

1. morte cellulare ed evoluzione

PROCARIOTI = morte cellulare "accidentale" dovuta alla presenza di condizioni ambientali non compatibili con la vita. (MORTE DI TIPO NECROTICO)

meccanismi molecolari che regolano la sporazione e il suicidio (paracaspasi, Dictyostelium discoideum)

EUCARIOTI UNICELLULARI = paracaspasi e metacaspasi utilizzate nelle vie di segnalazione intracellulari.

Evoluzione di un meccanismo altruistico =
 -per non sottrarre risorse e contaminare l'ambiente
 -distruzione dell'infezione prima della propagazione

2. Il mistero del mitocondrio

Il mitocondrio si è evoluto attraverso un processo di endosimbiosi

Gli ancestrali alfa-proteobatteri non avevano però un meccanismo apoptotico

Come e perché si è evoluto il sistema apoptotico mitocondriale?

Il meccanismo apoptotico si è evoluto solo dopo che l'endosimbiosi era iniziata. I lieviti ed altri eucarioti unicellulari hanno il mitocondrio ma non Bcl-2.

L'ipotesi attuale è che il macchinario apoptotico abbia invaso il mitocondrio sfruttando le sue caratteristiche di compartimento isolato e chimicamente tamponato

3. Classificazione

TIPO I

APOPTOSI= caspasi, integrità di membrana, condensazione del nucleo e taglio a scaletta

TIPO II

AUTOFAGIA= caspasi indipendente, integrità di membrana, condensazione del nucleo

TIPO II

CATASTROFE MITOTICA= caspasi indipendente, integrità di membrana, micronuclei

NECROSI= caspasi indipendente, distruzione membrana, frammentazione casuale del DNA

4. Tabella morte cellulare 2

Path	Morphological changes	Biochemical features	Common detection methods		
Apoptosis	Nucleus Chromatin condensation; nuclear fragmentation; DNA laddering Cell membrane Blebbing Cytoplasm Fragmentation (formation of apoptotic bodies)	Caspase-dependent	Electron microscopy; TUNEL staining; annexin staining; caspase-activity assays; DNA-fragmentation assay; detection of increased number of cells in subG1/G0; detection of changes in mitochondrial membrane potential		
Autophagy	Partial chromatin condensation; no DNA laddering	Blebbing Increased number of autophagic vesicles	Caspase-independent; increased lysosomal activity	Electron microscopy; protein-degradation assays for marker-protein translocation to autophagosomes; MDC staining	
Mitotic catastrophe	Multiple micronuclei; nuclear fragmentation	-	-	Caspase-independent (at early stage); abnormal CDK1/cyclin B activation	Electron microscopy; assays for mitotic marker (MPM2); TUNEL staining
Necrosis	Clumping and random degradation of nuclear DNA	Swelling; rupture	Increased vacuolation; organelle degeneration; mitochondrial swelling	-	Electron microscopy; no staining (usually negative detection of inflammatory damage in surrounding)

5. eventi che causano stress

Deprivazione di ossigeno (ipossia) = inadeguata ossigenazione del sangue

Agenti fisici = trauma meccanico, temperature estreme, radiazioni, shock elettrico

Agenti chimici e farmaci = concentrazioni ipertoniche di sali, ossigeno ad alta concentrazione, arsenico, cianuro, mercurio, asbesto, inquinanti atmosferici, erbicidi, insetticidi, alcool

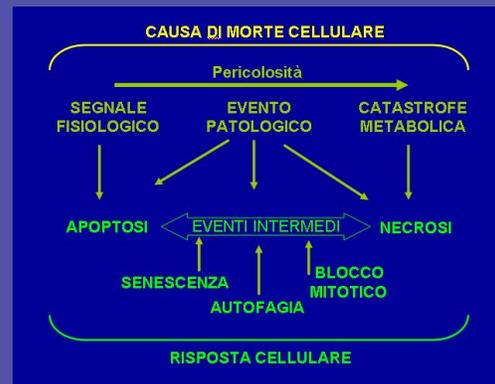
Agenti infettivi

Reazioni immunologiche = ipersensibilità, malattie autoimmuni

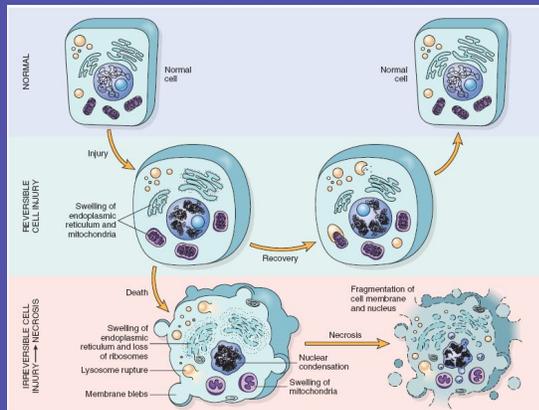
Danno al DNA = aberrazioni cromosomiche, modificazioni basi

Fattori nutrizionali = deficienze proteiche o vitaminiche, obesità

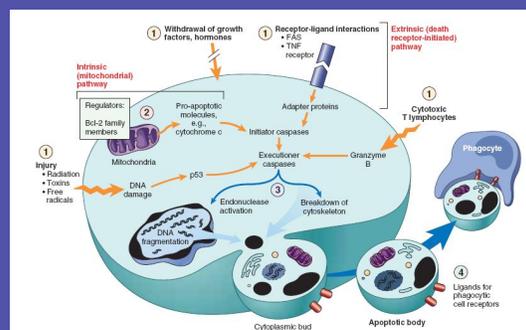
6. La morte cellulare



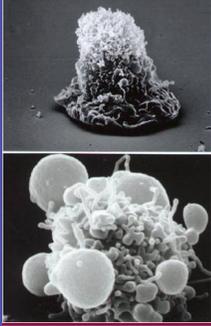
7. Punto di non ritorno



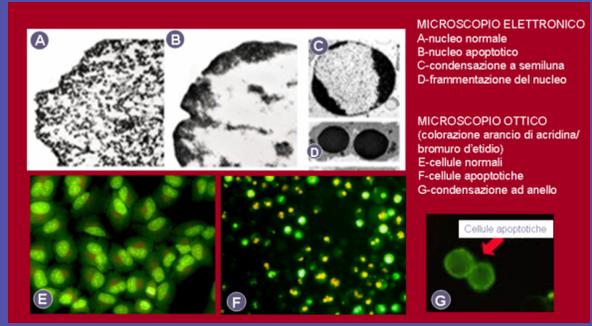
8. Apoptosi: schema



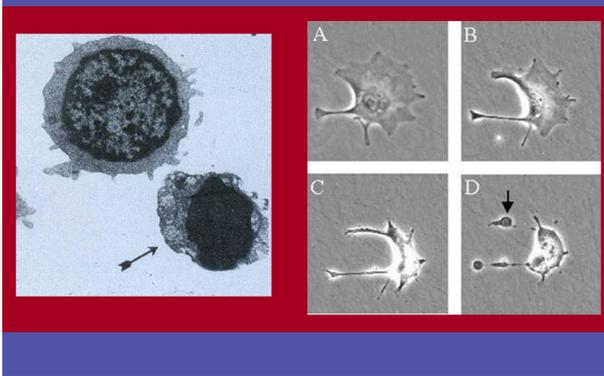
9. morfologia 1



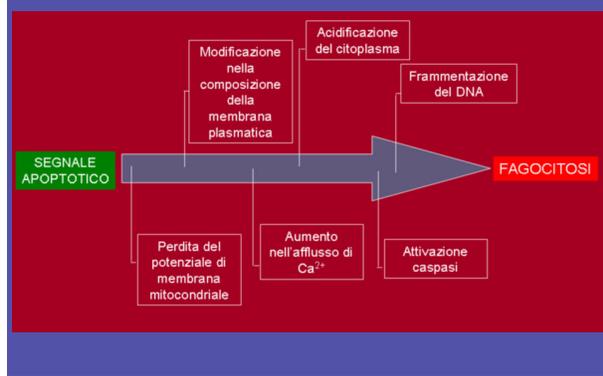
10. morfologia 2



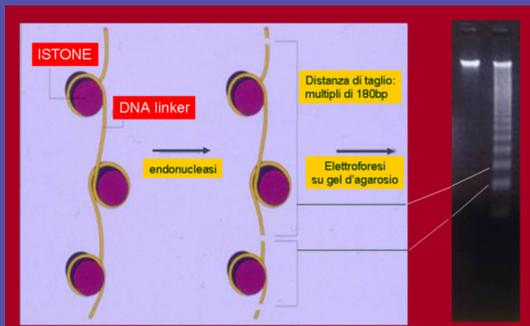
11. morfologia 3



12. progressione



13. DNA ladder



14. Modificazioni membrana

Modificazioni nella composizione della membrana plasmatica

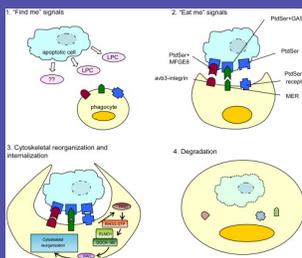
Espressione nello strato esterno della membrana di **fosfatidilserina**

trombospondina e **CRP** adese sulla faccia esterna della membrana (la trombospondina viene prodotta dai macrofagi)

Modificazioni nella **composizione glucosidica** di glicoproteine e glicolipidi espressi sulla faccia esterna della membrana (es. diminuzione di acido sialico)

Espressione di **antigeni intracitoplasmatici** (DNA, ribonucleoproteine, nucleosomi)

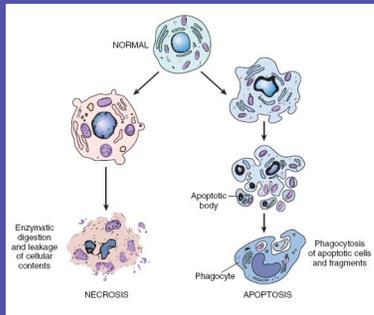
15. ultimi messaggi



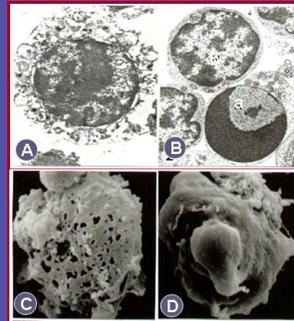
16. Apoptosi: filmato

Apoptosi: filmato

17. schema: apoptosi vs necrosi



18. figura: apoptosi vs necrosi



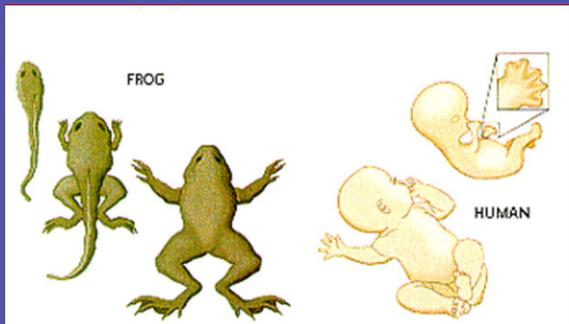
19. tabella: apoptosi vs necrosi

	APOPTOSI	NECROSIS
RUOLO DELLA CELLULA	ATTIVO	PASSIVO
DISTRIBUZIONE NEL TESSUTO	PUNTIFORME	A CHIAZZE
MORFOLOGIA CELLULARE	DIMINUZIONE DEL VOLUME, PRESENZA DI ESTRUSIONI CITOPLASMATICHE, CONDENSAZIONE DEL NUCLEO	AUMENTO DEL VOLUME, ROTTURA DELLA MEMBRANA, DISTRUZIONE DEL NUCLEO
TEMPO DI ATTUAZIONE	LENTO (ALCUNE ORE)	RAPIDO (SECONDI O MINUTI)
TEMPI DI RIMOZIONE DEI RESTI CELLULARI	RAPIDI	LENTI
INFIAMMAZIONE	ASSENTE	PRESENTE

20. ambiti fisiologici



21. apoptosi nello sviluppo



22. apoptosi nell'adulto

La apoptosi è indispensabile per il funzionamento di pressoché tutti i tessuti dell'adulto (Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer 1972; 26:239 – 257)

- OCCHIO:** il cristallino è formato da cellule apoptotiche che hanno sostituito il proprio citoplasma con la proteina alpha-cristallina
- INTESTINO:** i villi intestinali sono formati all'apice da cellule molto sensibili all'apoptosi e che vengono rimpiazzate dalle cellule della base
- CUTE:** i cheratinociti iniziano la loro formazione dagli strati dermici basali e durante il differenziamento muoiono e si riempiono di cheratina.
- TIMO:** selezione clonale delle cellule T
- UTERO:** le cellule della parete uterina (endometrio) muoiono durante le mestruazioni a seguito della diminuzione dei livelli di progesterone
- TUTTE LE CELLULE:** l'infezione da virus o il danno irreparabile sul DNA induce il suicidio della cellula

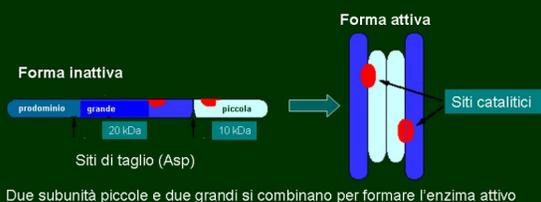
23. Meccanismi molecolari

VIA ESOGENA	VIA ENDOGENA
Recettori pro-apoptotici (death receptors)	Sistema del mitocondrio
Fattori di crescita	La famiglia di Bcl-2
Sistema delle caspasi	Sistema delle caspasi
Alcuni anti-oncogeni e oncogeni	Alcuni oncogeni ed onco-soppressori

24. definizione caspasi

Le caspasi sono una famiglia di **cistein-proteasi** (precedentemente denominata ICE da interleukin-1 β - converting enzyme) in grado di tagliare a livello di residui di acido aspartico (C-Asp-asi)

Sono presenti nel citoplasma come forme **proenzimatiche**, e si attivano dopo taglio proteolitico e tetramerizzazione



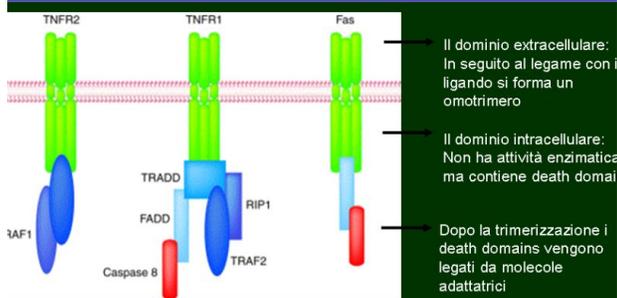
25. tipi di caspasi

<p>Caspasi iniziatrici (2, 8, 9, 10)</p> <ul style="list-style-type: none"> +sono le prime ad essere attivate all'arrivo di uno stimolo pro-apoptotico +tagliano e attivano le caspasi esecutrici +prodominio lungo che contiene sequenze regolatrici (DED Death Effector Domain, CARD Caspase Recruitment Domain)
<p>Caspasi esecutrici (3, 6, 7)</p> <ul style="list-style-type: none"> +tagliano e attivano substrati cellulari +prodominio corto senza sequenze regolatrici
<p>Caspasi infiammatorie (1, 4, 5, 11, 13)</p> <ul style="list-style-type: none"> +non sono implicate nel processo apoptotico + sequenze regolatrici nel prodominio

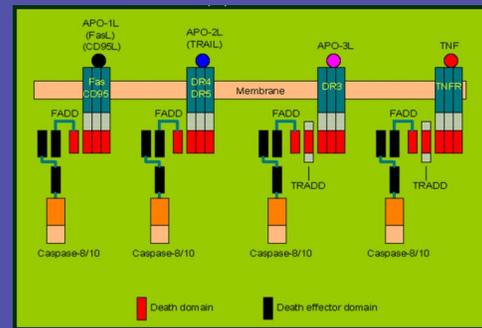
26. substrati caspasi

Classi di molecole	Substrati
Proteine delle vie di trasduzione del segnale	RasGAD, D4-GDI, PKC δ , FAK, PAK2, RIP
Proteine strutturali	Lamina A e B, G-actina, fodrina, gelsolina
Regolatori del ciclo cellulare e del riparo del DNA	PARP, pRb, Mdm2, DNA-PK
Proteine anti-apoptotiche	Bcl-2, Bcl-xL
Proteine pro-apoptotiche	Bid
endonucleasi	Dnasi I, CAD/CAD complex (caspase activated DNasi e suo inibitore)

27. Recettori di morte



28. funzionamento recettori



29. Fas-FasL

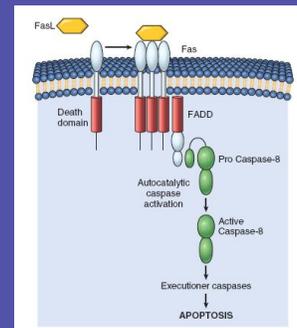
Fas è espresso su un gran numero di cellule mentre FasL è espresso quasi unicamente sui linfociti T, sulle Natural Killer, e in alcuni specifici tessuti.

Le principali funzioni svolte dall'azione di Fas:

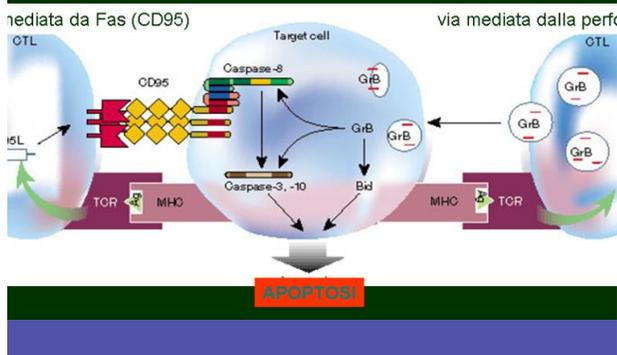
- eliminazione dei linfociti T periferici attivati
- protezione dall'insorgenza di infiammazioni nei tessuti "immuno-privilegiati" (occhio, cervello, gonadi)
- eliminazione delle cellule infettate da virus
- eliminazione delle cellule tumorali

Mutazioni nel gene che esprime Fas sono associate all'insorgenza di malattie autoimmuni, e all'espansione indesiderata del tessuto linfoide periferico

30. Attivazione di FAS



31. linfociti T citotossici



32. ruolo del mitocondrio

+Il mitocondrio svolge un ruolo centrale sia nella iniezione sia nella esecuzione della morte cellulare programmata

+i meccanismi attraverso cui il mitocondrio promuove l'apoptosi sono 3

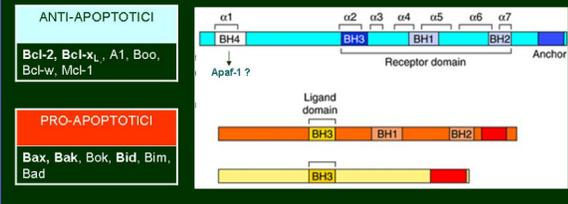
- rilascio di fattori nel citoplasma, quali AIF (Apoptosis Inducing Factor), che trasloca nel nucleo, e il citocromo c, che è in grado di attivare la pro-caspasi 9 tramite il legame con la proteina adattatrice Apaf-1
- distruzione della catena di trasporto degli elettroni (evento precoce)
- modificazioni nello stato ossido-riduttivo con produzione di radicali liberi dell'ossigeno

+L'evento iniziale che determina tali modificazioni sembra essere completamente controllato dalla permeabilità della membrana esterna del mitocondrio

33. La famiglia di Bcl-2

+La permeabilità della membrana cellulare viene regolata oltre che da eventi traumatici che portano alla sua distruzione anche da una famiglia di proteine regolatrici a cui appartiene Bcl-2 (B Cell Lymphoma-2, per via di una mutazione trovata nell'80% di pazienti con linfoma follicolare delle cellule B)

+La famiglia di Bcl-2 può essere divisa in due gruppi



34. Funzione Bcl-2

La famiglia di Bcl-2: funzione

+Bcl-2 è un oncogene la cui localizzazione è ristretta alla membrana esterna del mitocondrio e alla membrana nucleare.

+Bcl-2 forma omodimeri ed eterodimeri con gli altri componenti della famiglia.

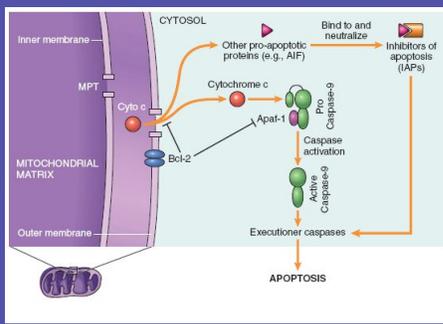
+Non si conosce il reale meccanismo di azione di Bcl-2 e degli altri rappresentanti della famiglia. Le ipotesi sono 3:

1-canale per gli ioni che regola la permeabilità della membrana mitocondriale

2-regolatore della caspasi tramite Apaf-1

3-impedisce il rilascio di citocromo C legato alla membrana

35. via apoptotica intrinseca



36. Fattori di crescita

