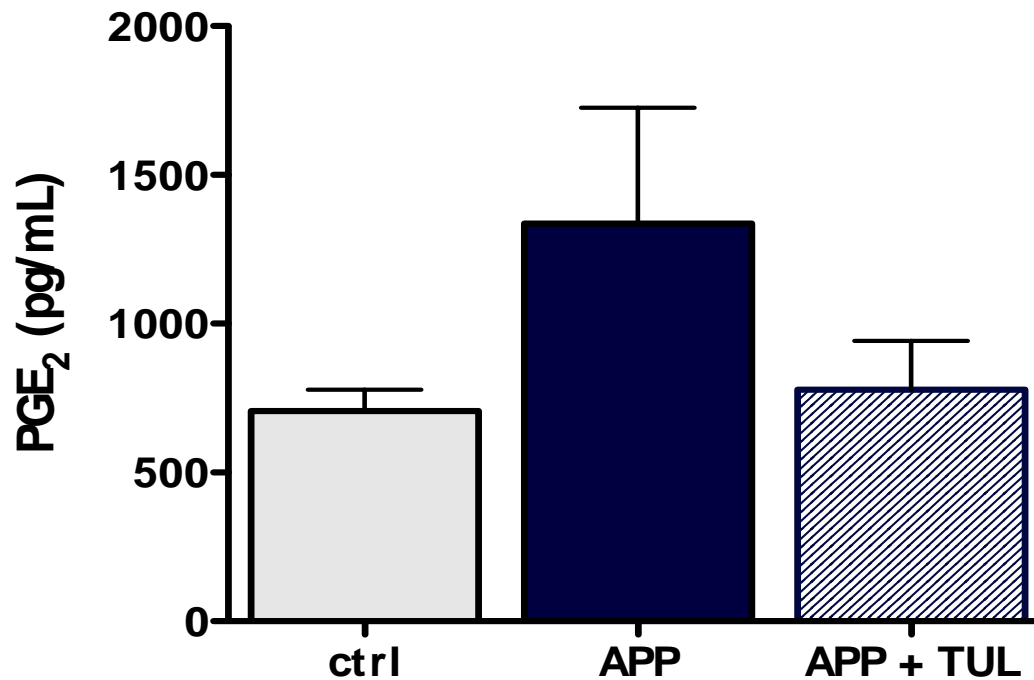
TULATROMICINA INIBISCE LA SECREZIONE DI CXCL8 (IL8) INDOTTA DA LPS DI ORIGINE BATTERICA DA PARTE DEI MACROFAGI



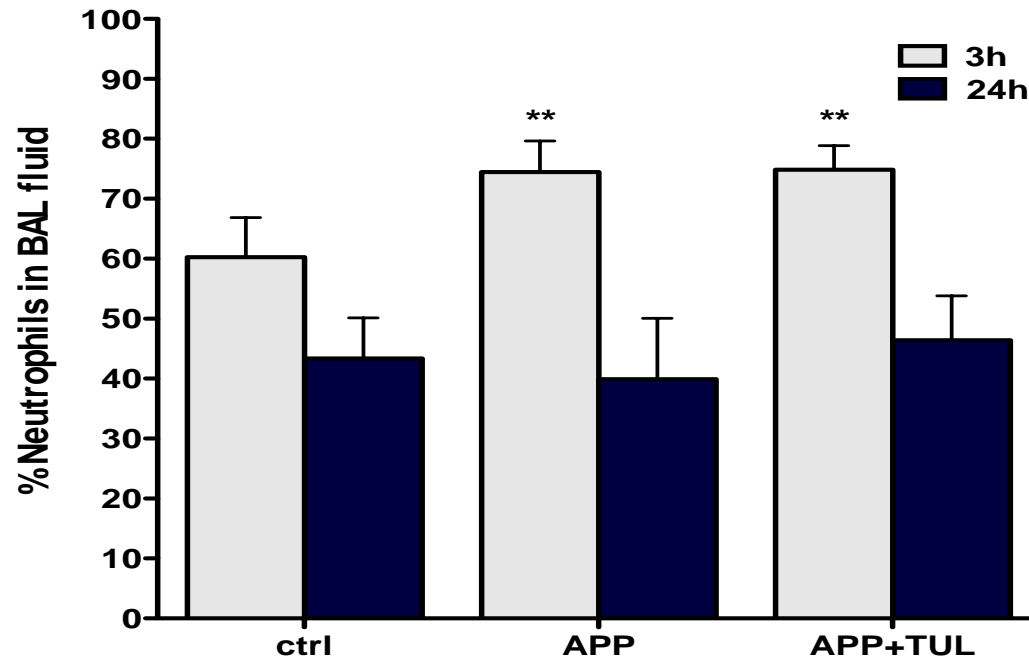
MEDIATORI PROINFIAMMATORI A LIVELLO DI FLUIDO BAL – LTB₄



MEDIATORI PROINFIAMMATORI A LIVELLO DI FLUIDO BAL – PGE₂



NEUTROFILI A LIVELLO DI LIQUIDO DI LAVAGGIO BRONCO-ALVEOLARE POST-INFEZIONE



Nessun effetto apparente della tulatromicina sul reclutamento dei neutrofili a livello del polmone colpito

TAKE HOME MESSAGE

Tulatromicina

- Riduce le lesioni macroscopiche e microscopiche istologiche
- Non influenza negativamente il *reclutamento dei neutrofili*
- Induce **apoptosi** nei neutrofili
- Stimola l'**efferocitosi** da parte dei macrofagi
- **Inibisce** la cascata pro-infiammatoria

IN CONCLUSIONE



Questi effetti antinfiammatori della Tulatromicina a livello di organi colpiti e completamente **indipendente** dall'attività antimicrobica della molecola.

FINE...?

zoetis