

A microscopic image showing several cells. One cell in the center is prominent, showing internal organelles like a nucleus and mitochondria. The text is overlaid in yellow on a blue background.

For every cell there
is a time to live
and a
time to die

APOPTOSI

Necrosi = processo passivo, la cellula subisce un danno, la membrana plasmatica si rompe e il contenuto della cellula viene riversato nell'ambiente circostante, innescando una risposta infiammatoria

Apoptosi = è un processo attivo, durante il quale la cellula accende un programma genetico che ne determina la morte. In sequenza si osservano frammentazione del DNA, compattamento cellulare e formazione di frammenti detti corpi apoptotici

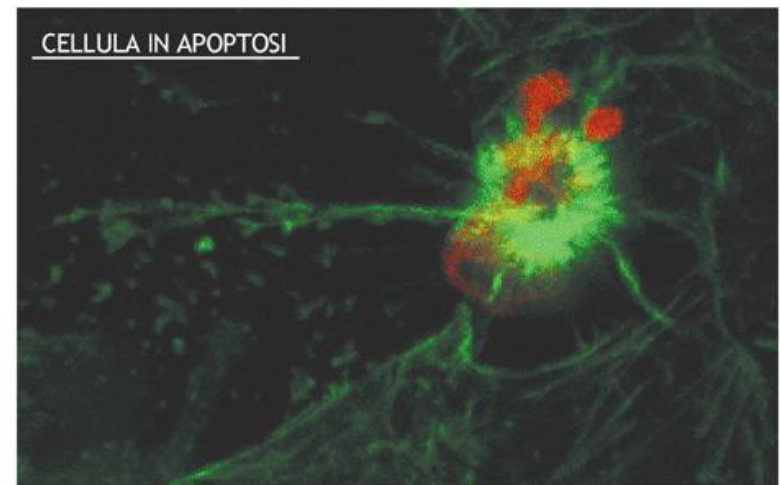
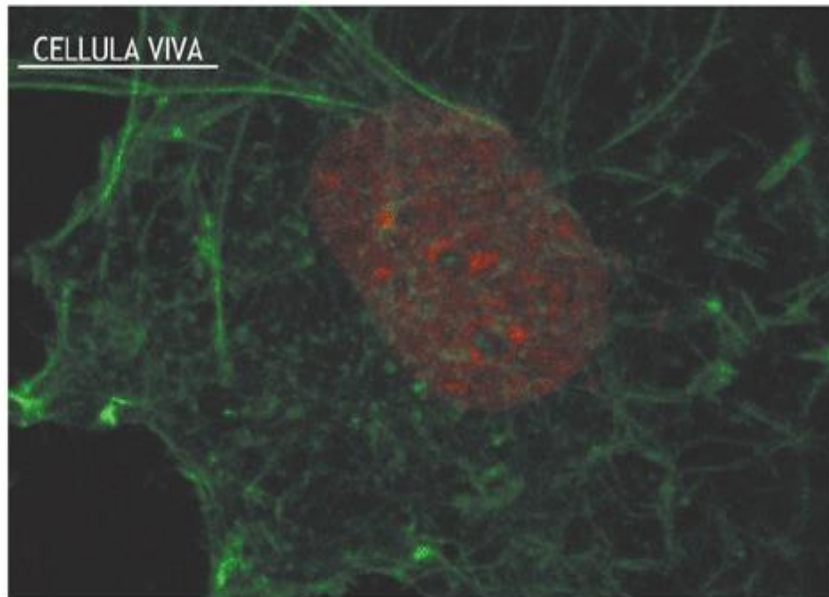
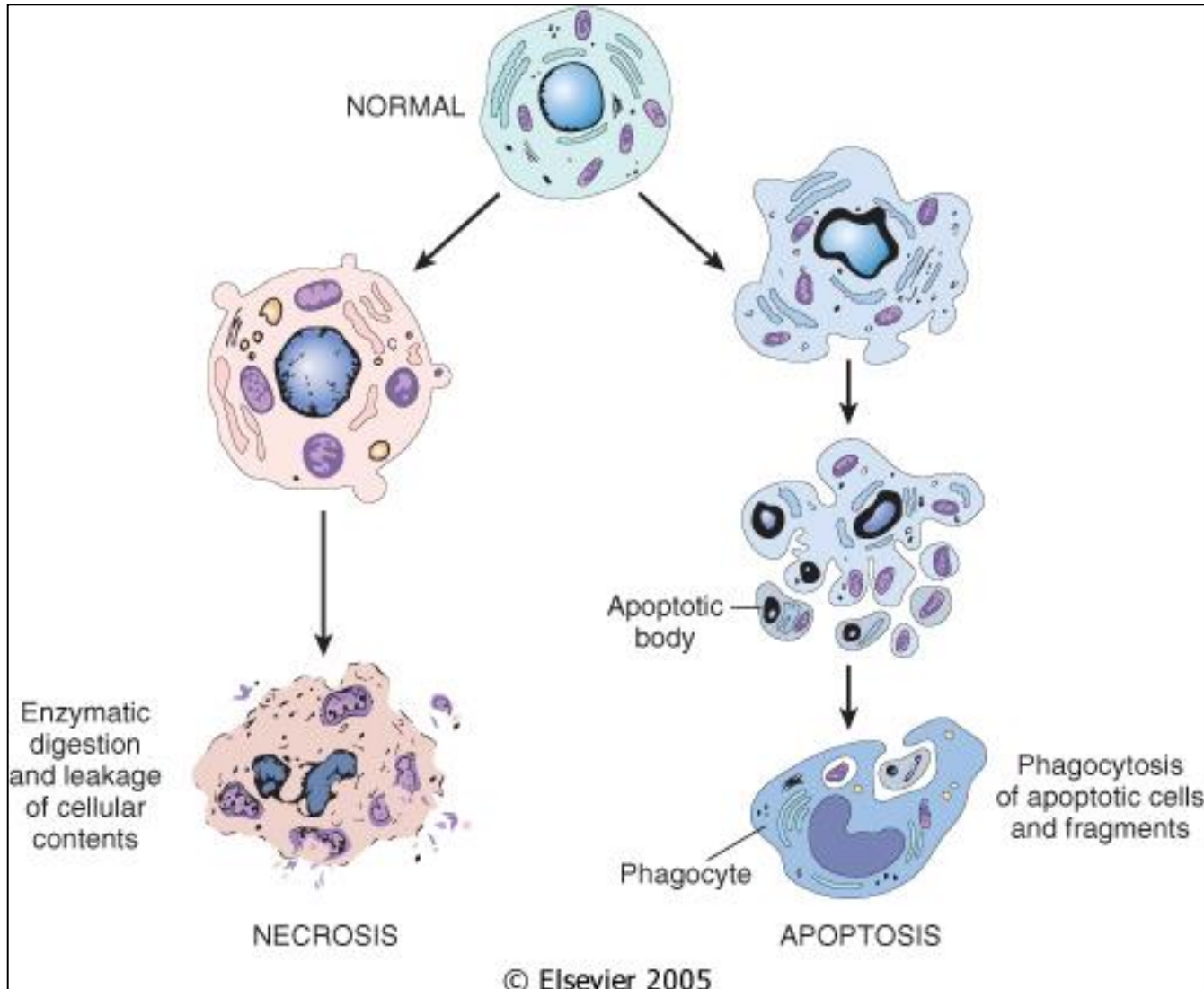
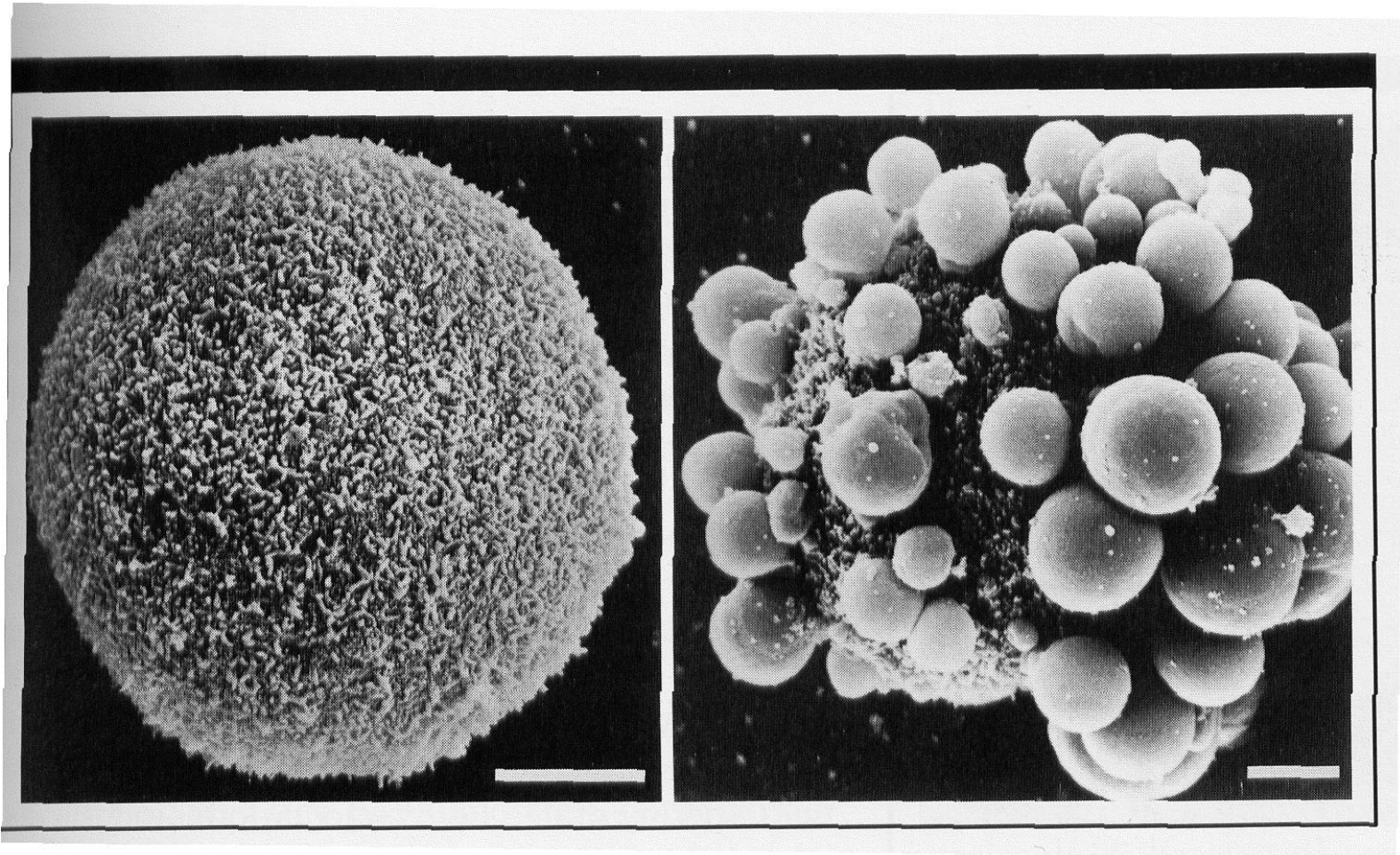


Figura 7.38 Fluorescenza al microscopio confocale di una cellula in apoptosi. In rosso sono colorati i nuclei ed in verde il citoscheletro di actina. Da notare la frammentazione del nucleo e la compattazione del citoplasma nella cellula apoptotica.

La morte cellulare: necrosi e apoptosi



MENTRE LA CELLULA NECROTICA (*cellula in necrosi*) RILASCIA I SUOI COSTITUENTI ALL'ESTERNO, LA CELLULA APOPTOTICA (*cellula in apoptosi*) SI FRAMMENTA E I FRAMMENTI VENGONO RIMOSSI DA CELLULE MACROFAGICHE

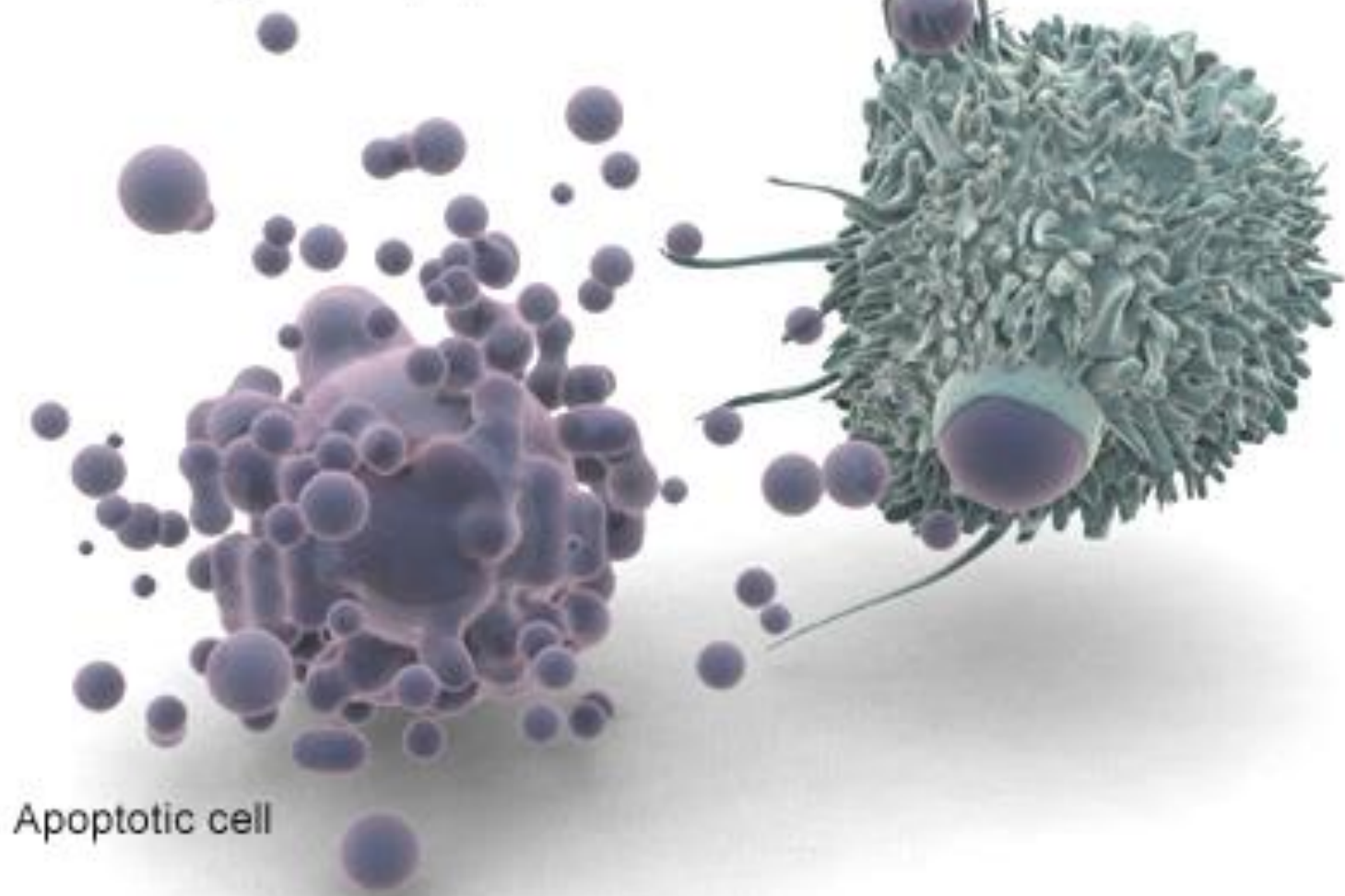


Cellula normale

Cellula in vescicolazione

Final stage of apoptosis

White blood cell



Apoptotic cell

NECROSI

La sequenza degli eventi che si susseguono in una cellula che sta morendo per necrosi possono variare a seconda del tessuto e del tipo di danno.

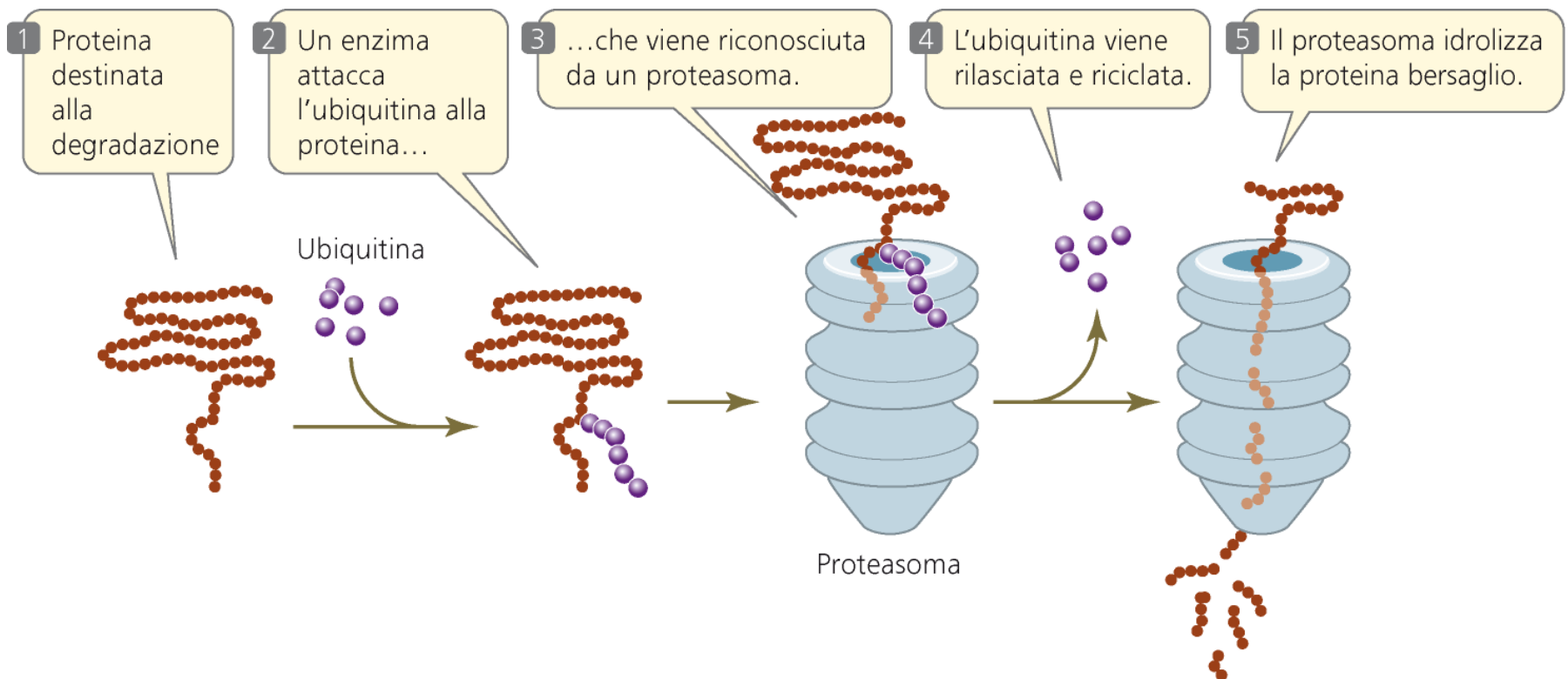
Eventi:

- La Produzione di ATP nei mitocondri si arresta.
- Le pompe ioniche di membrana, che funzionano con l'ATP, si bloccano.
- Nella cellula entrano sodio e acqua.
- La cellula e gli organuli interni si rigonfiano.
- La cellula avvia la risposta allo shock termico (allo stress) con aumento della sintesi di alcune proteine (chaperonine) che tentano di contrastare la denaturazione delle proteine e della ubiquitina (proteina che lega in maniera covalente le proteine denaturate e le indirizza alla distruzione).
- Il pH si abbassa

- Nella cellula entra il calcio.
- -Il calcio attiva le **fosfolipasi** che provocano la perdita di fosfolipidi dalle membrane e la formazione di lisofosfolipidi ed acidi grassi che inducono un ulteriore danneggiamento delle membrane.
 - Il calcio attiva le **CALPAINE**, proteasi che danneggiano le strutture citoscheletriche
 - Il calcio attiva le **ATPasi** provocando un'ulteriore perdita di ATP.
 - Il calcio attiva le **endonucleasi**.
- La risposta allo shock termico non riesce più a contrastare la denaturazione proteica che si fa massiccia.
 - Il RE e gli altri organuli si rigonfiano
 - Ad un certo punto la cellula muore.

L'apparato finale di distruzione delle proteine negli eucarioti è il **proteasoma**. Presente in molte copie disperse nel **citoflasma** e nel **nucleo**, il proteasoma ha come bersaglio anche molte **proteine del reticolo endoplasmatico rugoso**: quelle proteine che non riescono a ripiegarsi o ad assemblarsi in modo appropriato dopo essere entrate nell'ER sono scoperte da un sistema di sorveglianza che le retrasloca nel citosol per la degradazione.

Con poche eccezioni, i proteasomi agiscono su proteine che sono state marcate in modo specifico per la distruzione dall'attacco covalente di copie multiple di una piccola proteina chiamata **ubiquitina**. L'ubiquitina si trova nella cellula libera o unita covalentemente ad un'enorme varietà di proteine intracellulari. Per la maggior parte di queste proteine, questa marcatura porta alla loro distruzione da parte del proteasoma.



Apoptosi

Caratteristiche:

- È una ordinata sequenza di eventi
- riguarda cellule sparse
- coinvolge cellule sia malate che sane
- Richiede energia, sintesi di RNA e di proteine
- non comporta una risposta infiammatoria

Coinvolge molecole quali :

- Recettori di membrane
- Proteine pro e antiapoptotiche
- Le caspasi, enzimi proteolitici aventi una cisteina nel sito attivo
- Proteine liberate dai mitocondri, tra cui alcune endonucleasi

APOPTOSI

Morte Programmata

La morte cellulare programmata è necessaria nel modellare l'organismo durante l'embriogenesi o, più in generale, per un appropriato sviluppo: fondamentale per la realizzazione del programma differenziativo-morfogenetico.

Garantisce specificità tissutale e corretto rapporto numerico tra tipi cellulari (omeostasi tissutale)

Viene usata per eliminare strutture che non sono più necessarie all'organismo.

Esempi

Es: regressione della ghiandola mammaria dopo l'allattamento.

Es: formazione degli spazi interdigitali, le dita si formano grazie alla rimozione

delle cellule che formano le membrane interdigitali tramite un processo di morte cellulare per apoptosi detto "scultura del corpo"

Es: sfaldamento dell'endometrio che dà inizio alle mestruazioni avviene per apoptosi.

Es: la formazione di opportune connessioni fra i neuroni (sinapsi) richiede che le cellule in eccesso siano eliminate per apoptosi.

APOPTOSI

Preserva la funzionalità dell'intero organismo a discapito della singola cellula in questo caso si parla di suicidio altruista

la morte cellulare programmata è necessaria per distruggere cellule che costituiscono un pericolo per l'integrità dell'organismo:

ESEMPI:

cellule con DNA danneggiato (→improprio sviluppo embrionale, trasformazione neoplastica). Le cellule rispondono ad un danno al DNA aumentando la produzione di p53, un potente induttore dell'apoptosi.

cellule tumorali (radiazioni e chemioterapici inducono apoptosi in alcuni tipi di tumore).

cellule infettate da virus

(Uno dei metodi attraverso cui i linfociti T citotossici uccidono le cellule infettate è inducendo l'apoptosi)

cellule del sistema immunitario auto-responsive (→ difetti nel macchinario apoptotico si accompagnano alla comparsa di malattie autoimmunitarie)

APOPTOSI

Morte Programmata

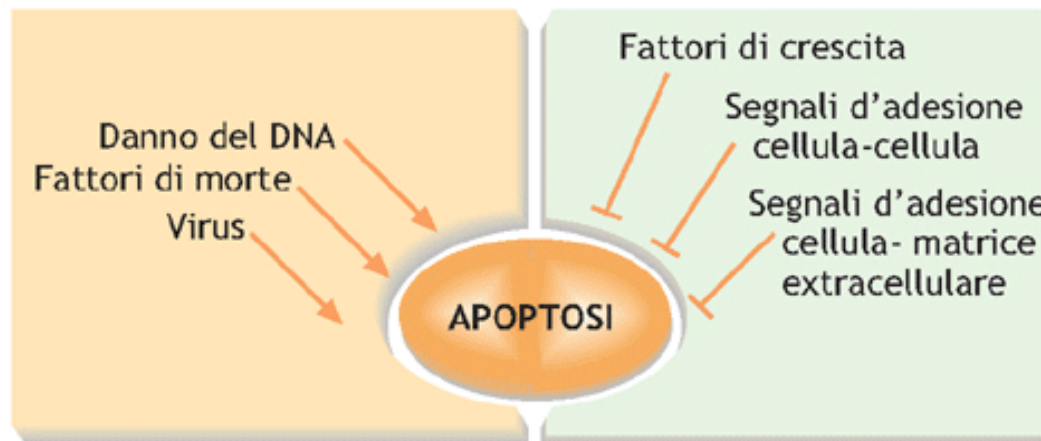
L'esistenza di un programma genetico di morte cellulare è stato dimostrato verso la fine degli anni '80

E' un processo rapido, dura infatti circa 20 minuti

In un individuo adulto sano, ogni ora, miliardi di cellule, nei vari distretti dell'organismo muoiono per apoptosi.

Perché le cellule devono essere eliminate?

Le cellule ricevono segnali per crescere e dividersi, ma devono anche ricevere continuamente segnali di sopravvivenza, la mancanza di questi segnali innesca un processo di morte cellulare per apoptosi.

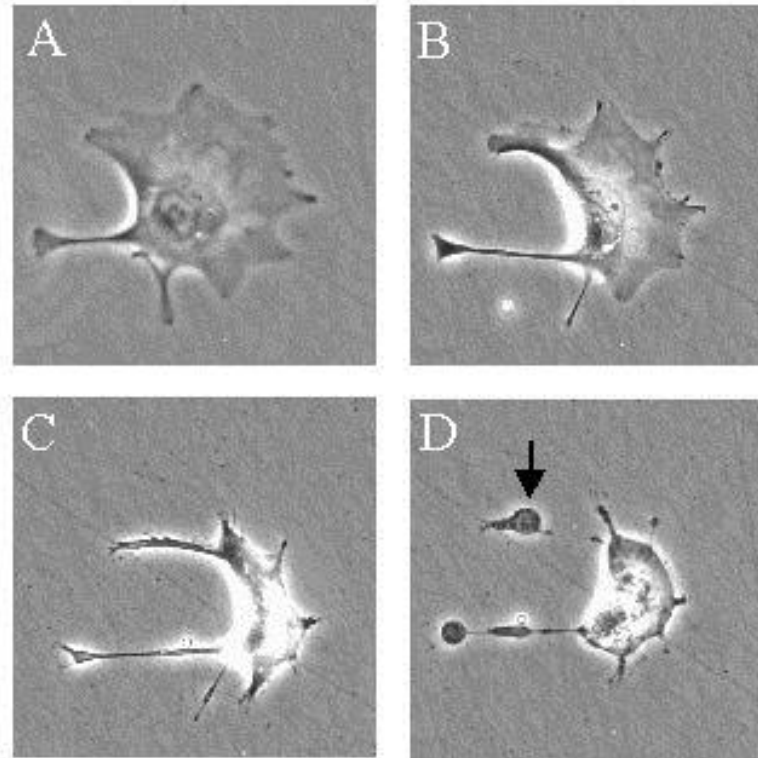


■ Figura 7.39 I segnali che inducono e che reprimono l'apoptosi.

EVENTI CARATTERISTICI DELL'APOPTOSI

1. Il citoplasma inizia a contrarsi in seguito alla proteolisi di filamenti di actina. Perdita d'acqua, insolubilizzazione proteine citoplasmatiche.
2. La cromatina viene degradata in modo regolare (laddering) e così pure le proteine nucleari; il nucleo si condensa.
3. La cellula continua a contrarsi riducendosi ad una forma che permetta la facile eliminazione da parte dei macrofagi. Si verificano cambiamenti della membrana plasmatica favorenti la fagocitosi (traslocazione della fosfatidilserina dal foglietto interno all'esterno). Modificazioni della membrana si accompagnano alla comparsa dei cosiddetti BLEBS.
4. Formazione dei corpi apoptotici.

Corpi apoptotici



Apoptosi = dal greco, caduta delle foglie da una pianta

LE CASPASI

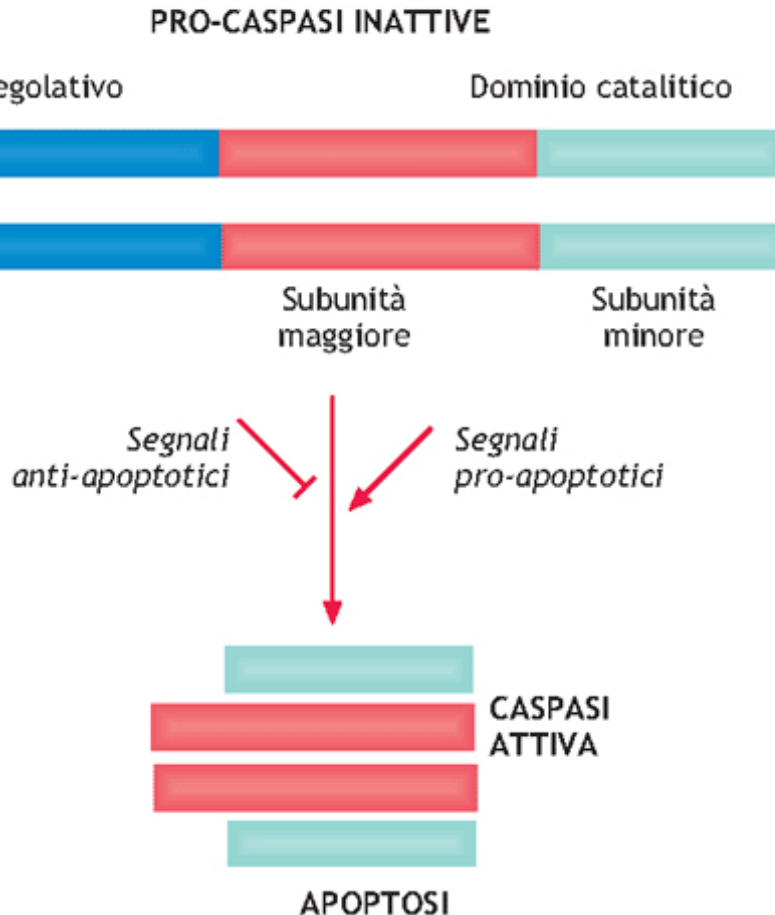
Sono delle Cisteina Proteasi che tagliano proteine a livello di residui di acido aspartico (da cui C-ASP-asi). Per la maggioranza delle caspasi i loro substrati sono altre caspasi. La cascata di attivazione delle caspasi culmina nell'attivazione delle caspasi effettrici, quali la caspasi 3 e 6.

Queste sono responsabili della proteolisi di proteine cellulari chiave → cambiamenti morfologici tipici di una cellula che va in apoptosi.

CAD: Caspase Activated DNase (frammenta il DNA in unità nucleosomali)

PARP: Poly-ADP-ribosio-polimerasi. E' coinvolta nel riparo del DNA danneggiato; il taglio da parte della caspasi 3 ne previene l'attività. Anche la topoisomerasi (replicazione e riparo del DNA) viene inattivata dalle casp3.

LE CASPASI



Sono presenti nella cellula come precursori inattivi, pro-enzimi o pro-caspasi.

Un segnale apoptotico scatena il loro processamento e l'inizio dell'attività proteolitica

Questi enzimi possono processare altre caspasi, innescando così una cascata proteolitica che amplifica il numero di pro-enzimi attivati

■ **Figura 7.41 Le caspasi.** Durante l'apoptosi queste cistein-proteasi vengono attivate mediante processamento proteolitico. La forma attiva dell'enzima è formata da un tetramero.

Regolazione molecolare dell' apoptosi: due vie di trasduzione

1) **Via intrinseca**

- l'apoptosi e' iniziata per problemi all'interno della cellula (danno al DNA, stress ossidativo, danno mitocondriale)

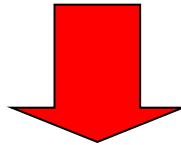
2) **Via estrinseca**

- l'apoptosi e' iniziata da segnali che provengono dall'esterno della cellula

Fase di induzione

- **Via estrinseca:** interazione tra citochine pro-apoptotiche (TNF- α , TNF- β , Fas-L) espresse sulla superficie di alcune cellule (cellule dei testicoli e dell'apparato oculare) e recettori sulla superficie della cellula bersaglio (TNF-R, Fas)

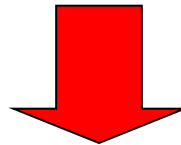
- **Via intrinseca:** mancanza di fattori di crescita, danni cellulari al DNA o ai mitocondri



Fase di esecuzione

Propagazione della cascata delle **caspasi** e di altre proteine proapoptotiche (Bid, Bad, p53)

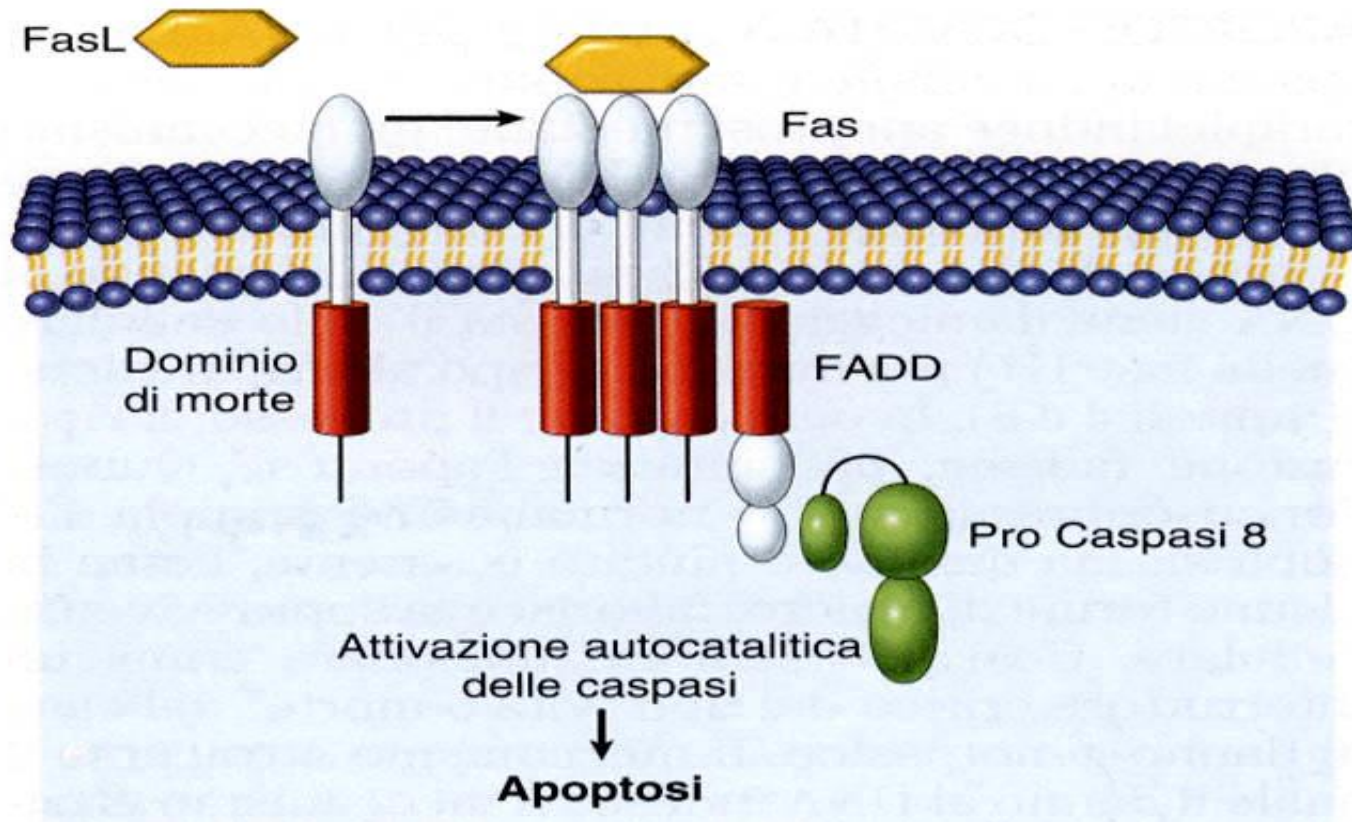
Rilascio dai mitocondri dell'**APOPTOSOMA** (citocromo c e Apaf 1), AIF, DNAsi



Fase di degradazione

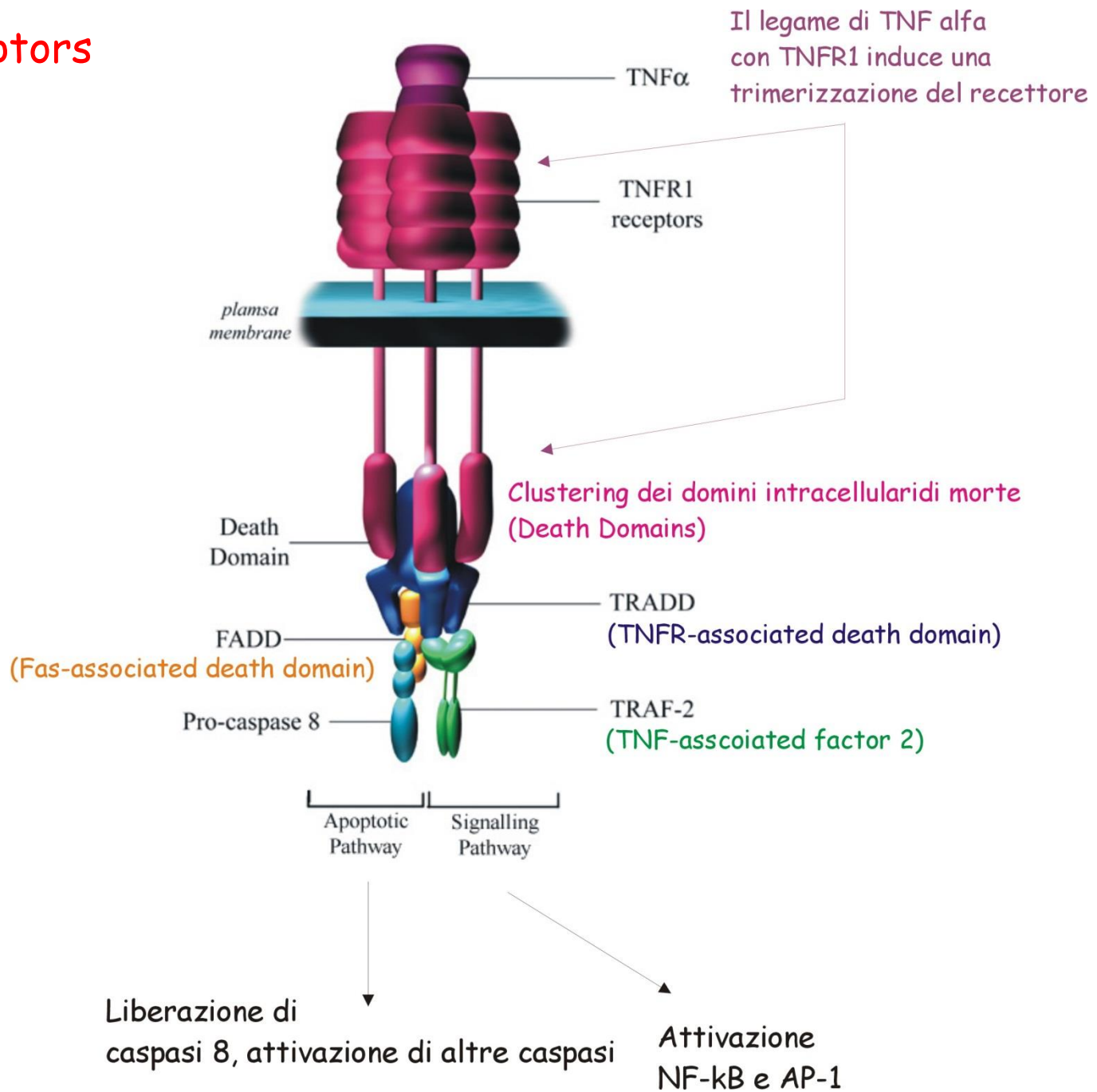
Frammentazione del DNA da parte di endonucleasi attivate da caspasi e da ioni calcio a livello delle regioni tra due nucleosomi, in frammenti da 180-200 pb

Fas : il recettore per l'induzione di apoptosi



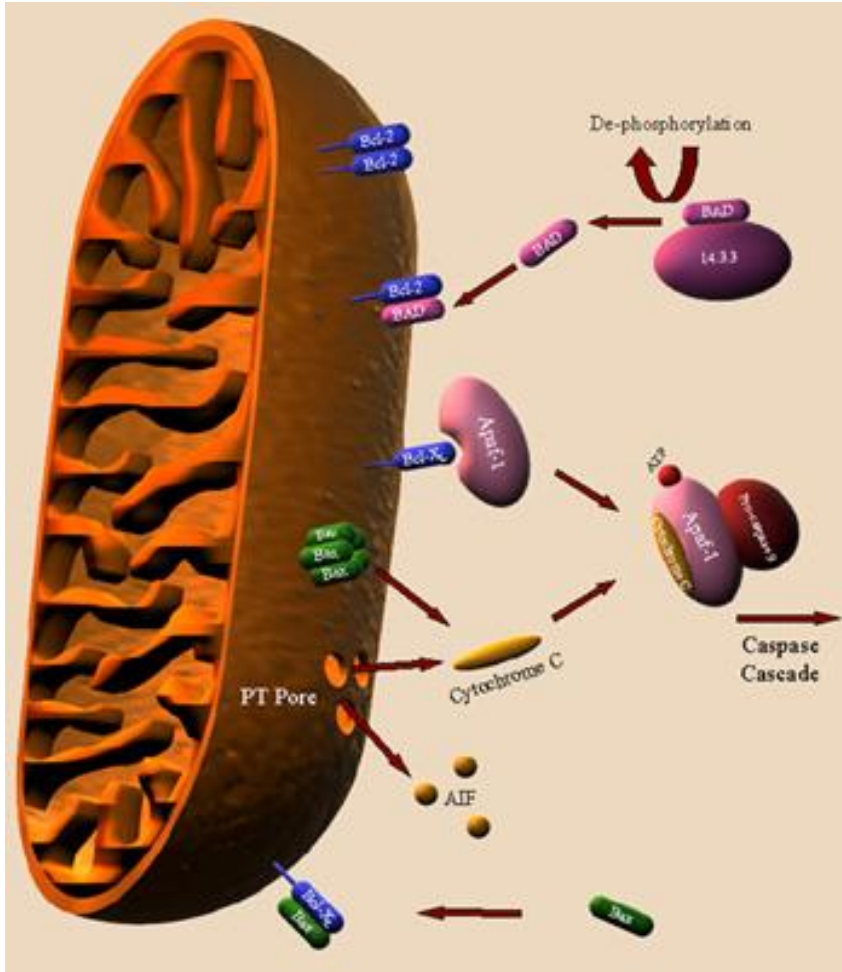
- Legame di FASL al suo recettore**
- Induzione di trimerizzazione**
- Reclutamento di Fadd e di caspasi 8**
- Attivazione di caspasi 8**

Death receptors



Le proteine pro-apoptotiche si trovano nel citosol dove agiscono da sensori di danno cellular

attività PRO-APOPTOTICA (Bad o Bax).



LE PROTEINE Bcl-2

Sono una famiglia di proteine che comprende alcune ad attività ANTI-APOPTOTICA (bcl-2 e bcl-XL).

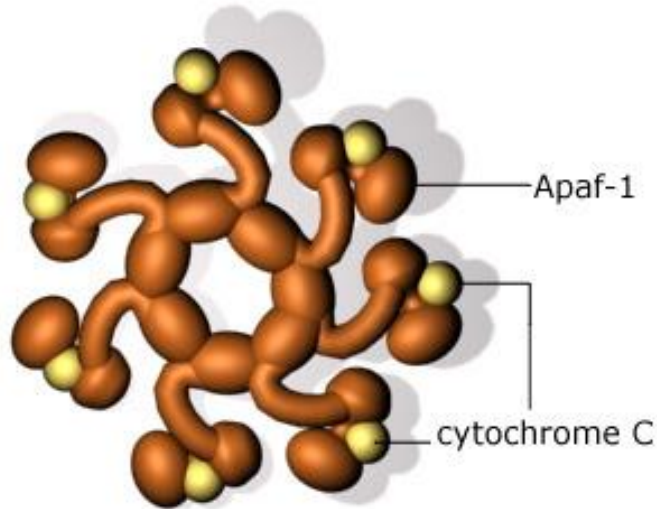
-In seguito ad un danno, LE PROTEINE PRO-APOPTOTICHE migrano alla superficie dei mitocondri dove si trovano le proteine anti-apoptotiche Bcl-2.

-L'interazione fra questi due gruppi di proteine porta alla perdita della normale funzione delle proteine ad attività anti-apoptotica e alla formazione di pori sulla membrana mitocondriale,

con *rilascio di citocromo c* e altre molecole pro-apoptotiche dallo spazio intermembrana.

-APOPTOSI.

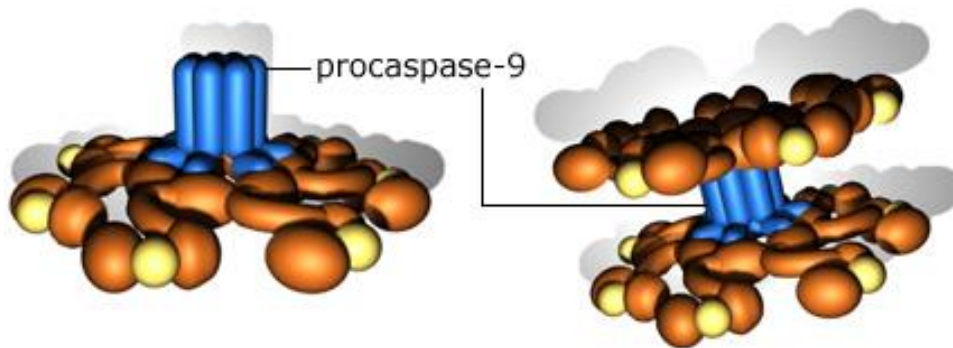
First stage of apoptosome formation



APOPTOSOMA

*E' un complesso multiproteico formato dal **citocromo C**, da una proteina citosolica, **Apaf-1**, dalla **pro-caspasi 9** e dall'**ATP**.*

Recruitment of procaspase-9



Caspase Activation

