

Corso di Patologia Generale- I anno

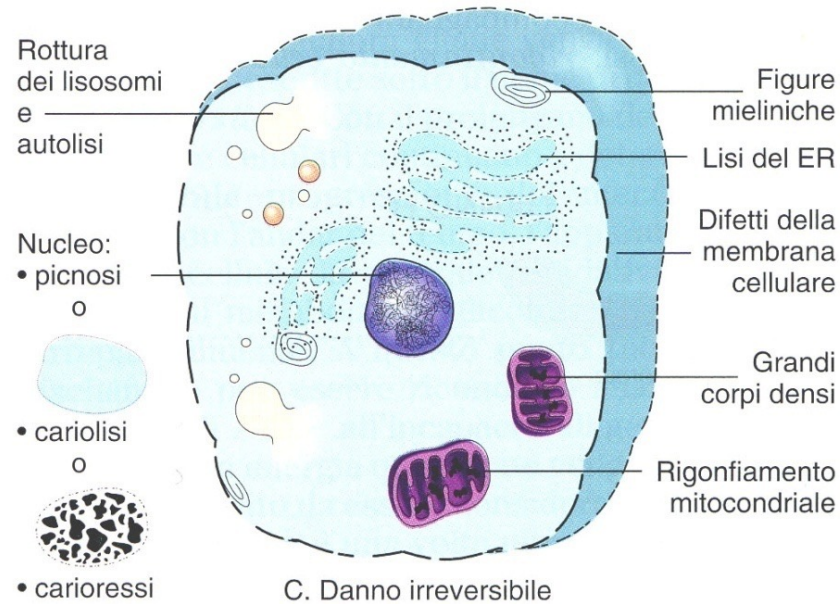
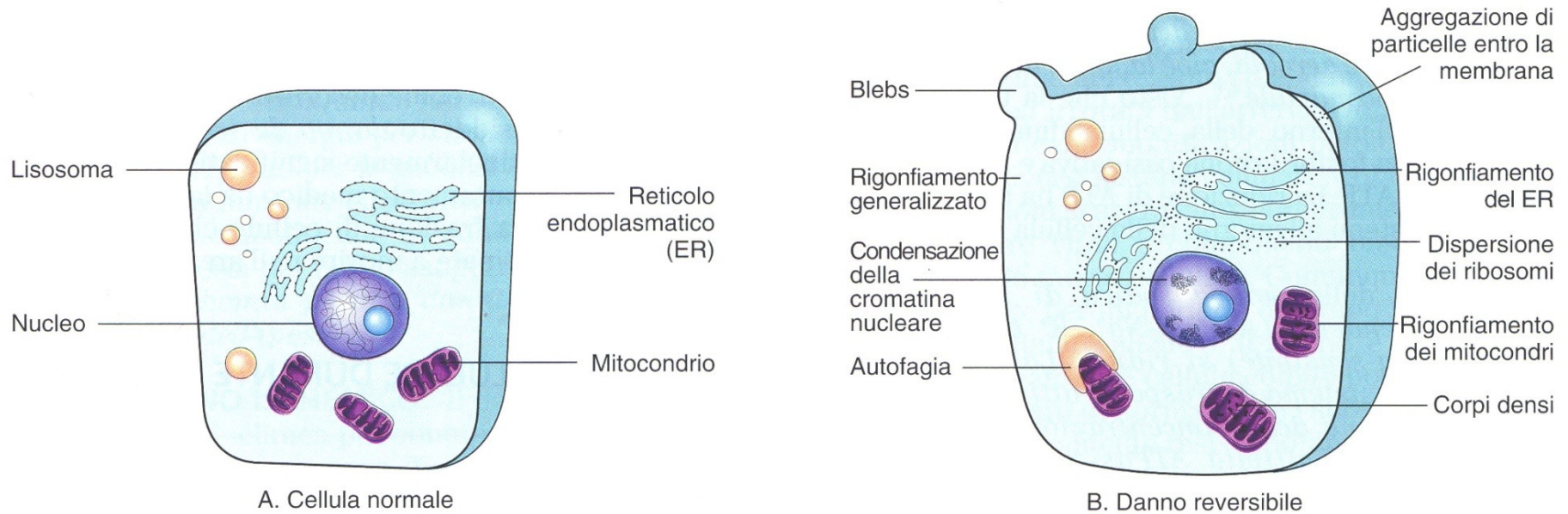
Prof. Soriani

Lezione 21/11/2024

Morte cellulare

Il materiale presente in questo documento viene distribuito esclusivamente ad uso interno e per scopi didattici.

STADI DI EVOLUZIONE DEL DANNO CELLULARE



L' evento finale del danno cellulare è la **MORTE CELLULARE**

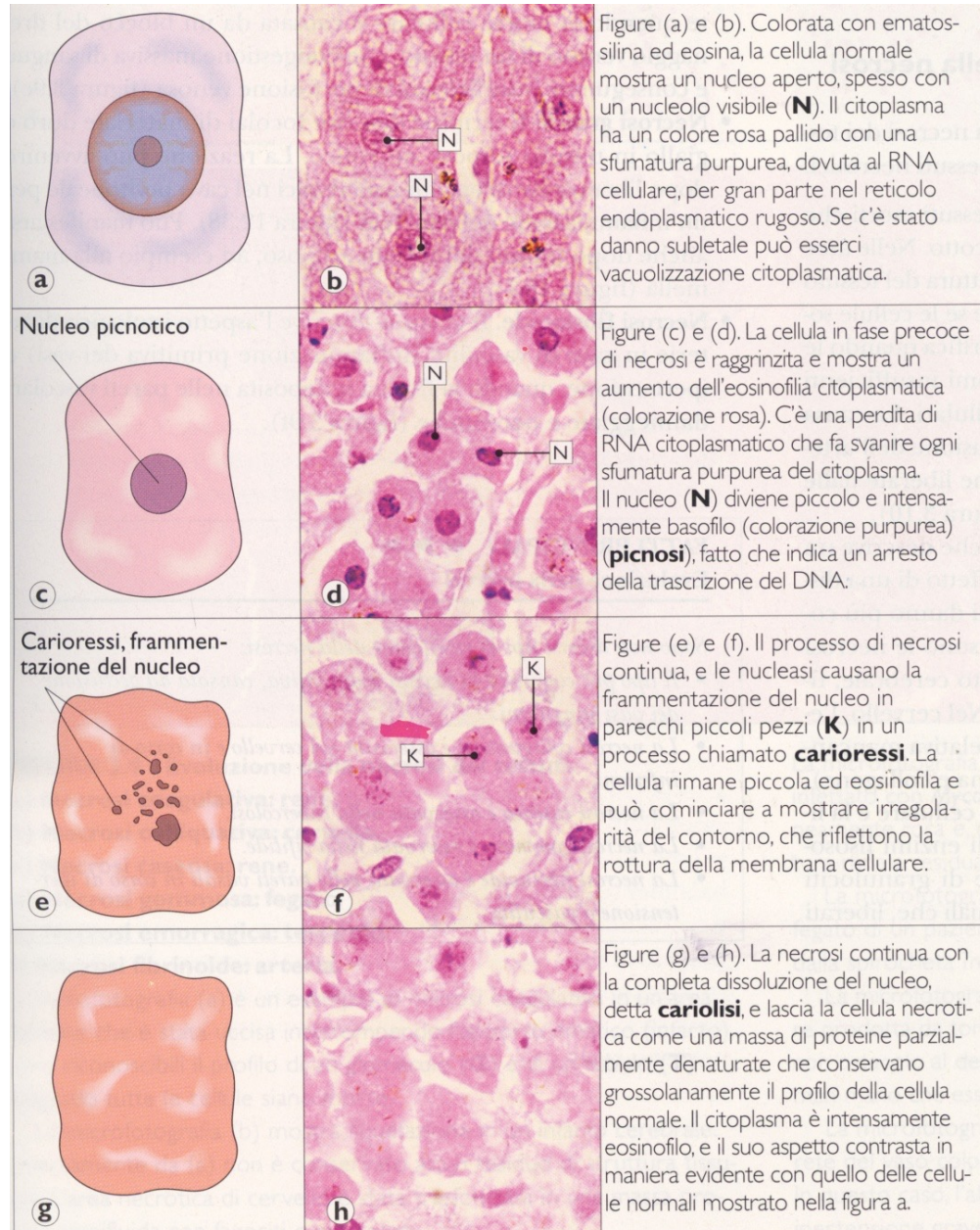
La morte cellulare è seguita da modificazioni strutturali caratteristiche nell' insieme definite necrosi.

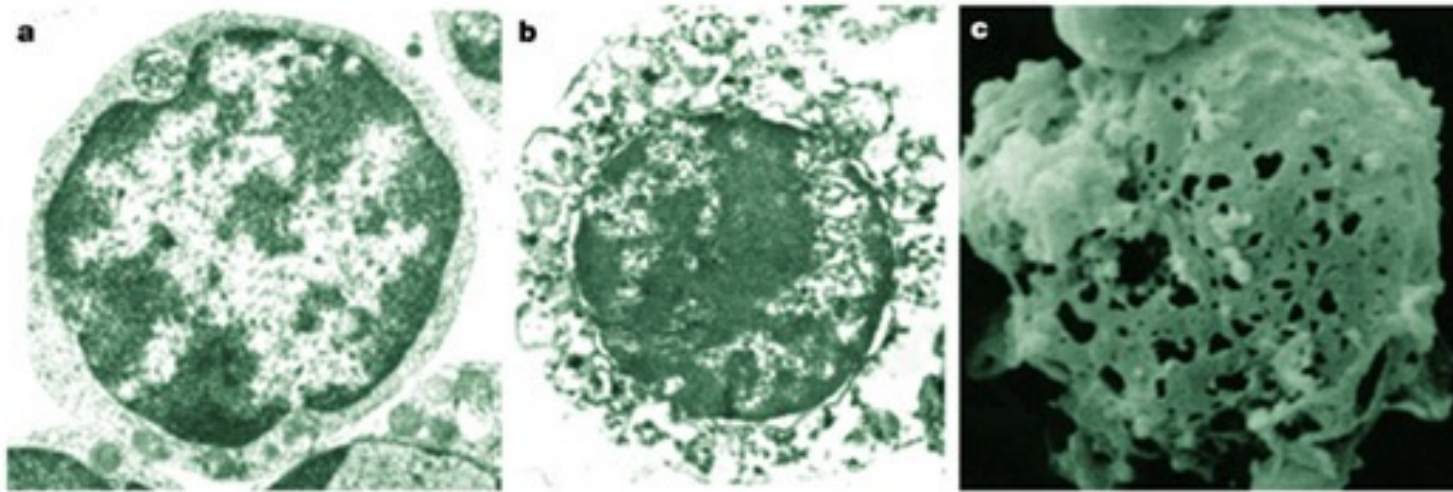
“La necrosi consiste in un' insieme di cambiamenti istologici che si accompagnano alla morte cellulare”

La massa necrotica va incontro a tre modificazioni dinamiche:

- ❖ si accumulano sali di calcio
- ❖ dalle membrane si libera colesterolo che cristallizza
- ❖ i fosfolipidi di membrana formano le figure mieliniche (prive di significato)

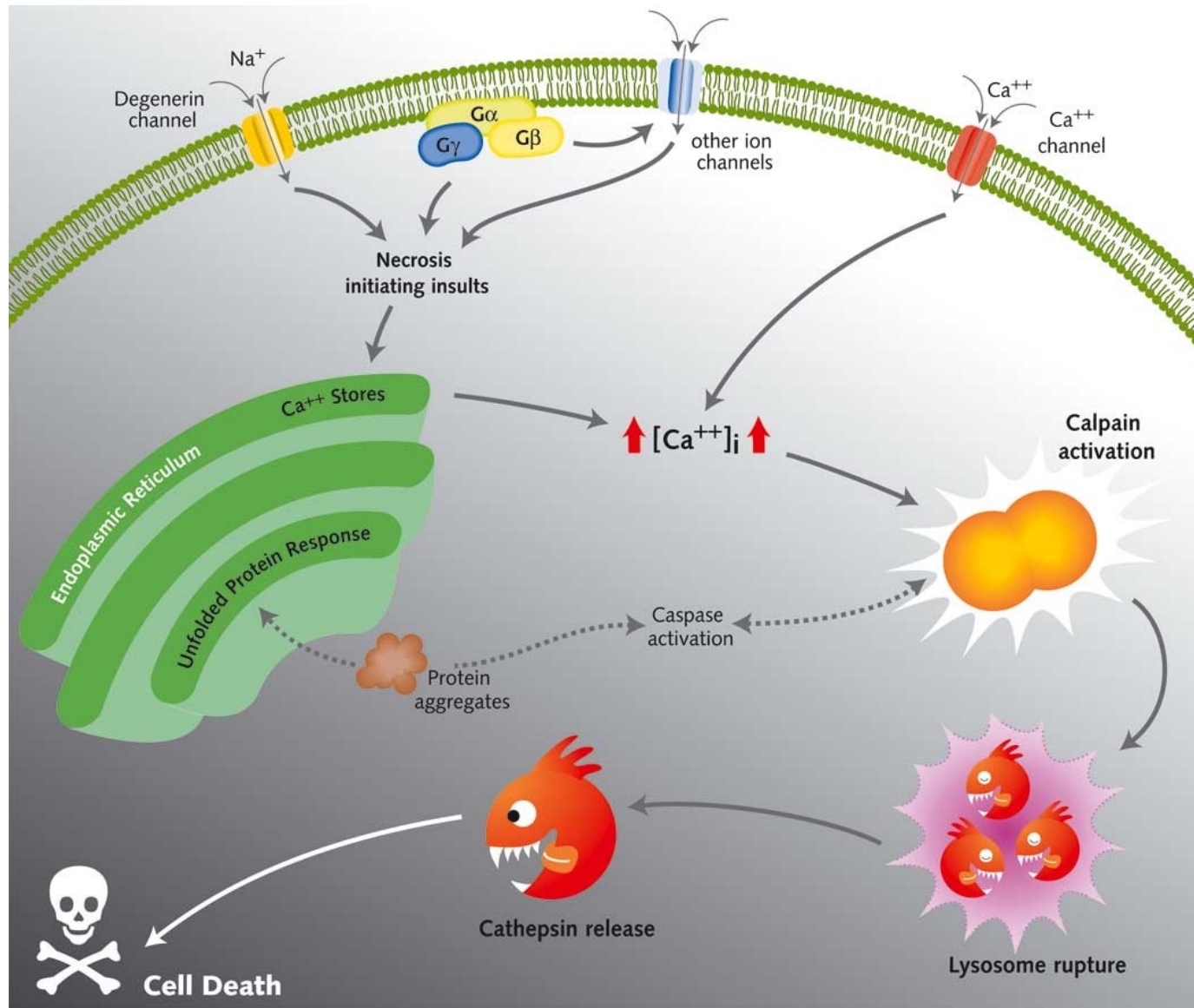
Eventi cellulari nella NECROSI



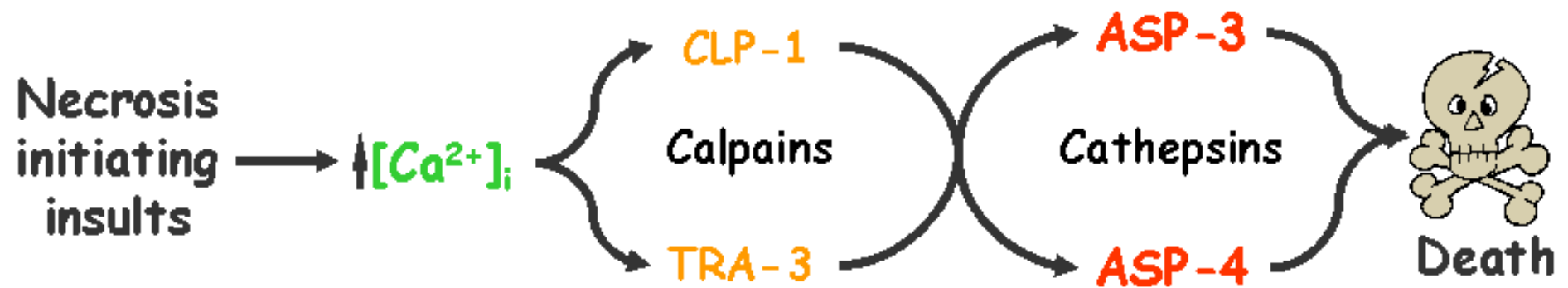


Nature Reviews | Neuroscience

Electron micrographs of a normal cell (a) and a cell undergoing necrotic cell death (b). Extensive distortion of the cytoplasm and the plasma membrane is evident. The scanning electron micrograph shown in c illustrates the marked lesions that appear on the surface of the plasma membrane at late stages of necrotic cell death. Adapted, with permission Purdue University Cytometry Laboratories.



Many diverse initiating conditions that trigger necrosis may provoke a net increase in the cytoplasmic calcium concentration, either by stimulating uptake of extracellular calcium or by facilitating the release of calcium stores from the endoplasmic reticulum. Calcium could, in turn, signal the mobilization of executioner cathepsin proteases and other hydrolases through calpain activation. Calpains have also been implicated in the activation of pro-apoptotic caspase proteases.



Calpains act sequentially with cathepsin aspartyl proteases, downstream of cytoplasmic calcium elevation to facilitate cell death.

Dopo che è avvenuta la morte cellulare, il tessuto necrotico può andare incontro a due tipi diversi di alterazione:

- il tessuto morto diventa duro e biancastro = *necrosi coagulativa*
- il tessuto morto si disintegra e si liquefa = *necrosi colliquativa*

Questi due diversi aspetti morfologici sono determinati principalmente dal destino cui vanno incontro le proteine cellulari:

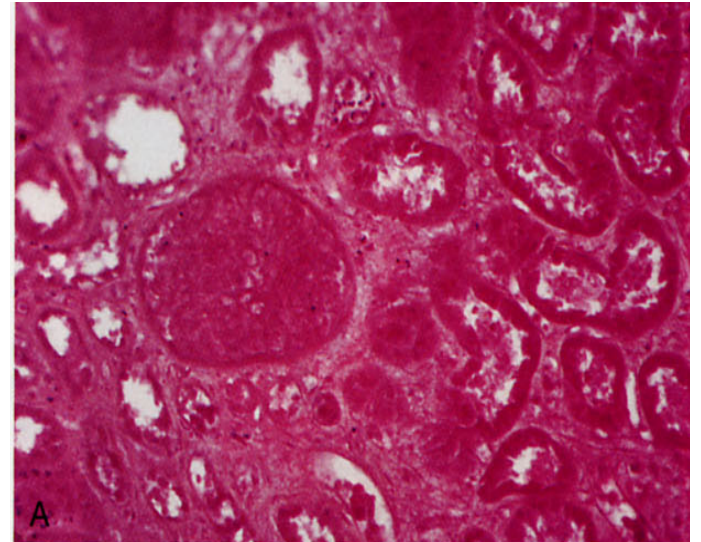
- le proteine possono denaturarsi — *necrosi coagulativa*
- le proteine possono andare incontro a digestione enzimatica (autolisi o eterolisi) — *necrosi colliquativa*

TABELLA 15.3.
Aspetti microscopici della necrosi

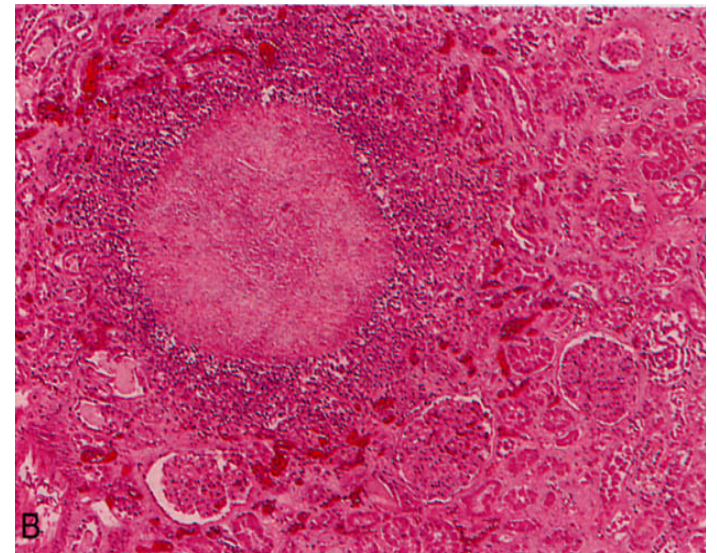
TIPI DI NECROSI	PRINCIPALI CARATTERISTICHE
Necrosi coagulativa	È causata dalla precoce denaturazione delle proteine cellulari. L'architettura cellulare è solo parzialmente mantenuta, ma l'eosinofilia citoplasmatica è accentuata ed i nuclei sono fortemente danneggiati.
Necrosi colliquativa	È causata dalla rapida dissoluzione cellulare che rende irriconoscibile qualsiasi struttura per cui l'area colpita si presenta amorfa e acidofila infiltrata da cellule infiammatorie.
Necrosi caseosa	È tipica dei granulomi tubercolari. Le aree necrotiche si presentano macroscopicamente con un aspetto simile al formaggio grattugiato e microscopicamente come zone amorphe acidofile.
Necrosi adiposa enzimatica o steatonecrosi	Subentra alla distruzione del tessuto adiposo e di quello pancreatico. La dissoluzione cellulare è causata dalla liberazione di enzimi lipolitici.
Necrosi fibrinoide	Coinvolge la tonaca media delle arteriole che si presenta fortemente acidofila per l'accumulo di proteine liberate dalle cellule.

LE CELLULE NECROTICHE POSSONO ASSUMERE DIVERSI ASPETTI MORFOLOGICI

NECROSI COAGULATIVA: caratterizzata da denaturazione precoce ed incompleta degradazione proteica. I profili cellulari e l'architettura del tessuto sono ancora riconoscibili istologicamente. Si osserva principalmente in seguito ad occlusione dei vasi sanguigni.



NECROSI COLLIQUATIVA: caratterizzata da digestione enzimatica che provoca la trasformazione del tessuto in una massa liquida e viscosa. L'architettura del tessuto pertanto non è preservata. E' caratteristica delle infezioni da batteri piogeni e da funghi.



Un tipo particolare di necrosi coagulativa è la *necrosi caseosa*, che si riscontra spesso nel granuloma tubercolare. Deve il suo nome all'aspetto macroscopico del tessuto (bianco e simile al formaggio). Si distingue dalla normale necrosi coagulativa perché in essa l'architettura del tessuto è irriconoscibile.



NECROSI CASEOSA DEL FEGATO



NECROSI CASEOSA DEL POLMONE

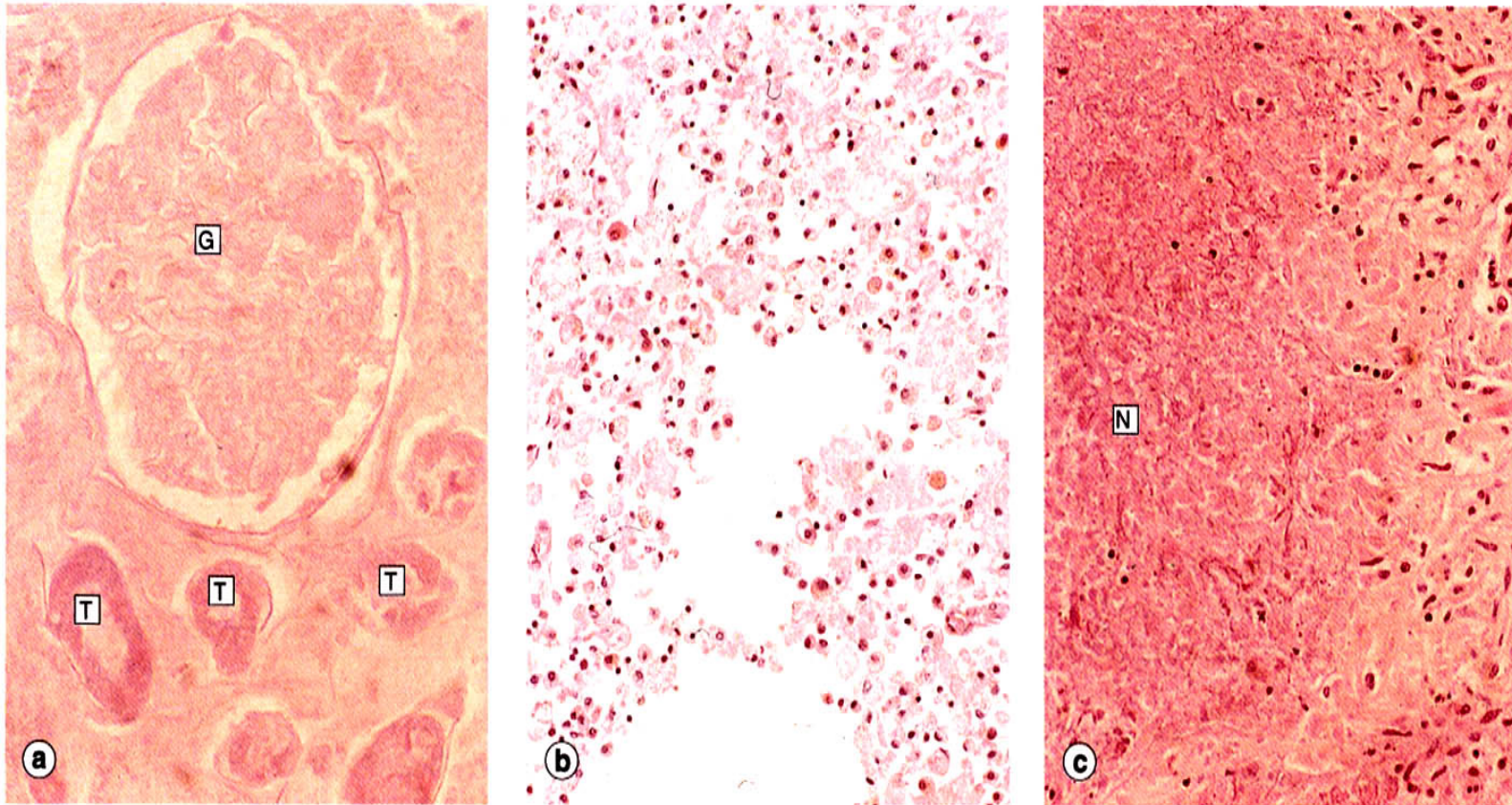
Un altro tipo particolare di necrosi è la *gangrena* che si verifica in un arto con interruzione completa dell'irrorazione sanguigna e conseguente necrosi coagulativa. Se si sovrappone un'infezione batterica con conseguente colliquazione = *gangrena umida*.

Necrosi colliquativa Infarto cerebrale



E' visibile una cavità in seguito a rimozione del tessuto necrotico

Necrosi : varie tipologie istologiche



N. COAGULATIVA

N. COLLIQUATIVA

N. CASEOSA

Figura 3.10 Evoluzione della necrosi dei tessuti. (a) Necrosi coagulativa: rene. (b) Necrosi colliquativa: cervello. (c) Necrosi caseosa: rene.

La micrografia (a) è un esempio di necrosi coagulativa in un'area del rene che è stata uccisa interrompendo l'apporto ematico (infarto). Sono riconoscibili il profilo di un glomerulo (G) e di un tubulo (T) malgrado tutte le cellule siano morte.

La micrografia (b) mostra liquefazione in un infarto cerebrale. Diversamente da (a) non è conservato alcun residuo di struttura tessutale. L'area necrotica di cervello è stata trasformata in una massa proteica semifluida con fagociti e macrofagi.

La micrografia (c) mostra un'area di necrosi caseosa in un rene infettato con *Mycobacterium tuberculosis*. L'area necrotica (N) è omogeneamente rosa e, confrontata con (a) non mostra immagine di architettura renale residua.

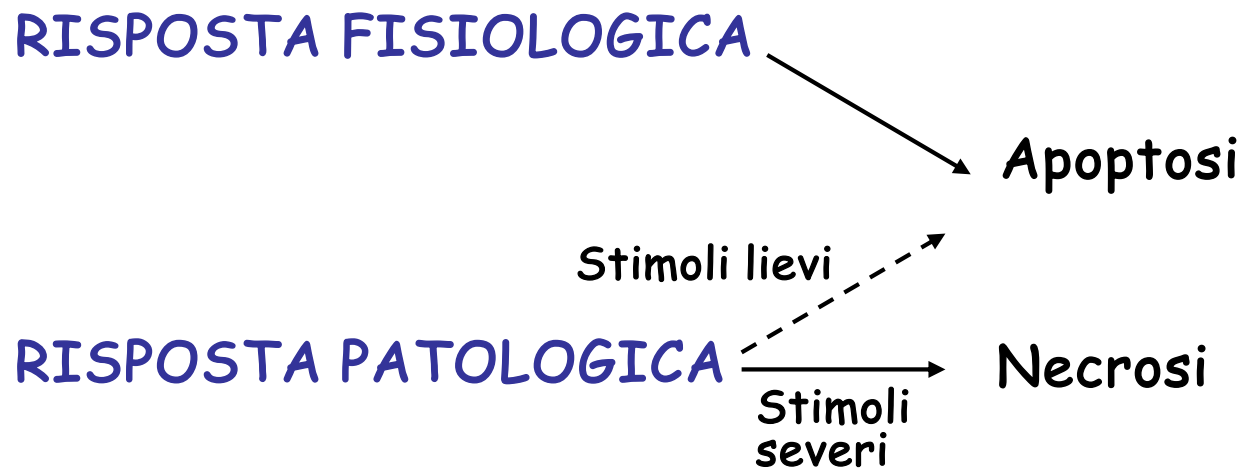
NECROSI GRASSA

Pancreatite acuta



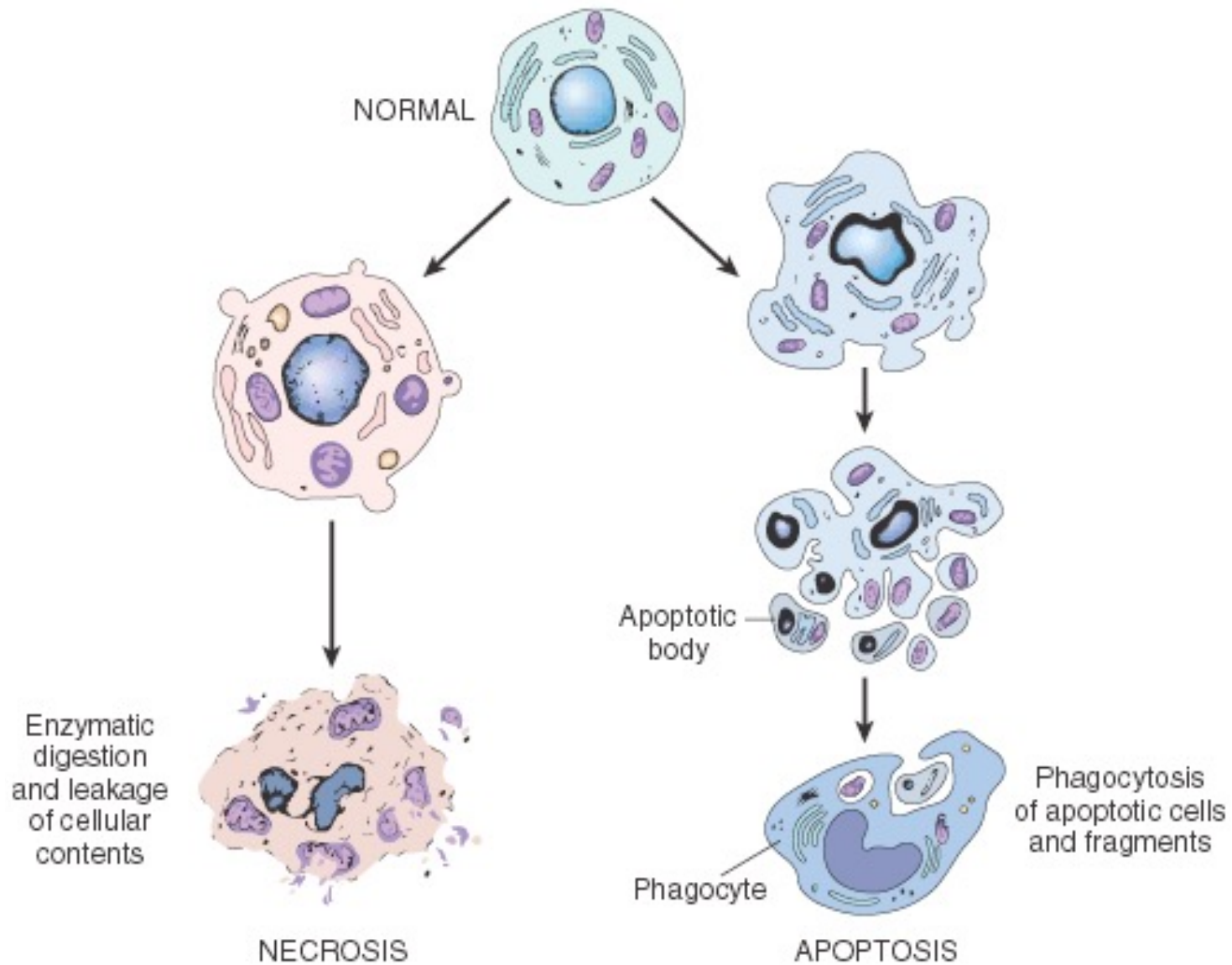
I saponi di calcio si formano quando il calcio si combina con gli acidi grassi rilasciati dalle lipasi attivate in seguito a pancreatite.

LA MORTE CELLULARE



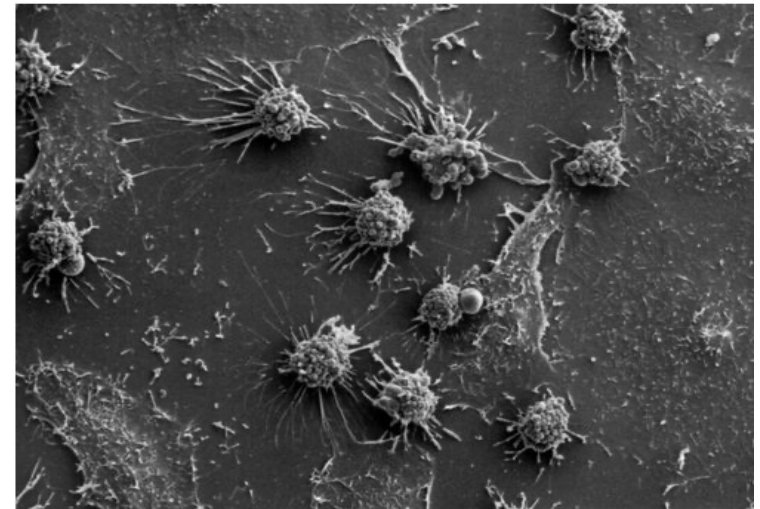
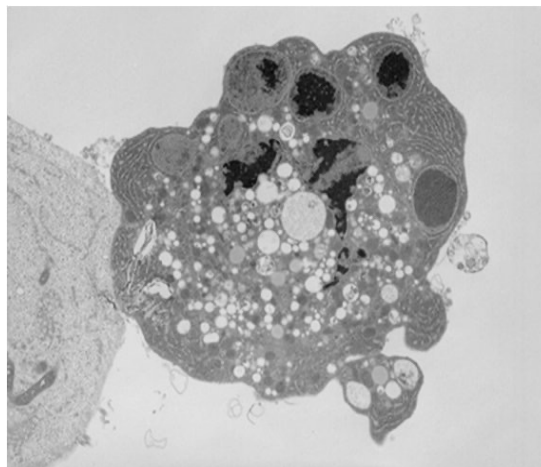
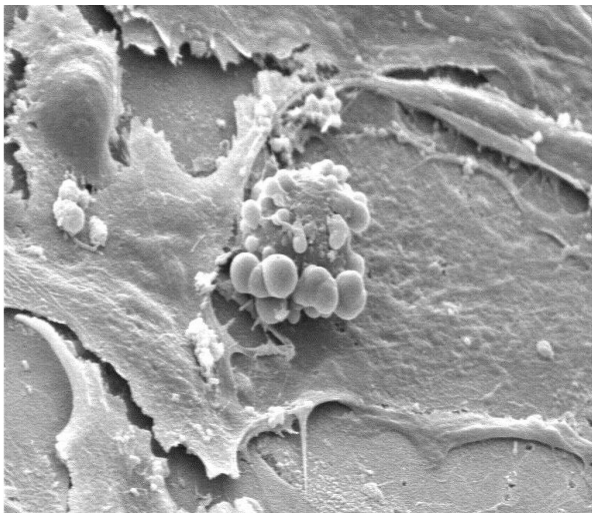
- **APOPTOSI=Programmata**: conseguenza dell'attivazione di un processo geneticamente controllato

Alterazioni ultrastrutturali nella NECROSI e nell' APOPTOSI





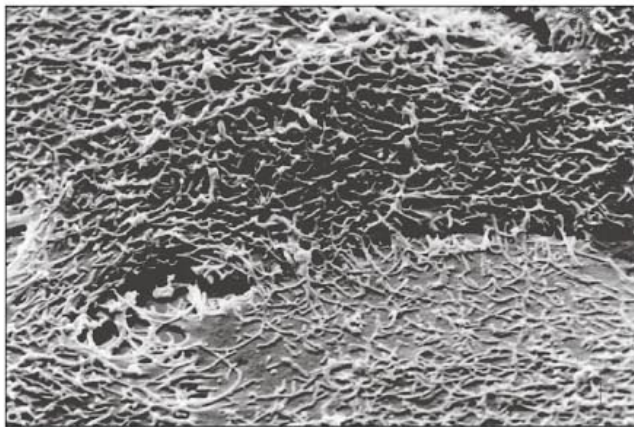
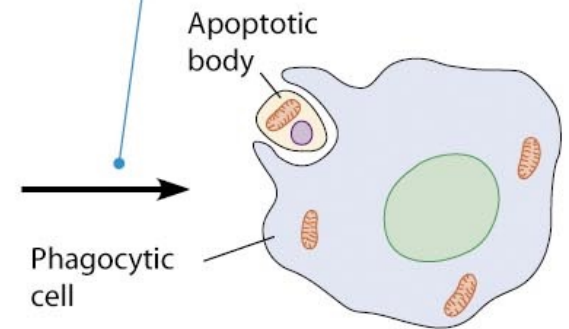
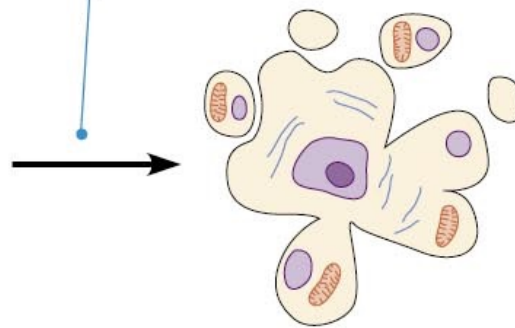
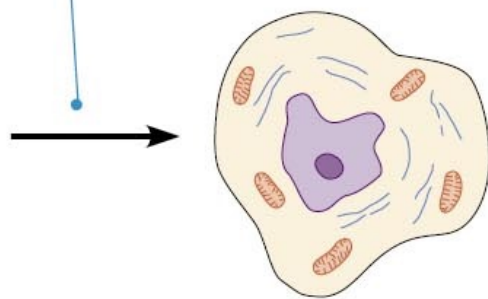
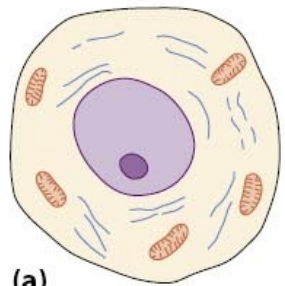
L' APOPTOSI E' UNA FORMA DI MORTE CELLULARE CHE HA LO SCOPO DI ELIMINARE CELLULE NON DESIDERATE ATTRAVERSO L' ATTIVAZIONE DI UNA SERIE DI EVENTI COORDINATI E INTERNAMENTE PROGRAMMATI PORTATI AVANTI DA UN INSIEME SPECIFICO DI PRODOTTI GENICI.



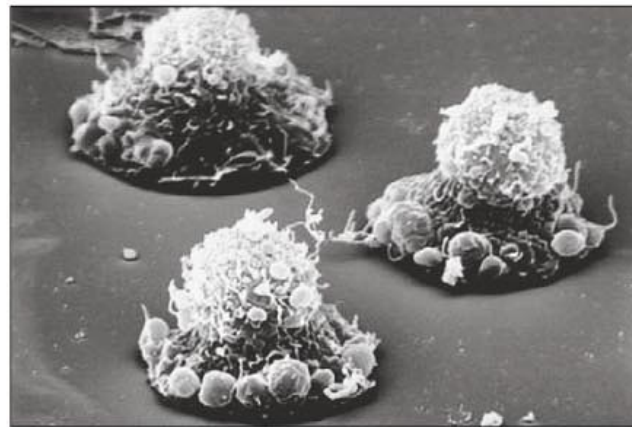
1 As a cell begins to undergo apoptosis, its chromosomes condense and its cytoplasm shrinks.

2 Eventually the nucleus becomes fragmented, its DNA is digested at regular intervals ("laddering"), the cytoplasm becomes fragmented, and the cell extends numerous blebs.

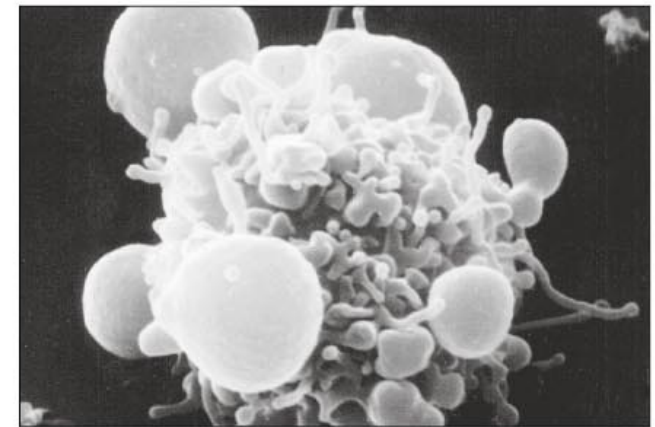
3 Ultimately the remnants of the dead cell (apoptotic bodies) are ingested by phagocytic cells.



(b)



(c)



(d)

Gli **stimoli lesivi** che inducono l'**apoptosi** sono simili a quelli che inducono la necrosi ma di **minore** intensità

CAUSE ESOGENE

- **FISICHE** (shock termici, radiazioni)
- **CHIMICHE** (agenti chemioterapici, tossine)
- **METABOLICHE** (ipossia, assenza di un fattore di crescita o di un ormone)

L'apoptosi può verificarsi anche in situazioni fisiologiche:

- durante lo sviluppo
- come meccanismi omeostatico di mantenimento delle popolazioni cellulari all'interno di un tessuto
- come meccanismo di difesa nelle risposte immunitarie
- nell'invecchiamento

PERCHE' UNA CELLULA VA IN APOPTOSI?

la morte cellulare programmata è necessaria nel modellare l'organismo durante l'embriogenesi o, più in generale, per un appropriato sviluppo:

- la formazione di opportune connessioni fra i neuroni (sinapsi) richiede che le cellule in eccesso siano eliminate per apoptosi.
- lo sfaldamento dell'endometrio che dà inizio alle mestruazioni avviene per apoptosi.
- la formazione delle dita del feto richiede la rimozione del tessuto che le unisce

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

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 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

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

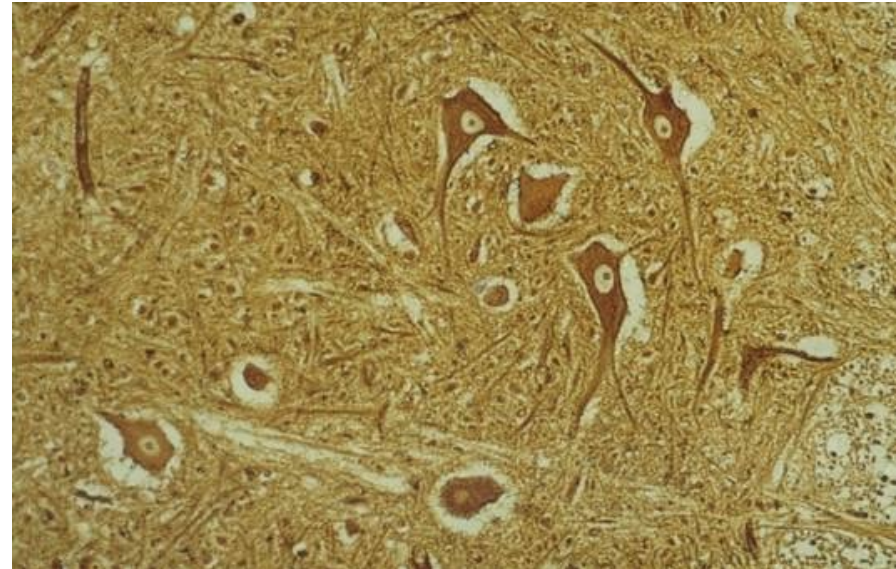
TABELLA 15.4.
Esempi di condizioni in cui interviene la morte cellulare programmata

FISIOLOGICHE	PATOLOGICHE
<p><i>Organogenetiche</i> Nello sviluppo ontogenetico si ha l'eliminazione di neuroni e di altre cellule, prodotte e sviluppatesi in eccesso, in modo che ciascun organo raggiunga la dimensione stabilita dal programma differenziativo. Alcuni esempi sono l'involuzione del dotto di Muller e del dotto di Wolff, del dotto di Botallo prima della nascita e del timo nella vita postnatale</p> <p><i>Ormonali</i> Ipofonia di ghiandole e di tessuti ormonodipendenti, conseguente alla riduzione della stimolazione ormonale (ad es, atresia dei follicoli nella ghiandola mammaria al termine della lattazione)</p> <p><i>Immunitarie</i> Selezione clonale nel timo e nel midollo osseo dei linfociti autoreattivi, rispettivamente T e B, responsabile dell'induzione della tolleranza immunitaria</p> <p><i>Omeostatiche</i> Eliminazione di cellule in eccesso nei tessuti ad elevato turnover cellulare</p>	<p><i>Infettive</i> Eliminazione di cellule infettate da virus da parte dei linfociti T citotossici (CTL)</p> <p><i>Genotossiche</i> Autodistruzione di cellule che hanno subito un danno nel proprio DNA</p> <p><i>Neoplastiche</i> Distruzione di cellule neoplastiche sia "spontanea" che indotta da chemioterapici Lo sviluppo neoplastico è riportabile anche alla ridotta possibilità delle cellule tumorali di attuare il suicidio</p> <p><i>Degenerative</i> Eliminazione di neuroni in alcune condizioni patologiche (ad es. morbo di Alzheimer e di Parkinson)</p>

alcuni esempi.....



Il processo di apoptosi, o morte cellulare, è di fondamentale importanza durante lo sviluppo embrionale, dal quale si formerà un nuovo individuo. Infatti, anche se ciò può apparire un controsenso, è proprio dalla degenerazione di strutture anatomiche vestigiali, oppure necessarie solo durante una fase dello sviluppo, che l'organismo acquista le sue caratteristiche definitive. L'apoptosi controbilancia la continua formazione di nuove cellule che si verifica attraverso il processo della mitosi.

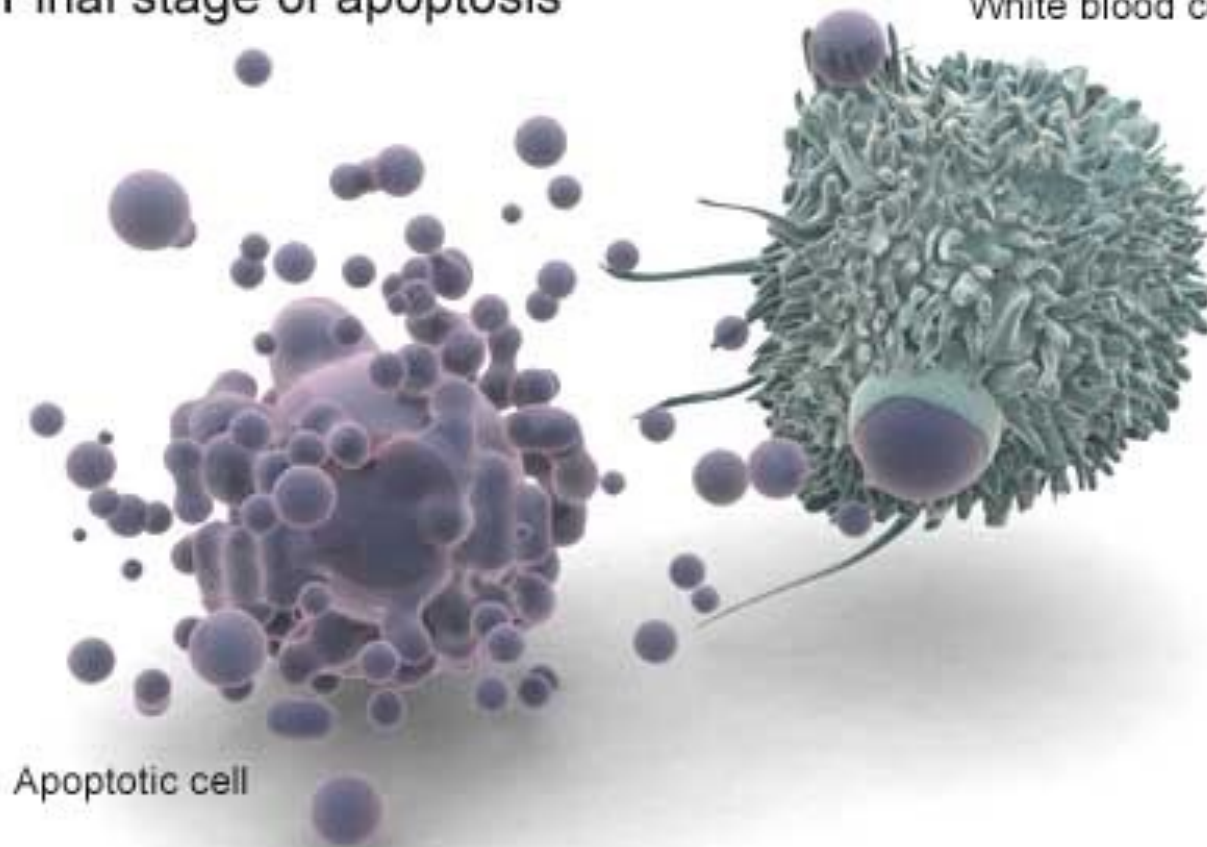


Nel corso dello sviluppo embrionale, si produce un numero elevatissimo di cellule nervose, o neuroni, tra le quali, tuttavia, non sempre si stabiliscono connessioni, oppure possono crearsi relazioni non funzionali. Il meccanismo della morte cellulare interviene a eliminare questi neuroni e assume dunque un ruolo preminente nella maturazione del sistema nervoso. In questo fenomeno, nell'innescare del processo di apoptosi sembrano determinanti i messaggi che la cellula riceve dai recettori posti all'esterno della superficie cellulare, che segnalano l'eventuale contatto con altre cellule; in mancanza del "segnale di connessione", nella cellula "isolata" si attivano i meccanismi di autoeliminazione.

LA MORTE APOPTOTICA

Final stage of apoptosis

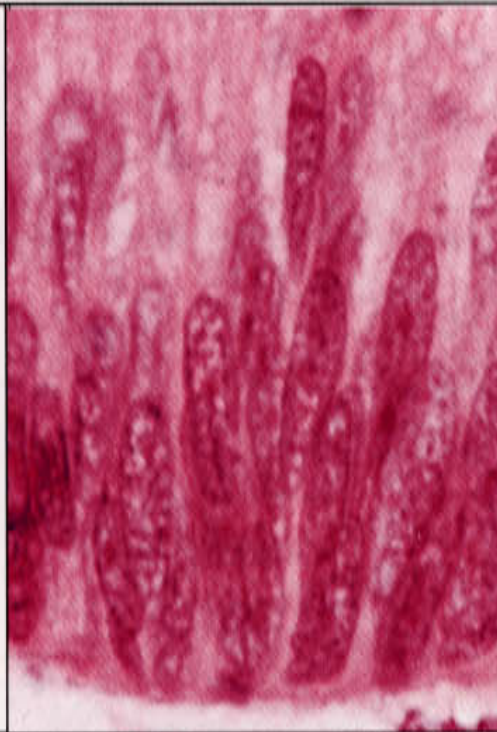
White blood cell



Apoptotic cell

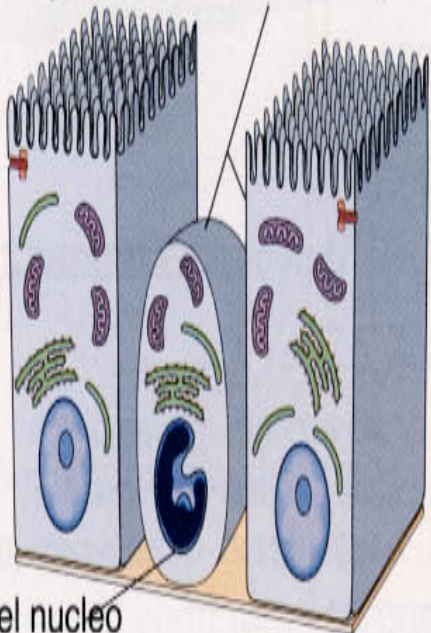
U.S. National Library of Medicine

The graphic shows two white blood cells. One is during its normal life span and the other is in the final stage of apoptosis.

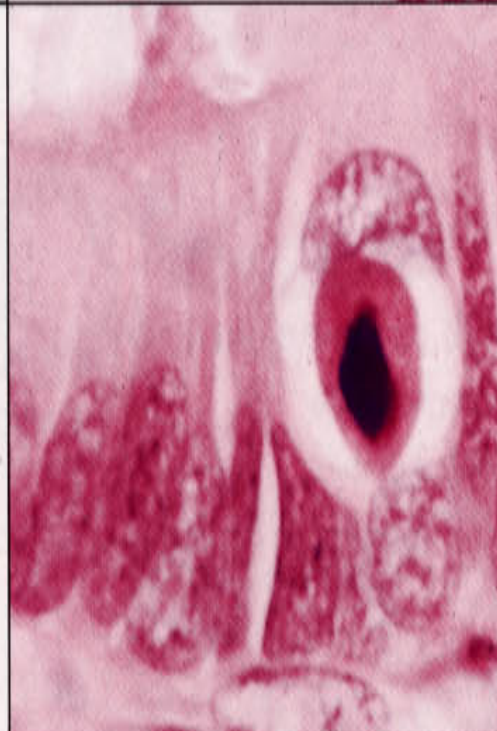


Le cellule normali sono dislocate in stretto contatto l'una con l'altra, e sono unite da giunzioni cellulari. Assai precocemente, nel processo di apoptosi c'è sintesi di enzimi che determinano la dissoluzione delle cellule, senza che si manifestino alterazioni strutturali. Durante la fase di segnalazione dell'apoptosi, informazioni provenienti per diverse vie sono integrate per giungere alla decisione circa il destino (vita o morte) della cellula.

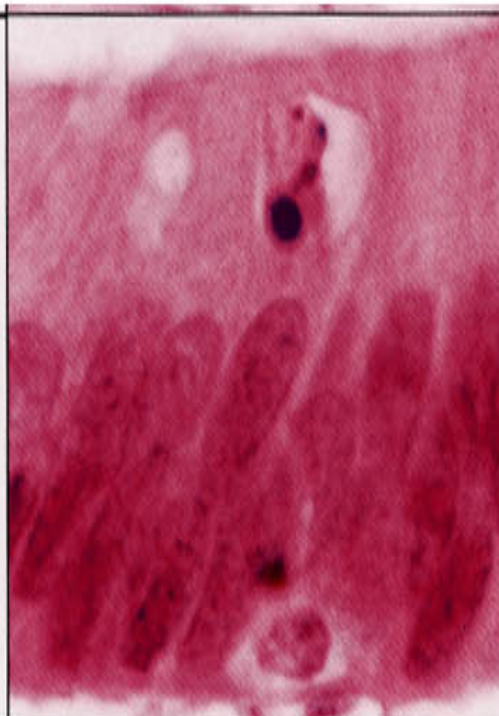
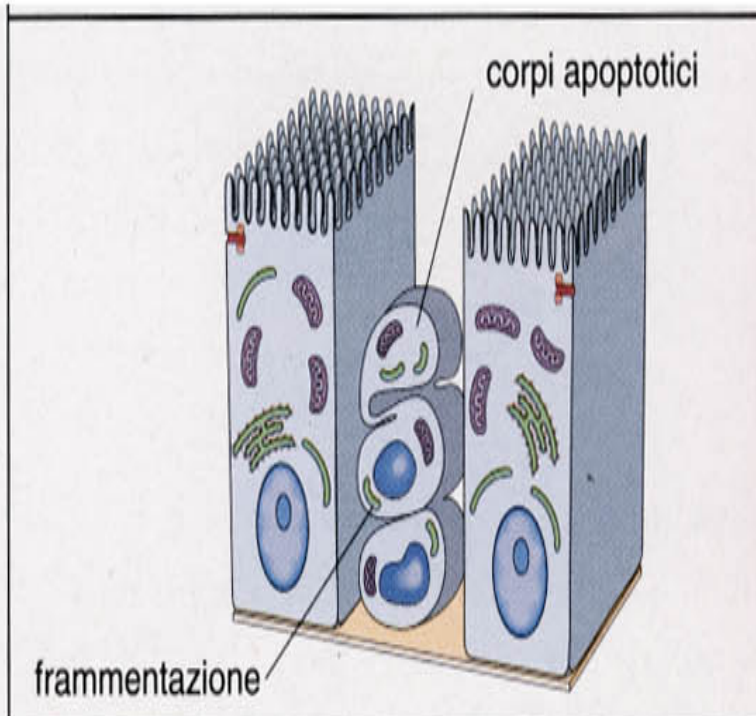
perdita di microvilli e di giunzioni



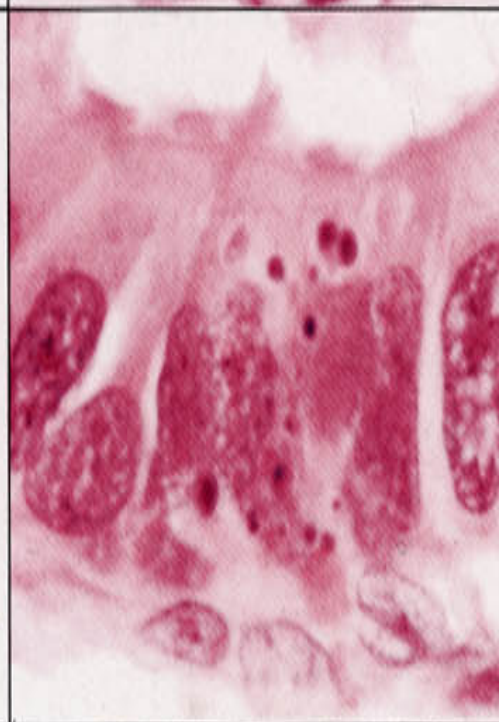
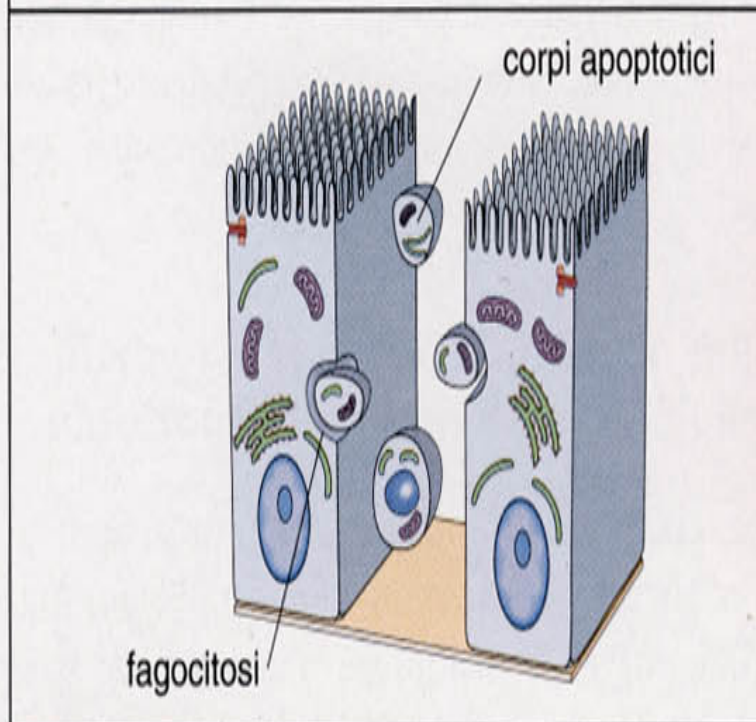
alterazioni del nucleo



Nella fase di esecuzione dell'apoptosi, le proteasi causano profonde alterazioni strutturali. Le cellule apoptotiche perdono le specializzazioni di superficie e le giunzioni, e si riducono di volume. La cromatina nucleare si condensa al di sotto della membrana nucleare. Diversamente dalla necrosi (cap. 3), gli organuli cellulari restano normali. Enzimi endonucleasici frammentano i cromosomi in singoli frammenti nucleosomici.



Nella fase di degradazione, le cellule si suddividono in parecchi frammenti denominati corpi apoptotici. C'è anche frammentazione nucleare. Ogni frammento contiene mitocondri vitali e organuli intatti. Il processo richiede solo pochi minuti. La membrana cellulare mostra cambiamenti del contenuto lipidico e lega proteine sulla superficie esterna.



Nella fase di fagocitosi i frammenti apoptotici sono riconosciuti dalle cellule vicine, che li ingeriscono per fagocitosi e li degradano. Alcuni frammenti degenerano in sede extracellulare, mentre altri frammenti sono inglobati da cellule fagocitiche locali (non mostrato nel diagramma).

Eventi biochimici associati all' APOPTOSI

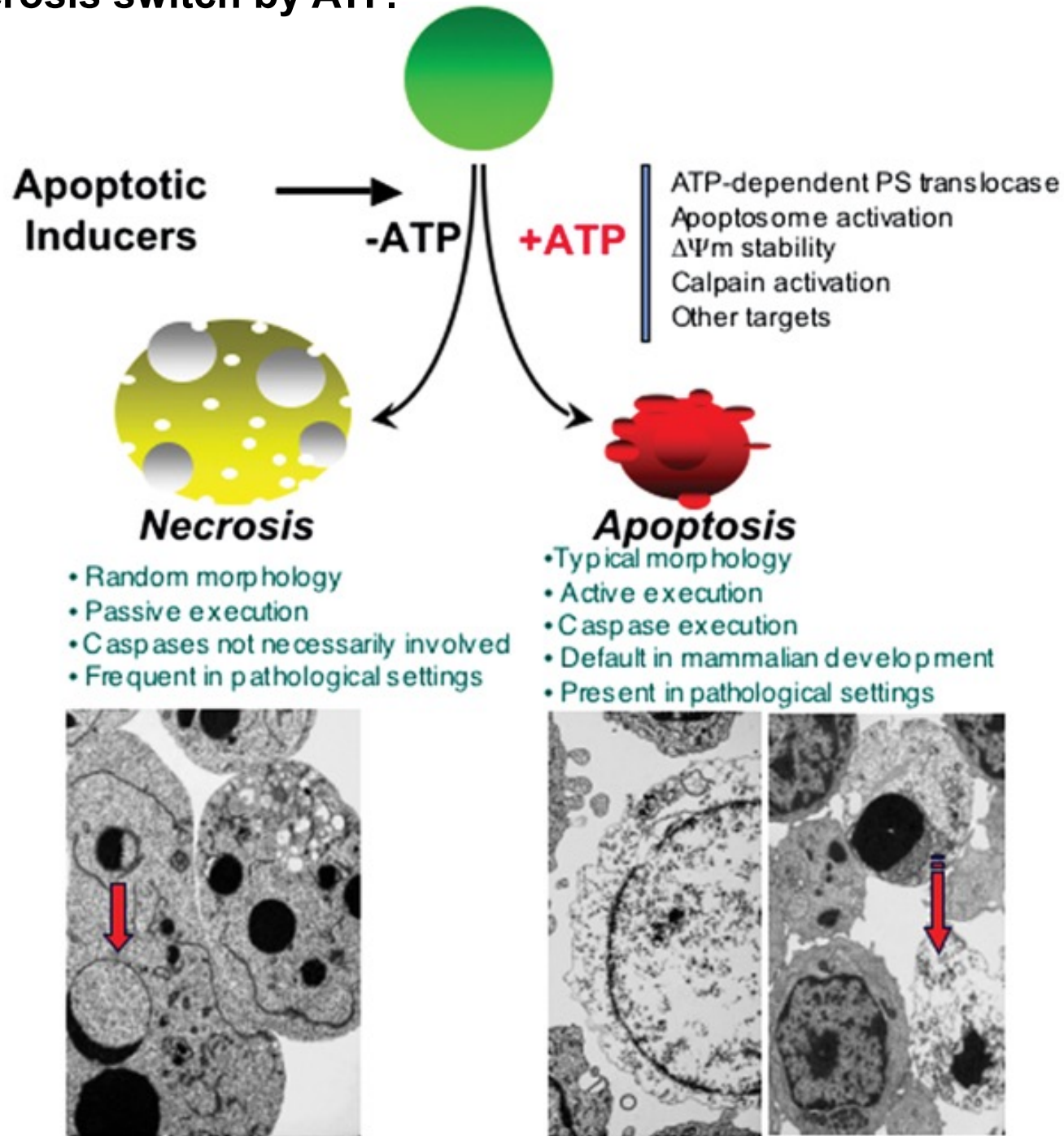
- E' un processo attivo
- Irreversibile
- Geneticamente programmato
- E' assente una reazione infiammatoria

1- Energia dipendente= le cellule mantengono livelli normali di ATP o comunque elevati

2- Le cellule apoptotiche sono METABOLICAMENTE attive= la pompa Na/K funziona, non si ha danno della membrana, la sintesi proteica persiste

3-si verifica un taglio del DNA da parte di specifiche endonucleasi che producono frammenti di dimensioni fisse

Apoptosis–necrosis switch by ATP.



Switch of the morphology of cell death, shown by electron microscopy, and its regulation by the intracellular ATP concentration levels

Durante l'apoptosi si possono distinguere quattro fasi, distinte ma parzialmente sovrapposte:

-FASE DI INDUZIONE: durante la quale la cellula riceve i segnali che scatenano l'apoptosi. Via estrinseca, o recettore-mediata, e via intrinseca, o mitocondriale

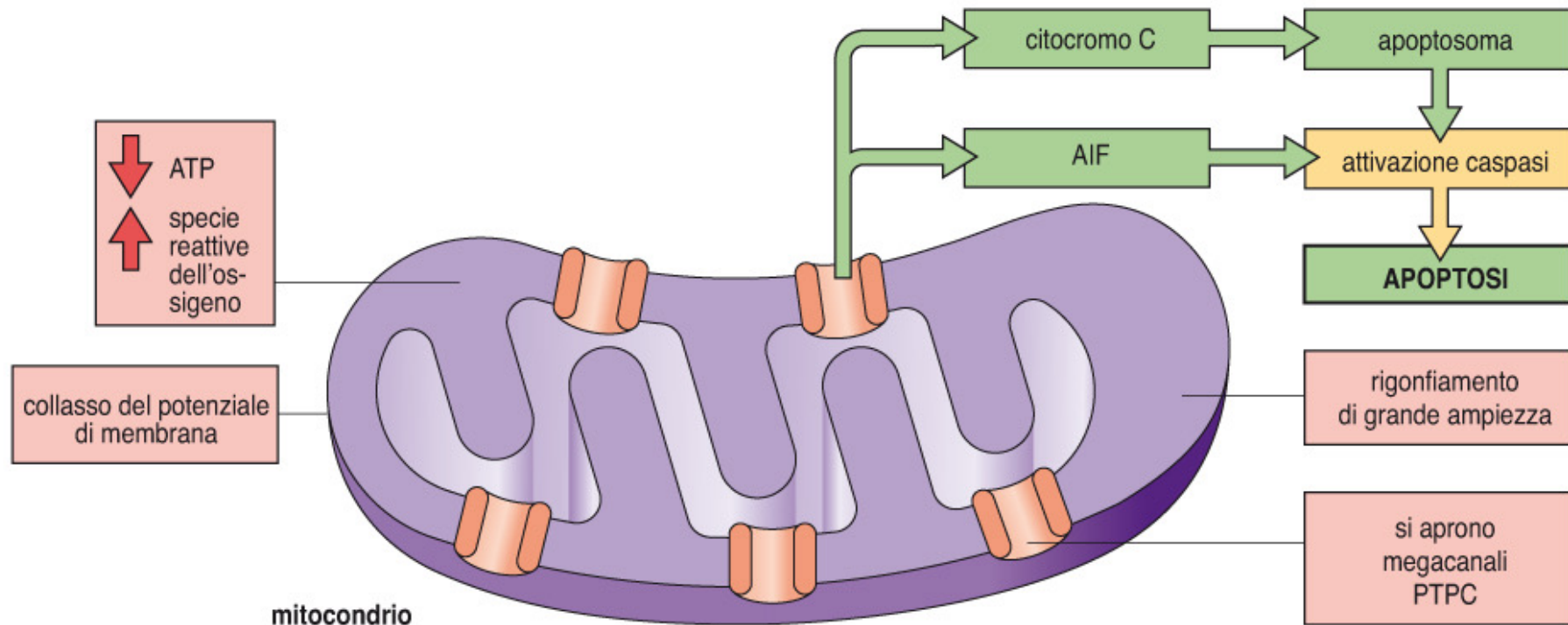
-CONTROLLO E INTEGRAZIONE: i segnali di morte applicati nella fase precedente vengono connessi da una serie di proteine specifiche (con ruolo sia positivo che negativo) al programma esecutivo comune

-FASE EFFETTRICE: consiste nell'attivazione di una cascata di proteasi specifiche, le caspasi, a loro volta distinte in **iniziatrici** ed **esecutrici** in base all'ordine con il quale vengono attivate. Propagazione di altre proteine proapoptotiche (Bid, Bad, p53). Rilascio dai mitocondri dell'**APOPTOSOMA** (citocromo c e Apaf 1), AIF, DNAsi.

-RIMOZIONE DELLE CELLULE MORTE: le cellule apoptotiche e i loro frammenti esprimono dei marcatori di membrana che facilitano il loro precoce riconoscimento da parte di cellule adiacenti o di fagociti. Le cellule morte vengono così completamente distrutte senza indurre una reazione infiammatoria.

NELL' AMBITO DEI PROCESSI DI CONTROLLO E INTEGRAZIONE DELL' APOPTOSI UN PUNTO CRITICO SI REALIZZA A LIVELLO DEI MITOCONDRI.

Il danno mitocondriale può causare apoptosi

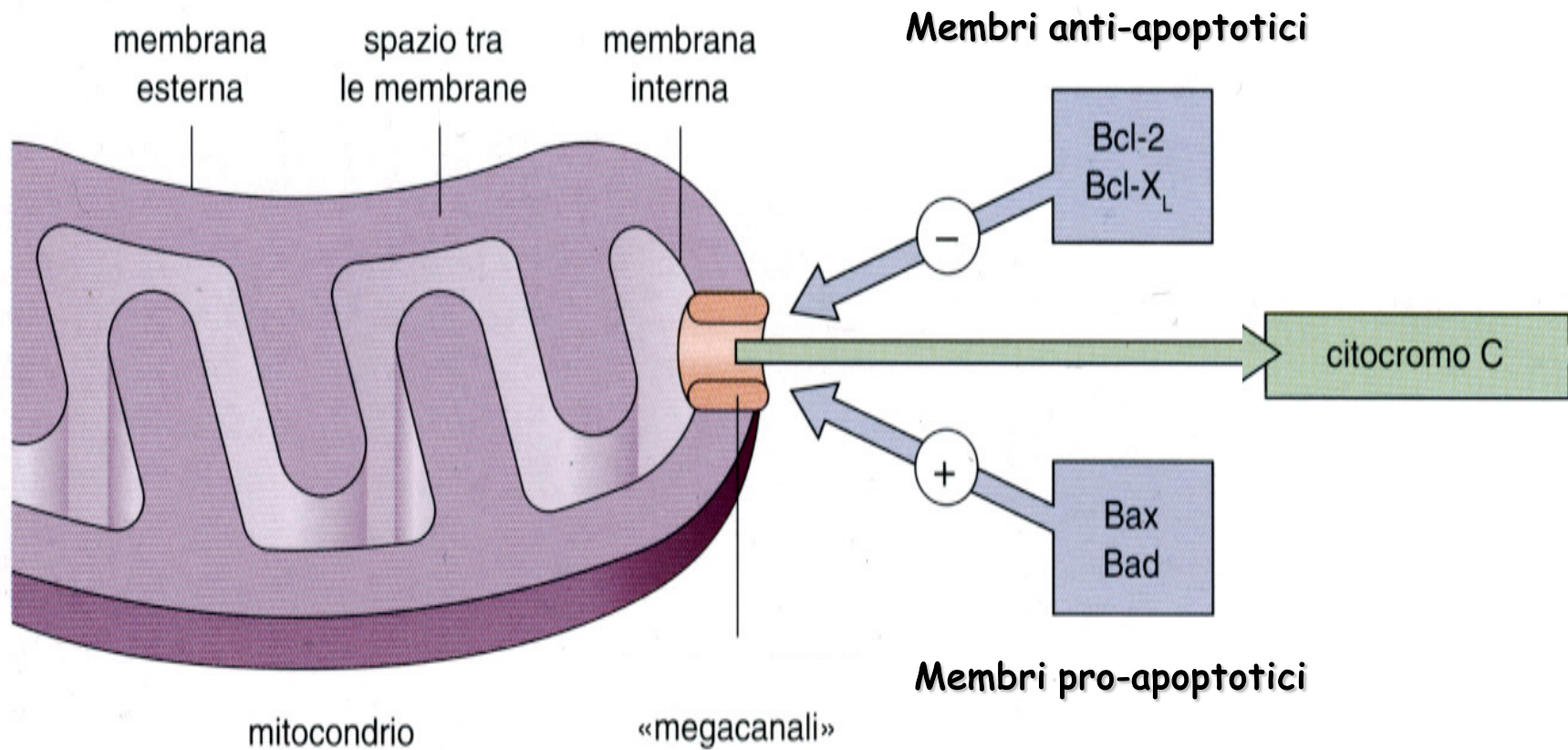


A. Stevens, J. Lowe, I. Scott Patologia, terza edizione

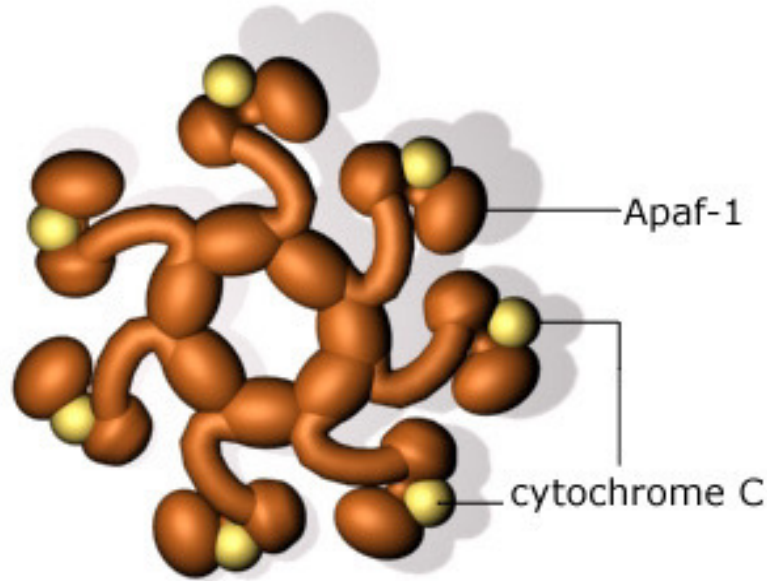
Copyright 2010 C.E.A. Casa Editrice Ambrosiana

La disfunzione mitocondriale, indotta da numerosi stimoli, causa una *transizione di permeabilità mitocondriale* (MPT): apertura di pori nella membrana interna con riduzione potenziale di membrana, arresto fosforilazioni ossidative e rigonfiamento. L' aumento della permeabilità della membrana esterna provoca il *rilascio del citocromo C* nel citosol.

Ruolo della membrana mitocondriale nel processo di apoptosi



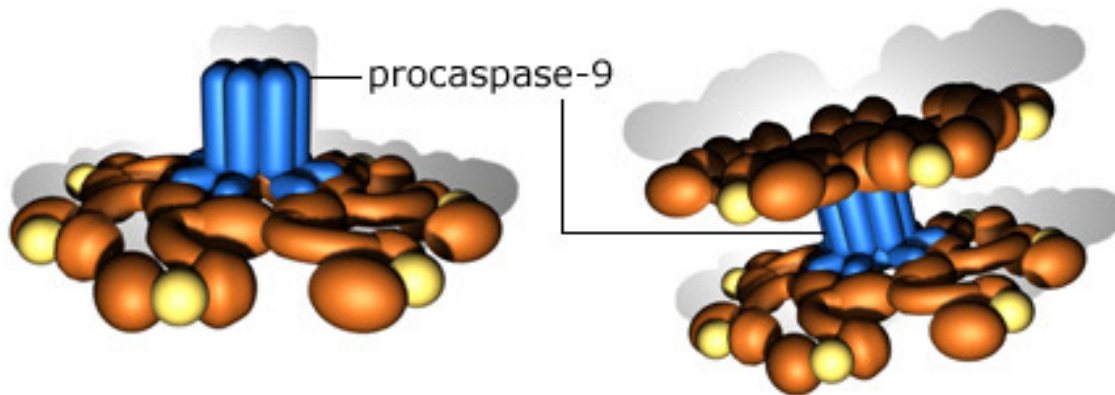
First stage of apoptosome formation



APOPTOSOMA

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

Recruitment of procaspase-9



Caspase Activation

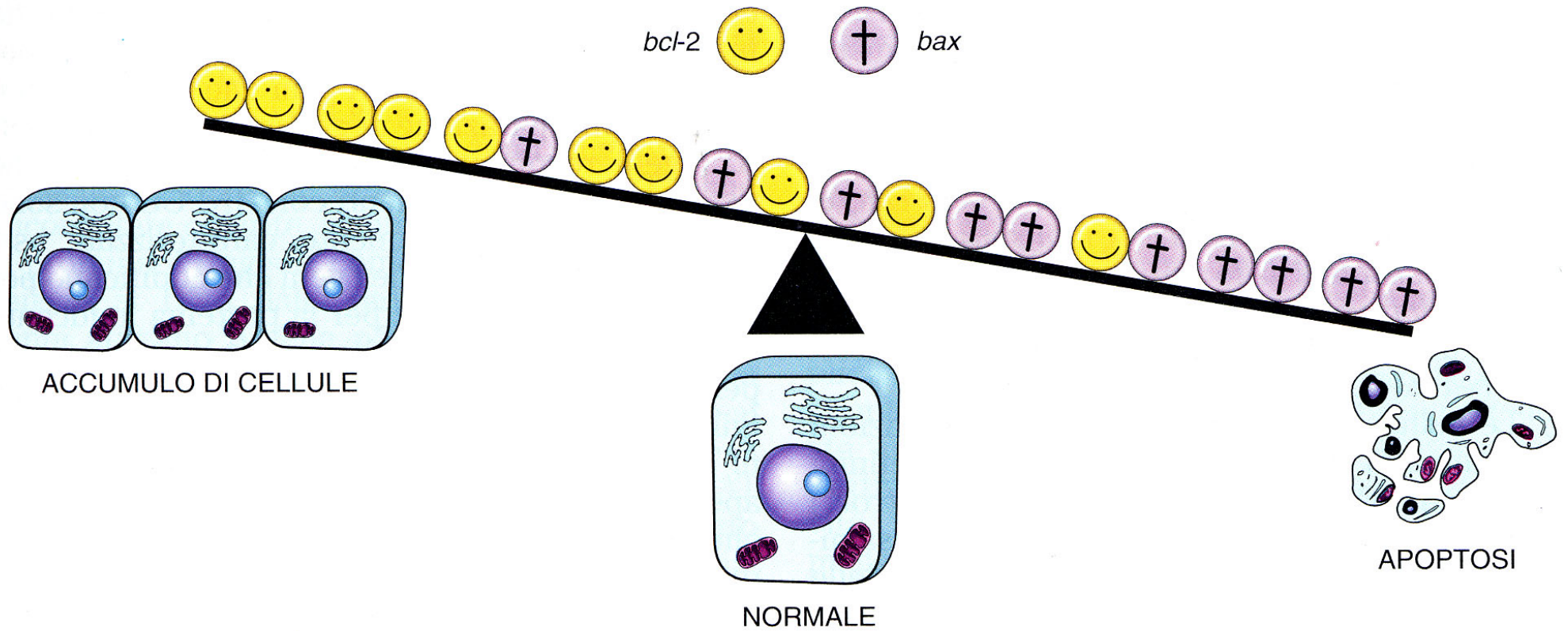
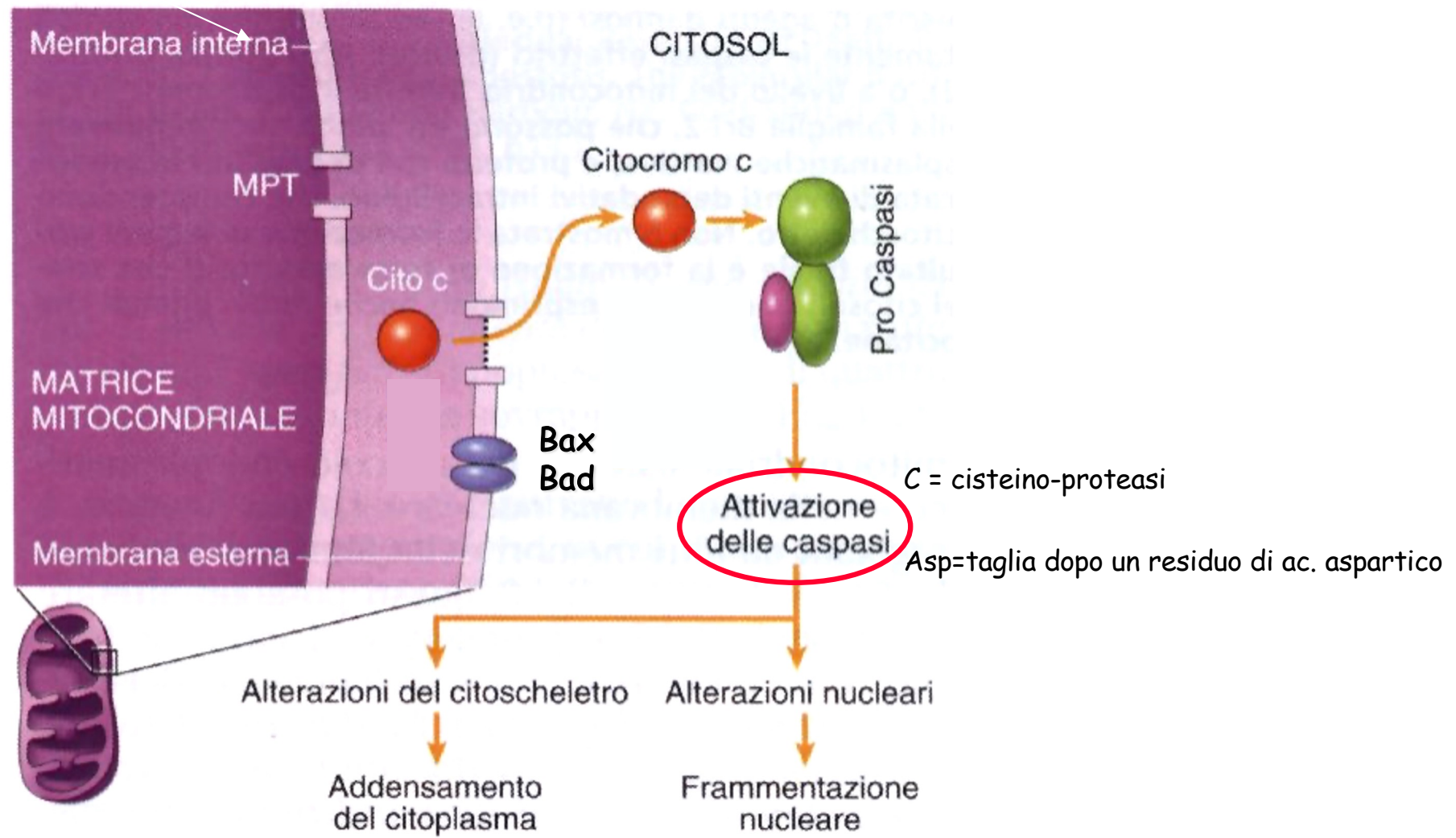
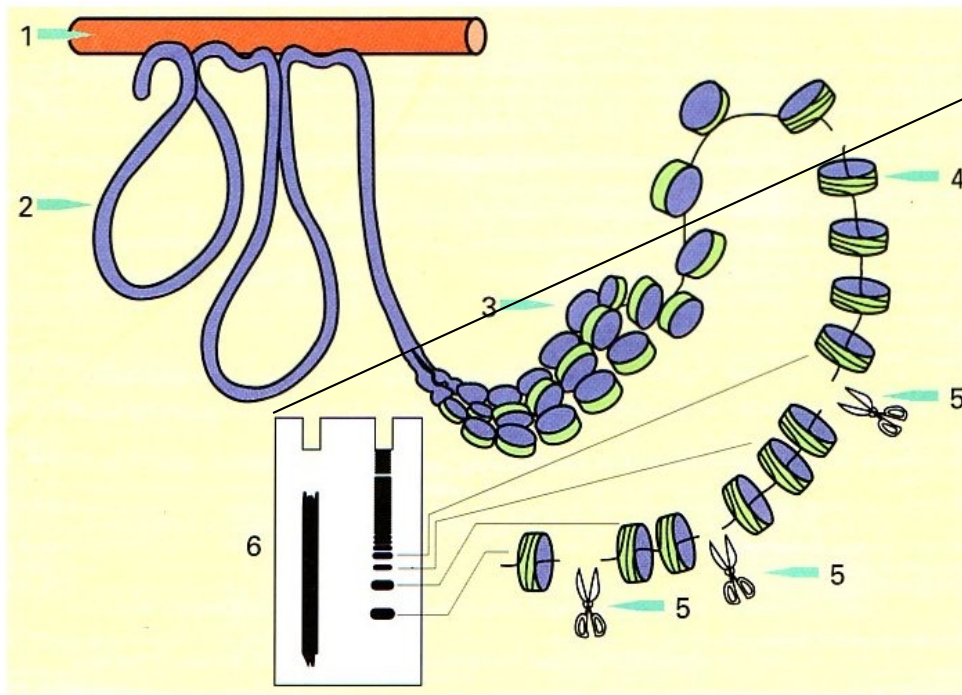


Figura 8-33. Regolazione della morte cellulare da parte di *bcl-2*, *bax* e *p53*. I dimeri di *bcl-2* favoriscono l'accumulo delle cellule inibendo la apoptosi, mentre i dimeri di *bax* favoriscono la apoptosi. La capacità di del gene *p53* di indurre la

La via finale di tutti i tipi di apoptosi consiste nell'attivazione di una cascata proteolitica. Le relative proteasi sono proteine altamente conservate e appartengono alla famiglia delle *caspasi* (che comprende più di 10 membri).



Le caspasi, oltre a degradare direttamente le proteine del citoscheletro, attivano una DNasi citoplasmatica che produce una caratteristica frammentazione del DNA:



B= DNA da cellule apoptotiche

C= DNA da cellule necrotiche

UNA DELLE CARATTERISTICHE DISTINTIVE DELL' APOPTOSI CONSISTE NEL FATTO CHE ESSA, OLTRE CHE DA STIMOLI LESIVI O DALLA DEPRIVAZIONE DI FATTORI DI CRESCITA, PUO' ESSERE INNESCATA DA SEGNALI PARTICOLARI CHE AGISCONO LEGANDOSI A SPECIFICI RECETTORI DI MEMBRANA.

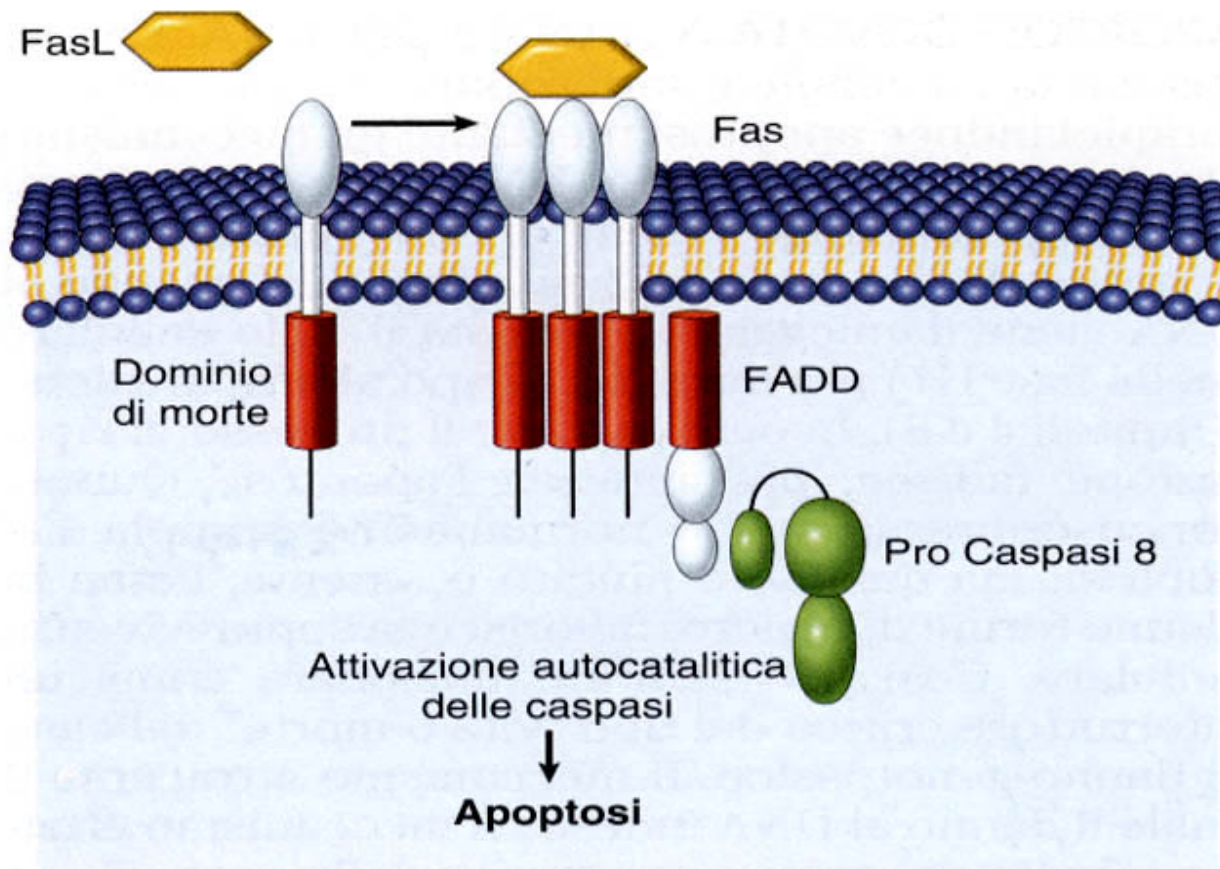


Figura 1-22. Modello che illustra il rapporto fra i segnali mediati da Fas, l'attivazione delle caspasi e l'induzione dei segnali di morte cellulare (vedi il testo). FADD, proteina associata al Fas con un dominio per la morte cellulare.

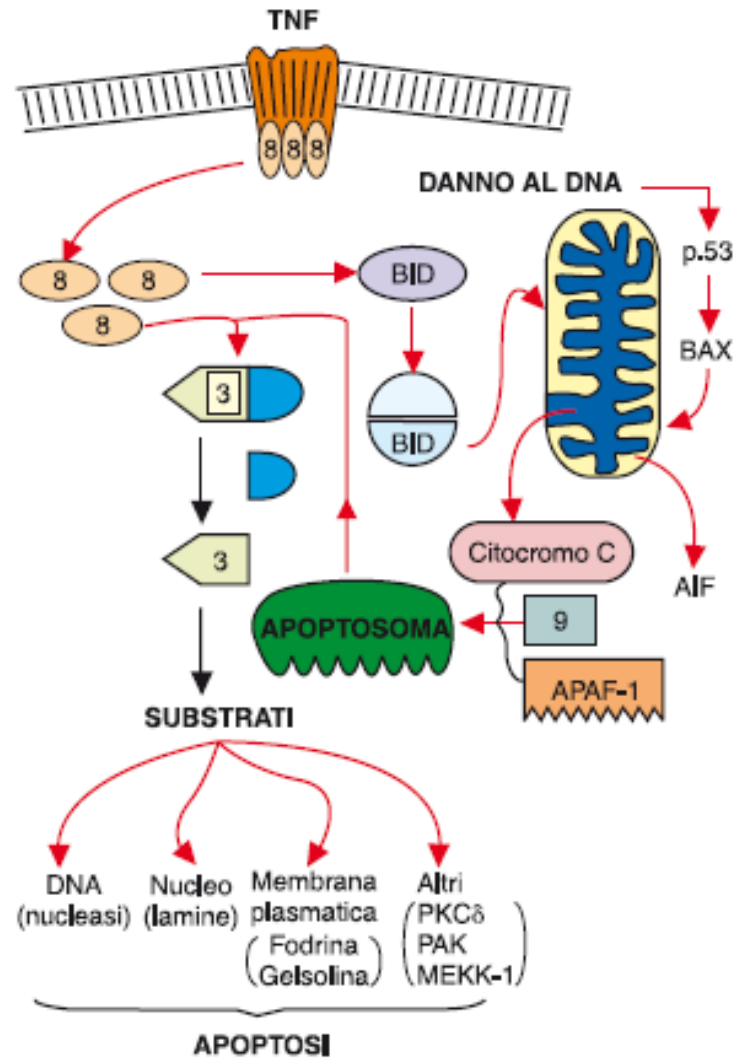
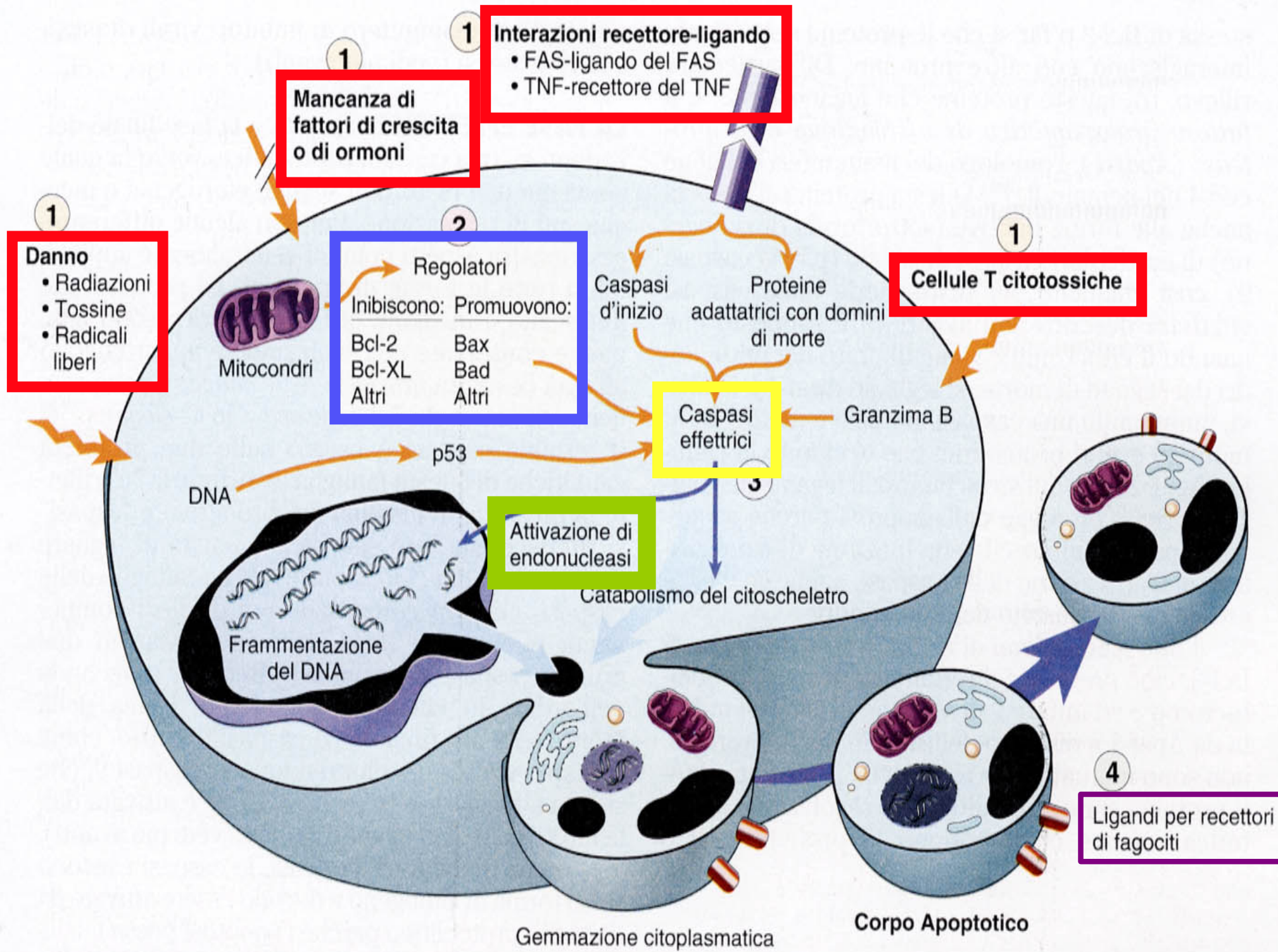


FIGURA 15.1

Schema semplificato delle vie intrinseca ed estrinseca dell'apoptosi.

I numeri si riferiscono al tipo di caspasi. Spiegazione nel testo.

(Da Berzelli-Zazzera A. e Desiderio M.A., *Processi regressivi delle cellule* in Pontieri, Russo, Frati, *Patologia generale* IV ed. Piccin).



CHE COSA SONO I CORPI APOPTOTICI?

Sono organelli che derivano dalla frammentazione della cellula e possono contenere cromatina condensata, e mitocondri ben conservati

DIFFERENZE TRA NECROSI E APOPTOSI

	NECROSI	APOPTOSI
Richiesta di energia	no	si (richiede ATP)
Istologia	Rigonfiamento cellulare, distruzione di organelli, danno esteso a cellule adiacenti	Condensazione della cromatina, formazione di corpi apoptotici, morte della sola cellula danneggiata
Frammentazione del DNA	frammenti di diverse dimensioni	frammenti di circa 200 paia di basi
Membrana plasmatica	rottura della membrana	membrana intatta che presenta protuberanze ed alterazioni molecolari
Reazione infiammatoria	si	no

Principali marcatori sierici di danno cellulare

<i>Marcatore</i>	<i>Organo di origine</i>	<i>Patologia prevalente</i>
AST	Fegato	Steatosi, epatiti
ALT	Fegato	Epatiti
Gamma GT	Fegato	Epatite alcolica
CK-MB	Miocardio	Infarto
LDH ₁ /LDH ₂	Miocardio	Infarto
Troponine I e T	Miocardio	Infarto
Mioglobina	Miocardio, muscolo scheletrico	Infarto, traumi muscolari
CK-MM	Muscolo scheletrico	Distrofie muscolari
Amilasi	Pancreas	Pancreatite

