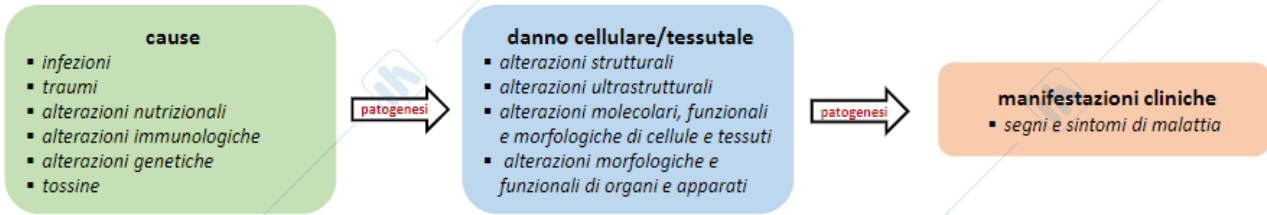


1. DANNO CELLULARE

La patologia studia le cause delle malattie (=la malattia è la perdita della condizione di benessere) e le alterazioni che ne derivano a livello cellulare, tissutale e sistemico, le quali hanno origine a segni e sintomi nel paziente.



Infezioni: causate da un agente microbico

Alt nutrizionali: dovute a deprivazioni nutrizionali o da eccessi alimentari

Alt strutt: sono alterazioni micro/macroscopiche (visibili ad occhio nudo o micr. ottico)

Alt ultrastrutt: visibili attraverso strumenti che permettono di visualizzare le strutture interne delle cellule

Alt molec: legate alle cause della malattia

Alt funz: viene modificato il metabolismo della cellula

Alt morf: causate dalle alt mol. e possono riguardare tessuti e apparati

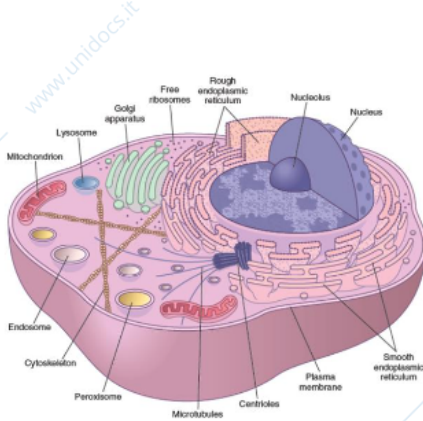
Segni: manifestazioni oggettive e misurabili

Sintomi: manifestazioni soggettive

L'eziologia rappresenta l'origine della malattia, quindi studia le cause e i fattori responsabili delle alterazioni che si osservano nell'organismo mentre la patogenesi indica le fasi evolutive della malattia quindi l'eziologia spiega perché la malattia insorge mentre la patologia indica come si evolve.

Le cellule interagiscono attivamente con l'ambiente extracellulare adattando costantemente la loro struttura e funzione alle mutate richieste esogene e agli stress extracellulari.

Rappresentazione schematica di un epatocita e dei suoi componenti

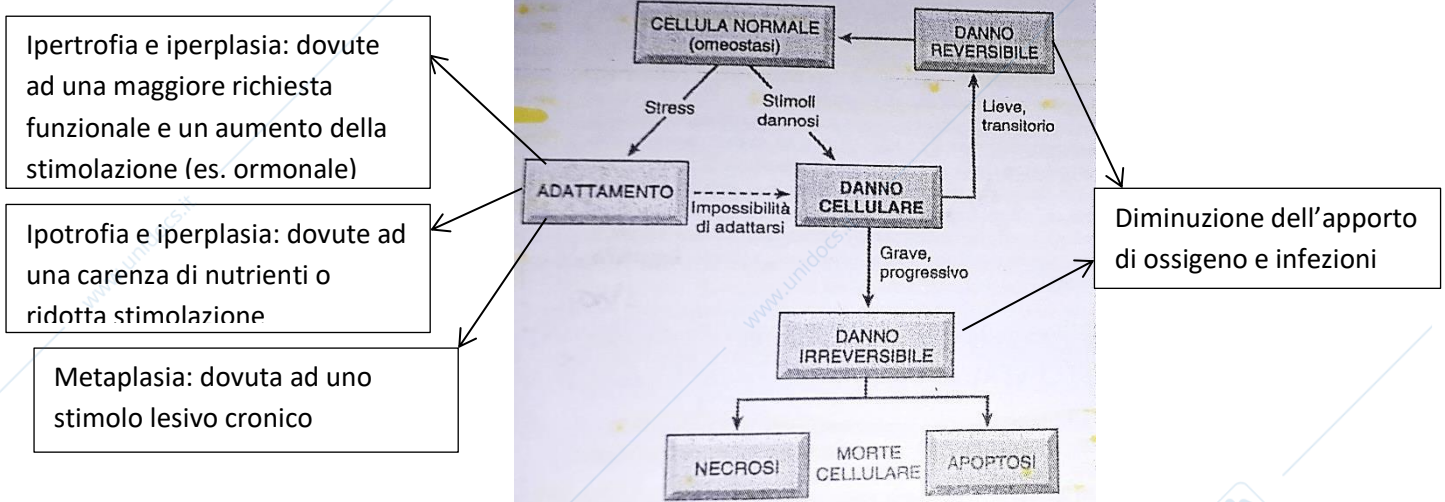


compartimento	%vol, n/cellula	funzione
citosol	54%, 1	Metabolismo, trasporto, traduzione
mitocondri	22%, 1700	Produzione di energia, regolazione morte-sopravvivenza
RE rugoso	9%, 1	Sintesi proteica
RE liscio, Golgi	6%, 1	Modificazioni post-traduzionali, «sorting» proteico, catabolismo
nucleo	6%, 1	Centro di controllo, programmazione e coordinamento
endosomi	1%, 200	Trasporto e spostamenti intra ed extracellulari
lisosomi	1%, 300	catabolismo
perossisomi	1%, 400	Metabolismo ac. grassi a catena lunga

I vari componenti delle cellule sane operano in modo integrato e si mantengono le cellule in uno stato di equilibrio detto *omeostasi* ovvero la capacità della cellula di mantenere stabile la composizione del mezzo intracellulare e le funzioni al variare delle condizioni dell'ambiente in cui essa vive.

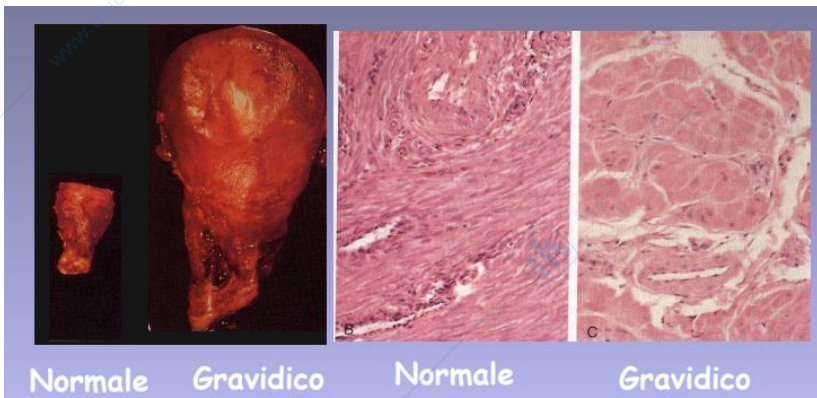
Le cellule esposte a stress fisiologici e stimoli patologici e lesivi ma non letali possono andare incontro ad adattamenti per mantenere le proprie funzionalità vitali, raggiungendo un nuovo stato di equilibrio. Le principali risposte adattive sono l'*ipertrofia*, l'*iperplasia*, l'*atrofia* e la *metaplasia*. Quando lo stress supera la

capacità di adattamento. Quando lo stress supera la capacità di adattamento o è intrinsecamente nocivo, si sviluppano *danni cellulari/alterazioni cellulari*. Entro certi limiti tali alterazioni sono *reversibili* (quindi se è un evento lesivo moderato e transitorio) e permettono alla cellula di tornare allo stato basale mentre stress gravi e persistenti possono causare *danni cellulari/alterazioni irreversibili* e conseguente morte cellulare. La *morte cellulare* è un evento cruciale nell'evoluzione di tutti i processi patologici che interessano tessuti e organi. Quindi un tipo di stress induce adattamenti cellulari o danni reversibili/irreversibili non solo in base alla natura e alla gravità dello stress ma anche in base ad altre variabili come il metabolismo basale della cellula, l'apporto di sangue e nutrienti.



Vi sono altre tipologie di stimolo/evento lesivo come le alterazioni del metabolismo (genetiche e acquisite) che portano come risposta cellulare ad un accumulo cellulare di vario tipo e anche vi è l'evento lesivo sub-letale cronico con effetti cumulativi che ha come risposta cellulare l'invecchiamento cellulare.

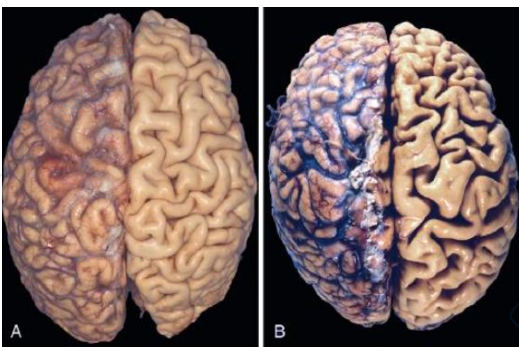
Ipertrofia: è l'aumento delle dimensioni delle cellule con conseguente aumento delle dimensioni dell'organo. Quindi l'organo ipertrofico non ha cellule nuove ma solo cellule più grandi e vi è un aumento della sintesi delle proteine cellulari e di organelli. L'iperatrofia è una risposta delle cellule che hanno perso la capacità di dividersi. L'iperatrofia che sia *fisiologica* o *patologica* è causata da aumentate richieste funzionali, dalla stimolazione ormonale o da fattori di crescita. Un esempio di ipertrofia fisiologica è l'aumento del volume dell'utero (*iperatrofia dell'utero*) in gravidanza indotta dagli estrogeni.



Un esempio di ipertrofia (è un'iperatrofia che può portare a possibili conseguenze patologiche) patologica è l'*iperatrofia miocardica* ovvero un aumento del volume del cuore. Questa testimonia un adattamento del muscolo cardiaco che migliora la performance meccanica (come nel caso dell'ipertensione) ma tuttavia c'è un limite all'ingrandimento dei miocardiociti, superato il quale si produrranno delle alterazioni cellulari come una riduzione della capacità contrattile e alla fine si ottiene una insufficienza cardiaca.

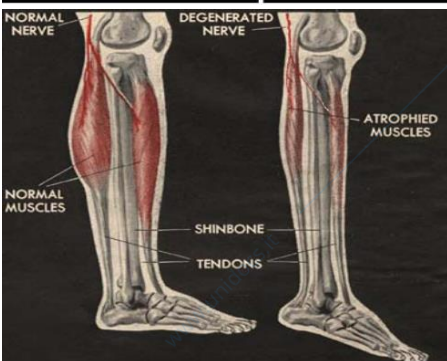
Iperplasia: è l'aumento del numero delle cellule causato dalla proliferazione delle cellule differenziate e dalla sostituzione di cellule tramite l'utilizzo delle cellule staminali tissutali con conseguente aumento delle dimensioni di un tessuto o di un organo. L'iperplasia è una risposta delle cellule in grado di replicarsi. Essa può coesistere con l'ipertrofia ed entrambe causano un aumento di volume dell'organo anche se sono due processi distinti. Anche l'iperplasia si può distinguere in *iperplasia fisiologica* e *iperplasia patologica*. L'iperplasia fisiologica è associata all'aumento fisiologico di segnali proliferativi e si divide in: *iperplasia ormonale* ad esempio l'ingrandimento dell'epitelio della ghiandola mammaria femminile durante la pubertà e durante la gravidanza; *iperplasia compensatoria* nella quale l'iperplasia si sviluppa nel tessuto residuo di un organo che ha subito una resezione o una perdita parziale come l'iperplasia nella rigenerazione epatica e un altro esempio è l'iperplasia del midollo emopoietico ad esempio nelle emorragie. L'iperplasia patologica è associata all'azione eccessiva o inappropriata di segnali proliferativi e si divide in: *iperplasia endometriale* che non è altro che una alterazione del bilancio estrogeno-progestinico, quindi uno squilibrio tra estrogeni e progesterone con aumento di estrogeni e stimolazione eccessiva della proliferazione delle cellule endometriali, quindi porta ad un sanguinamento mestruale patologico; *iperplasia prostatica* dovuta da una eccessiva stimolazione androgenica e l'iperplasia patologica è un terreno fertile per lo sviluppo di *patologie tumorali* (cancro). L'iperplasia che sia fisiologica o patologica la proliferazione cellulare è stimolata da fattori di crescita prodotti da vari tipi cellulari.

Atrofia (ipotrofia): è la riduzione delle dimensioni cellulari con conseguente riduzione delle dimensioni di un tessuto o di un organo causata da perdita del contenuto. Le cellule atrofiche hanno una funzionalità ridotta ma non sono morte. L'atrofia è spesso accompagnata dall'ipoplasia ovvero dalla riduzione del numero delle cellule. L'atrofia può essere anch'essa *fisiologica* e *patologica*. Un esempio di atrofia fisiologica è l'evento normale nello *sviluppo embrionale*, nell'adulto e *involuzione dell'utero* dopo il parto. L'atrofia patologica è dovuta ad una riduzione degli appropriati segnali di crescita e di proliferazione e si distinguono in: *atrofia da disuso* per il ridotto carico di lavoro che causa un'atrofia muscolare per prolungata immobilizzazione ad esempio di un arto per consentire la guarigione di una frattura; *atrofia da perdita di innervazione* ovvero atrofia muscolare da denervazione; *atrofia da riduzione cronica dell'apporto sanguigno* come la stenosi aterosclerotica; *atrofia da malnutrizione* anche da denutrizione; *atrofia da perdita di stimolazione endocrina* e da *invecchiamento* come l'atrofia senile; *atrofia da compressione*.



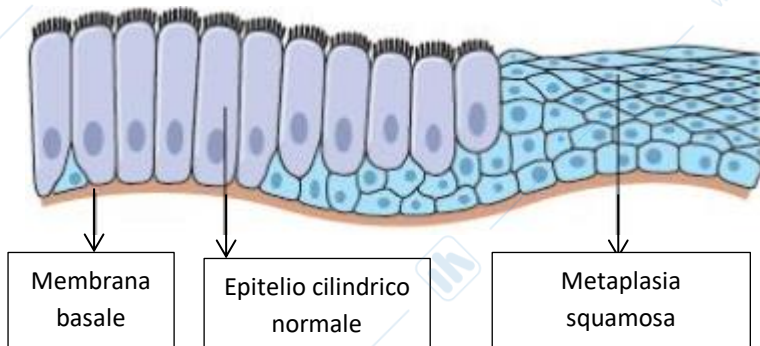
(A) 32 anni (cervello giovane)

(B) 82 anni (cervello adulto) con aterosclerosi dovuta all'invecchiamento e al ridotto apporto ematico. La perdita di sostanza cerebrale riduce il volume delle circonvoluzioni e allarga i solchi



Atrofia muscolare

Metaplasia: è un'alterazione reversibile della differenziazione cellulare e comporta la sostituzione di un tipo di cellula adulta con un altro tipo o meglio dopo un particolare stress un tipo cellulare sensibile viene sostituito con un tipo cellulare più resistente all'ambiente avverso. La metaplasia deriva dalla riprogrammazione delle cellule staminali che vengono indotte a differenziarsi in un diverso tipo cellulare piuttosto che da cambiamenti fenotipici di cellule già differenziate. Un esempio di metaplasia è la *metaplasia squamosa* dell'epitelio respiratorio dei fumatori cronici. Questa metaplasia consiste nella sostituzione dell'epitelio cilindrico ciliato della mucosa bronchiale (trachea e bronchi) con un epitelio squamoso pluristratificato per esposizione cronica a stimoli irritanti (ad esempio fumo di sigaretta, inquinanti ambientali). L'epitelio squamoso pluristratificato è più resistente e sopravvive meglio alle sostanze nocive contenute nel fumo di sigaretta rispetto al più fragile epitelio cilindrico specializzato che non sarebbe in grado di tollerarle. Questa resistenza costituisce un "vantaggio" ma vi è anche la perdita di alcuni importanti meccanismi protettivi come la secrezione della mucosa e il movimento ciliare che rimuove il materiale nocivo presente nell'aria inspirata, quindi comporta una maggiore suscettibilità alle infezioni microbiche. La metaplasia è una condizione pre-cancerosa: nel tempo le cellule metaplastiche possono diventare neoplastiche. (=sono cellule tumorali che sfuggono ai meccanismi di controllo della proliferazione e seguono un proprio programma autonomo di riproduzione).



Ricapitolando: in condizioni normali, la cellula è capace di mantenere una condizione di stabilità (omeostasi) poiché tutte le sue parti rispondono in modo coordinato alle modificazioni del microambiente. Nell'eventualità di un evento lesivo, la risposta cellulare sarà finalizzata al raggiungimento di una nuova condizione di equilibrio e, in relazione alle specifiche circostanze, il danno prodotto potrà essere reversibile. (In caso di danno lieve, le alterazioni che siano funzionali o morfologiche sono reversibili se lo stimolo nocivo è rimosso). In relazione all'entità e alla persistenza dell'evento lesivo, quando lo stress è talmente grave che la cellula non riesce ad adattarsi o subisce alterazioni intrinseche (nel DNA), il danno prodotto potrà diventare irreversibile: in tal caso, si determinerà la morte cellulare. Esistono due tipologie di morte cellulare, la *necrosi* e l'*apoptosi*, che differiscono nel meccanismo, nella morfologia e nel ruolo fisiopatologico. La necrosi è una forma di morte associata alla perdita dell'integrità di membrana quando essa è gravemente danneggiata, con fuoriuscita del contenuto cellulare come lisosomi nel citoplasma che digeriscono la cellula, causando la necrosi ovvero la dissoluzione cellulare. La necrosi è la principale forma di morte cellulare nelle patologie comuni quindi è sempre patologica. L'apoptosi è un tipo di morte cellulare in cui la cellula privata dei fattori di crescita o con danni irreparabili del DNA o delle proteine, attiva un programma suicidario caratterizzato dalla dissoluzione del nucleo e conservazione dell'integrità della membrana. L'apoptosi a differenza della necrosi non è necessariamente associata a danni cellulari patologici ma è considerata anche un processo fisiologico che consente di eliminare cellule potenzialmente pericolose, cellule che hanno completato il loro ciclo vitale e sono ormai inutili oppure per mantenere costante il numero di cellule. Essendo principalmente un processo fisiologico non causa infiammazione a differenza della necrosi finalizzata in essa ad eliminare le cellule morte dando inizio alla riparazione



Il danno cellulare è alla base del processo di sviluppo della maggior parte delle malattie. Gli eventi lesivi sono innumerevoli, hanno natura diversa ed entità variabili, può avere più bersagli molecolari e ogni cellula può mostrare specifiche differenze nella risposta agli eventi lesivi. Tra gli eventi lesivi responsabili di danno cellulare ritroviamo:

- Deprivazione di O₂**: è una causa comune e di grande importanza di danno cellulare nelle malattie cardiovascolari. L'*ipossia* è la carenza di ossigeno. L'*ischemia* è la perdita di apporto ematico tissutale, causata da un'occlusione al flusso arterioso o da un ridotto drenaggio venoso. L'ischemia è la più comune causa di ipossia, ma la carenza di ossigeno può anche derivare da un'inadeguata ossigenazione del sangue.
- Agenti fisici**: traumi meccanici, radiazioni, temperature estreme, variazioni di pressione causano danni cellulari ad ampio spettro
- Agenti chimici**: sono innumerevoli e in costante aumento possono causare danno sia direttamente che indirettamente, anche agenti innocui come acqua o sale se assunti in eccesso possono causare la morte della cellula; ci sono anche farmaci che possono causare danni tissutali o cellulari e agenti tossici ambientali come monossido di carbonio o insetticidi
- Agenti infettivi**: come virus, batteri, funghi e fino ai grandi parassiti danneggiano le cellule con vari meccanismi

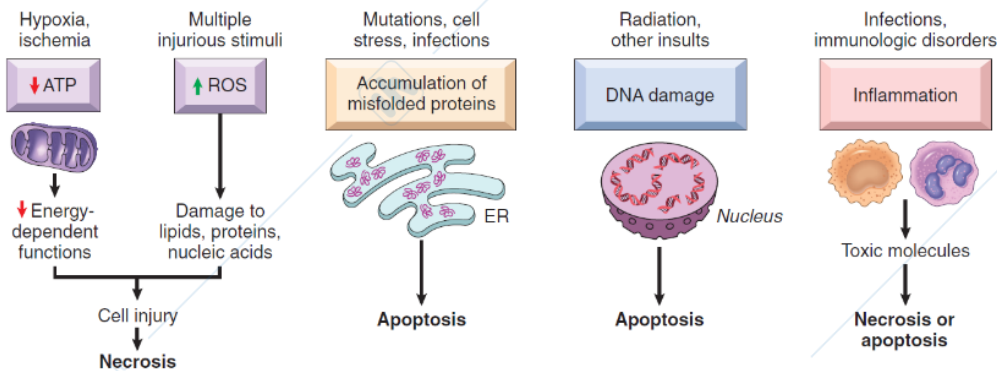
Le sostanze tossiche comprendenti sia agenti chimici che tossine prodotte da agenti infettivi, determinano un danno cellulare che culmina principalmente nella necrosi. Queste sostanze tossiche si dividono ad *azione diretta* e ad *azione indiretta*. Quelle ad azione diretta reagiscono direttamente con bersagli cellulari come il cloruro di mercurio (contaminazione del pesce) porta una alterazione delle proteine di membrana e l'inibizione del trasporto cellulare; tossine microbiche che sono di vario tipo e danneggiano specifici componenti cellulari. L'azione tossica delle sostanze tossiche ad azione indiretta dipende dalla conversione metabolica da parte del RE che danneggia le cellule con cui vengono a contatto un esempio è il tetracloruro di carbonio e il paracetamolo.

- Reazioni immunologiche**: la risposta immunitaria che normalmente è difensiva contro i patogeni, può provocare danno cellulare o tissutale in varie circostanze come le reazioni autoimmuni
- Alterazioni genetiche**: le alterazioni genetiche ereditarie e acquisite sono alla base di varie patologie complesse e influiscono sulla sensibilità delle cellule agli effetti tossici di agenti chimici e ambientali
- Alterazioni nutrizionali**: comunissime cause di danno cellulare sono la malnutrizione proteico-energetica (o meglio deficit dell'apporto proteico-calorico), carenze vitaminiche, disturbi della nutrizione

I meccanismi biochimici che collegano il danno cellulare alle relative manifestazioni cellulari e tissutali sono complessi, interconnessi e strettamente intrecciati con numerose vie metaboliche. Il danno cellulare deriva da alterazioni biochimiche e funzionali di uno o più elementi essenziali della cellula. I principali bersagli e

meccanismi biochimici implicati nel danno cellulare sono:

1. I mitocondri e la loro capacità di produrre ATP o radicali liberi dell'ossigeno in condizioni patologiche
2. Alterazioni del DNA, dell'RNA e della conformazione tridimensionale delle proteine



Le cause e i meccanismi di morte cellulare per necrosi e apoptosi sono indicate in modo indipendente ma possono anche sovrapporsi

L'ATP è il combustibile della cellula prodotto principalmente mediante fosforilazione ossidativa dell'ADP accoppiata alla riduzione dell'ossigeno ad opera del sistema di trasporto di elettroni mitocondriale. L'ATP può essere generato anche in assenza di ossigeno utilizzando il glucosio ematico. Le principali cause di deplezione di ATP sono: il ridotto apporto di ossigeno e nutrienti (ipossia e ischemia), danno mitocondriale (ipossia, tossine e radiazioni; il danno mitocondriale porta anche all'aumento della produzione di ROS) e l'azione di alcune tossine. Una deplezione di ATP porta alla compromissione della fosforilazione ossidativa mitocondriale, inoltre i processi cellulari tra cui il trasporto di membrana, la sintesi proteica, la lipogenesi e il turnover fosfolipidico risultano alterati. Da questa alterazione si scatena un malfunzionamento generale dei processi metabolici energia-dipendenti e di conseguenza avviene la morte cellulare per necrosi. L'ipossia è la carenza di ossigeno ed è una delle frequenti cause di danno cellulare e necrosi. Come risposta cellulare alla carenza di ossigeno sono:

1. Attivazione del fattore inducibile da ipossia ovvero il fattore di trascrizione HIF: il fattore di trascrizione inducibile da ipossia è l'interruttore centrale che permette alle cellule di rispondere alla carenza di ossigeno. Esso è una proteina di circa 800 amminoacidi con parti che svolgono diverse funzioni. In condizioni di ossigenazione normale, questo fattore è mantenuto inattivo attraverso due meccanismi: il primo nel quale viene ubiquitato e viene degradato dal proteasoma; nel secondo viene utilizzato il fattore di inibizione di HIF-1 che idrossila un residuo di asparagina di HIF-1 e in questa nuova forma non può reclutare la proteina che essenziale per la sua trascrizione.

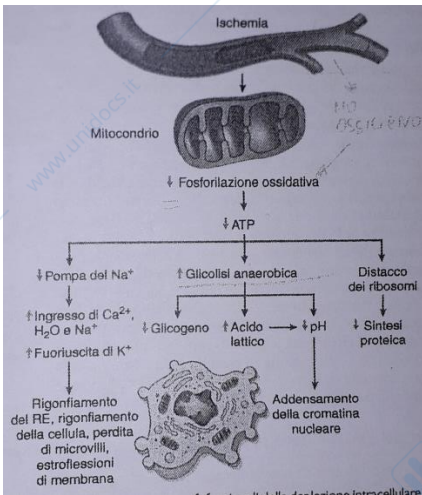
In condizioni di ipossia, quindi quando vi è poco ossigeno, HIF-alfa non viene idrossilato, non è degradato dai proteasomi e così entra in azione. Va nel nucleo si associa con una proteina simile, chiamata HIF-beta. Insieme si legano a molti siti del DNA e promuovono la trascrizione di geni bersaglio, la cui azione è nell'insieme finalizzata all'aumento della fornitura di O₂, all'angiogenesi e alla modificazione del metabolismo energetico

2. Le modificazioni del metabolismo energetico: le cellule in carenza di ossigeno riprogrammano il loro metabolismo spostando la produzione di energia verso diverse vie che non richiedano ossigeno (nell'ipossia l'ATP può essere sintetizzato mediante glicolisi anaerobica cioè in assenza di ossigeno)

3. VEGF e angiogenesi: le cellule in carenza di ossigeno mandano un segnale che induce la produzione di globuli rossi e vasi sanguigni (angiogenesi=consiste nello sviluppo di nuovi vasi sanguigni a partire da altri già esistenti)

L'ischemia è la diminuita perfusione tissutale. A differenza dell'ipossia nella quale l'ATP può essere prodotto attraverso diverse vie, nell'ischemia viene meno anche l'apporto ematico dei substrati necessari per la glicolisi quindi il danno tissutale ischemico è più rapido e grave del danno ipossico. Con la deplezione di ATP nell'ischemia avviene:

1. Ridotta attività della pompa del sodio, con conseguente aumento di sodio e fuoriuscita di potassio, ingresso di calcio, il cui aumento attiva un certo numero di enzimi con effetti cellulari deleteri e l'aumento del calcio intracellulare induce inoltre apoptosi e conseguente rigonfiamento cellulare
2. Aumento di glicolisi anaerobica che causa diminuzione di glicogeno, accumulo di acido lattico e riduzione del pH intracellulare
3. Danni strutturali all'apparato biosintetico delle proteine che si manifesta sotto forma del distacco dei ribosomi dal RE rugoso e comporta una riduzione della sintesi proteica



Se il danno è reversibile, il ripristino del flusso ematico consente il recupero funzionale. Tuttavia il ripristino del flusso ematico in aree ischemiche ma vitali può causare, paradossalmente, la morte cellulare, nonostante le cellule non abbiano subito danni irreversibili. Esso è il così detto *danno da ri-perfusione* ovvero il danno associato al ripristino della circolazione sanguigna in un tessuto dopo un periodo di ischemia. Tale ripristino, in un tessuto ischemico in cui siano presenti cellule vitali può produrre un aumento del danno cellulare, principalmente attribuito a stress ossidativo. La ri-perfusione potenzia la risposta infiammatoria indotta dall'ischemia: i leucociti attivati producono ROS, e questi danneggiano ulteriormente le cellule in sofferenza ischemica.

I radicali liberi sono specie chimiche che presentano un elettrone spaiato in un orbitale esterno, sono altamente instabili, molto reattivi e a vita brevissima. I ROS definite anche *specie reattive dell'ossigeno* sono dei radicali liberi derivati dall'ossigeno implicate in molte condizioni patologiche come l'ischemia. Tra questi ROS ritroviamo il superossido $\cdot O_2^-$, il perossido di idrogeno H_2O_2 , radicale ossidrilico $\cdot OH$.

Specie reattiva	Meccanismi di produzione	Meccanismi di rimozione	Effetti patologici
Superossido ($\cdot O_2^-$)	<ul style="list-style-type: none"> riduzione incompleta di O_2 nel corso della fosforilazione ossidativa ossidasi fagocitica (infiammazione) 	convertito in H_2O_2 e O_2 dalla SOD (superossido dismutasi)	Danno diretto su lipidi, proteine e DNA
Perossido d'idrogeno (H_2O_2)	Dal superossido per azione di SOD	convertito in H_2O e O_2 dalla catalasi, e dalla glutazione perossidasi	Può essere convertito in $\cdot OH$ e ipoclorito (OCl)
Radicale idrossilico ($\cdot OH$)	Prodotto con varie modalità da H_2O , H_2O_2 , e $\cdot O_2^-$	convertito in H_2O dalla glutazione perossidasi	Danno diretto su lipidi, proteine e DNA
Perossinitrito (ONOO \cdot)	Interazione fra $\cdot O_2^-$ e NO (prodotto dalla NO sintasi, nell'infiammazione)	convertito a nitrito da enzimi mitocondriali e citosolici	Danno diretto su lipidi, proteine e DNA

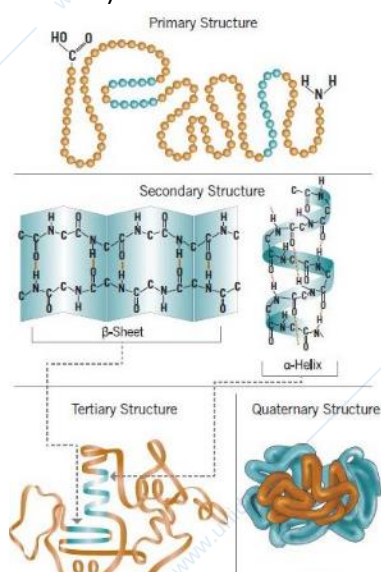
I ROS sono prodotte in piccole quantità durante le reazioni redox, in particolare durante la produzione di ATP; sono prodotte dai fagociti come arma per distruggere i microbi. L'entità del danno causato dai radicali

liberi dipende dalle relative quantità di produzione e rimozione, se la produzione di ROS aumenta o l'eliminazione è inefficiente allora si genera un eccesso di radicali liberi che causa stress ossidativo. Lo stress ossidativo è la condizione dovuta all'aumentata concentrazione di specie radicaliche in particolare dei ROS non efficacemente controbilanciata dai sistemi antiossidanti; le alterazioni associate allo stress ossidativo possono determinare morte cellulare sia con necrosi o apoptosi e sia con modalità miste (necroptosi=è una modalità di necrosi regolata da segnali molecolari quindi è una necrosi programmata). I radicali liberi si formano a causa dell'esposizione a radiazioni, infiammazione. I ROS danneggiano le cellule attraverso la *perossidazione lipidica* delle membrane attaccando i lipidi delle membrane e attivando reazioni autocatalitiche a catena, *alterazioni delle proteine* stimolando la loro degradazione e la perdita di attività enzimatica o frammentandole in polipeptidi, *danni al DNA* causando interruzioni del filamento. Quindi il loro accumulo danneggia lipidi, proteine e DNA. I ROS a bassi livelli sono implicate in reazioni fisiologiche, quindi sono un prodotto fisiologico ma essendo potenzialmente dannose i loro livelli sono strettamente controllate nelle cellule sane. Le cellule hanno sviluppato vari meccanismi per rimuovere i radicali liberi riducendo al minimo il danno:

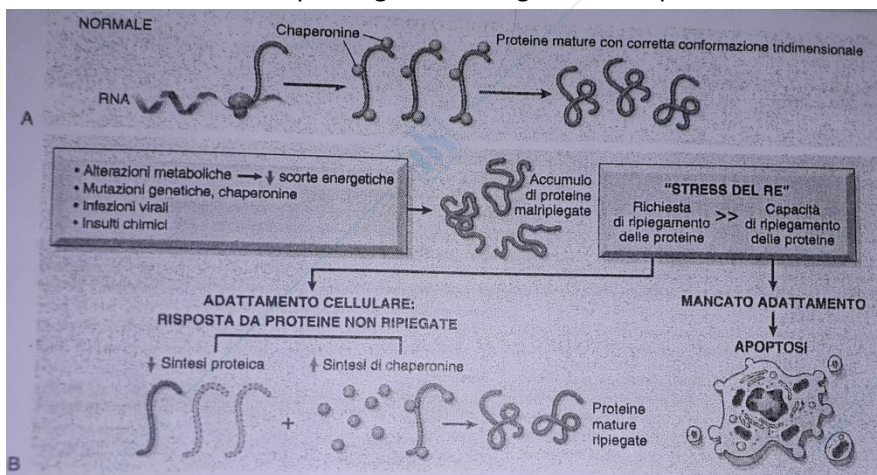
1. SOD: incrementa la velocità di decadimento del superossido e nell'uomo sono presenti tre forme: citoplasmatica, mitocondriale ed extracellulare.
2. Glutathione (GSH)-perossidasi: è una famiglia di enzimi la cui funzione principale è quella di proteggere le cellule dallo stress ossidativo e converte il perossido di idrogeno in acqua
3. Catalasi: presente nei perossisomi e converte il perossido di idrogeno in acqua e ossigeno
4. Antiossidanti endogeni/esogeni: come vitamina E, A, C bloccano la formazione dei radicali liberi e combattono quelli già formati

Svariati stimoli dannosi possono determinare apoptosi, in relazione allo stimolo e alle condizioni funzionali delle cellule interessate, esempi di apoptosi patologica: *Accumulo di proteine malripiegate*, *Danno del DNA*
Le proteine presentano quattro strutture:

1. Struttura primaria (conformazione nativa): sequenza lineare degli amminoacidi che la compongono
2. Struttura secondaria: formazione di α -elica e piani β , stabilizzati da ponti H intramolecolari.
3. Struttura terziaria: la proteina si ripiega in modo che le sue porzioni idrofiliche siano poste superficialmente, a contatto con il solvente acquoso, e quelle idrofobiche siano all'interno. La struttura terziaria può essere ulteriormente stabilizzata da ponti covalenti (legami disolfuro)
4. Struttura quaternaria: assemblaggio di complessi composti da più catene polipeptidiche (a struttura terziaria)



Nella normale sintesi proteica, le proteine *chaperonine* del RE controllano il ripiegamento tridimensionale delle proteine neosintetizzate provvedono alla "riparazione" delle proteine mal ripiegate. Il citoplasma è anche uno spazio affollato e molte molecole presenti sono capaci di interagire con una proteina parzialmente ripiegata producendo aggregati proteici intracellulari potenzialmente nocivi, e le chaperonine intervengono, prevenendo associazioni inappropriate. L'accumulo nel RE di proteine malripiegate o che non hanno subito il ripiegamento tridimensionale, induce una risposta cellulare protettiva, detta *risposta alle proteine malripiegate* (UPR Unfolded Protein Response). Tale risposta attiva segnali che stimolano la produzione di proteine chaperonine e ritardano la traduzione proteica, riducendo così i livelli intracellulari di proteine malripiegate. Quando l'accumulo di proteine malripiegate supera questi adattamenti, insorge il cosiddetto *stress del RE*, che induce apoptosi. L'accumulo intracellulare di proteine malripiegate, è causato da alterazioni genetiche (ovvero mutazioni responsabili di cambiamenti della sequenza amminoacidica, con conseguente modificazione della struttura proteica); dall'invecchiamento cellulare quindi si ha una progressiva riduzione della capacità di correggere il mal ripiegamento delle proteine; da infezioni di microbi intracellulari e ciò comporta un aumento della quantità di proteine da gestire e da modificazioni del pH e dello stato ossidativo intracellulare. Questo accumulo è patologico perché riduce la disponibilità di proteine normoconformate, inducendo disfunzioni cellulari; comporta la perdita della funzione proteica specifica (mal ripiegamento e aumentata degradazione) e danno cellulare progressivo da accumulo che ha come esito l'apoptosi che porta alla perdita netta di cellule. L'apoptosi da proteine malripiegate è una causa conosciuta di numerose patologie neurodegenerative quali Alzheimer e Parkinson.



malattia	proteina	patogenesi
Fibrosi cistica (1)	CFTR	La perdita di CFTR causa difettoso trasporto di Cl e morte cellulare
Ipercolesterolemia familiare (1)	Recettore LDL	Ipercolesterolemia associata a perdita di LDL-R
Malattia di Tay-Sachs (1)	Esosaminidasi (subunità β)	La perdita dell'enzima lisosomiale determina accumulo neuronale di gangliosidi
Retinite pigmentosa (2)	rodopsina	Apoptosi dei fotorecettori conseguente a mal ripiegamento della rodopsina
Malattia di Creutzfeldt-Jacob (2)	prioni	Morte neuronale da mal ripiegamento di PrP ^{Sc}
Malattia di Alzheimer (2)	Peptide A β	Accumulo di amiloide e morte neuronale
Deficit di α -1 antitripsina (3)	α -1 antitripsina	Apoptosi epatocitaria da accumulo; enfisema da distruzione della parete alveolare.

Il principale meccanismo patogenetico è rappresentato dall'aumentata degradazione della proteina anomala e alla conseguente perdita di funzione in (1), all'apoptosi associata allo stress reticolo endoplasmatico in (2), e alla combinazione di entrambi i meccanismi nel caso (3).

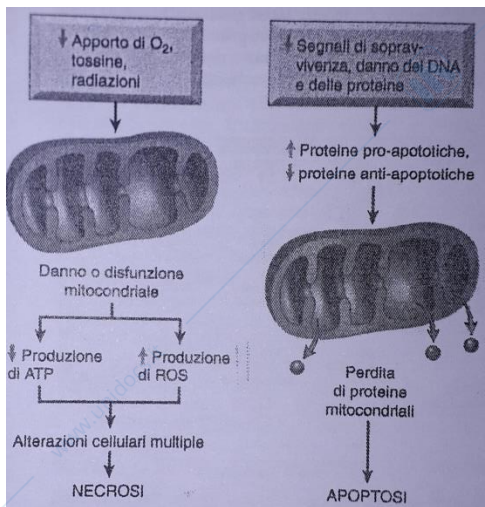
Oltre all'accumulo di proteine mal ripiegate, un altro esempio di apoptosi patologica è il danno del DNA. Radiazioni (eccitanti e ionizzanti), agenti chimici (farmaci citotossici), ipossia e ROS possono indurre alterazioni strutturali del DNA, interferendo con i normali processi di trascrizione e replicazione, e attivando

la risposta cellulare al danno del DNA. La presenza di alterazioni strutturali del DNA è riconosciuta da varie proteine. Questi sensori attivano vie di segnalazione che influenzano un'ampia varietà di processi cellulari. Nel caso in cui il danno non è riparabile, la cellula attiva dei segnali intrinseci che inducono apoptosi. In questi casi, l'eliminazione delle cellule è preferibile piuttosto che rischiare di avere mutazioni nel DNA danneggiato, che potrebbero indurre la trasformazione maligna ovvero essere alla base della cancerogenesi.

Indipendentemente dalla specifica tipologia di evento lesivo, in vari processi patologici sono spesso presenti sia *alterazioni della funzione mitocondriale* e sia *alterazioni della permeabilità delle membrane cellulari*. I mitocondri producono ATP e varie tipologie di stimoli patologici che possono ledere i mitocondri e sono l'ipossia, tossine chimiche e radiazioni. L'alterazione della funzione mitocondriale può determinarsi con più meccanismi anche coesistenti, quelli che portano alla necrosi sono:

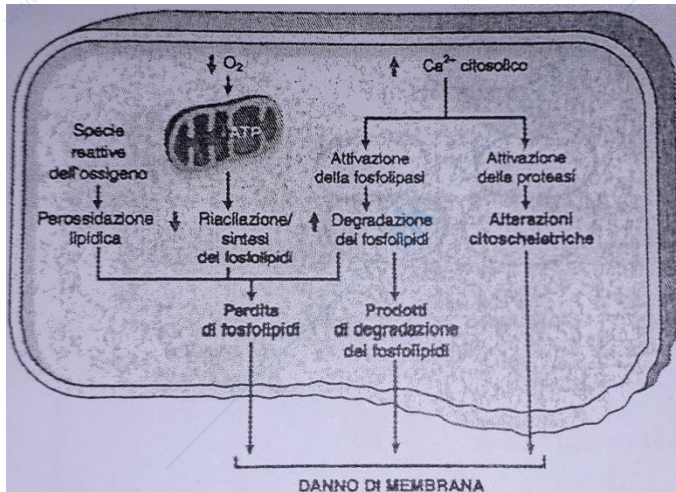
1. Alterazione della fosforilazione (blocco della fosforilazione ossidativa), con progressiva diminuzione di ATP
 2. Alterazione della fosforilazione (fosforilazione anomala) con formazione di ROS e danno ossidativo
- Mentre quelli che portano all'apoptosi sono:

1. Formazione di un canale proteico ad alta conduttanza a livello della membrana mitocondriale interna. L'apertura di questo canale comporta la perdita del gradiente protonico e alterazione della fosforilazione ossidativa
2. Aumento della permeabilità della membrana mitocondriale esterna con fuoriuscita di proteine pro-apoptotiche



L'aumentata permeabilità di membrana, associata a gravi danni di membrana, è un'importante caratteristica di danno cellulare che evolve nella necrosi. Le membrane maggiormente danneggiate nel danno cellulare sono la *membrana plasmatica*, la *membrana mitocondriale* e la *membrana lisosomiale*.

1. La membrana plasmatica può essere danneggiata da vari fattori: ischemia, tossine microbiche, componenti litiche del complemento e agenti chimici e fisici. Il danno della membrana plasmatica può compromettere l'equilibrio idro-elettrico causano l'ingresso di elettroliti e la perdita di materiale intracellulare (includendo sostanze necessarie al metabolismo energetico)
2. Il danno della membrana mitocondriale compromette la fosforilazione ossidativa e riducendo la produzione di ATP (determinando la necrosi), e può attivare la morte cellulare per apoptosi
3. Il danno alle membrane lisosomiali determina la fuoriuscita di enzimi litici che attivano le idrolasi acide, che porta alla degradazione delle strutture cellulari e la morte per necrosi



Una volta che le cellule sono andate incontro alle alterazioni, l'insieme delle cellule necrotiche può assumere un cambiamento morfologico del tessuto, conseguente alla morte. L'aspetto morfologico macroscopico e microscopico della necrosi deriva dalla:

1. Denaturazione delle proteine cellulari
2. Digestione enzimatica dei costituenti delle cellule morte

Queste varie tipologie di necrosi hanno generalmente un aspetto macroscopicamente caratteristico e sono:

-Necrosi coagulativa: è una forma di necrosi in cui la struttura tissutale/l'architettura del tessuto è mantenuta per giorni dopo la morte cellulare, ha una consistenza rigida; il danno ha denaturato proteine ed enzimi bloccando il processo di proteolisi delle cellule morte. La necrosi coagulativa è tipica degli infarti, di ischemia/ipossia in tutti gli organi tranne il cervello.

-Necrosi colliquativa: è una forma di necrosi nella quale il tessuto risulta essere liquefatto (a volte giallastro per la presenza di pus) poiché le cellule morte vengono digerite completamente e il tessuto si trasforma in una massa liquida vischiosa. Essa è tipica conseguenza di infezioni batteriche o fungine (poiché i microbi attraggono le cellule infiammatorie e gli enzimi leucocitari digeriscono il tessuto) e anche dell'ischemia cerebrale.

Ci sono altre varianti di necrosi e sono:

-Necrosi caseosa: è una forma di necrosi che fa assumere nell'area necrotica un aspetto friabile e bianco (caseosa significa "simile al formaggio") ed è tipica delle infezioni tubercolari

-Necrosi grassa (o steatonecrosi): è una forma di necrosi che fa assumere nelle aree necrotiche un colore biancastro di consistenza gessosa (saponificazione dei lipidi) poiché è una tipica necrosi di tessuti con ricca componente adipocitaria come il pancreas e le cellule morte rilasciano enzimi litici che degradano i lipidi formando acidi grassi liberi

-Necrosi fibrinoide: è una forma di necrosi visibile attraverso esame istologico che genera masse amorfe di colore rosa brillante dette fibrinoidi e questa tipologia di necrosi è osservabile in caso di danno vascolare

-Necrosi gangrenosa: è una forma di necrosi che fa assumere un colorito nerastro con vari gradi di putrefazione, è una sorta di combinazione di necrosi coagulativa e colliquativa ed è tipica della necrosi ischemica degli arti inferiori i quali hanno perso il loro apporto ematico

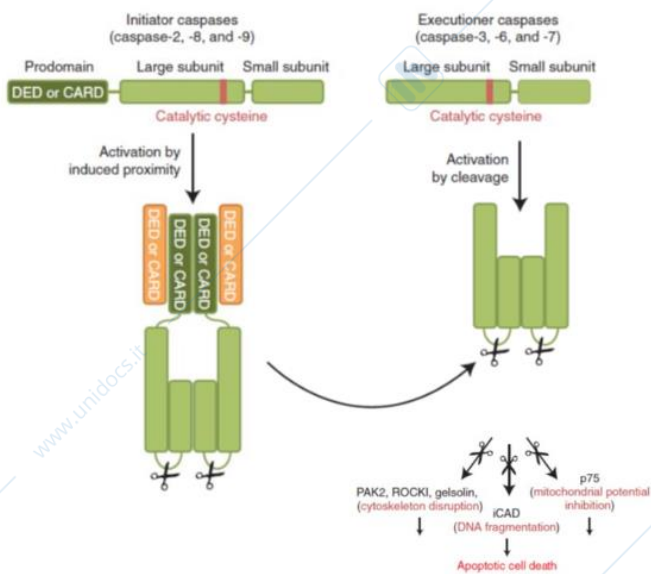
Oltre alle necrosi e all'apoptosi vi è l'autofagia. Il termine autofagia significa "mangiare se stessi", è un meccanismo di sopravvivenza in tempi di scarsità di nutrienti, che consente alla cellula affamata di sopravvivere degradando e riciclando le proprie componenti per produrre nutrienti ed energia. Questa modalità di morte è caratterizzata dalla presenza di grandi vescicole intracellulari detti autofagosomi contenenti enzimi che degradano le componenti cellulari che si attivano da complessi multiproteici sensibili

alla carenza di nutrienti. Quando la cellula affamata non riesce più a far fronte alla carenza di nutrienti con l'utilizzo delle proprie componenti, quindi quando il meccanismo non è più sufficiente, l'autofagia diventa un segnale di morte che attiva l'apoptosi.

L'apoptosi in condizioni fisiologiche è presente nelle seguenti situazioni:

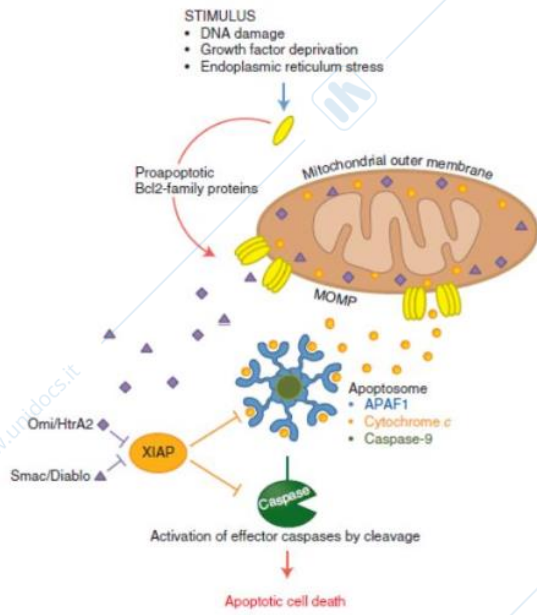
- **Morte cellulare programmata**, cioè la morte di specifiche popolazioni cellulari durante lo sviluppo embrionale e fetale
- **Involuzione tessutale ormono-dipendente**, ad esempi regressione della ghiandola mammaria dopo lo svezzamento o sfaldamento dell'endometrio durante il ciclo mestruale
- **Regolazione della risposta immunitaria**
- **Controllo qualitativo e quantitativo delle cellule in popolazioni proliferanti**

L'apoptosi è una sorta di "smontaggio" ordinato delle varie strutture e componenti cellulari. Questo è eseguito da enzimi specializzati chiamati caspasi (cistein proteasi) che, in una regolazione a cascata danno luogo alla produzione dei corpi apoptotici (cioè tagliano le cellule in frammenti), che verranno poi internalizzati dai fagociti. Le caspasi sono sintetizzate in una forma inattivata che consiste in un prodominio e prendono il nome di *caspasi iniziatrici*, le quali sono costituite anche da formato da una subunità grande e una subunità piccola). Queste attraverso i loro prodomini vengono reclutate su "piattaforme di attivazione" dove dimerizzano e si attivano. Le caspasi iniziatrici attivano le *caspasi esecutrici* (esse sono formate solo da una subunità grande e una piccola) operando un taglio tra la subunità grande e quella piccola. Le caspasi esecutrici tagliano centinaia di substrati.



38) Le caspasi possono essere attivate attraverso due vie di trasduzione: la via intrinseca detta anche *via mitocondriale* e la via estrinseca detta anche *via dei recettori della morte*.

Apoptosi, via intrinseca (mitocondriale), MOMP e attivazione della caspasi 9.



Il processo di attivazione della procaspasi 9 comincia con la permeabilizzazione della membrana mitocondriale esterna (MOMP), un evento regolato da proteine della famiglia Bcl-2 (a seguito di svariati stimoli).

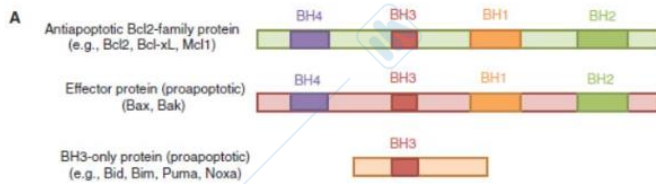
La piattaforma di attivazione della procaspasi 9 (apoptosoma) è costituita da 7 unità cyt c-Apaf1-ATP. Il cyt c rilasciato dallo spazio intermembrana dei mitocondri si complessa con la proteina citoplasmatica Apaf1, che funziona da supporto per l'assemblaggio delle 7 unità dell'apoptosoma. La procaspasi 9 viene continuamente reclutata sulla piattaforma, attivata per prossimità, e rilasciata come caspasi 9.

Le proteine Smac e Omi (anch'esse provenienti dallo spazio intermembrana) potenziano l'attività dell'apoptosoma antagonizzando XIAP (proteina inibitrice di CASP 9, 3, e 7).

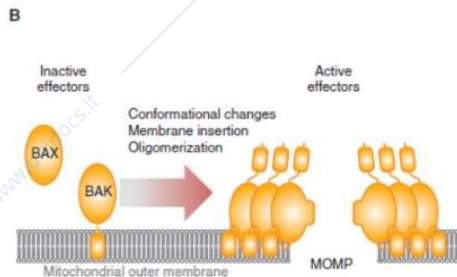
Altri meccanismi di regolazione (non mostrati) agiscono a livello dell'apoptosoma, modulandone la capacità di attivare la procaspasi 9.

Di fatto, MOMP sbilancia fortemente verso la morte l'equilibrio morte-sopravvivenza, anche perché si ridurrà la funzione mitocondriale di produzione di ATP.

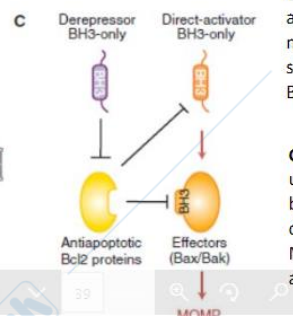
Apoptosi, via intrinseca (mitocondriale), ruolo delle proteine bcl-2.



A, Le proteine bcl2 hanno una o più regioni BH. Le bcl2 anti-apoptotiche e le bcl2 pro-apoptotiche hanno 4 regioni BH e struttura globulare simile. Le proapoptotiche BH3-only hanno una sola regione BH.



B. Le pro-apoptotiche sono presenti nella cellula in forma inattiva, nel cytosol (bax), o associate alla OMM (bak). Quando vengono attivate, bax e bak omo-oligomerizzano e si inseriscono nella OMM inducendo MOMP e l'apoptosi. Le proteine antiapoptotiche localizzate sia a livello mitocondriale sia a livello del RE possono sequestrare le forme attivate monomeriche di Bax e Bak (non mostrato in figura).



C. L'attivazione di Bax/Bak è innescata da un legame transitorio di BH3-only (bid e bim, attivazione diretta). Un altro gruppo di BH3-only (bad e noxa) promuovono MOMP antagonizzando le bcl2 antiapoptotiche.

39)

morte cellulare

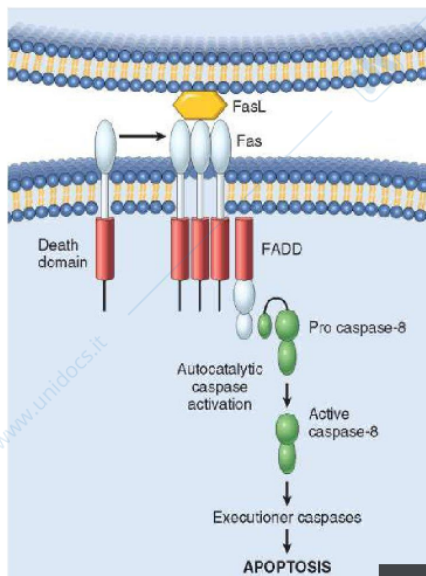
Apoptosi, via intrinseca (mitocondriale): principali circostanze di attivazione, meccanismi e implicazioni.

Stimolo apoptotico	Meccanismo di attivazione	Implicazioni / esempi
Danno del DNA	<ul style="list-style-type: none"> ▪ attivazione di p53 e aumento della trascrizione di bcl2 pro-apoptotiche ▪ attivazione della degradazione di bcl2 antiapoptotiche 	In presenza di danno sul DNA da agenti genotossici (o da difetto dei sistemi di riparazione), l'apoptosi scongiura l'introduzione di alterazioni genetiche nelle cellule figlie (e quindi un aumento del tasso mutazionale).
Riduzione di segnali di sopravvivenza- crescita	<ul style="list-style-type: none"> ▪ perdita di funzione della via PI3K/Akt ▪ attivazione della degradazione di bcl2 antiapoptotiche 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ nello sviluppo del SN, precursori neuronali che non riescono a migrare o innervare il target in modo appropriato. ▪ nella risposta immunitaria, eliminazione dei linfociti attivati per privazione di citochine (NB: anche coinvolta la via estrinseca). ▪ anoikis: quando cellule epiteliali o endoteliali si staccano dalla ECM, le integrine perdono il contatto con recettori ECM e cessano di influenzare vie di sopravvivenza.
Stress reticolo-endoplasmico (ER stress)	Accumulo di proteine malripiegate a livello di ER, attivazione di sensori, attivazione della trascrizione di proteine bcl2 proapoptotiche.	L'apoptosi è attivata se i meccanismi di degradazione non riescono a gestire l'accumulo proteico

40)

Apoptosi, via estrinseca (death receptor, DR), caspasi iniziatrice: CASP-8.

Attivata dall'interazione fra segnali di morte (FasL, TRAIL, TNF) e corrispondenti recettori Fas, TRAILR, TNFR

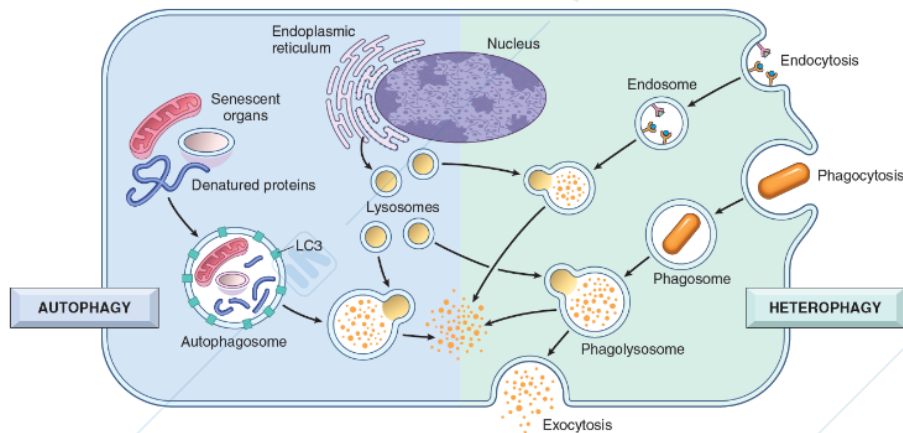


- Quando Fas (o TRAILR) sono ingaggiati dai rispettivi ligandi FasL (o TRAIL) si determina un raggruppamento e il successivo reclutamento di proteine adattatrici FADD, formando così la piattaforma di attivazione DISC (death inducing signaling complex).
- DISC recluta pro-caspasi 8 determinandone l'attivazione per prossimità. In alcune circostanze, casp 8 taglia e attiva le casp esecutrici 3 e 7. In altre circostanze, in cui XIAP inibisce le caspasi esecutrici, la casp 8 taglia la BH3-only bid, la quale attiva bax/bak e MOMP (via mitocondriale). Il rilascio di smac e omi inibisce XIAP (non mostrato).
- L'interazione TNF-TNFR attrae TRADD, e avvia una segnalazione più complessa con tre distinti possibili esiti dipendenti dalla condizione funzionale delle proteine reclutate sulla piattaforma: sopravvivenza e risposta infiammatoria, apoptosi, necrosi programmata (necroptosi) (non mostrato).

La via estrinseca è un meccanismo fondamentale nella risposta immunitaria.

41)

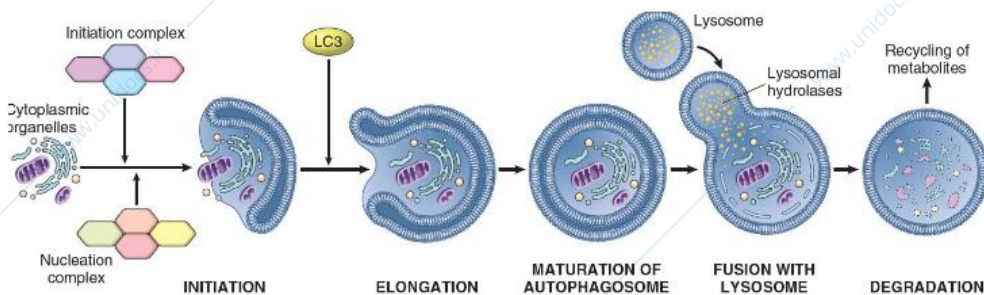
In caso di alterata regolazione dell'apoptosi due sono i casi che si possono ottenere: difetto dell'apoptosi quindi con un aumento della sopravvivenza cellulare; questa sopravvivenza soprattutto di cellule con danni al genoma può scaturire il meccanismo di cancerogenesi, mentre la sopravvivenza di cellule potenzialmente nocive è un'importante causa che può scaturire il meccanismo delle malattie autoimmuni. In caso di eccesso di apoptosi quindi con un aumento della mortalità cellulare si può ottenere la morte di cellule infettate da virus e nelle malattie neurodegenerative si ha una perdita di specifiche popolazioni di neuroni (apoptosi per UPR)



Processi del catabolismo intracellulare: degradazione lisosomiale. Nella eterofagia (a Dx), i lisosomi si fondono con endosomi o fagosomi e degradano il materiale contenuto all'interno. I prodotti così ottenuti possono essere rilasciati nel citosol (metabolismo cellulare), o rilasciati nello spazio extracellulare (esocitosi). Nell'autofagia (a Sn), organelli senescenti/danneggiati e accumuli di proteine denaturate sono avviati alla degradazione mediata da lisosomi dopo essere stati racchiusi da una membrana a doppio strato derivata dal RE e marcata con proteine LC3.

L'autofagia può essere attivata in condizioni di stress cellulare (es la deprivazione di nutrienti) e in questo processo possono essere distinte più fasi:

1. Iniziazione: la carenza di nutrienti attiva i geni dell'autofagia
2. Nucleazione
3. Elongazione della membrana isolante
4. Maturazione di autofagosomi: produzione di vacuoli a doppia membrana detti autofagosomi che sequestrano organelli e altro materiale citoplasmatico
5. Fusione: queste vescicole si fondono con i lisosomi
6. Degradazione: il materiale viene degradato da idrolasi lisosomiali e i prodotti di degradazione vengono utilizzati dalla cellula come nutrienti.



L'autofagia può avere anche vari ruoli patologici come la formazione di *tumori* infatti l'autofagia potrebbe rappresentare un meccanismo di crescita delle cellule tumorali; di alcune *malattie neurodegenerative* poiché in esse l'autofagia risulta accelerata e i difetti dell'autofagia accelerano la neurodegenerazione; di *malattie infettive* poiché alcuni batteri come micobatteri e shigella sono degradati mediante autofagia. Le alterazioni dei meccanismi di autofagia possono determinare un'aumentata suscettibilità a contrarre la tubercolosi

In alcune patologie le cellule accumulano quantitativi abnormi di sostanze diverse che possono essere innocue o causare disfunzioni di vario grado. L'accumulo può avvenire nel citoplasma o negli organelli (tipicamente lisosomi) oppure nel nucleo producendo danno cellulare. Cause di questi accumuli sono:

- Rimozione inadeguata di una sostanza normalmente presente nella cellula, causata da difetti dei meccanismi di ripiegamento e trasporto
- Mancata degradazione di metaboliti causata da carenze enzimatiche ereditarie (malattie da accumulo)
- Deposizione e accumulo di sostanze esogene anomale, causati dall'impossibilità per la cellula di degradarle o di trasportarle altrove

Patologie da accumulo

materiale accumulato	condizione patologica	sede / meccanismo di accumulo	conseguenze
trigliceridi	Steatosi (soprattutto nel fegato, ma anche cuore, muscoli, rene)	alterazioni del metabolismo lipidico di varia natura. Nei paesi ad alto reddito: alcolismo; obesità e diabete. Nei paesi a basso reddito: malnutrizione.	Condizione reversibile, se si elimina la causa
colesterolo / esteri del colesterolo	aterosclerosi	Placche aterosclerotiche nella tonaca intima delle arterie	Variabili (da nessuna a gravi malattie cardio- e cerebro-vascolari)
proteine	Malattie renali con proteinuria	Riassorbimento tubulare	Condizione reversibile, se si elimina la causa
	proteinopatie	Meccanismi vari: aumento di produzione, difetto di trasporto e secrezione, difetto dei meccanismi degradativi, aggregazione di proteine anomale.	Variabili, legate alla perdita della funzione e allo stress ER
glicogeno	Diabete mellito	Accumulo di glicogeno nelle cellule tubulari renali, epatociti, cellule β pancreatiche, miociti	Variabili, in relazione all'efficacia del controllo glicemico
	glicogenosi	Malattie ereditarie con difetti enzimatici della sintesi o degradazione del glicogeno	Danno e morte cellulare
polvere di carbone	Inquinamento ambientale, antracosi	Accumulo nei macrofagi polmonari	Variabili, in relazione all'entità dell'accumulo
lipofusina (polimeri di lipidi e fosfolipidi complessati a proteine)	aspecifico	Indica indirettamente danno ossidativo da ROS	
emosiderina	emosiderosi	Aggregati di micelle di ferritina	Variabili
calcificazioni distrofiche (normale calcemia)	varie	Deposizione di sali di calcio in aree di necrosi	Variabili
calcificazioni metastatiche (ipercalcemia)	-iperparatiroidismo - neoplasie ossee primitive e secondarie	Aumento del riassorbimento osseo e conseguente ipercalcemia	Variabili

L'invecchiamento cellulare è la conseguenza del progressivo declino della vitalità e delle funzioni cellulari, associato ad alterazioni genetiche e al progressivo accumulo di danno cellulare dovuto alle condizioni ambientali. Vari sono i bersagli e i meccanismi dell'invecchiamento cellulare e sono:

-Danno del DNA: la maggior parte dei danni del DNA viene riparata dagli enzimi riparativi, ma alcuni persistono e si accumulano con l'invecchiamento (alcuni dovuti all'esposizione ad agenti genotossici); vi sono anche le alterazioni ereditarie che riguardano enzimi coinvolti nelle funzioni del DNA e che si manifestano anche con invecchiamento precoce

-Senescenza cellulare (o replicativa): le cellule normali hanno una limitata capacità replicativa e dopo un determinato numero di cicli cellulari, la cellula si arresta in uno stato terminale in cui cessa di dividersi, detto *senescenza replicativa*. L'invecchiamento è associato alla progressiva senescenza replicativa delle cellule. La senescenza replicativa è causata dall'accorciamento progressivo dei telomeri, che culmina nell'arresto del ciclo cellulare, quindi non vi è più la capacità di generare nuove cellule per sostituire quelle danneggiate e riduce anche la capacità rigenerativa delle cellule staminali. L'accorciamento dei telomeri è più marcato nelle cellule somatiche mentre le cellule staminali sono capaci di più cicli replicativi. Le cellule tumorali spesso attivano la telomerasi e mantengono indefinitamente la capacità replicativa.

-Omeostasi proteica: con il tempo le cellule diventano incapaci di conservare l'omeostasi proteica dovuta alla ridotta attività delle chaperonine e alla alterazione della degradazione di proteine mal ripiegate. L'alterata omeostasi proteica ha vari effetti sulla sopravvivenza, la replicazione e la funzionalità della cellula. Inoltre, causa l'accumulo di proteine malripiegate, che induce apoptosi.

-Deregolazione di vie di segnalazione influenzate dalla condizione nutrizionale (la restrizione calorica allunga la vita): si ritiene che alcuni stress ambientali, come la restrizione calorica, possano modificare le vie di trasduzione che influiscono sull'invecchiamento, quali la ridotta attivazione dei recettori dei fattori di

crescita insulino-simili e alcune delle proteine appartenenti alle sirtuine promuovono l'espressione di geni che influenzano la riparazione del DNA e l'omeostasi proteica.

Quindi il danno del DNA, la senescenza cellulare e le alterazioni dell'omeostasi proteica sono i più noti meccanismi che accelerano l'invecchiamento cellulare. Al contrario, alcune vie di segnalazione influenzate dalla condizione nutrizionale (principalmente la restrizione calorica) rallentano l'invecchiamento cellulare

