

RISPOSTA CELLULARE AL DANNO NECROSI E APOPTOSI (MORTI CELLULARI)

MODIFICAZIONI ULTRASTRUTTURALI NEL DANNO

Valutiamo dal punto di vista cellulare quelli che sono i cambiamenti strutturali che accompagnano un DANNO REVERSIBILE e un DANNO IRREVERSIBILE

- Il danno REVERSIBILE prevede, che vi sia una situazione che può tornare alla normalità, quindi la cellula normale, subisce delle alterazioni morfologiche e funzionali che sono limitate. Nel senso che una volta che l'agente causante il danno sia esso un danno interno/esterno o comunque un'aumentata richiesta funzionale comporta delle modificazioni che però possono revertire e la cellula può tornare alla sua situazione di normalità. Le caratteristiche del danno reversibile sono:
 - a) Un rigonfiamento cellulare generalizzato, quindi vuol dire che l'intera cellula aumenta di volume;
 - b) Ma a questo si accompagna anche un'alterazione, o meglio una dilatazione, di alcuni organelli intracellulari tra cui per esempio il reticolo endoplasmatico che si gonfia e quindi si dilata;
 - c) Si possono accompagnare poi fenomeni quali il distacco dei ribosomi dal reticolo
 - d) Sulla superficie vediamo la formazione di questi "BLEBS", quindi di queste bolle/ rigonfiamenti sulla superficie della cellula, sulla membrana plasmatica

- Questa situazione può procedere verso una situazione di irreversibilità chiamata danno IRREVERSIBILE nel quale osserviamo anche:

Il **rigonfiamento** di organelli fondamentali, i **mitocondri**, quindi abbiamo il **rigonfiamento mitocondriale**, il danno alla membrana non è più dato da singoli blebs ma diventa un **danno esteso a tutta la membrana plasmatica** e ci può essere anche il **rigonfiamento** di altri organelli, i **lisosomi**, che contengono segregati degli enzimi litici, che quindi se si rigonfiano a tal punto da scoppiare, possono rilasciare nel citosol della cellula enzimi litici, che proprio per definizione possono causare danno alle strutture intracellulari. Anche il nucleo va incontro ad un fenomeno definito **DIPICNOSI**, dove il nucleo diventa più piccolo, la cromatina si condensa e una volta che c'è rottura dell'integrità della membrana nucleare e frammentazione del materiale genetico, la cellula muore. Il danno non è più reversibile quindi è una situazione che può essere progressiva oppure si può già definire fin dall'inizio un danno irreversibile alla cellula quando l'agente che causa il danno è molto forte o per esempio l'ipossia può essere molto prolungata esempio la carenza di ossigeno, quindi è un evento sequenziale o un evento diretto.

MORTE CELLULARE

La morte cellulare per definizione prende due connotazioni diverse, si parla infatti di necrosi e apoptosi.

La **NECROSI** è una morte cellulare caratterizzata da una serie di modificazioni morfologiche dovute alla progressiva azione degradativa di enzimi. (esempio quelli presenti nei lisosomi).

L'**APOPTOSI** è una morte cellulare causata dall'attivazione di una serie programmata e coordinata che viene innescata e poi sviluppata da una serie di eventi interni alla cellula mirati ad indurre il suicidio(morte cellulare programmata).

Per necrosi si intende una morte della cellula accidentale che normalmente coinvolge contemporaneamente più o meno gruppi estesi di cellule, raramente coinvolge una singola cellula, facenti parte di un tessuto o di un organo. Le cause sono di vario tipo:

ESOGENE

- FISICHE: traumi, esposizione al calore, radiazioni;
- CHIMICHE: azione di veleni o tossine;

-**BIOLOGICHE**: infezioni virali o batteriche;

ENDOGENE

- **ANOSSIA**= la diminuzione o totale mancanza di ossigeno;
- **ISCHEMIA**=è la totale o parziale assenza di afflusso di sangue in un organo
- **IPERTERMIA**= è una condizione patologica dell'organismo umano caratterizzata da un forte aumento della temperatura corporea
- **RISPOSTA INFIAMMATORIA**
- **ROS=ROS (Reactive Oxygen Species)** Le specie reattive dell'ossigeno, i *ROS*, sono i radicali liberi a maggior diffusione.

NECROSI

MODIFICAZIONI STRUTTURALI E ULTRASTRUTTURALI	MODIFICAZIONI BIOCHIMICHE
<p style="text-align: center;">PRECOCI</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aumento del volume cellulare; - Estroflessioni della membrana plasmatica; -Eosinofilia del citoplasma; - Alterazioni del nucleo: <ol style="list-style-type: none"> a) picnosi (riduzione del volume); b) carioressi (frantumazione); c) cariolisi (dissoluzione); - Dilatazione del reticolo endoplasmatico; -Disaggregazione dei ribosomi; -Rigonfiamento mitocondriale; Aggregazione dei costituenti del citoscheletro. <p style="text-align: center;">TARDIVE</p> <p>Citolisi operata da enzimi liberati dai neutrofili</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Ipossia; - Produzione di ROS; - Acidosi da produzione di acido lattico per glicolisi aerobica; -Deplezione di ATP per blocco della sua produzione; -Alterazione della permeabilità della membrana plasmaticada blocco di pompe ioniche che determina: <ol style="list-style-type: none"> a) ritenzione di sodioioni; b) aumento massivo della concentrazione intracellulare di calcioioni; c) riduzione della concentrazione intracellulare di potassioioni; -Innesco di processo infiammatorio;

In generale la necrosi comporta la lesione dei confini cellulari, provoca ampia perdita di cellule (cicatrizzazione) ed induce risposta infiammatoria (molto importante in quanto alla necrosi si associa la risposta infiammatoria quindi la necessità di richiamare nel sito necrotico cellule del sistema immunitario che vadano a ripulire il danno).

ASPETTI ISTOLOGICI DEL FENOMENO NECROTICO

A livello istologico gli aspetti morfologici si modificano in funzione del tessuto colpito, della causa di morte, della velocità di instaurazione del fenomeno e di altri fattori come la possibilità di sovrainfezione batterica dell'area necrotica.

Si distinguono 4 principali tipi di necrosi:

- **NECROSI COAGULATIVA**: è il tipo di morte più frequente prodotta da disturbi ischemici. Il tessuto morti diventa duro e biancastro
- **NECROSI COLLIQUATIVA**: in questo caso prevalgono i fenomeni litici che portano a dissoluzione l'area colpita, il tessuto morto si disintegra e si liquefa; il fenomeno si verifica ad esempio tipicamente nel cervello.Un'area di necrosi colliquativa in un punto circoscritto e delimitato da una capsula viene definito ascesso.
- **NECROSI CASEOSA**: così chiamata per l'aspetto del tessuto coinvolto, è caratteristica

della lesione tubercolare

- **NECROSI ADIPOSA:** Coinvolge il tessuto adiposo (è causata soprattutto da pancreatite). È caratterizzata dalla digestione dei grassi ad opera della lipasi.

A questo si aggiunge anche la terminologia GANGRENA, la parola deriva dal latino gangraena che significa putrefazione dei tessuti. È un termine usato in clinica per definire la necrosi massiva di vaste aree tissutali morte per disturbi ischemici, con possibili complicazioni come infezioni batteriche.

La gangrena può essere generalmente di tre tipi:

1) **SECCA**

PROCESSO LITICO

LOCALIZZAZIONE: parti periferiche degli arti a causa di ischemia o arteriosclerosi

ASPETTO: secco, raggrinzito e di colore nero, come se fosse mummificata. Il colore scuro è dato dalla liberazione di emoglobina emolisi globuli rossi.

CONSEGUENZE: distacco totale del tessuto gangrenoso o rimozione chirurgica

CATEGORIE A RISCHIO: Pazienti con problemi alla circolazione sanguigna periferica, come ad esempio chi soffre di diabete

SINTOMI: dolore sordo, sensazione di freddo e pallore nelle zone interessate

2) **UMIDA (più comune)**

PROCESSO LITICO: processi colliquativi, ossia le cellule morte vengono digerite da parte degli enzimi, con perdita dell'architettura cellulare e trasformazione del tessuto in una massa liquida e viscosa

LOCALIZZAZIONE: zone umide del corpo, come la bocca, l'intestino, i polmoni, la cervice uterina e la vulva o LDD nella zona sacrale, sulle natiche e sui talloni

MACCANIZMO D'AZIONE: il tessuto infettato ad opera di microrganismi saprogenerici comincia a gonfiarsi ed emettere un odore sgradevole. Le sostanze tossiche prodotte dai batteri vengono assorbite dai tessuti; questo porta ad una setticemia generale ed infine alla morte.

ASPETTO: zone colpite appaiono edematose, molli, marce e putrescenti. Il loro colore è scuro, per gli stessi meccanismi di emolisi che avvengono nella gangrena secca

3) **GASSOSA**

PROCESSO LITICO: a causa di un'infezione batterica i muscoli e i tessuti si riempiono di gas ed essudato

MECCANISMO D'AZIONE: infezione di batteri anaerobi estende molto rapidamente perché il gas prodotto dai batteri si espande e si infiltra nei tessuti sani; per questo motivo, la gangrena gassosa deve essere trattata come un'emergenza medica. I batteri responsabili della gangrena gassosa possono penetrare nei muscoli attraverso una ferita aperta non curata e in seguito proliferare nel tessuto necrotico. Producono un'esotossina molto aggressiva che dissocia e distrugge il tessuto circostante, liberando contemporaneamente del gas arricchito di anidride carbonica, il quale si espande diffondendo il processo.

CONSEGUENZE: se non trattata tempestivamente, la gangrena gassosa causa necrosi e sepsi, che progrediscono rapidamente in tossiemia e shock settico.

APOPTOSI

Un processo di eliminazione di cellule non desiderate dall'organismo attraverso l'attivazione di una

sequenza di eventi coordinati e programmati messi in atto da prodotti genici specializzati.

Si verifica.

- Durante lo **sviluppo**
- Come **meccanismo omeostatico** di mantenimento della popolazione in un tessuto
- Come meccanismo delle **reazioni immunitarie** (eliminazione cellule t autoreattive)
- Quando le cellule sono **danneggiate**
- Nell'**invecchiamento**
- **Eliminazione di cellule senescenti, infettate da virus o trasformate(es. cellule neoplastiche)**

Esiste l'apoptosi fisiologica, quindi non necessariamente legata ad un evento patologico ma fisiologico per esempio:

- Eliminazione di cellule durante emriogenesi (organogenesi, metaforfosi)
- Involuzione dei tessuti in seguito a deprivazione ormonale(endometrio, mammella, utero)
- Perdita di popolazione proliferanti(cellule t nel timo, b nel midollo osseo)
- Eliminazione di linfociti autoreattivi
- Morte cellule del sistema immunitario (neutrofili, linfociti, dopo la loro azione nel sito specifico, si ha quindi la necessità di limitare il numero delle cellule immunitarie che si sono espanse a seguito di una risposta infiammatoria)

Apoptosi importante durante l'embriogenesi esempi:

- Apoptosi fisiologica importante per regolare la morfogenesi (cellule in eccesso)
- Per la selezione (cellule non funzionanti o pericolose) o per eliminare cellule autoreattive es. cellule t che riconoscono degli antigeni propri
- importante (negli adulti) per il rimodellamento tissutale(cellule inutili) Es: la ghiandola mammaria che durante l'allattamento si espande, perchè sollecitata da stimoli ormonali che poi ritorna attraverso un processo di involuzione alla sua "normale" dimensione/ struttura. Succede anche nella prostata, nel tessuto prostatico che va incontro ad un processo di rimodellamento in seguito alla deprivazione ormonale.

In ogni caso un'alterazione dell'apoptosi può rappresentare un evento che determina un danno quindi una patologia per esempio quando c'è troppa apoptosi si va incontro al fenomeno di **ATROFIA**, ad esempio nella neurodegenerazione troppa apoptosi porta alla perdita di neuroni attivi indispensabili per il mantenimento della corretta funzionalità neuronale, invecchiamento, lesione ischemica(infarto miocardio,ictus),infezione virale estesa. Al contrario se si è in presenza di troppa poca apoptosi si va in conto al fenomeno contrario ovvero l'iperplasia, in quanto qui non vi è l'eliminazione delle cellule trasformate e per esempio cancro, si può avere l'accumulo di mutazioni, cellule anomale senza morte, patologie autoimmuni(perchè se manca l'eliminazione di cloni autoreattivi che rispondono contro le cellule del nostro corpo si può avere lo stabilirsi di una patologia autoimmune.

In generale dobbiamo ricordare che l'apoptosi si innesca, è regolata da un equilibrio molto importante finemente regolato da proteine **pro-apoptotiche** che favoriscono l'innescarsi del processo e proteine **anti-apoptotiche** che inibiscono il processo. Questo equilibrio è fondamentale perchè a seconda che prevalga un lato o l'altro, quindi l'attività di proteine pro-apoptotiche (troppa apoptosi) o l'attività delle proteine anti-apoptotiche (troppo poca apoptosi) determina l'innescarsi

dell'apoptosi e la sua modulazione.

Da un punto di vista morfologico, come la necrosi, ci sono delle caratteristiche fondamentali che caratterizzano la cellula apoptotica come le caratteristiche strutturali ossia la diminuzione delle dimensioni cellulari, la condensazione della cromatina, estroflessioni citoplasmatiche (BLEBS) formazione di corpi apoptotici (citoplasma+ organelli+ membrana), ma a differenza della necrosi l'apoptosi **NON INNESCA INFIAMMAZIONE** e **COLPISCE CELLULE ISOLATE CHE VENGONO ELIMINATE PER FAGOCITOSI** (processo mediato da alcune cellule specializzate del sistema immunitario, fagociti, che mangiano le cellule frammentate o i corpi apoptotici in modo da ripulire l'ambiente da questi elementi morti).

FASI DEL PROCESSO DI APOPTOSI

L'apoptosi è un processo coordinato e programmato, quindi, esistono una serie di eventi sequenziali che vengono messe in atto dalla cellula per attuare il processo apoptotico. Normalmente la cellula impiega dalle 2 alle 4 ore per attuare questo processo.

I principali protagonisti sono: i recettori espressi sulla membrana plasmatica, enzimi proteolitici (caspasi), molecole liberate dai mitocondri, geni che codificano per proteine pro o anti – apoptotiche.

L'apoptosi si innesca principalmente per due vie:

1- VIA INTRINSECA O MITOCONDRIALE

2- VIA ESTRINSECA O ATTIVATA DAI RECETTORI DI MORTE SULLA SUPERFICIE PLASMATICA

Entrambe le vie convergono nella fase di attivazione delle caspasi, questi enzimi fondamentali che vengono attivati a cascata.

Si può dire che le tre fasi critiche e sequenziali possono essere riassunte: A) FASE DI INDUZIONE

B) FASE DI ESECUZIONE

C) FASE DI DISGREGAZIONE

A-Nella fase di induzione abbiamo la via estrinseca: in cui abbiamo l'interazione tra citochine pro-apoptotiche(TNF α ,TNF α ,Fas-L)esprese sulla superficie di alcune cellule e recettori sulla superficie della cellula bersaglio(TNF-R,Fas) ed intrinseca: mancanza di fattori di crescita, danni cellulari al DNA o ai mitocondri per es.

B- Fase di esecuzione, dove i bersagli sono i mitocondri ed il nucleo, i principali attori sono le caspasi e altre proteine pro-apoptotiche (bid,bad, p53), rilascio dai mitocondri dell'APOPTOSOMA(Citopromo e Apaf1),AIF,DNAasi.

C-Infine abbiamo la fase di degradazione, dove si ha la frammentazione del DNA da parte di endonucleasi attivate da caspasi e da ioni calcio a livello delle regioni tra due nucleosomi, in frammenti da 180-200 pb.

CARATTERISTICHE BIOCHIMICHE DELL'APOPTOSI

- Taglio di proteine ad opera di proteasi cisteiniche “caspasi”, sono zimogeni-proenzimi inattivi,è bene che la loro attività sia fortemente controllata perchè se non controllata potrebbe portare alla morte di cellule che in realtà devono innescare il processo
- Formazione di legami crociati tra le proteine
- Rottura del DNA in frammenti 50-300kb, segue il taglio del DNA A LIVELLO INTER-NUCLEOSOMIALE in frammenti multipli si 180-200 paia di basi(pb), ad opera di endonucleasi

- Espressione di fosfatidilserina sulla membrana ,segnale per i macrofagi, fagocitosi
- Rappresenta l'evento finale di una cascata di eventi molecolari, dipendenti da energia, iniziata da stimoli specifici

Da un punto di vista morfologico, le differenze tra necrosi e apoptosi sono:

1. Diminuiscono le dimensioni cellulari
2. Condensazione cromatina
3. Formazione di corpi apoptotici(citoplasma-organelli-membrana)
4. Non innesca infiammazione
5. Le cellule colpite sono eliminate per fagocitosi

	APOPTOSI	NECROSI
ISTOLOGIA	Colpisce cellule isolate in tessuti vitali	Muiono gruppi di cellule distruggendo la struttura del tessuto
CITOLOGIA	Nuclei picnotici,citoplasma condensato,frammenti cellulari	Edema cellulare, nuclei intatti ma colorati debolmente
TEST DI ESCLUSIONE DEL COLORANTE	I coloranti sono inizialmente esclusi	I coloranti entrano
ULTRASTRUTTURA CITOPLASMA	Compatto, con organuli intatti reticolo endoplasmatico dilatato e membrana plasmatica intatta	I mitocondri mostrano un rigonfiamento di grande entità e corpi densi nella matrice profili degli orgnuli dilatati rotture della membrana plasmatica e delle membrane interne
NUCLEO	Cromatina condensata, in semilune Disintegrazione nucleare	Cromatina con struttura più grossolana ma che mantiene una distribuzione normale
CIRCOSTANZE	Spesso in caso di morte "programmata" Atrofia Uccisione immunitaria cellulo-mediata tossine(basse dosi)	Mai in condizioni fisiologiche complemento Ipossia Tossine(alte dosi)
EFFETTI SUI TESSUTI	Nessuna infiammazione Fagocitosi ad opera di cellule adiacenti Rapida involuzione senza il collasso della struttura dell'intero tessuto	Infiammazione acuta Cicatrizzazione tardiva

