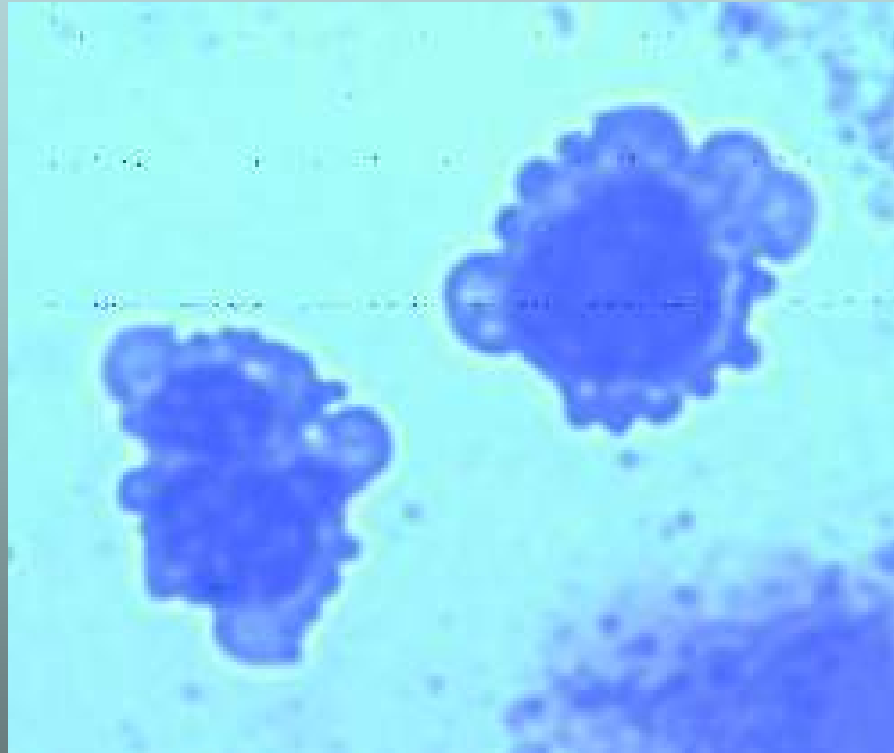


# L'APOPTOSI



# MECCANISMI DI MORTE CELLULARE

- **NECROSI**

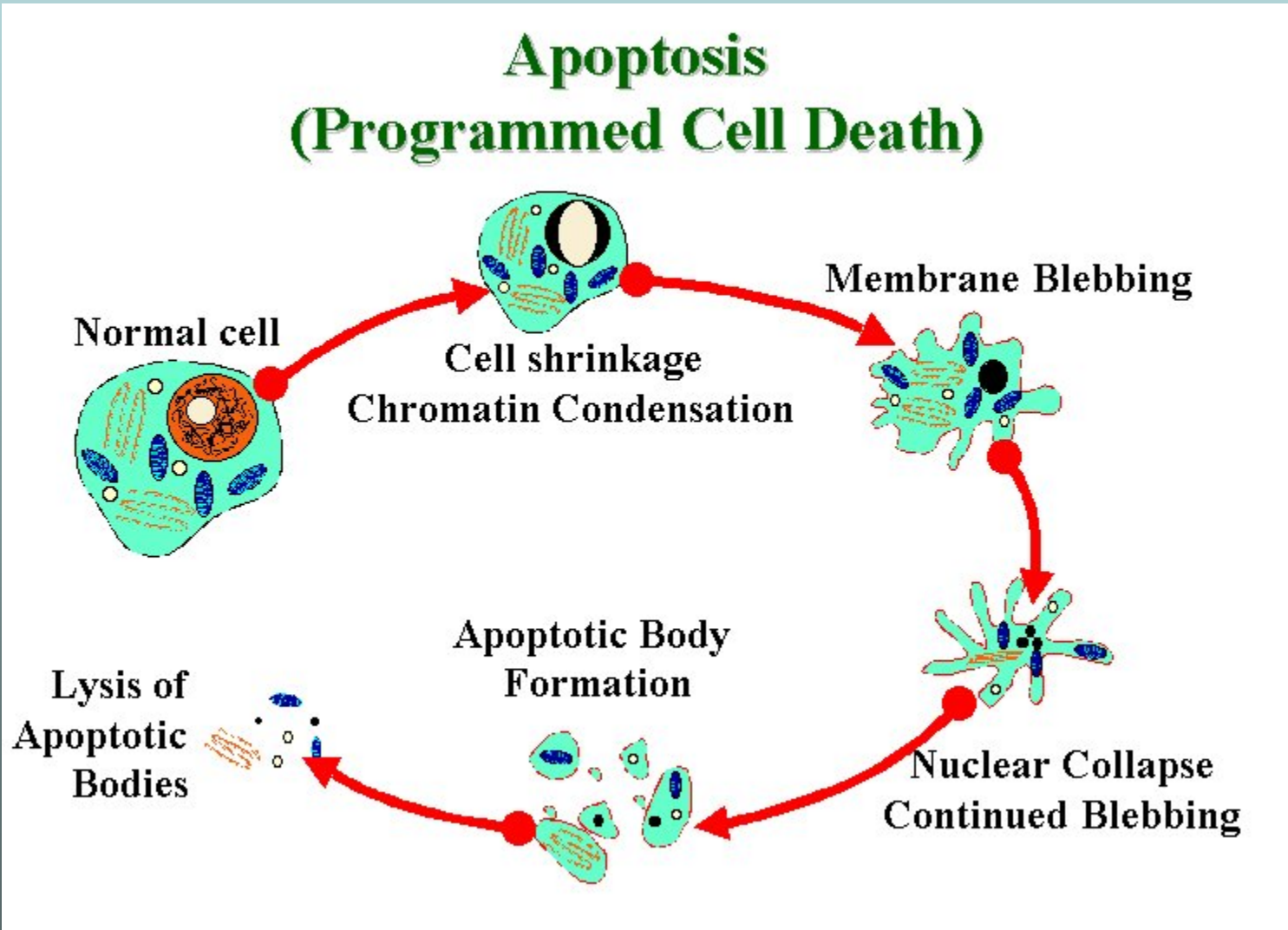
- Evento accidentale
- Passivamente subito dalle cellule
- Interessa gruppi di cellule
- Dovuto a trauma, veleno, anossia, ecc
- La lisi della cellula causa fenomeni di infiammazione e di autoimmunità

- **APOPTOSI**

- Evento programmato
- Attivamente realizzato dalle cellule
- Interessa cellule singole
- Realizzato di norma in condizioni fisiologiche
- La frammentazione della cellula e le modificazioni di superficie favoriscono la fagocitosi

# APOPTOSI

L'**apoptosi** o *morte cellulare programmata* è una varietà specifica di morte cellulare caratterizzata dalla sua **morfologia** e dalle modalità di **degradazione del DNA**.



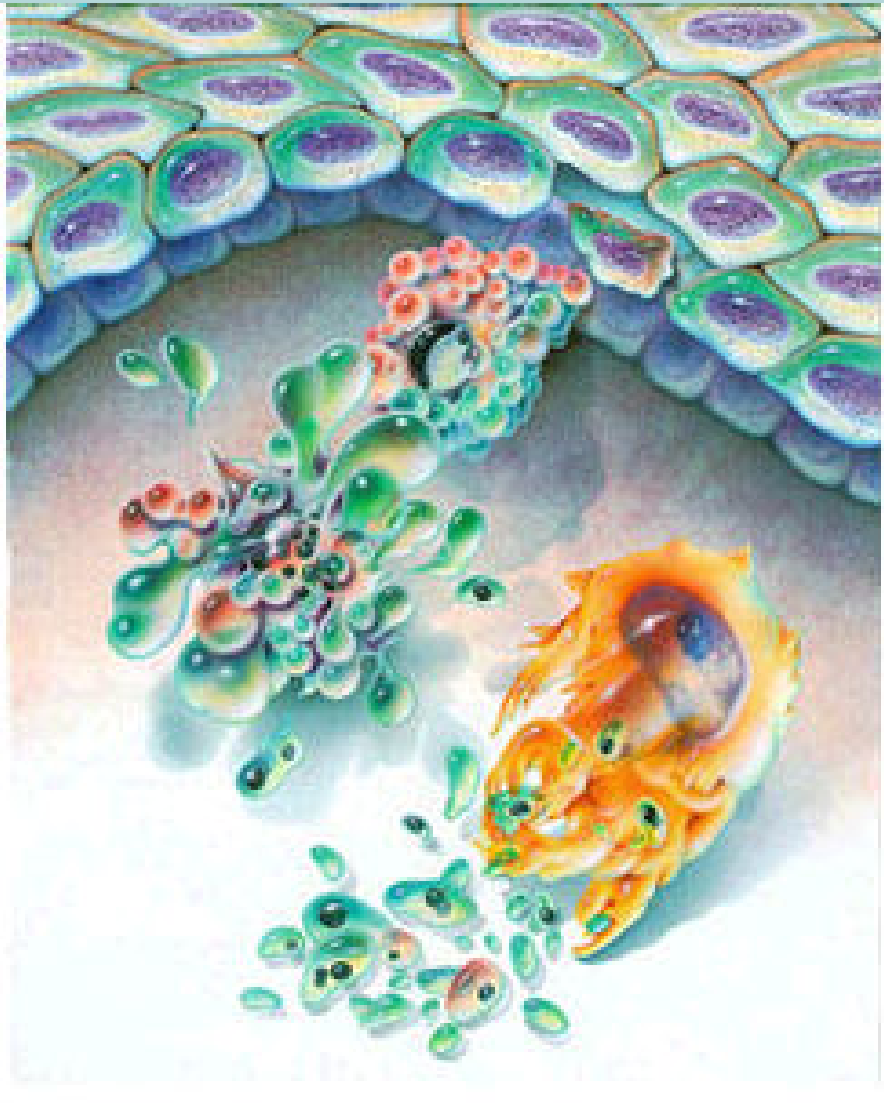
# APOPTOSI: morte cellulare programmata o “suicidio cellulare”

- È una modalità di morte cellulare “attiva”, tipica di cellule di organismi pluricellulari
- È una forma di “suicidio altruista”: spesso la cellula “si sacrifica” per il bene dell’intero organismo
- Le modalità della morte sono finalizzate a evitare l’instaurarsi di fenomeni di INFIAMMAZIONE e di AUTOIMMUNITÀ
- Il fatto che non dia luogo a fenomeni di infiammazione fa sì che la morte cellulare non sia avvertita dall’organismo (morte indolore)

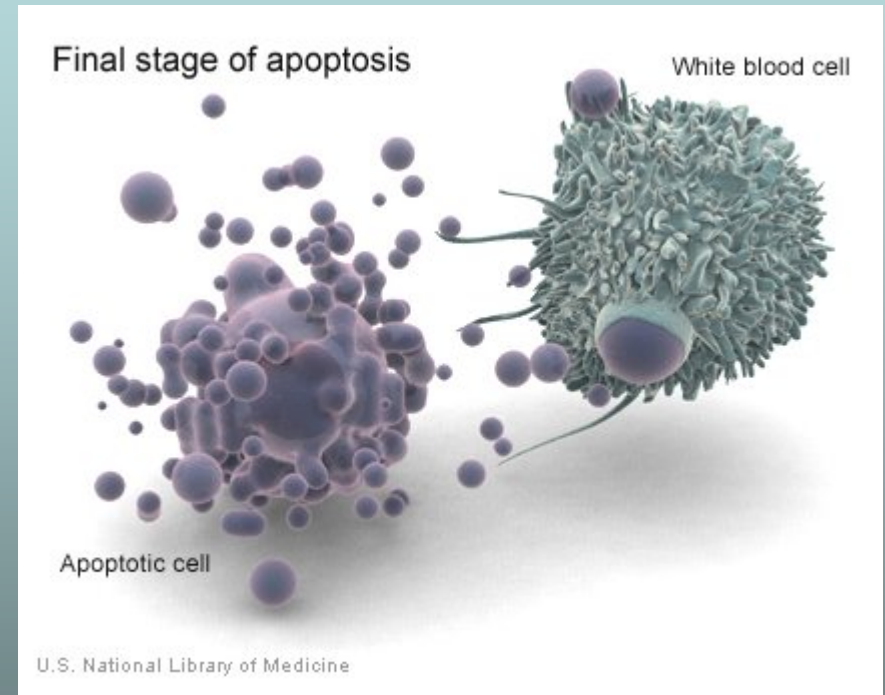
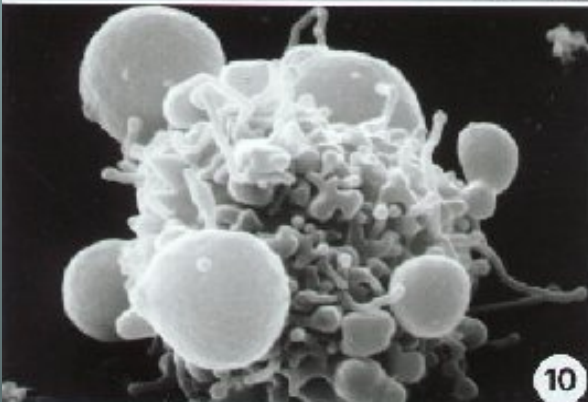
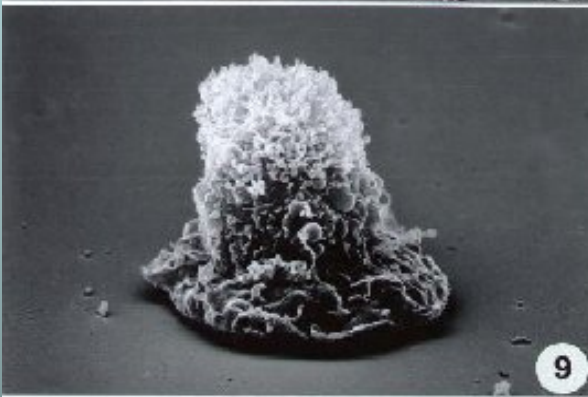
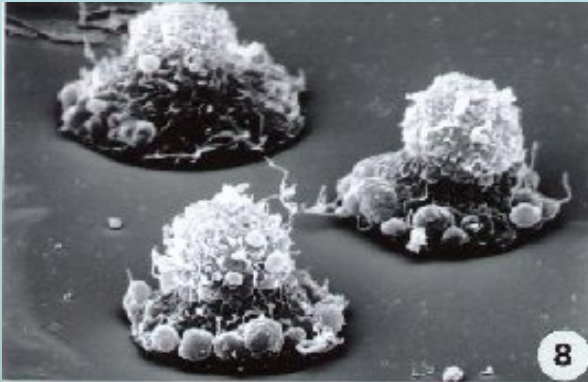
# PERCHÉ SI PARLA DI *PROGRAMMA* APOPTOTICO

- VIENE PORTATO AVANTI  
*ATTIVAMENTE*, CIOÈ CON DISPENDIO  
DI ENERGIA
- È INnescato DA *INDUTTORI*  
SPECIFICI
- RICHIEDE L'AZIONE DEI *PRODOTTI*  
*SPECIFICI DI ALCUNI GENI*

# L'apoptosi è in genere seguita dalla fagocitosi della cellula morta



La cellula in apoptosi subisce modificazioni morfologiche e biochimiche che portano alla sua frammentazione e ne favoriscono la fagocitosi



# CIRCOSTANZE IN CUI SI OSSERVA APOPTOSI

- SVILUPPO EMBRIONALE/FETALE E METAMORFOSI
- NORMALE TURN-OVER TISSUTALE
- ONTOGENESI E OMEOSTASI DEL SISTEMA IMMUNITARIO
- ATROFIA ORMONE-DIPENDENTE
- DEPRIVAZIONE DEI FATTORI DI CRESCITA
- PERDITA DEL CONTATTO CELLULA-CELLULA E CELLULA-SUBSTRATO
- TOSSINE, FARMACI
- RADIAZIONI
- INFEZIONI VIRALI
- CITOTOSSICITÀ CELLULO-MEDIATA

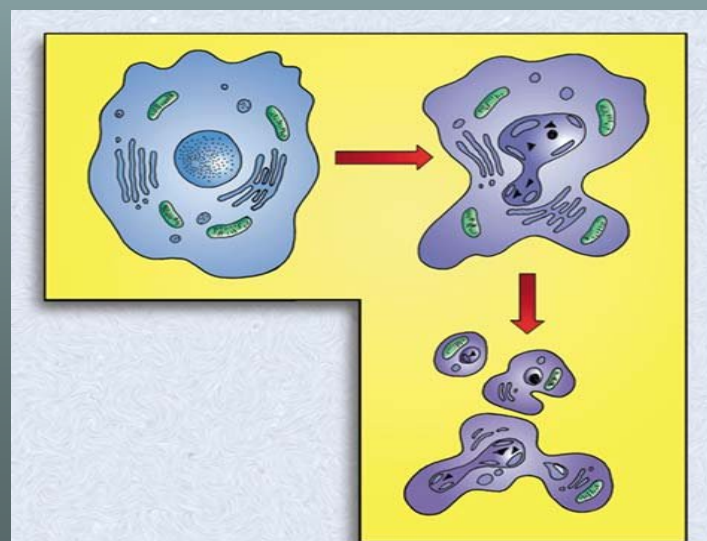
L'apoptosi può essere innescata da una serie di fattori scatenanti, fra i quali:

- ASSENZA DI UN FATTORE DI CRESCITA O DI UN ORMONE
- INTERAZIONE POSITIVA LIGANDO-RECETTORE
- AGENTI LESIVI SPECIFICI

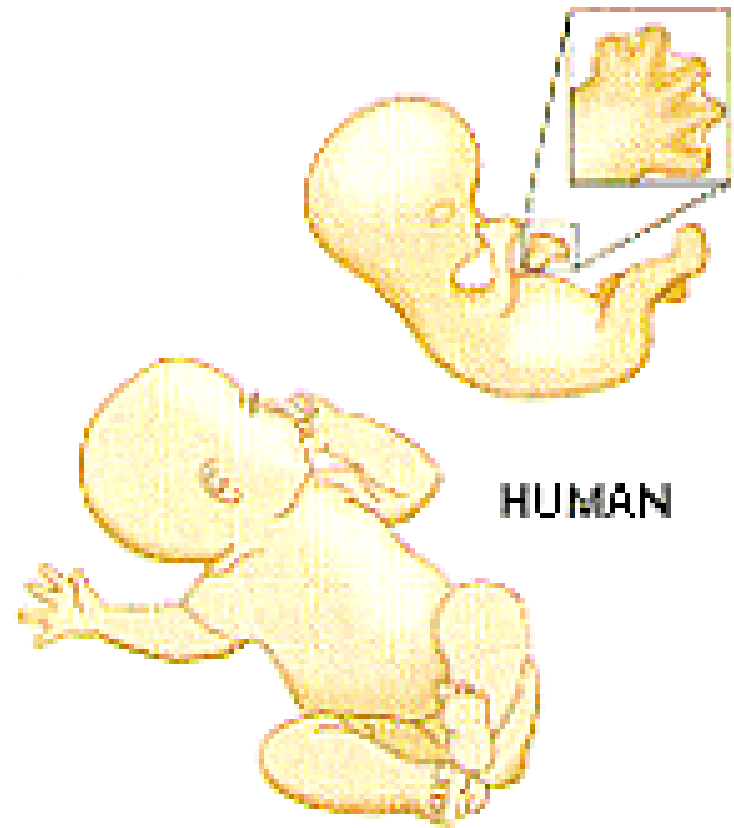
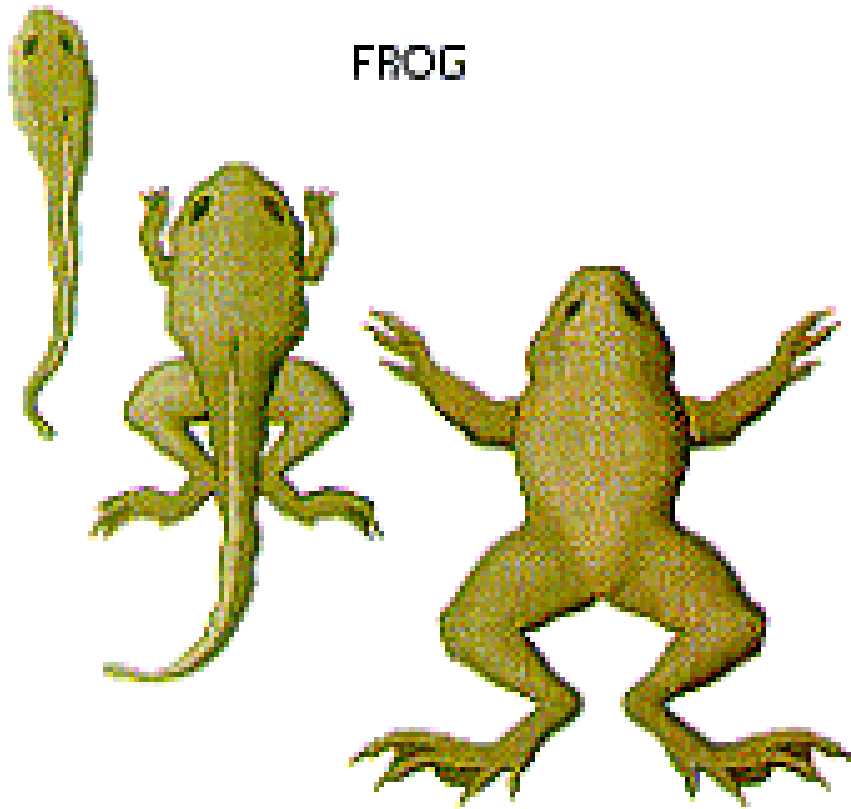
Inoltre, esiste una correlazione (spesso inversa) fra crescita cellulare e apoptosi.

Infatti, l'apoptosi gioca un ruolo importante nella regolazione della normale densità di popolazione cellulare nei tessuti (MANTENIMENTO DELL'OMEOSTASI TISSUTALE e la soppressione dell'apoptosi è uno dei fattori determinanti l'accrescimento delle neoplasie).

**L'APOPTOSI RAPPRESENTA IL PUNTO FINALE DI UNA CASCATA DI EVENTI MOLECOLARI ENERGIA-DIPENDENTI, CHE VIENE INNESCATA DA STIMOLI SPECIFICI.**



# Sviluppo embrionale/fetale e metamorfosi



# CARATTERISTICHE PRINCIPALI DEI GENI DELL'APOPTOSI

- SONO CONSERVATI NEL CORSO DELL'EVOLUZIONE
- RISPONDONO A PIÙ STIMOLI
- APPARTENGONO A UNA DELLE SEGUENTI CATEGORIE:

recettori di membrana (Fas, TNFR, TRAIL)

**adattatori** (FADD, APAF-1)

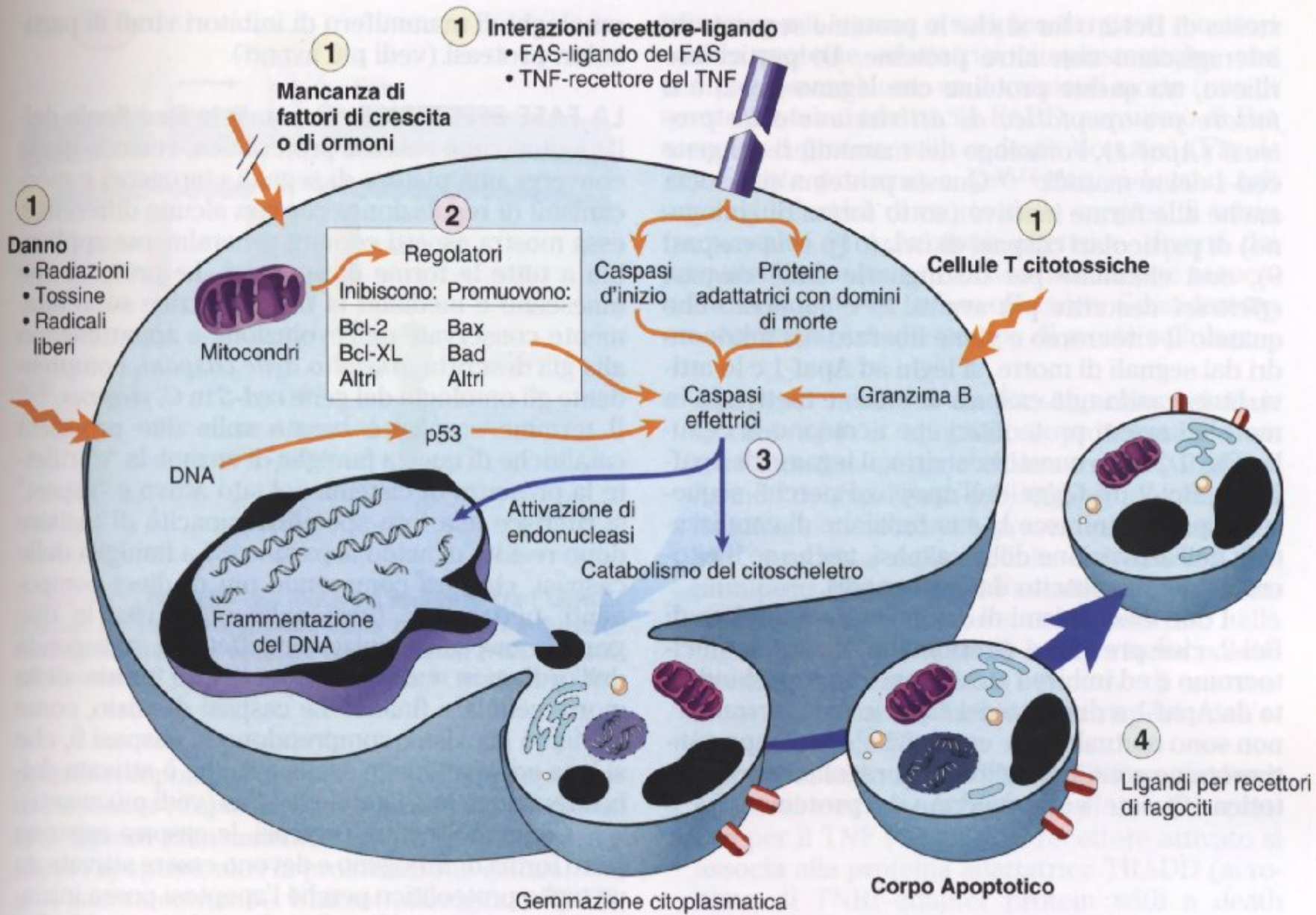
**modulatori** (anti-apoptotici, come Bcl-2, pro-apoptotici come Bax)

**effettori** (caspasi, endonucleasi)

inibitori (CrmA, cFLIP, survivin...)

**induttori** (p53, c-myc)

**della fagocitosi** (flippasi)



# FASI DELL' APOPTOSI- 1

## FASE DI INDUZIONE

- I diversi stimoli ed eventi apoptogeni seguono due distinte vie: una attivata dai "segnali di morte" che giungono ai recettori di superficie, l'altra attivata da segnali endogeni e regolata dal **mitocondrio**.
- Si ritiene che tali pathways siano regolabili e reversibili fino al momento in cui convergono nell'attivazione delle **caspasi**.
- La segnalazione **specific**a dell'apoptosi si avvale per lo più di interazioni tra domini omeotipici e non richiede attivazione genica né sintesi proteica *de novo*.

# FASI DELL'APOPTOSI- 2

## FASE DI ESECUZIONE

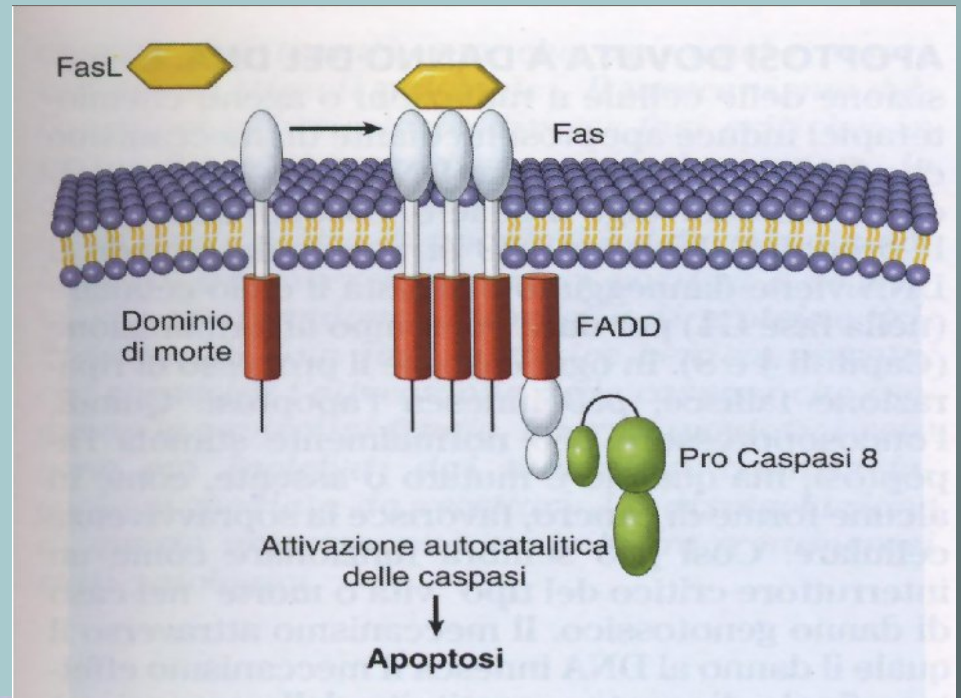
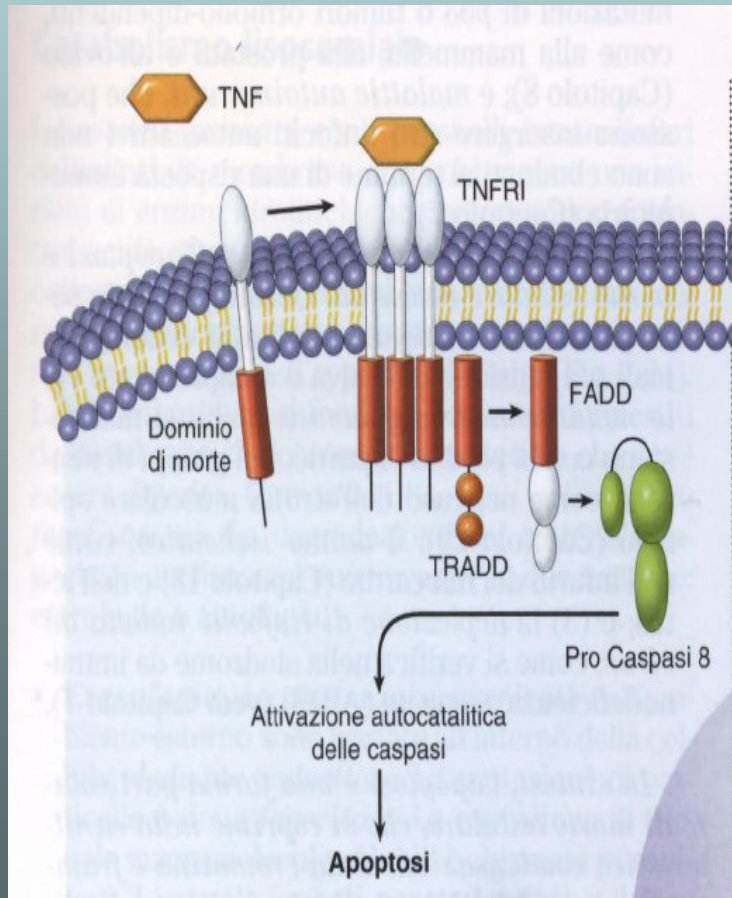
- L'attivazione delle caspasi è determinata da un evento proteolitico e determina a sua volta un'ulteriore cascata di eventi proteolitici e nucleolitici preordinati, che amplificano il segnale e portano alle tipiche modificazioni morfologiche dell'apoptosi.
- La finalità è quella di predisporre la cellula ad essere facilmente fagocitata in assenza di fuoriuscita di materiale potenzialmente pro-infiammatorio o immunostimolante; questa finalità viene perseguita in modo metabolicamente attivo.

# 1. RECETTORI DI MEMBRANA CHE INDUCONO L'APOPTOSI

- Ne sono noti almeno cinque, tra cui il recettore per il TNF (**TNFR**) e il **Fas**/Apo1/CD95
- Rispondono a segnali di tipo omeostatico, generati da altre cellule dello stesso organismo
- Quando il ligando (TNF o FasL) si è associato alla porzione extracellulare del recettore, questo trimerizza e la porzione intracellulare\* dirige la formazione di un complesso proteico, contenente i prodotti di geni **“adattatori”**
- I segnali generano una “cascata di attivazione” di enzimi proteolitici specifici, detti ***caspasi***

\*La porzione intracellulare è caratterizzata da un dominio DD (Death Domain)

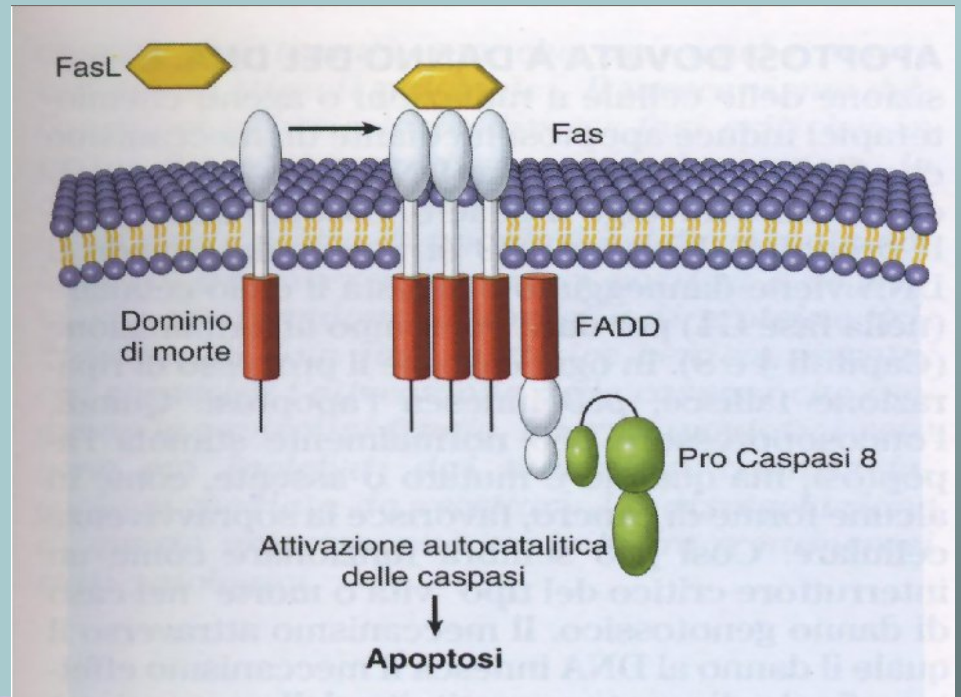
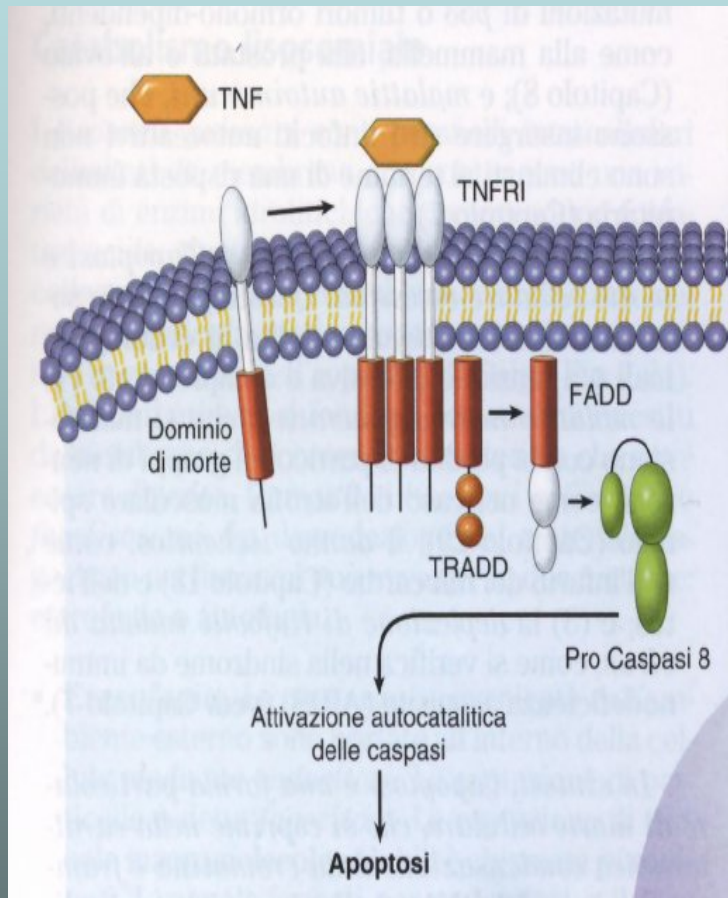
**UNA DELLE CARATTERISTICHE DISTINTIVE DELL'APOPTOSI CONSISTE NEL FATTO CHE ESSA, OLTRE CHE DA STIMOLI LESIVI O DALLA DEPRIVAZIONE DI FATTORI DI CRESCITA, PUO' ESSERE INnescata DA SEGNALI PARTICOLARI CHE AGISCONO LEGANDOSI A SPECIFICI RECETTORI DI MEMBRANA.**



## 2. ADATTATORI

- Sono proteine che mediano i segnali pro-apototici provenienti dai recettori di membrana o dai mitocondri lesionati
- Il loro compito è quello di innescare una “cascata di caspasi”
- Gli adattatori che riconoscono i recettori di membrana (FADD e TRADD) sono caratterizzati da un dominio DD che si lega ai recettori e da un dominio DED che riconosce le **caspasi iniziatrici**
- Gli adattatori della “via mitocondriale” sono caratterizzati da un dominio CARD, che riconosce il corrispondente **dominio delle caspasi iniziatrici**.

# ADATTATORI



**Bcl-2**, proteina codificata dall'omonimo gene che appartiene alla famiglia di geni **ANTI-APOPTOTICI**

**NUCLEO**

**AIF = Fattore Iniziante l'Apoptosi**

Apaf = fattore attivante le proteasi dell'apoptosi (=caspasi)

**Citocromo C** + **Apaf-1 + ATP**

**Pro-caspasi 9**

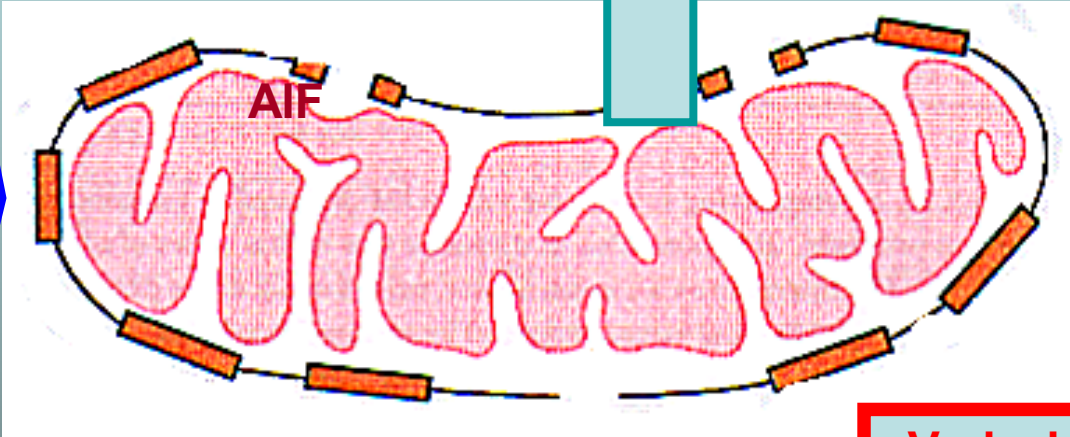
**caspasi 9**

**APOPTOSI**

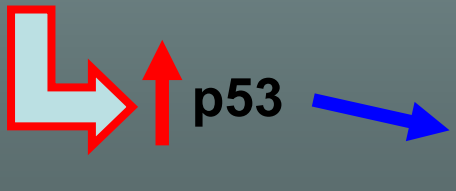
**IAP = Proteine Inibenti l'Apoptosi**

**Variazione del potenziale di transizione di permeabilità**

**Bax** Proteina codificata dall'omonimo gene che appartiene alla famiglia di geni **PRO-APOPTOTICI**



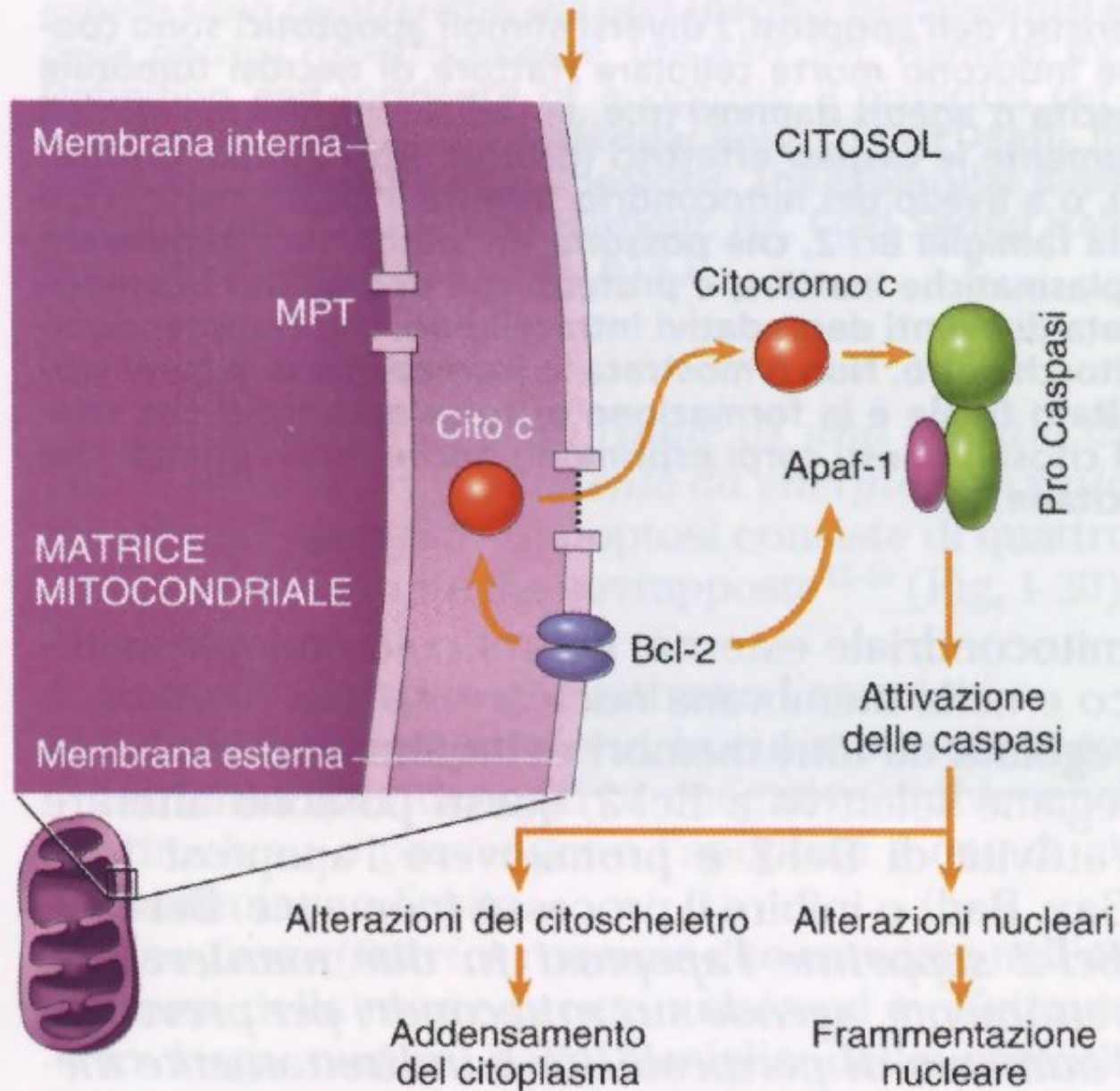
**Stimolo stressogeno**



## 2. MODULATORI DELL'APOPTOSI

- Localizzandosi sulla membrana esterna del mitocondrio, favoriscono (se pro-apoptotici) o rendono meno facile (se anti-apoptotici) la formazione di megacanalini e la conseguente fuoriuscita di molecole pro-apoptotiche
- Sono strutturalmente simili tra loro
- Anti-apoptotici: Bcl-2, Bcl<sub>XL</sub>
- Pro-apoptotici: Bad, Bax
- Stimoli endogeni ed esogeni agiscono sulla propensione all'apoptosi della cellula alterando la loro quantità, localizzazione e stato di attività

# Possibili modalità d'azione di Bcl-2



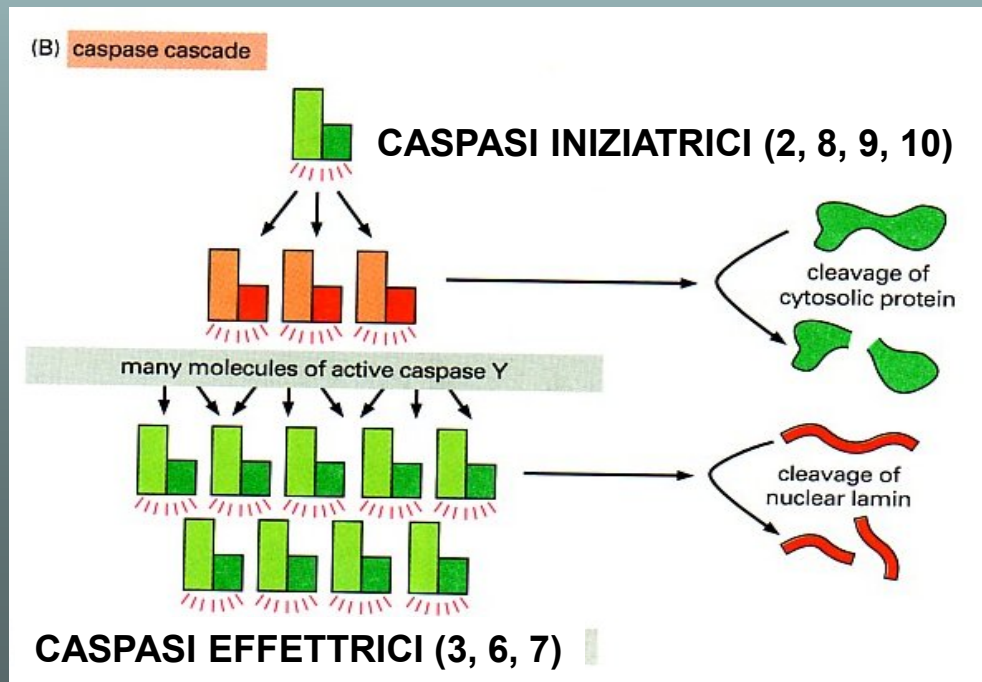
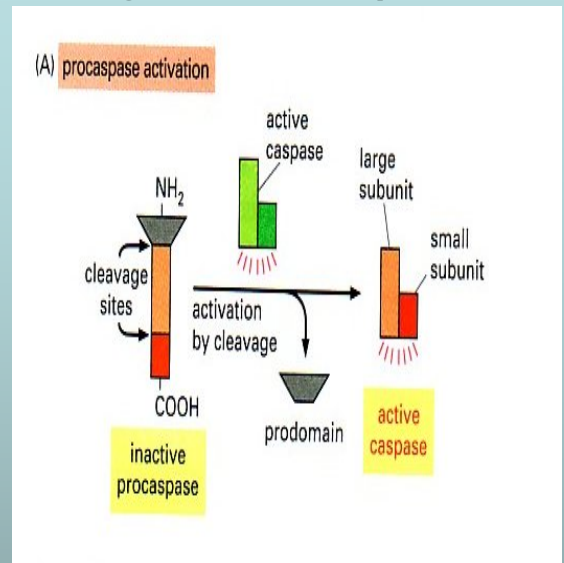
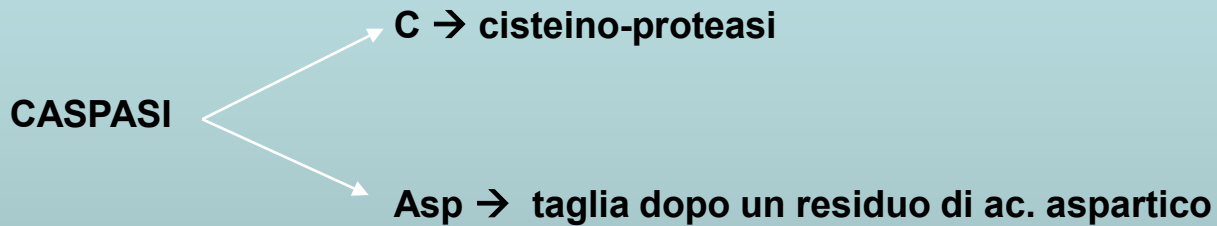
Nel processo di induzione dell'apoptosi da parte di molecole che si legano a recettori di membrana, in seguito all'attivazione delle caspasi si verifica la parziale proteolisi di un fattore proteico (**Bid**) il quale facilita l'ingresso di **Bax** sulla membrana esterna mitocondriale.

In questo modo si attua un'amplificazione del processo apoptotico perché viene innescato contemporaneamente anche il meccanismo patogenetico che parte da segnali provenienti dai mitocondri

# 3a. EFFETTORI DELL'APOPTOSI: CASPASI

- C = cisteina nel centro reattivo; ASP = riconoscono un residuo di acido aspartico nell'ambito di una sequenza di 4 amminoacidi; ASI = sono enzimi proteolitici
- I substrati da essi tagliati sono enzimi della riparazione del DNA, proteine strutturali del nucleo, proteine del citoscheletro, I-CAD
- Le caspasi "iniziatrici" (2, 8, 9, 10) sono attivate dagli "adattatori"; a loro volta attivano le caspasi "effettrici" (3, 6, 7).
- L'attivazione consiste nel taglio proteolitico, con formazione di due frammenti; i 2 frammenti brevi e i 2 frammenti lunghi di due caspasi uguali formano un tetramero

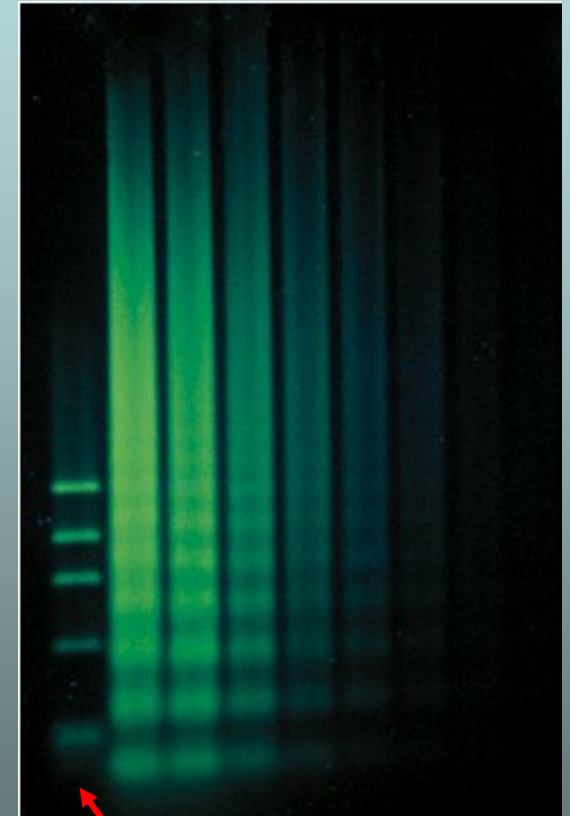
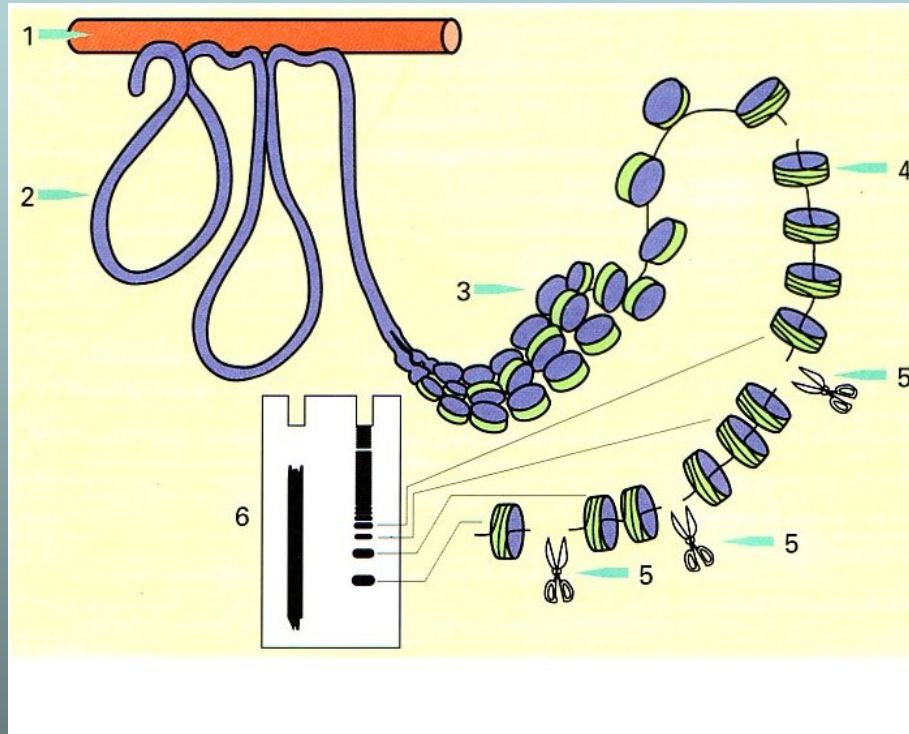
La via finale di tutti i tipi di apoptosi consiste nell'attivazione di una cascata proteolitica. Le relative proteasi sono proteine altamente conservate e appartengono alla famiglia delle *caspasi* (che comprende più di 10 membri).



## 3b. EFFETTORI DELL'APOPTOSI: ENDONUCLEASI

- **CAD.** Legato all'inibitore **I-CAD**, viene attivato quando l'inibitore viene tagliato dalle caspasi. Tipicamente responsabile dei tagli inter-nucleosomici. È localizzato nel nucleo.
- **AIF.** Liberato dai mitocondri quando si forma il megacanalale, determina la formazione di frammenti ad alto peso molecolare.
- **Endo-G.** Liberato dai mitocondri quando si forma il megacanalale, determina tagli a singolo filamento.

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



PROFILO A SCALETTA

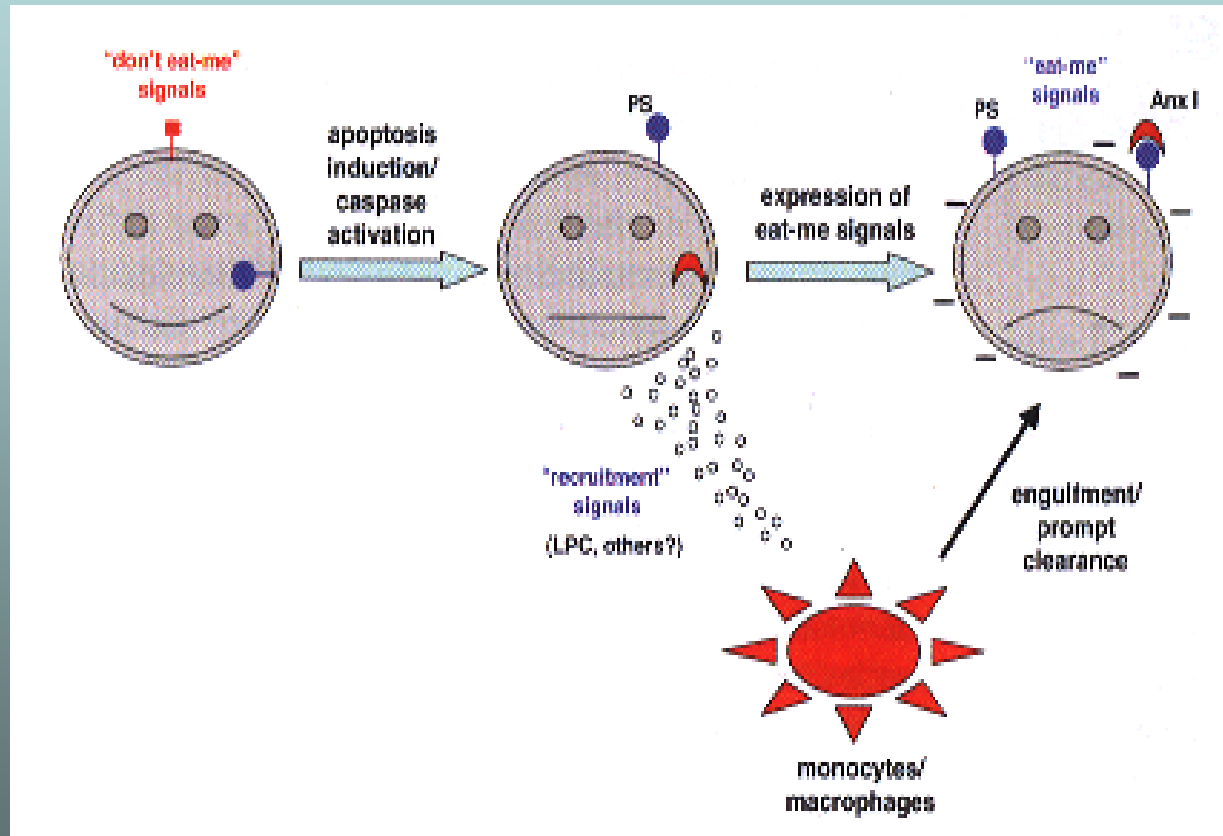
## 4. INDUTTORI DELL'APOPTOSI

- Alcuni induttori si attivano in base ad un “orologio interno” (es. *reaper* di *Drosophila*)
- Altri si attivano quando la cellula percepisce uno scompenso tra segnali di proliferazione e momento in cui tali segnali vengono inviati (es. *myc*)
- Altri ancora quando la cellula non riesce a compiere correttamente le tappe del ciclo cellulare a causa di danni al DNA (es. *p53*)
- Agiscono determinando uno sbilanciamento tra modulatori anti- e pro-apototici a favore dei secondi.

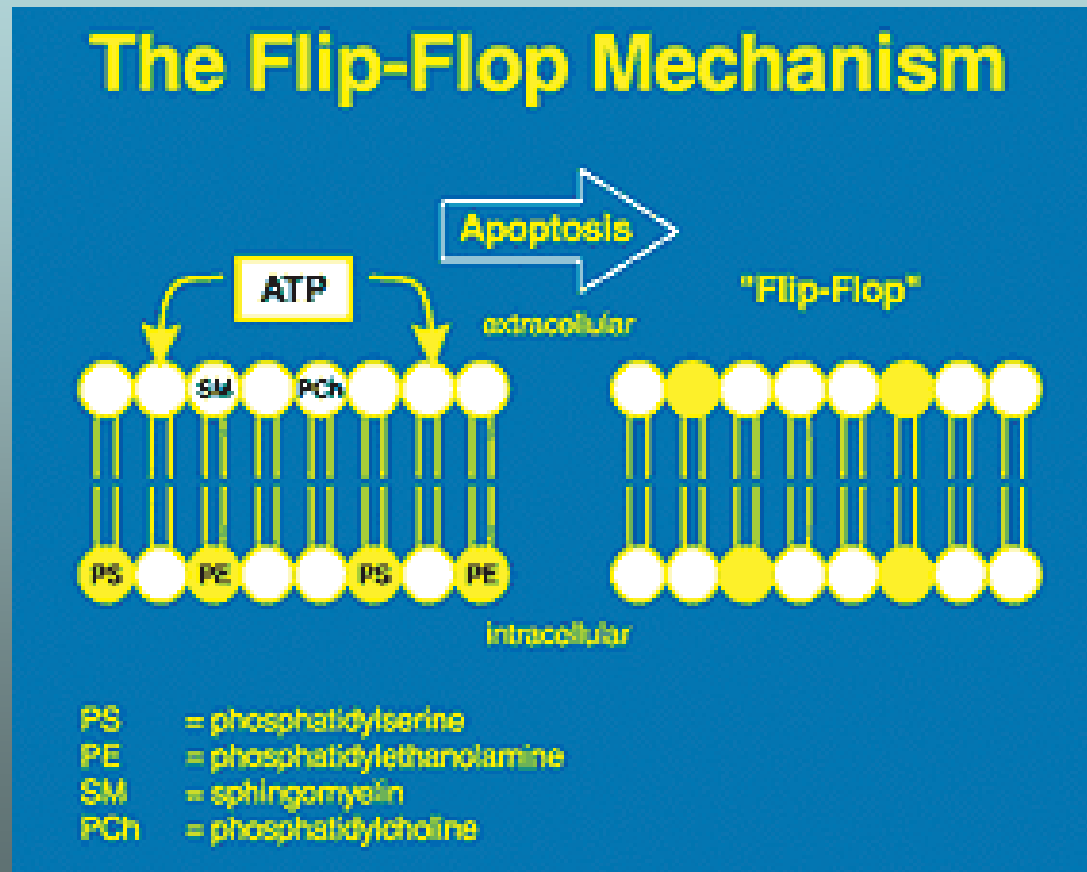
## 5. INIBITORI DELL'APOPTOSI

- Possono essere di origine virale (CrmA)
- Possono essere presenti naturalmente (c-FLIP) o essere indotti in cellule tumorali. Spesso si tratta di molecole “esca”: possiedono un dominio, es. DD, ma mancano dell'altro, es. DED e quindi competono con gli adattatori completi.
- Altri inibitori (IAP, survivin) si legano alle caspasi, impedendone l'attivazione; sono a loro volta inattivati da un fattore di origine mitocondriale (Smac/DIABLO)

# 7. Fagocitosi: segnali “eat-me” nelle cellule di mammifero



# Modificazioni della superficie cellulare: esposizione della fosfatidilserina



# NECROSI

# APOPTOSI

Accidentale

**TIPO DI MORTE**

Fisiologica....

Numerose

**CELLULE INTERESSATE**

Singole

Aumento

**VOLUME**

Contrazione

No

**ATP**

Si

Casuale

**FRAMMENTAZIONE  
DEL DNA**

Ordinata

Estrusione

**COLORANTI VITALI**

Ritenzione

Sempre presente

**REAZ. FLOGISTICA**

Preval. assente