

CICLO CELLULARE E REPLICAZIONE

2.Ciclo cellulare e replicazione (pag.33-44)

INTRODUZIONE

Lo sviluppo di una cellula uovo fecondata , al fine di formare un organismo multicellulare , implica almeno tre fondamentali processi cellulari : la replicazione , la crescita e la progressiva specializzazione (**differenziamento**) delle funzioni cellulari . L'uovo fecondato si divide attraverso un processo chiamato **mitosi** per produrre due cellule figlie , geneticamente identiche , ciascuna delle quali è capacissima di dividersi a sua volta per produrre altre due cellule figlie e così via . Alcune di queste cellule figlie si specializzano progressivamente e , producono cellule che si differenziano in maniera definitiva (**cellule terminalmente differenziate**) come le cellule del muscolo oppure le cellule della cute .

La maggior parte dei tessuti , conserva una popolazione di cellule relativamente indifferenziate (**cellule staminali**) che sono in grado di dividersi e di rimpiazzare la popolazione differenziata in caso di necessità . L'intervallo di tempo delle divisioni mitotiche è noto come **ciclo cellulare** . Tutte le cellule si dividono per mitosi , tranne le **cellule germinali maschili e femminili** che si dividono per **meiosi** per produrre i gameti .

Nell'organismo adulto , le cellule terminalmente differenziate di alcuni tessuti perdono la capacità di dividersi (**cellule perenni o postmitotiche**) ; al contrario le cellule di altri tessuti , vanno incontro a continui cicli di divisione mitotica per tutta la vita dell'organismo, rimpiazzando le cellule perse per fisiologico deterioramento (**cellule labili**) . Tra questi due , esiste un'altra tipologia di cellule che normalmente non si dividono ma che possono andare incontro a mitosi in caso di necessità (**cellule stabili**) . La divisione cellulare e il differenziamento vengono bilanciati dal processo di morte cellulare sia durante lo sviluppo e l'accrescimento dell'adulto . In questi casi , la morte cellulare avviene attraverso un meccanismo noto come **apoptosi** .

CICLO CELLULARE

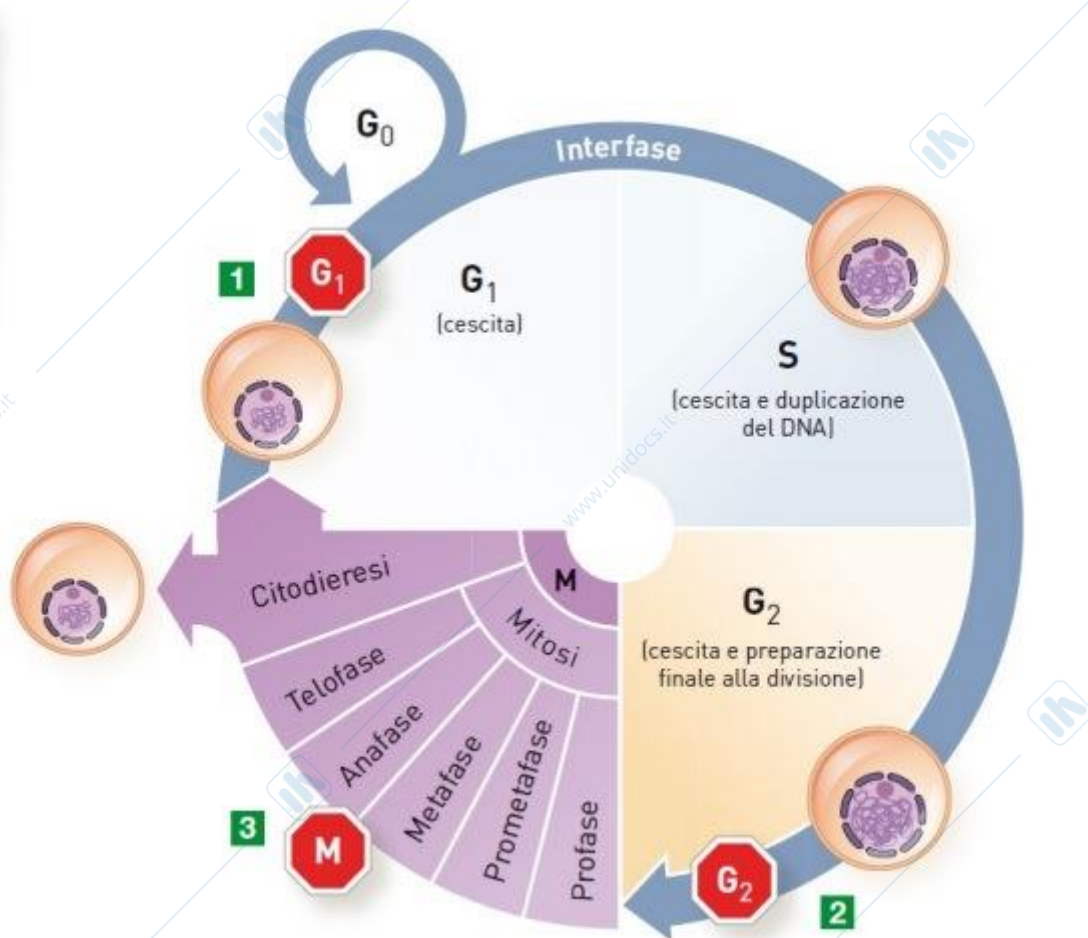
Erano state riconosciute solo due fasi del ciclo cellulare ; una fase di divisione relativamente breve (**fase mitotica o fase m**) e una fase di non-divisione (**interfase**) che di solito occupa la maggior parte del ciclo vitale della cellula . Si è scoperto che vi è un periodo nell'interfase durante il quale il DNA nucleare viene replicato . Questa fase denominata **fase di sintesi (fase s)** , si completa poco prima della mitosi .

L'interfase può essere suddivisa in 3 fasi separate :

- Tra la fine della fase mitotica e l'inizio della fase di sintesi c'è il **primo intervallo** (fase g1) di solito è quella più lunga rispetto alle altre fasi .
- L'intervallo tra la fine della fase di sintesi e l'inizio della fase mitotica è chiamato **secondo intervallo** (fase g2) essa è relativamente corta e rappresenta il periodo in cui la cellula si prepara alla divisione mitotica .
- Le cellule staminali di alcuni tessuti compiono cicli cellulari continui al fine di mantenere il trofismo e favorire il ricambio cellulare del tessuto cui appartengono ; le cellule terminalmente differenziate abbandonano invece il ciclo cellulare dopo la **fase mitotica** ed entrano in uno stato funzionale di differenziamento stabile chiamato **fase g0** (anche le cellule stabili in grado di dividersi facoltativamente ne fanno parte)

Generalmente , le fasi del ciclo cellulare **sintesi , fase g2 e mitotica** hanno una durata relativamente costante e impiegano diverse ore a completarsi , mentre la **fase g1** è molto variabile , potendo durare anche parecchi giorni o settimane , La **fase mitotica** dura all'incirca un'ora , mentre la **fase di sintesi** si completa nell'arco di 10-12 ore , La **fase g0** in alcuni casi può durare l'intera vita dell'organismo .

Durante la mitosi, vari **checkpoint** impediscono il passaggio alla fase successiva prima che quella precedente sia completata. Tale disposizione è necessaria al fine di evitare una distribuzione cromosomica disuguale nelle due cellule figlie.

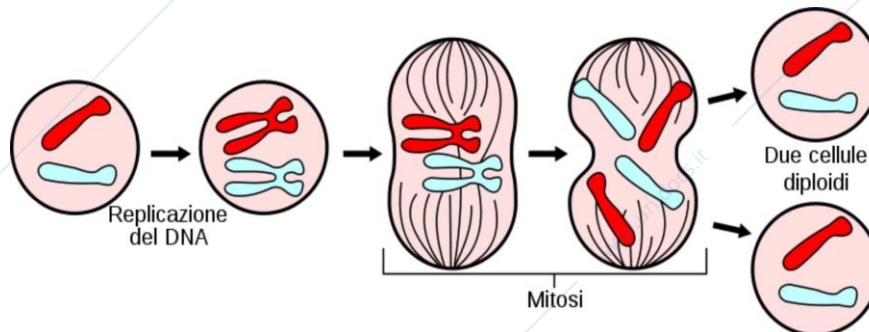


MITOSI

La replicazione delle **cellule somatiche** avviene in due fasi. I cromosomi duplicati durante la fase di sintesi vengono suddivisi in parti uguali tra le due potenziali cellule figlie; questo processo è noto come **mitosi**. Successivamente i componenti citoplasmatici e la membrana della cellula in replicazione vengono divisi fra le due cellule figlie, che sono geneticamente identiche, attraverso un processo noto come **citochinesi**; essa può in alcuni casi, risultare in due cellule figlie con quantità disuguali di citoplasma e/o organelli citoplasmatici. In altri casi, la mitosi può avvenire anche in assenza di citochinesi; in questo caso si ha la formazione di cellule binucleare o multinucleare.

- La mitosi è un processo continuo che viene però tradizionalmente suddiviso in cinque fasi: **profase**, **prometafase**, **metafase**, **anafase** e **telofase**; ogni fase è facilmente riconoscibile al microscopio ottico con opportune tecniche citologiche. La divisione cellulare richiede la presenza di una struttura chiamata **apparato mitotico**, costituito da un fascio di microtubuli tesi tra una coppia di centrioli posti ai poli opposti della cellula in divisione. L'apparato mitotico è visibile nel citoplasma solo durante la fase M del ciclo cellulare, poiché si disassembla rapidamente poco dopo il completamento della mitosi.

- **Profase** : Momento in cui i cromosomi , già duplicati nella fase precedente S , si condensano e diventano visibili nel nucleo . Ogni cromosoma duplicato è costituito da due identici filamenti di DNA uniti a livello del centromero ; a questi filamenti viene dato il nome di **cromatidi fratelli** . Il centrosoma si è già diviso durante la precedente interfase e le due coppie di centrioli migrano verso i poli opposti della cellula , mentre , contemporaneamente , si forma tra di essi un fuso di microtubuli (**microtubuli interpolari**) .
- **Prometafase** : Dissoluzione della membrana cellulare segna l'inizio della **prometafase** . Il fuso mitotico si muove nell'area prima occupata dal nucleo e ogni cromosoma duplicato , attraverso il proprio **cinetocore** , si attacca a un gruppo di microtubuli del fuso mitotico . Altri microtubuli connettono le braccia del cromosoma al fuso .
- **Metafase** : I cromosomi si dispongono nella zona equatoriale del fuso , noto come **piastra equatoriale** o **piastra metafasica** . Questo punto di controllo della metafase è molto importante e fondamentale , in quanto previene la formazione di cellule figlie con numero di cromosomi disuguale .
- **Anafase** : Caratterizzato dallo sdoppiamento del centromero , che tiene legati i cromatidi fratelli . I centrioli vengono quindi tirati verso direzioni opposte e i cromatidi di ogni cromosoma duplicato vengono spinti all'estremità opposte del fuso ; si ottiene quindi un'esatta divisione del materiale genetico duplicato .
- **Telofase** : Durante la fase finale della mitosi , i cromosomi cominciano a decondensarsi e a riacquistare la loro conformazione tipica dell'interfase . Si forma la membrana nucleare e ricompaiono i nucleoli .
- **Citochinesi** : Il piano di divisione citoplasmatica coincide di solito con l'equatore del fuso mitotico , producendo così due cellule di uguali dimensioni . La membrana plasmatica si invagina a livello dell'equatore del fuso fino a formare un solco circonferenziale intorno alla cellula , il **solco di divisione** .



CROMOSOMI DURANTE LA MITOSI

I nuclei di tutte le cellule somatiche contengono la stessa quantità di DNA , quantità che costituisce il **genoma** . Esso è suddiviso in vari elementi discreti , chiamati **cromosomi** ; ogni specie ne possiede un numero ben definito . Ciascun filamento del DNA è costituito da uno scheletro di **desossiribosio** e **gruppi fosfato** disposti in modo alternato e legati fra loro covalentemente da legami fosfodiesterici . Ogni molecola di desossiribosio è poi unita covalentemente a una **base purinica** o a una **base pirimidinica** , che a sua volta è legata , tramite legami non covalenti , a una specifica base situata sul filamento opposto ; questi legami non covalenti tengono unite assieme le due catene che formano il filamento del DNA . Esistono 4 tipi di basi :

1. **Adenina** (può formare legami non covalenti solo con la timidina e la citosina solo con la guanina)
2. **Citosina**
3. **Timidina**
4. **Guaina**

La sequenza di basi presenti in ciascuna catena di DNA costituisce il codice genetico dell'individuo . Le basi durante la sintesi proteica , vengono lette a gruppi di tre chiamati codoni , ognuno codificante per un

aminoacido . Nell'uomo vi sono 46 cromosomi che comprendono 22 coppie omologhe di autosomi e 2 cromosomi sessuali , XY nel maschio e XX nelle femmine .

Durante la Fase di sintesi il cromosoma si duplica . I cromosomi identici che ne derivano , noti come **cromatidi fratelli** rimangono attaccati l'uno all'altro in un punto chiamato **centromero** , e si avvalgono ancora più strettamente , condensandosi ; in questo modo essi diventano visibili al microscopio ottico . L'accurata replicazione del DNA è essenziale sia per la trasmissione di caratteri ereditari sia affinché non vengano prodotte proteine malfunzionanti . A tal fine esistono meccanismi in grado di riparare eventuali alterazioni in un processo noto come **riparazione del DNA** .

La molecola di DNA che costituisce ciascun cromosoma si lega a diverse **proteine istoniche** (vengono sintetizzate durante la fase di sintesi) che aiutano il cromosoma stesso ad assumere una conformazione super avvolta e ripiegata ; ciò ne permette l'accomodamento all'interno del nucleo . Il cromosoma viene strutturato in questo modo durante le fasi G1 e G0 del ciclo cellulare , nelle quali avviene la **trascrizione genica** (perquisito necessario per la sintetizzazione proteica) . La struttura in cui il cromosoma si attacca ai microtubuli del fuso mitotico durante la divisione cellulare si chiama **cinetocore** .

MEIOSI

La **meiosi** è un processo di divisione cellulare che , pur condividendo alcuni meccanismi con la mitosi , produce cellule geneticamente distinte .

Le cellule somatiche contengono un corredo completo di cromosomi (**corredo diploide**) che consiste in paia di cromosomi omologhi , uno di origine paterna e uno di origine materna . La riproduzione sessuata implica la produzione, attraverso la meiosi , di cellule specializzate maschili e femminili chiamati **gameti** . La divisione meiotica è anche detta **gametogenesi** . Ogni gamete contiene un **numero aploide** di cromosomi (23 nell'uomo) , uno per ogni coppia omologa . Durante la fecondazione , quando i gameti maschili e femminili si fondono per formare lo **zigote** , viene ripristinato il **numero diploide** di cromosomi (46 nell'uomo) . Le cellule che derivano dallo zigote conterranno quindi un mix di cromosomi sia materni che paterni ; questo fenomeno contribuisce alla diversità genetica della generazione successiva . Un altro fondamentale meccanismo per produrre diversità genetica è il processo di **crossing-over** che avviene durante la meiosi .

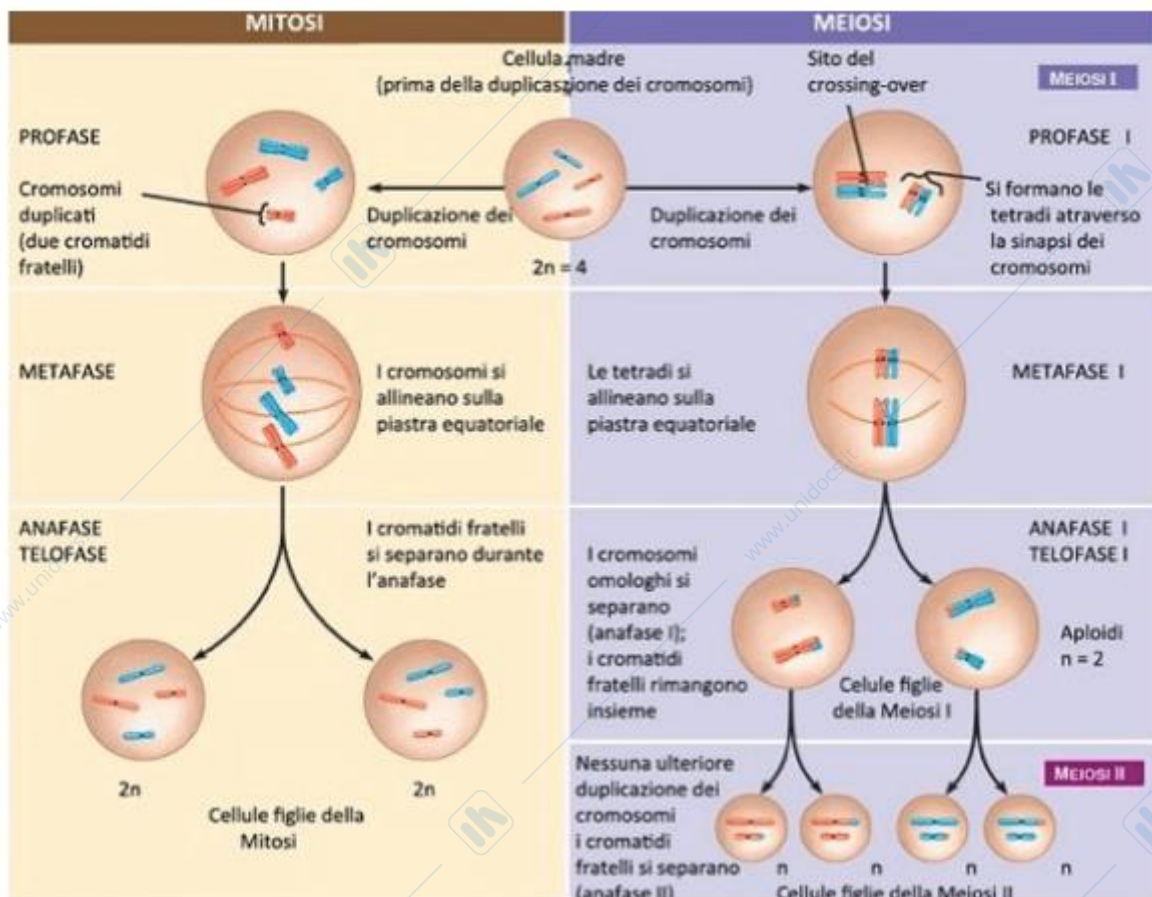
Di seguito viene illustrato il processo della meiosi in confronto con quello della mitosi :

- Prima fase della meiosi è la **duplicazione** dei cromosomi come nella mitosi . A questa fase seguono due divisioni nucleari successive .
- La **profase** della prima divisione meiotica è molto lunga ed è divisa in 5 stadi : **leptotene** , **zigotene** , **pachitene** , **diplotene** e **diacinesi** . Dopo la duplicazione dei cromosomi , la cellula va incontro a un processo di mescolamento del materiale genetico chiamato **crossing-over** , così che la formazione genetica viene scambiata tra cromosomi materno e paterno della coppia omologa ; in particolare il crossing-over mescola gli **alleli** di origine materna e paterna , così che il gamete contiene un solo cromosoma di ciascuna coppia . Il processo mediante il quale i cromosomi omologhi si appaiono durante la prima divisione meiotica è chiamato **sinapsi** . L'appaiamento è dovuto a un complesso proteico , il **complesso sinaptonemico** , che avvicina progressivamente i cromatidi omologhi .
- Con la progressione della prima divisione meiotica (**metafase** , **anafase**) si separano le coppie di cromatidi ancora uniti a livello del centromero . Durante la **telofase** si forma l'involucro nucleare attorno a ciascun gruppo di omologhi , mentre avviene la citodieresi .
- La seconda divisione meiotica comporta la divisione dei cromatidi per separazione a livello dei centromeri (**metafase II**) ; i cromatidi migrano poi ai poli opposti del fuso (**anafase II** , **telofase II**) .
- La differenza chiave tra **mitosi** e **meiosi** sarebbe sintetizzata che : la **meiosi** implica una duplicazione dei cromosomi seguita da 2 divisioni cellulari consecutive . In questo modo ,

una cellula **diploide** produce 4 cellule **germinali aploidi**; il **crossing-over** avviene solo nella **meiosi** il suo scopo è quello di mescolare gli alleli paterni e materni in maniera tale che ogni gamete risulti geneticamente differente. Al contrario i prodotti della **mitosi** sono geneticamente **identiche**.

Nel maschio, ciascuno di essi si svilupperà in uno **spermatozoo** maturo; le cellule primitive germinali del maschio, gli **spermatogoni**, sono presenti solo in piccolo numero nelle gonadi maschili prima del raggiungimento della maturità sessuale; in seguito, esse si moltiplicano per mitosi. Nella femmina, si ha invece una distribuzione diseguale di citoplasma che porta alla produzione di una cellula che acquisisce la maggior parte del citoplasma dalla cellula madre e di altre tre cellule che ne acquisiscono solo una piccola parte; la cellula più grande e matura fino a diventare gamete femminile (cellula uovo), mentre degenerano le tre cellule più piccole, chiamate **globuli (o corpuscoli) polari (o semplicemente polociti)**; le cellule germinali della femmina, chiamate **oogoni** si moltiplicano per mitosi solo durante le prime fasi dello sviluppo fetale, producendo così un numero fisso di cellule con la capacità di diventare gameti.

A differenza della **mitosi**, il processo della divisione cellulare **meiotica** può essere sospeso per lungo periodo di tempo.



APOPTOSI

L'**apoptosi** è un processo essenziale per il normale sviluppo embrionale e per l'omeostasi dei tessuti adulti, nei quali bilancia esattamente la proliferazione cellulare. Esso è così ordinato e ben controllato da eliminare cellule senza provocare il minimo danno al tessuto circostante. L'apoptosi dipende da meccanismi diversi rispetto a quelli che causano la **necrosi**, una modalità di morte

cellulare e tissutale che avviene solo in condizioni patologiche . L'apoptosi è un processo attivo che richiede dispendio di energia , mentre la necrosi è caratterizzata dall'impossibilità di produrre energia necessaria per mantenere in vita la cellula . Quando l'apoptosi accompagna lo sviluppo dell'embrione o del feto viene spesso chiamata **morte cellulare programmata** . L'apoptosi è un meccanismo finemente regolato che può scatenarsi a causa di una grande varietà di stimoli . Il segnale che la provoca può essere extracellulare o intercellulare . Sia la via estrinseca che intrinseca dell'apoptosi convergono nell'attivare un meccanismo comune , chiamato **cascata delle caspasi** . Le **caspasi** sono un'ampia famiglia di specifiche **cisteino – proteasi** che in forma attiva , tagliano diverse proteine cellulari , quali le lamine del nucleo , e attivano inoltre altri enzimi come il DNAasi che dissolvono i cromosomi . Nella cellula , molte proteine regolano l'apoptosi , compresa la proteina mitocondriale citocromo , Apaf-1 , i membri delle famiglie Bax , bcl-3 e IAP .

I più importanti esempi di apoptosi possono essere così correlati :

- Alcuni tipi di cellule hanno lunghezza di vita predeterminata e inevitabilmente vanno incontro ad apoptosi come parte del loro ciclo naturale di vita ; ne sono un esempio le **cellule epiteliali** della cute o le cellule che rivestono il tubo digerente .
- Altre cellule sono programmate per suicidarsi in caso di comportamento "inappropriato/anomalo" ; per esempio , i linfociti , che riconoscono normali componenti del nostro organismo , vanno incontro ad autodistruzione nel timo , processo noto come **delezione clonale** . Quando tale processo fallisce , si ha uno sviluppo di malattie autoimmuni come la tiroide di Hashimoto e l'anemia perniciosa .
- Durante lo sviluppo , moltissime cellule muoiono per apoptosi
- Certi tessuti , negli adulti , si sviluppano e regrediscono ciclicamente
- L'apoptosi colpisce anche comunemente cellule che vengono infettate da virus o che sviluppano mutazioni genetiche . Difetti di apoptosi concorrono allo sviluppo di tumori in maniera altrettanto efficace , come i difetti nel controllo della proliferazione cellulare .

➔ **MECCANISMO DELL'APOPTOSI** :A livello molecolare la via finale comune è rappresentata dall'attivazione della **cascata delle caspasi** . Le **caspasi** sono enzimi proteolitici presenti in forma inattiva in tutte le cellule . Quando una cellula entra in apoptosi , si attivano inizialmente alcune **caspasi** (**caspasi di inizio**) , grazie al taglio di una breve sequenza proteica ; queste diventano quindi capaci di attivare altra **caspasi** (**caspasi di esecuzione**) che tagliano e inattivano proteine essenziali della cellula . Quando una cellula riceve uno stimolo per iniziare l'apoptosi , il primo cambiamento morfologico è la condensazione della cromatina nucleare (**picnosi nucleare**) a formare una o più masse compatte vicino alla membrana nucleare . Al tempo stesso , la cellula si stacca dalle cellule adiacenti e il suo citoplasma diventa **eosinofilo** . In questo stadio gli organelli citoplasmatici sono ancora intatti morfologicamente . Con il progredire del processo , il materiale nucleare si frammenta (**carioressi**) e si ha poi la dissoluzione della membrana nucleare . Si formano quindi vescicole contenenti citoplasma che si staccano dalla superficie cellulare ; infine , l'intera cellula si frammenta (**cariolisi**) , formando vescicole rivestite da membrana . Alcuni di questi frammenti contengono materiale nucleare e sono noti come **corpi apoptotici** . Tali strutture possono essere fagocitate dai **macrofagi tissutali** (cellule spazzino derivate dal midollo osseo e riscontrabili in ogni tessuto del corpo) o dalle cellule adiacenti .

