

# Patologia molecolare

Saul Pierotti

May 11, 2019

## Informazioni sul corso

- Verrà fatto un esame ogni mese eccetto ad agosto
- Le varie patologie genetiche non sono richieste all'esame
- Il libro consigliato è Pontieri Vol.1
- Le patologie genetiche non sono richieste all'esame

## Programma (detto a voce)

- Malattie genetiche Talassemie, sferocitosi, falcemia, emofilia
- Malattie cromosomiche
  - Down, Klinefelter e Turner
- Meccanismi di riparazione del DNA (da fare bene)
  - NHEJ, HR, BER, NER
  - Lynch, Ataxia telangiectasia, Xeroderma pigmentosum
- Patologia cellulare
  - Steatosi (alcolica e non) e amiloidosi
    - \* Adaptine ed allarmine
  - Necrosi e apoptosi, vari tipi di necrosi
  - Atrofia ed ipertrofia, iperplasia
- Tumori
  - Cancerogenesi
  - Benigni e maligni
  - Invasività e metastatizzazione
  - Oncogeni ed oncosoppressori
  - Mutazioni gain of function e loss of function
  - Angiogenesi
- Infiammazione
  - Cause, riconoscimento del patogeno
  - Infiammazione acuta e cronica
  - Polmonite come esempio di infiammazione acuta e granuloma tubercolare o da corpo estraneo come esempio di infiammazione cronica
- Il programma ufficiale è nel file apposito

## Note sparse

- La vita media aumenta di circa 3 mesi ogni anno, anche se ora sta rallentando
  - Si ipotizza il limite fisiologico sia attorno ai 120 anni
- Nonostante l'aumento della vita media la qualità della vita dell'anziano è ancora scarsa
- Gli integratori alimentari sono inutili e non vi è una carenza sottostante carenza
  - Non si deve abusare di antiossidanti poichè anche questi alterano l'omeostasi

- L'epigenetica influenza pesantemente il fenotipo umano
- Homo sapiens è partito dal Camerun (Y ancestrale), mentre neanderthal da più su
- L'espressione di alcuni geni tra uomo e donna è diversa, e pertanto la medicina dovrebbe essere personalizzata per gender
- La febbre non è patologia, e la tachipirina si prende solo sopra 38.5
- Nel 1990 si inizia a sequenziare il DNA
- Il tempo di degradazione di una proteina ne influenza l'effetto
- La patologia può riguardare DNA, RNA, proteine, lipidi, zuccheri, epigenetica
- La patologia è andata da uno studio d'organo ad uno cellulare, al metabolico, al subcellulare, al molecolare
- La riparazione del DNA può variare in base al soggetto ed alterare la gravità della risposta ad agenti mutageni
  - La riparazione sfrutta BER, NER, HR, NHEJ
- La polimerasi compie errori con una frequenza di  $10^{-5}$ , ma con il mismatch repair arriva ad un tasso di soli  $10^{-9}$
- HPV può causare tumore genitale e orale, ma non per tutti i soggetti
  - Uno SNP su una proteina apre una tasca sulla stessa che permette ad HPV di inibirla, scatenando la tumorigenesi
- Gli eccessi ormonali possono portare ad azioni collaterali su recettori impropri per cui normalmente vi è bassa affinità
- I Geni HOX sono un cluster coinvolto nel controllo della metamerizzazione, si attivano in modo sequenziale sul cromosoma e sono estremamente conservati
- I mitocondri non hanno capacità riparativa e pertanto se vengono danneggiati sono degradati
- Una cellula tumorale ha una capacità proliferativa afinalistica, nel senso che porta alla morte dell'organismo e quindi di se stesso
- I batteri sono gli organismi di maggior successo (?)
- Dal punto di vista evolutivo il cromosoma X è essenziale, mentre Y porta geni non essenziali
- GRP78 (BiP) è un chaperon che lega le proteine misfolded a livello dell'ER, attivando fra l'altro la misfolded protein response
- Le principali cause di decesso nel mondo sono cancro e malattie cardiovascolari
- cellule che non si replicano sono adipociti, cristallino, cellule del sertoli, e neuroni
  - si è tuttavia scoperto che alcuni neuroni hanno capacità replicativa
- Synthetic letality è il processo per cui l'inibizione di una funzione cellulare è letale solo in compresenza di un'altra alterazione
  - E' sfruttata per colpire selettivamente cellule tumorali che presentano una di queste alterazioni

## Da approfondire

- Cerca il lavoro americano su integratori
  - Sono state trovate piccole quantità di sildenafil per l'uomo e antidepressivi per le donne negli integratori alimentari

## Introduzione

- La patologia generale studia gli agenti responsabili delle manifestazioni patologiche e la patogenesi
- la patogenesi è l'insieme dei meccanismi che concorrono alla modifica dello stato di salute

## Omeostasi

- L'omeostasi è l'insieme dei meccanismi atti a mantenere costante la composizione e funzionalità dell'organismo
- Tutte le funzioni vitali sono soggette a regolazione omeostatica

## Manifestazioni patologiche

- Il fenomeno morboso è la deviazione di un parametro particolare dallo stato fisiologico
  - Es. pallore prodotto dalla vasocostrizione per ipotermia ambientale
- Il processo morboso è dovuto all'associazione di più fenomeni morbosi
  - Es. infiammazione
- Lo stato morboso è una manifestazione patologica stazionaria che può essere asintomatica ma rendere suscettibile l'organismo ad altre manifestazioni patologiche
  - Es. mancanza di un rene
- La malattia è l'alterazione anatomica o funzionale di uno o più organi che turba l'omeostasi originaria
- La malattia evolve verso una di queste condizioni
  - Guarigione, che consiste nella rimozione della cause e nella *restitutio ad integrum*
  - Cronicizzazione, che consiste nell'instaurarsi di un equilibrio diverso da quello originario tra reattività dell'individuo e *noxa patogena*
  - Morte, quando la reazione dell'organismo è insufficiente
- I sintomi possono essere soggettivi, ossia riportati dal paziente, e obiettivi, individuabili con visita medica o indagini di laboratorio
- I sintomi permettono al medico di effettuare una diagnosi e di formulare in base a questa una prognosi

## Eziologia e patogenesi

- Le cause di malattia possono essere endogene o esogene, determinanti o coadiuvanti
- La patogenesi indica i meccanismi messi in atto dall'agente eziologico che sono direttamente responsabili delle manifestazioni patologiche

## Malattie ereditarie

- Nella maggior parte dei casi le alterazioni genetiche alla base di queste sono prezigotiche
  - È frequente che l'alterazione sia *ex novo* sulla linea germinale di un genitore anziché preesistente
  - La distrofia muscolare di Duchenne nel 60% dei casi avviene per mutazione *ex novo* del cromosoma X nei gameti
- Il 70% delle patologie congenite hanno causa ignota, il 20% hanno causa ereditaria
- Per familiarità si intende la presenza di un'alterazione genetica in una linea di discendenza
- Si definiscono congenite le alterazioni genetiche presenti al momento della nascita, che siano o meno immediatamente visibili a livello fenotipico
- Un'alterazione congenita non necessariamente è di base genetica, ad esempio HIV può essere trasmesso per via verticale e quindi è congenito
- Le alterazioni del cariotipo possono interessare tutti i cromosomi, ma solo alcune sono osservabili nella popolazione
  - Molte alterazioni del cariotipo sono letali e possono essere spesso osservate in prodotti abortivi
  - Sono frequenti alterazioni del cariotipo a livello somatico, che possono dar luogo a tumorigenesi
  - Spesso le aneuploidie prezigotiche derivano da mancata disgiunzione in meiosi 1
  - Le alterazioni del cariotipo più frequenti coinvolgono gli eterocromosomi o il cromosoma 21
- Le alterazioni che non coinvolgono il gene ma solo la proteina espressa possono derivare da alterazioni di altri geni che ne regolano il processamento
  - Possiamo avere isoforme dovute da inizi alternativi della trascrizione o traduzione
  - Si possono osservare modifiche post-traduzionali differenziali
  - Vi possono essere alterazioni nel pathway di splicing (alterazioni delle SNRNPs)
  - Possono essere alterati dei miRNA
  - Per osservare la presenza di isoforme di splicing di una proteina posso clonarne il cDNA
- Le malattie che insorgono nel primo trimestre sono dette embriopatie
  - Sono le più gravi siccome in questa fase si ha la formazione degli organi
- Le malattie che invece si manifestano nel secondo e terzo trimestre sono dette fetopatie

- In questa fase gli organi si accrescono ma sono già completamente formati, e pertanto le fetopatie sono relativamente meno gravi

## Alcuni esempi di malattie a base genetica

### Diabete

- Nel diabete alcune proteine vengono spontaneamente glicosilate per l'abbondanza di glucosio circolante
- Il processo di glicosilazione non è enzimatico
- Queste glicazioni potrebbero impedire la degradazione di certe proteine, causandone accumulo

### Acondroplasia

- L'acondroplasia è causata da un difetto in un recettore per un fattore di crescita che impedisce la normale crescita ossea
- Si osserva altezza media di 130 cm, mentre la testa è di dimensioni normali poichè la sua crescita non coinvolge tale fattore
- Nell'80% dei casi si osservano mutazioni de novo al gene coinvolto

### Alzheimer

- L'età di insorgenza dipende dall'esposizione a fattori ambientali stressanti
  - Si ha anche un fattore di rischio a base genetica ma non sono noti i geni coinvolti
  - Si osserva atrofia dei giri cerebrali dovuta a fenomeni di necrosi e apoptosi
  - Si ha mancanza di interconnessioni tra le varie aree cerebrali, soprattutto tra telencefalo e aree profonde
- Un'ipotesi vede coinvolta la proteina APP, detta precursore amiloide
  - Le proteine presenilina 1 e 2 normalmente clivano APP, e loro mutazioni sono state correlate ad Alzheimer precoce
  - L'accumulo di APP satura la capacità delle chaperons, e l'eccesso non viene ripiegato correttamente
  - L'accumulo avviene nel RER e questo porta a stress cellulare con accumulo di ROS
  - Viene così indotta apoptosi neuronale
- Secondo un'altra ipotesi la proteina Tau viene iperfosforilata e si accumula, impedendo la formazione dei microtubuli e inducendo così morte neuronale

### Parkinson

- La malattia è caratterizzata dalla perdita di neuroni dopaminergici a livello della substantia nigra
- Nei pazienti si osserva accumulo di aggregati insolubili di  $\alpha$ -sinucleina
  - Questa proteina è stata scoperta a Cambridge da una ricercatrice di Arezzo
  - Gli aggregati sono detti corpi di Lewi
- Esiste anche Parkinson in forma giovanile
- Nelle scimmie si sono osservati risultati incoraggianti trapiantando selettivamente cellule staminali nella substantia nigra
- Ormai ci sono pochi investimenti in questa malattia poichè si è dimostrata molto difficile da trattare

### Sclerosi laterale amiotrofica

- Alcune forme sono correlate ad una mutazione gain of function della superossido-dismutasi (SOD)
- Si può avere degenerazione sia del primo che del secondo motoneurone
- La sua insorgenza è stata correlata a predisposizione genetica accoppiata ad eccitotossicità da glutammato, accumulo di ROS, carenza di fattori di crescita, fattori tossici ambientali ed infezioni virali

### Osteogenesis imperfecta

- Il paziente ha ossa estremamente fragili a causa di difetti nella produzione di collagene di tipo I

- I sintomi includono sordità, deformità ossee, bassa statura
- Una caratteristica peculiare è la colorazione blu delle sclere

### **Distrofia muscolare di Duchenne**

- E' causata da una mutazione del gene della distrofina
- La distrofina è codificata da un gene enorme sul cromosoma X
  - Questa proteina impedisce che le cellule muscolari si lesionino nello strofinarsi durante le contrazioni
  - Ancora il citoscheletro alla matrice extracellulare
- La mancanza di distrofina causa instabilità del sarcolemma, che si danneggia permettendo l'ingresso di  $Ca^{++}$
- Si manifesta attorno ai 3 anni con problemi di deambulazione
- Progredisce con impossibilità di deambulazione a 12 anni e morte a 20 a causa di problemi dei muscoli respiratori

### **Fibrosi cistica**

- E' causata da una mutazione del canale per  $Cl^-$  CFTR
- La mancata secrezione di cloro impedisce la diluizione delle secrezioni, che divengono estremamente dense
- Si osservano problemi respiratori e occlusione dei dotti pancreatici

### **Fenilchetonuria**

- E' dovuta ad un'alterazione nel metabolismo della fenilalanina
- Gli alti livelli di fenilalanina che si producono hanno effetti tossici, particolarmente a livello del CNS
- I pazienti hanno tipicamente capelli biondi, cute chiara e ritardo mentale
- Se si tratta alla nascita tramite una dieta priva di fenilalanina si ha assenza di ritardo mentale
  - Questo approccio è detto dietoterapia
- Oggi di routine si fa screening alla nascita per la presenza della malattia, in modo da poter intervenire precocemente con una dieta adeguata

### **Emoglobinopatie**

- Sono patologie dovute ad alterazioni dei geni codificanti per le catene globiniche
- Sono frequenti anche alterazioni di tipo quantitativo

### **X fragile**

- E' una patologia X-linked con frequenza di 1/1550 nel maschio
- Diagnosi difficile
- I sintomi includono ritardo mentale, orecchie a sventola, macrorchidismo
- Il nome della patologia è dovuto ad un'anomalia citogenetica inducibile in assenza di foliato, un tempo usata come strumento diagnostico
- Avviene in figli di madri che portano una pre-mutazione dovuta da aumento di repeat CGG
  - Nel figlio si osserva ulteriore aumento del numero di ripetizioni
  - Il maschio riceve la X sempre della madre (!)

### **Corea di Huntington**

- L'esordio è tipicamente tra i 30 e 50 anni con movimenti incontrollabili e demenza
- La patogenesi è dovuta ad accumulo di huntingtontina, una proteina particolarmente tossica a livello del nucleo striato nel CNS
- La mutazione responsabile è un'espansione del repeat CAG nel gene del huntingtontina, che codifica per un tratto poly-Q
  - La lunghezza del repeat è direttamente correlata alla penetranza della patologia

- I sintomi precoci sono per lo più dovuti al danneggiamento dello striato

### Trisomia 21

- La patologia è per lo più causata da una mancata disgiunzione del cromosoma 21 in meiosi 1
- E' sufficiente che il solo q21 sia traslocato (trisomico) per avere il fenotipo patologico, non è necessaria la traslocazione dell'intero cromosoma
- Vi è una forte correlazione tra età della madre e probabilità di avere un figlio affetto, mentre l'età del padre non è influente
  - I 35 anni sono la soglia critica dopo la quale si ha un forte aumento dell'incidenza
  - Questa correlazione è dovuta al fatto che i danni genetici ai gameti si accumulano nel tempo
  - Le uova sono particolarmente soggette a questi danni poichè sono presenti già dalla nascita nel corpo della donna
  - L'aumento di aberrazioni citologiche nelle uova con l'età è anche causa della diminuita fertilità della donna in età avanzata
- Una volta si osservava la presenza di pochi individui Down perchè questi erano subito messi in istituto quando nascevano, ma nascevano comunque (!)
- Una particolarità interessante è che gli individui affetti hanno una bassissima incidenza di cancro

### Sindrome di Turner

- E' una monosomia del cromosoma X con genotipo XO
- Gli individui affetti sono sempre di sesso femminile e di bassa statura
- La bassa statura dipende dalla carenza quantitativa del gene SHOX, un homeobox
- Il fatto che la statura dipenda molto dalla X fa pensare che nel maschio questa sia un tratto di origine prevalentemente materna
- Altri tratti sono presenti nei pazienti su base probabilistica, poichè caratterizzati da una componente epigenetica
- La sterilità è molto comune ma non assoluta (!)

### Sindrome di Klinefelter

- La patologia è caratterizzata dal genotipo XXY, e gli individui affetti sono di sesso maschile
- I soggetti sono molto alti, a causa della presenza di 2 X materne
- Si osserva ridotta fertilità e microorchidismo

### Triple X syndrome

- Il fenotipo è per lo più normale e la maggior parte degli individui affetti non viene mai diagnosticato
- La formazione di 2 corpi di Barr assicura comunque un livello di espressione genica pressochè normale

## Patologia ambientale

### Trasferimento di energia meccanica

- Un trauma è il danno causato da un oggetto dotato di energia cinetica che collide con l'organismo
- Un trauma sufficientemente intenso causa oltre a danno locale anche effetti generali descritti col nome di *shock traumatico*
  - Si può avere perdita di coscienza e caduta della pressione sanguigna
- Un'abrasione è tale se interessa solo l'epidermide, pertanto non comporta emorragia
- Una ferita, al contrario, causa sempre emorragia, che viene tamponata dai sistemi coagulativi
  - Si osserva anche contrazione della ferita, ossia retrazione dei suoi margini
  - Il sangue coagula rapidamente nel fondo della ferita, mentre i detriti cellulari agiscono da stimolo infiammatorio
  - Si innesca quindi un processo flogistico acuto in corrispondenza dei tessuti vitali circostanti

- Il coagulo viene poi rimpiazzato da tessuto di granulazione che deriva dalla proliferazione dei fibroblasti ed è punteggiato di nuovi capillari
- Se la ferita interessa l'epidermide si osserva proliferazione delle cellule di questa, che coprono il tessuto di granulazione nel processo di cicatrizzazione
- Si dice guarigione per prima intenzione quella di una ferita a bordi ravvicinati, e di seconda intenzione quella di una ferita a margini distanziati
  - L'applicazione di una sutura favorisce la guarigione per prima intenzione
- Le ferite sono sottoposte a rischio di infezione da parte di cocchi piogeni, clostridi e molti gram-negativi
- Una ferita può essere soggetta a deiscenza, ossia aprirsi di nuovo in conseguenza ad un insulto meccanico
  - E' frequente nelle ferite addominali a seguito di sforzi particolarmente intensi
- Se i fibroblasti proliferano in modo eccessivo si ha la formazione di un'escrescenza detta **cheloide**
- La guarigione delle fratture è analoga a quella delle ferite, con formazione di un ematoma seguito da un callo, che gradualmente si converte in tessuto osteoide
- Una complicanza delle fratture è la formazione di una pseudoarticolazione, data dalla differenziazione dei fibroblasti in cellule sinoviali
- I traumi del CNS sono irreversibili, e le cellule danneggiate sono rimpiazzate da oligodendrociti
- A livello del PNS un trauma è invece riparabile se i neuroni coinvolti non sono compromessi
  - Il moncone prossimale si degrada fino al pirenoforo, e a questo segue una rigenerazione con una velocità di circa 1mm al giorno
  - Il moncone distale si degrada, mentre le cellule di Schwann riformano una guaina integra che dirige la crescita delle nuove neurofibrille
- Una lesione cutanea lascia una cicatrice se danneggia la membrana basale
- Una cicatrice manca di annessi cutanei, può avere un colore differente dal resto dell'epidermide (**discheratosi**), non suda, non presenta peli

## Trasferimento di energia termica

- L'energia termica può causare danni locali oppure effetti sistemici

## Azione locale del calore

- Si ha un'ustione quando i tessuti superano i 40-45°C
  - La soglia del dolore è intorno ai 45°C
- I danni causati da sostanze chimiche non sono detti ustioni ma causticazione
- La gravità dipende da estensione, profondità ed altri fattori
  - Quantità di calore trasferito
  - Temperatura raggiunta dai tessuti
  - Durata del contatto con la sorgente di calore
  - Tipologia di calore (umido o secco)
  - Tipologia di tessuto interessato
- Uno strato calloso è più resistente agli insulti termici di una porzione epiteliale più sottile, come una mucosa
- Il calore umido è più dannoso perchè impedisce i processi di evaporazione termodispersivi
- La gravità delle ustioni è classificata in gradi
  - Primo grado: vasodilatazione con formazione di eritema dovuto al rilascio di istamina
  - Secondo grado: infiammazione con accumulo di fluido, che forma un fittone
  - Terzo grado: necrosi tissutale con formazione di escara e possibile carbonizzazione
- Ustioni particolarmente estese in superficie o profondità possono anche dar luogo ad effetti sistemici
- Secondo la regola di Wallace vi sono 11 zone corporee che coprono ciascuna il 9% di superficie
  - Questo viene utilizzato per stimare l'estensione di un'ustione

## Alterazioni della temperatura corporea

- Sopra ai 41 gradi si può avere danno cerebrale

- Sotto ai 33-35°C le reazioni biochimiche sono molto rallentate

## Patologie da elevata temperatura ambientale

- Il colpo di sole è causato dall'esposizione ai raggi solari del capo scoperto
  - Si manifesta con cefalea ed alterazioni psichiche
  - Può avere esito mortale
  - La sua patogenesi è ignota, ma i deceduti presentano meningi iperemiche e ventricoli turgidi di liquor
- Il colpo di calore tropicale si osserva in ambienti umidi con temperatura superiore a 40°C
  - E' accentuato da sforzi muscolari, che causano termogenesi endogena
  - Può condurre a morte per innalzamento della temperatura corporea fino a 44°C
  - Si osservano convulsioni, perdita di coscienza, coma
  - La patogenesi consiste nell'alterazione della volemia causata da profusa sudorazione improduttiva
  - La perdita di liquidi causa *ispissatio sanguinis*
  - E' possibile limitarne gli effetti con adeguato acclimatemento, che consiste in un aumento della quantità di liquidi e sali endogeni
- Il colpo di calore comune è di lieve gravità e si verifica in locali chiusi e poco ventilati, con elevata umidità

## Azione delle basse temperature

- Il congelamento interessa solitamente le estremità, poichè meno riparate
  - Nella zona colpita si ha inizialmente vasocostrizione, cui segue arrossamento per vasoparalisi
  - Si osserva una colorazione cianotica dovuta a difetto di ossigenazione dei tessuti, che poi progredisce in flittene e necrosi a seconda della gravità
- L'assideramento è la patologia causata dall'azione sistemica delle basse temperature
  - In questo quadro i meccanismi di termogenesi e termodispersione sono insufficienti al mantenimento dell'omeostasi
  - Si ha un'ipotermia che porta ad arresto di tutte le funzioni metaboliche e del sistema cardiocircolatorio
  - La morte interviene quando la temperatura corporea scende sotto ai 25°C
  - I sintomi sono inizialmente di intenso freddo, cui segue sonnolenza ed apatia
  - Il riscaldamento dell'assiderato deve essere lento per prevenire la vasodilatazione generalizzata
- Nel congelare colture cellulari è importante compiere il processo con una tempistica appropriata
  - Un congelamento troppo rapido causa danno meccanico dovuto alla formazione di grandi cristalli
  - Un congelamento troppo lento causa la formazione di un fluido iperosmotico che lisa le cellule richiamando acqua

## Patologie da radiazioni

- Le radiazioni possono essere di natura elettromagnetica o corpuscolate
- Si definiscono eccitanti le radiazioni con energia inferiore a 10eV, e ionizzanti quelle con energia superiore
  - 10eV è la quantità tipica di energia necessaria ad allontanare un elettrone dall'orbitale esterno di un atomo
- La maggior parte delle radiazioni a cui siamo esposti è di origine naturale
  - La fonte principale è il Radon (55%)

## Radiazioni eccitanti

- Le radiazioni infrarosse manifestano principalmente un effetto termico
- La radiazione visibile è poco penetrante, ma può diventare patogena in presenza di fluorofori che la assorbono e la trasferiscono alle cellule
  - Questo fenomeno è detto effetto fotodinamico
  - Composti responsabili sono sia endogeni (porfirine) che esogeni (chinino, essenza di bergamotto)



- Le radiazioni ultraviolette sono più penetranti e preferenzialmente assorbite da proteine ed acidi nucleici
  - Inducono la formazione di dimeri di pirimidina, che se in quantità esagerata possono sopraffare i meccanismi riparativi
  - Le radiazioni UVB sono le più dannose e causano aging precoce
  - Le radiazioni UV con  $\lambda > 320\text{nm}$  non sono praticamente assorbite dai tessuti
  - Categorie professionali particolarmente esposte al sole sono soggette a melanomi ed epitelomi nelle zone esposte
    - \* Esistono anche melanomi non correlati all'esposizione al sole (es. colon, bocca)
  - I portatori di difetti nei sistemi riparativi (*Xeroderma Pigmentosum*, *sindrome di Bloom*) sono particolarmente soggetti a danni di questo tipo
  - L'esposizione di breve durata causa una leggera infiammazione della congiuntiva e di altre mucose
  - L'esposizione protratta causa ipercheratosi e deposizione di melanina
  - La melanina viene concentrata al di sopra del nucleo, e protegge lo strato basale dell'epidermide dove sono presenti le cellule in divisione
  - Al termine dell'esposizione il ritorno al livello basale di melanina è dovuto all'esfoliazione dei cheratinociti
  - Il vetro blocca gli UV, e pertanto non è possibile prendere il sole da dietro ad una finestra
  - Gli organismi unicellulari sono particolarmente sensibili alla radiazione UV

### Radiazioni ionizzanti

- Un atomo sottoposto a radiazione ionizzante può espellere un elettrone divenendo uno ione carico positivamente
- Se l'energia fornita è sufficiente l'elettrone espulso può a sua volta eccitare altri elettroni dello stesso atomo o di altri atomi, causando ionizzazioni secondarie
- Per ragioni quantitative la maggior parte delle radiazioni ionizzanti negli organismi è assorbita dall'acqua
  - Questo porta alla formazione di radicali per lo più ossidanti come  $\text{OH}^\bullet$ , in un processo detto di radiolisi
- L'azione delle radiazioni ionizzanti è dovuta sia all'effetto diretto sui costituenti cellulari che ai processi di ossidoriduzione dovuti alla ionizzazione dell'acqua
- L'entità dell'azione diretta a parità di dose di radiazione dipende dalle dimensioni della molecola interessata, per ragioni probabilistiche
- L'azione indiretta funzionalmente più rilevante è quella a carico di acidi nucleici, proteine e lipidi
  - L'ossidazione delle membrane turba la permeabilità delle stesse
- I danni indiretti possono essere limitati da sostanze riducenti come glutathione, vitamina E e cisteina
- La sensibilità alle radiazioni ionizzanti è particolarmente spiccata in cellule che si dividono attivamente
- L'assorbimento di dosi massicce (600 rad) causa morte immediata per rapido crollo pressorio ed insufficienza cardiaca, dovute a massiccio rilascio di molecole vasoattive
- Con dosi inferiori gli effetti acuti sono a carico delle mucose, con stomatiti e diarrea
- Dopo circa 2 settimane dall'esposizione si rendono manifesti i danni a carico delle cellule ematopoietiche, con leucopenia, anemia e piastrinopenia
  - Questo solitamente porta a morte per infezioni opportunistiche
- L'esposizione cronica predispone allo sviluppo di neoplasie, soprattutto epiteliali e leucemie
- Un altro organo molto sensibile sono le gonadi, dove si riduce la gametogenesi
- Le fasi del ciclo cellulare in cui si ha la massima sensibilità alle radiazioni sono la mitosi e la fase S
  - In fase S è presente ssDNA ed in mitosi la condensazione della cromatina rende più facile danneggiare il DNA
  - In mitosi una singola radiazione può creare moltissimi DSBs colpendo un cromosoma condensato (!)
  - Questa differente sensibilità delle cellule è sfruttata in radioterapia per colpire selettivamente cellule tumorali in attiva divisione

## Agenti protettivi nei confronti delle radiazioni

- Le cellule impiegano agenti riducenti come la cisteina ed il GSH per contrastare i danni ossidativi dovuti alla radiolisi dell'acqua
- Sono utilizzati anche antiossidanti, che di solito sono di origine vegetale
  - Le piante hanno molti antiossidanti perchè sono sempre esposte al sole e quindi suscettibili a danni da radiazioni
  - La vitamina E, presente nell'olio EVO, è un antiossidante che partecipa alla rigenerazione del GSH ossidato

## Corrente elettrica

- Il corpo umano si comporta da buon conduttore elettrico
- L'indice di pericolosità non dipende solo dalla tensione ma anche dalla resistenza incontrata nell'organismo
- Offrono molta resistenza al passaggio di corrente l'epidermide e le membrane cellulari, mentre sono buoni conduttori i muscoli ed i vasi sanguigni, per l'elevato contenuto di acqua
- La pericolosità di una folgorazione è strettamente correlata all'intensità di corrente che attraversa l'organismo
- Si può avere folgorazione quando il corpo chiude un circuito elettrico, quando funge da via di scarico a terra o quando trovandosi in prossimità di un conduttore viene investito da una scintilla
- L'effetto lesivo è di tipo termico, elettrochimico e biologico
- L'effetto Joule dipende da intensità, tempo di contatto e resistenza del mezzo
  - La pelle è solitamente l'organo più suscettibile a danno termico, per la sua elevata resistenza
- A livello elettrochimico si ha accumulo di cationi in prossimità del catodo ed anioni all'anodo
  - Al catodo si accumulano  $K^+$  e  $Na^+$ , che formano idrossidi causando necrosi umida
  - All'anodo si accumulano  $Cl^-$  e  $SO_4^{--}$ , che formano i rispettivi acidi causando necrosi secca
- Gli effetti biologici consistono in tetania e fibrillazione ventricolare
- La corrente alternata è sempre più pericolosa di quella continua, ma la corrente ad alta frequenza è meno pericolosa di quella a bassa frequenza
- La morte è solitamente dovuta a fibrillazione ventricolare o a spasmo laringeo

## Baropatie

- Piccole variazioni graduali di pressione sono ben tollerate dall'organismo
- A pressioni elevate aumenta la solubilità dei gas respirati nel sangue, soprattutto azoto. Se si risale a pressioni inferiori in modo troppo rapido si ha un crollo di solubilità che causa la formazione di emboli gassosi
  - A livello arterioso questi si accumulano nei capillari, occludendoli e causando ischemia tissutale
  - A livello venoso le bolle gassose si raccolgono a livello del ventricolo destro, rendendo poco efficace l'azione cardiaca
  - La terapia consiste nell'utilizzo di una camera iperbarica
- A pressioni ridotte diminuisce la pressione parziale di ossigeno, causando ipossia
  - Come meccanismo omeostatico si osserva iperpnea, tachicardia
  - A lungo termine si ha stimolazione dell'eritropoiesi
- La presenza di forza gravitazionale è essenziale al mantenimento della massa ossea e muscolare

## Danno diffuso da agenti chimici

- Per danno diffuso si intende quello non selettivo, dipendente ad esempio dal pH del composto o dalle sue proprietà denaturanti nei confronti delle proteine
- Oscillazioni limitate di pH vengono fronteggiate efficacemente dai sistemi tampone cellulari
- La diluizione di acidi forti nei fluidi biologici causa aumento di temperatura che può anche portare ad ustioni di III grado
  - Si osserva disidratazione dei tessuti, con formazione di escare secche

- Le basi forti hanno un simile effetto termico ma producono escare molli in virtù del loro potere idrolitico
- I solventi causano lisi cellulare per disorganizzazione delle membrane, ma il loro effetto sulla cute è limitato dalla presenza della cheratina, insolubile in questi
  - Si possono avere effetti patologici in conseguenza dell'ingestione di grandi quantità di solventi
- Le soluzioni non isotoniche causano danni da rigonfiamento delle membrane o per perdita di acqua

## **Danno da veleni e tossici**

- Il danno è di tipo selettivo e dipende strettamente dalla dose
- I primi meccanismi di difesa dall'ingestione di un prodotto tossico sono il vomito e la diarrea

## **Micotossine**

- Le aflatossine sono prodotte da *Aspergillus flavus* e si ritrovano nei cereali e prodotti caseari
  - Raggiunge il latte tramite l'alimentazione dell'animale

## **Piombo**

- Molti cosmetici sono ricchi di piombo
- Le ceramiche sono ricche di piombo
- Una volta la benzina era ricca di piombo
- L'intossicazione cronica causa deficit intellettivo e motorio

## **Alluminio**

- E' presente nei deodoranti a lunga permanenza
- Questi deodoranti legano fortemente l'epidermide e durano circa 15 gg, ossia il tempo di rigenerazione della stessa

## **Mercurio**

- Inibisce il rilascio di neurotrasmettitori e la polimerizzazione dei microtubuli
- E' particolarmente presente nel tonno e altri pesci predatori

## **Cromo esavalente**

- Causa reazioni di ipersensibilità cutanea

## **Interferenti endocrini**

- Sono spesso derivati dalle plastiche come il bisphenol A e l'acido ftalico
- Possono causare sterilità e teratogenesi
  - La fertilità maschile è calata del 70% negli ultimi decenni, probabilmente in parte a causa dell'utilizzo di plastiche
- I parabeni erano usati in molti saponi e fungono da interferenti endocrini
- Gli estrogeni sono usati di proposito negli allevamenti perchè danno ritenzione idrica e quindi aumento di peso delle carcasse
- Queste molecole interferiscono con l'apparato riproduttivo e con la tiroide

## **Altre sostanze chimiche**

- Il cloruro di vinile è presente nel PVC, che una volta era usato come pellicola alimentare
- L'acrilammide è una molecola neurotossica

## Farmaci

- Un farmaco può essere utilizzato se il rapporto rischio beneficio è favorevole
- Non esiste un farmaco privo di effetti collaterali (Es. il paracetamolo è epatotossico mentre l'ibuprofene ha un effetto antiaggregante)
- Non esiste un farmaco che sia raccomandato nel sano
- Gli eccessi di fitoterapici sono tossici, così come quelli di qualsiasi farmaco

## Etanolo

- In Italia vi sono 30000 morti all'anno per cause dirette ed indirette
- Le bevande fermentate possono arrivare al 15% in etanolo, i distillati anche al 40%
- L'assorbimento dipende da quantità, velocità, concentrazione e contenuto gastrico
- L'etanolo può anche essere assorbito per inalazione
- L'alcool deidrogenasi è espressa maggiormente nell'uomo che nella donna, e pertanto i livelli di tolleranza sono diversi
- L'acetaldeide prodotta dal metabolismo dell'etanolo colpisce il citoscheletro dei cardiomiociti, portando a fibrosi cardiaca

## Tabagismo

- A seguito di tabagismo si hanno importanti alterazioni dell'espressione genica e un importante effetto mutagenico
- Il cancro causato dal fumo spesso presenta una tipica mutazione di K-ras
- L'azione mutagena è principalmente causata dal benzopirene
- Nei fumatori si ha alta incidenza anche di cancro al pancreas
  - La sopravvivenza media è di 1 anno dalla diagnosi (!)
- Il peso alla nascita da madre fumatrice è inferiore alla norma per l'effetto vasocostrittore della nicotina che diminuisce la nutrizione del feto

## Stimolanti e narcotici

- Causano azione stimolante del CNS, aggressività, insonnia, senso di benessere, perdita del senso critico
- L'epigenetica dei geni coinvolti nella sintesi dei neurotrasmettitori e dei loro recettori influenza lo sviluppo di dipendenza da stimolanti
- Le amfetamine sono inibitori della ricaptazione di dopamina e noradrenalina
  - Hanno un effetto inibente sui trasportatori di questi neurotrasmettitori e sulle monoammino ossidasi (MAO), enzimi deputati alla loro degradazione
  - Dato il suo effetto anoressizzante viene usata in piccole concentrazioni nelle diete dimagranti
- La cocaina inibisce il reuptake di dopamina, serotonina e norepinefrina
  - A dosi elevate produce pericolosi aumenti pressori ed ipertermia
  - La cocaina al momento è pericolosamente diffusa
  - Causa un elevato rischio di dipendenza anche dopo pochi utilizzi
  - E' alla base dell'aumentata frequenza di infarto sotto ai 40 anni
  - Causa vasocostrizione, portando a necrosi tissutale
    - \* E' frequente la distruzione dei tessuti nasali negli utilizzatori
    - \* Viene impiegata a scopo terapeutico nella chirurgia nasale come vasocostrittore
  - L'acqua del Tevere nell'ansa degli Ornari presenta livelli di metaboliti della cocaina molto elevati
  - Spesso chi ne fa uso presenta granulomi da talco, derivati dalle sostanze usate nel taglio della cocaina, derivati dalle sostanze usate nel taglio della cocaina
- L'eroina è un oppioide che aumenta la tolleranza al dolore e dà fortissima assuefazione
  - Inibisce il signaling dei pathway nocicettori iperpolarizzando i relativi neuroni
  - Inibisce il signaling dei neuroni inibitori GABAergici, aumentando di conseguenza la produzione di dopamina
  - E' utilizzata a scopo medico come forte antidolorifico sotto il nome di diamorfina

- I cannabinoidi agiscono sui recettori omonimi a livello del CNS alterando il rilascio di neurotrasmettitori
  - Possono essere efficaci nel trattamento del dolore cronico e nella prevenzione della nausea da chemioterapia
  - Possono contribuire a curare spasmi muscolari dovuti da problemi neurologici
  - Sembrano incrementare il rischio di incidenti stradali
  - Possono essere pericolosi in concomitanza ad alterazioni cardiocircolatorie
  - Sembra che a lungo termine possano diminuire il QI

## Patologie da errata alimentazione

- L'inadeguatezza alimentare deve essere valutata sia sul piano qualitativo che quantitativo
- Se l'apporto calorico supera il fabbisogno alimentare si ha l'accumulo di grasso adiposo
  - Si osserva sia iperplasia che ipertrofia degli adipociti
- L'obesità sovraccarica il sistema cardiocircolatorio e predispone al diabete di tipo II e all'arteriosclerosi
- Un fenomeno di iperalimentazione può anche essere causato da un problema psicologico, detto bulimia nervosa
- In caso di ipoalimentazione si ha dimagrimento, con riduzione del grasso adiposo e ipoplasia ed ipotrofia dei parenchimi di vari organi
  - L'organismo oltre al tessuto adiposo utilizza glicogeno e proteine endogene come fonte di energia in tali condizioni
- Se l'ipoalimentazione evolve in denutrizione si riduce la capacità di difesa dell'organismo verso gli agenti infettivi e si osservano edemi causati da ipoproteinemia
  - A causa dell'ipoproteinemia si ha un abbassamento della pressione colloidale-osmotica del plasma, che si accumula a livello dell'interstizio
  - Un grado estremo di denutrizione è definito **marasma** ++ L'iponutrizione può dipendere dal mancato accesso a cibo adeguato oppure essere di origine psicologica, in tal caso detta anoressia nervosa
- Un tempo vi erano carenze alimentari dovute al mancato accesso ad alcuni alimenti mentre oggi si hanno nuove carenze dovute a mode alimentari poco salutari
  - Sono frequenti atassie cerebrali nei bambini di famiglie con diete particolari
- Una misura grossolana dello stato nutrizionale dell'organismo è il BMI, che però non distingue la massa grassa da quella muscolare
- Una dieta si considera squilibrata se carente di un macrocostituente (lipidi, proteine, carboidrati) oppure di un microelemento essenziale
- La malnutrizione proteica è frequente in paesi sottosviluppati
  - I sintomi comprendono carenze di crescita ed edemi diffusi
- Alcuni aminoacidi non possono essere sintetizzati dall'organismo umano e pertanto sono definiti essenziali
  - Sono essenziali C, F, I, H, L, K, M, Y, T, W, V
- La mancanza di acqua non è compatibile con la vita
  - Il fabbisogno idrico giornaliero è di circa 2L, mentre l'acqua metabolica è quantitativamente irrilevante
  - La morte interviene quando si è perso circa il 10% del contenuto d'acqua corporea
- L'eccessiva ingestione di acqua causa intossicazione, e si può osservare in caso di diabete insipido o in soggetti affetti da un disturbo psichico, la potomania
  - Causa ipervolemia con conseguente insufficienza cardiocircolatoria
- Gli squilibri di elettroliti sono frequenti e danno una sintomatologia complessa, dipendente dal tipo di elettrolita interessato
- Le vitamine sono sostanze essenziali non per il loro apporto calorico ma perché fungono da costituenti indispensabili di alcuni componenti strutturali o hanno un ruolo catalitico
  - Sono stoccate in tutte le cellule ma prevalentemente negli epatociti
  - Le manifestazioni patologiche sono spesso ritardate dalle abbondanti scorte presenti, eccetto per alcune vitamine del gruppo B
- Le ipervitaminosi interessano solo le vitamine liposolubili, poiché quelle idrosolubili sono facilmente eliminate con le urine

- L'acido ortofosforico della Coca Cola precipita il  $Ca^{++}$  nelle cripte gastriche, impedendone l'assorbimento

## Patologia cellulare

### Accrescimento cellulare patologico non neoplastico

- Il peso e le dimensioni di organi sono mantenuti costanti da meccanismi omeostatici
- In risposta a situazioni peculiari diversi organi possono variare le proprie dimensioni
- L'accrescimento di un organo o tessuto è detto ipertrofia
  - Se è dovuto ad aumento delle dimensioni cellulari si parla di vera ipertrofia
    - \* E' tipico di cellule terminalmente differenziate
  - Se è dovuto ad aumento del numero di cellule si parla di iperplasia
    - \* E' tipico di cellule capaci di dividersi
  - La pseudoipertrofia è dovuto all'accumulo di liquidi o altre sostanze
- La diminuzione delle dimensioni di un organo è parallelamente definita ipotrofia ed ipoplasia
  - Atrofia e aplasia sono termini in disuso
- L'agenesia è il mancato sviluppo di un organo in ontogenesi
- Tutti questi fenomeni sono distrettuali (non coinvolgono l'intero organismo) e reversibili (ritornano alla normalità dopo la scomparsa dello stimolo che li ha innescati)
- Le principali cause dell'ingrandimento ipertrofico o iperplastico sono
  - Aumento della richiesta funzionale
    - \* Ipertrofia della muscolatura scheletrica e cardiaca
    - \* Ipertrofia della muscolatura liscia a monte di una stenosi (restringimento di un canale che ostacola il passaggio del contenuto)
    - \* Ipertrofia renale a seguito di nefrectomia monolaterale
  - Aumento della stimolazione ormonale (fisiologico o meno)
    - \* Ipertrofia dell'utero in gravidanza e della mammella nella donna in pubertà
    - \* Ipertrofia delle ghiandole endocrine a seguito di iperstimolazione da parte dell'adenoipofisi
  - Iperalimentazione, che induce iperplasia degli adipociti
- La diminuzione ipotrofica o ipoplastica sono dovute a diminuita richiesta funzionale e diminuita stimolazione ormonale
- il limite superiore dell'ipertrofia è dato dall'angiogenesi
- L'ipertrofia può non garantire una risposta efficace all'aumento di richiesta funzionale
  - Il cuore ipertrofico è intrinsecamente più debole perchè l'ipertrofia non è accompagnata ad angiogenesi e quindi l'irrorazione ematica viene compromessa
- L'ipertrofia rigenerativa avviene nel processo di guarigione delle ferite e nelle situazioni di perdita di massa cellulare
  - Il fegato si rigenera in circa 20 giorni, tornando precisamente alla massa iniziale
  - Nel rimarginare una ferita la replicazione cellulare si arresta quando i 2 lembi si incontrano
- L'innescò dell'ipertrofia è mediato dal rilascio di fattori di crescita codificati da protooncogeni
  - Alcuni di questi sono mitogeni come HGF (epatociti), EGF (epidermide), FGF (fibroblasti), TGF-alfa
  - Altri sono rilasciati dopo l'ipertrofia e la bloccano, come il TGF-beta
- Gli ormoni modulano direttamente l'espressione genica innescando l'ipertrofia
- Non si possono fare più di 2 tagli cesarei poiché la cicatrice si potrebbe strappare, in quanto il tessuto cicatriziale non fa iperplasia come il resto dell'utero in gravidanza
  - Questo porta a morte della donna

### Differenziamento cellulare

- E' dovuto all'espressione di alcuni geni ed alla repressione di altri
- La metaplasia è il cambio di differenziamento dovuto alla de-repressione di geni di lineage in tipi cellulari differenziati
  - Un esempio è la cheratinizzazione della mucosa linguale

- La metaplasia ossea consiste nella formazione di tessuto osseo a partire da connettivo fibroso in risposta ad uno stimolo flogistico prolungato
- L'anaplasia è un processo metaplastico in cui la cellula torna ad uno stato meno differenziato
  - E' reversibile ma spesso associata a trasformazione neoplastica, che è irreversibile

## Processi degenerativi cellulari

- Le degenerazioni sono reversibili ma se persistono possono culminare nella necrosi
- Non implicano necessariamente morte tissutale
- Sono una deviazione metabolica tissutale accompagnata da accumulo di sostanze non normalmente presenti in tali quantità nel tessuto
- Distinguiamo degenerazioni epitaliali e connettivali
- Ai fini dell'esame consideriamo solo la degenerazione grassa (steatosi) e amiloide
- Le cellule possono subire danni lievi, subletali o letali
- Alcune modificazioni biochimiche sono tipiche delle cellule danneggiate
  - Ingresso di  $Na^+$  e fuoriuscita di  $K^+$ 
    - \* Il  $Na^+$  è più grande del  $K^+$  e porta con sé più acqua, e quindi questo causa rigonfiamento
  - Aumenta la glicolisi anaerobia con accumulo di piruvato e lattato in caso di ipossia
    - \* L'efficienza del sistema anaerobio è 1/16 di quello aerobico
    - \* Diminuisce il pH intracellulare
  - Si innescano meccanismi di autofagia
  - Aumenta il  $Ca^{++}$  e si attivano le proteasi  $Ca^{++}$  dipendenti
    - \* Questo è il punto di non ritorno, da qui in poi si va in necrosi

## Steatosi

- E' causata dall'accumulo di lipidi (di solito trigliceridi) nel citoplasma di cellule che normalmente non li presentano
- Si verifica quando si ha una discrepanza tra assunzione cellulare di lipidi e possibilità di smaltimento degli stessi
- Può essere dovuta da alcool o iperalimentazione, o altre cause
- I lipidi possono essere di origine endogena o esogena
- Organi frequentemente colpiti sono il rene, il miocardio e soprattutto il fegato
- Lo studio della steatosi viene fatto col microtomo congelatore per evitare di utilizzare solventi che scioglierebbero i lipidi, e colorando col Sudan
- Il fegato è l'organo più frequentemente colpito ed è anche l'organo dove arrivano i cataboliti di trigliceridi rilasciati dagli adipociti e i lipidi assorbiti nell'intestino
  - Sintetizza acidi grassi dai carboidrati lui stesso e li esterifica in trigliceridi, che poi invia ad alti distretti come LDL
- Le lipoproteine contengono proteine, fosfolipidi, colesterolo, esteri del colesterolo e trigliceridi
  - La sintesi delle lipoproteine necessita dell'apporto alimentare di metionina come donatore di metile, che è usato per la sintesi di colina
  - La colina è essenziale per la sintesi dei fosfolipidi, che nelle lipoproteine si interpongono tra proteine e trigliceridi
  - Metionina e colina sono per questo definiti fattori lipotropi, e la loro carenza riduce lo smaltimento di trigliceridi da parte degli epatociti
- Composti tossici come etanolo, tetracloruro di carbonio e vari veleni interferiscono con la sintesi proteica impedendo la produzione di lipoproteine e quindi causando steatosi
- La steatosi intestinale è dovuta ad una mutazione che impedisce la formazione dei chilomicroni
- Cause della steatosi alcolica
  - Sono tutte riconducibili all'aumento di NADH, AcCOA e acetaldeide
  - L'acetaldeide danneggia il citoscheletro, riduce la sintesi proteica ed aumenta la produzione di ROS
  - Aumento della biosintesi degli acidi grassi

- Inibisce la loro ossidazione
- Inibisce la sintesi proteica
- Causa perossidazione dei lipidi di membrana
- Interferisce con le proteine del citoscheletro
- Riduce l'appetito e quindi l'assunzione di proteine
- Aumenta il fabbisogno di colina in quanto favorisce le metilazioni
- Principali cause di steatosi non alcolica
  - Da aumentata assunzione di lipidi o mobilitazione dei depositi, dovuta ad iperalimentazione o diabete mellito di tipo I
  - Da aumentata biosintesi di acidi grassi, dovuta da etanolo o da carenza di acidi grassi poliinsaturi
    - \* Il fegato non può sintetizzare acidi grassi insaturi ma aumenta la sintesi di acidi grassi in risposta alla loro carenza
  - Deficiente assunzione di proteine, che altera la sintesi di apolipoproteine
  - Carenza di metionina o colina
  - Da deficienze proteosintetiche dovute ad assunzione di amanitina, o aflatoxine
    - \* L'amanitina è un inibitore della RNA polimerasi
  - Da perossidazione lipidica dovuta da tetracloruro di carbonio
    - \* Il meccanismo è molto complesso
  - Da blocco della secrezione dovuto da colchicina, falloidina, vinblastina
    - \* Bloccano la formazione dei microtubuli
- La steatosi epatica macrovescicolare consiste in un grande vacuolo che disloca il nucleo in periferia
  - Può avvenire dopo un episodio acuto di eccesso di lipidi, ma di solito può regredire
- La steatosi epatica microvescicolare è caratterizzata da tanti piccoli vacuoli
  - Avviene per accumulo cronico, con regressione parziale delle macrovescicole che man mano si formano nei vari episodi ma non scompaiono completamente
- Il colesterolo è per lo più di origine endogena
  - Il 30% è alimentare, il resto viene prodotto dal fegato
  - Non vi è un livello particolare che è pericoloso, piuttosto bisognerebbe controllare i livelli di trigliceridi e fare un'eco-doppler carotideo
- La steatosi evolve in steatoepatite e poi in cirrosi
  - La cirrosi è irreversibile e può essere causata anche da iperalimentazione ed epatite C
- E' possibile togliere l'80% del fegato di un topo
  - Ho tanta riserva funzionale, e quindi per osservare un danno funzionale necessito di averne compromesso gran parte
- La risposta ad acidi grassi è mediata dai recettori PPAR e dalle sirtuine
  - I PPARs sono recettori nucleari che rispondono a FFAs
  - Le sirtuine sono deacetilasi che operano su istoni ed altre proteine
    - \* Sono sensibili ai livelli di NADH e AcCoA
- I prodotti tossici come idrocarburi aromatici sono rilevati da AHR, che upregola l'espressione dei CYPs
- Osservo iperinsulinemia (non so perché sta qua, lo lascio in caso mi ricordi)

### **Amiloidosi o beta-fibrillosi**

- E' categorizzata come una degenerazione del connettivo, ossia come modifica della composizione della ECM
- La sostanza amiloide è il materiale di accumulo extracellulare di questa degenerazione
  - E' detta amiloide perché si colora di rosso con lo iodio, come l'amido
  - E' di natura proteica
  - Ha proprietà di colorazione peculiari
    - \* Si colora di rosso anziché di blu-viola con il blu di toluidina
    - \* E' l'unico costituente biologico che si colora con rosso Congo
    - \* Sotto luce polarizzata è birifrangente, cosa tipica delle strutture fibrillari
  - E' costituita da 3 componenti
    - \* Fibrille proteiche in forma beta, la maggior componente



- \* Globuline ematiche, dette componente P, che sono legate alle fibrille
  - \* Proteoglicani
- E' molto poco solubile e crea gravi danni da compressione nei tessuti in cui si deposita
- Le fibrille possono avere varia origine
  - Derivano da proteine ematiche fisiologicamente presenti nel plasma ma che in alcuni casi aumentano marcatamente in condizioni patologiche che possono culminare in amiloidosi
  - Queste proteine sono idrolizzate in frammenti che polimerizzano depositandosi extracellularmente
- La classificazione è molto complessa e la provenienza delle fibrille può essere varia
  - Può essere in forma sistemica con localizzazione preferenziale in fegato, rene, milza, miocardio, esofago, lingua
  - Può essere in forma localizzata nel CNS
  - Le fibrille AA derivano da SAP, una proteina di fase acuta epatica
  - Le fibrille AL derivano dalle catene leggere lambda delle immunoglobuline
  - Le fibrille ATTR derivano dalla transtiretina, o prealbumina
  - Le fibrille AH compaiono in pazienti sottoposti ad emodialisi e derivano dalla beta-2 microglobulina
    - \* E' una proteina che normalmente viene filtrata e riassorbita nel rene ma non è filtrata negli apparati di dialisi
  - Le fibrille Prp sono di origine prionica e sono resistenti alle proteasi
  - Le fibrille AC si pensa derivino dalla calcitonina
  - Le fibrille AB derivano da APP, una proteina plasmatica
- Non è ben chiaro perchè le fibrille si depositino in sedi specifiche
- La sola sintesi in eccesso dei precursori non sembra sufficiente a causare l'amiloidosi
- La malattia di Creutzfeld-Jacob è dovuta ad un'amiloidosi causata da Prp mal ripiegata, che catalizza la conversione di forma di altra Prp
  - Topi Prp ko sono immuni alla malattia

### **Altri processi degenerativi (da non fare nel dettaglio)**

- Ipossia e molti composti tossici e agenti infettivi causano prima rigonfiamento torbido, che poi procede verso degenerazione vacuolare e poi degenerazione a gocce ialine
  - Cellule soggette a rigonfiamento torbido hanno citoplasma granulare e rigonfio
    - \* I mitocondri si rigonfiano e fanno sembrare la cellula torbida
    - \* L'alterazione mitocondriale causa deficit energetico e quindi crollo dei gradienti ionici
  - Nella degenerazione vacuolare si formano vacuoli contenenti acqua e proteine
  - Nella jalinosi (tipica dei tubuli renali) si ha riassorbimento di proteine che raggiungono il citosol per pinocitosi
- Le tesaurismosi (malattie da accumulo) sono una condizione ereditaria dovuta a difetti di enzimi lisosomiali
  - La sfingolipidosi causa accumulo di sfingolipidi specialmente in CNS e macrofagi
  - La gangliosidosi causano accumulo di gangliosidi particolarmente nel CNS
  - La mucopolisaccaridosi causa accumulo di mucopolisaccaridi, particolarmente in ossa, cartilagine ed umor vitreo
  - La glicogenosi causa accumulo di glicogeno e ipoglicemia
- Le alterazioni del connettivo coinvolgono accumulo nella sostanza fondamentale, extracellularmente
  - La degenerazione fibrinoide è associata a flogosi e malattie autoimmuni
  - La degenerazione mucosa è causata da accumulo di GAG (acido ialuronico), è responsabile dell'esoftalmo ipertiroidico
  - La degenerazione ialina è dovuta alla deposizione di materiale amorfo
    - \* Avviene spesso nelle vecchie cicatrici e nello stroma di tumori

### **Necrosi**

- La necrosi è la morte accidentale di gruppi più o meno numerosi di cellule appartenenti allo stesso tessuto o organo in conseguenza di insulti lesivi

- E' costantemente seguita da infiammazione acuta poiché i detriti cellulari sono fortemente flogogeni e richiamano fagociti
- Le cause principali sono ipossia, carenze nutritive, denaturazione delle proteine, distruzione meccanica, termica o chimica
- Sembra culminare in effetti dovuti a denaturazione proteica (necrosi coagulativa) oppure ad autolisi dovuta al rilascio di enzimi lisosomiali (necrosi colliquativa)
- Molti agenti chimici causano necrosi turbando l'omeostasi del  $Ca^{++}$ , aumentandone la concentrazione intracellulare
- Le cellule necrotiche sono prima rigonfie e poi lisate
- Dopo la morte cellulare si osserva picnosi (riduzione del volume del nucleo), carioressi (frammentazione nucleare) e cariolisi (dissoluzione del nucleo)
- Si osserva condensazione della cromatina, blocco della sintesi di ATP
- E' reversibile fino al punto di non ritorno, costituito dal rilascio del contenuto lisosomiale
- L'ischemia causa blocco della fosforilazione ossidativa, che blocca quindi la produzione di ATP
  - Senza ATP si blocca la Na/K ATPase e crolla il gradiente  $Na$ , che spinge a sua volta il gradiente  $Ca^{++}$
  - Aumenta il  $Ca^{++}$  intracellulare
  - Per assenza di ossigeno si fa glicolisi anaerobica ma questo abbassa il pH intracellulare per produzione di piruvato e lattato
  - Si blocca la sintesi proteica per carenza di ATP
  - Ho DNA damage dovuto a blocco di tutti i meccanismi di sintesi per carenza energetica
- L'infarto è più grave nel giovane poiché le cellule non sono adattate ad uno stato cronico di ipossia
  - Nell'anziano il lume delle arterie è già ridotto e questo mette in campo meccanismi di adattamento cellulari all'ipossia tramite il fattore di crescita IGF
  - IGF induce l'espressione di fattori angiogenici come VEGF
  - Si formano vie di irrorazione ridondanti che rendono meno grave l'infarto
- La necrosi gangrenosa dovuta dai clostridi è del tipo umido ed ha una prognosi peggiore di quella secca
- Un ascesso è una raccolta di essudato purulento all'interno di tessuti
  - E' solitamente causato da stafilococchi
- Un ulcera è una ferita a difficoltà cicatrizzazione, è spesso infetta con batteri che sottraggono nutrimento impedendo la ricostituzione del tessuto
- Il fegato che ricresce fa ricostituzione, non rigenerazione perché la struttura macroscopica che si rigenera è diversa da quella originale
- La coda della lucertola che ricresce è invece una vera rigenerazione

## Autofagia

- L'autofagia permette di rimuovere i componenti cellulari danneggiati
- Si attiva particolarmente in periodi di digiuno
- Sembra un meccanismo simile all'endosporia batterica, la cellula si isola dall'esterno e usa le proprie risorse
- In alcuni approcci chemioterapici si usano inibitori dell'autofagia per forzare la cellula tumorale a interfacciarsi con l'esterno
- Si distingue macroautofagia, microautofagia e autofagia mediata da chaperons
- Normalmente mTOR e AMPK fosforilano ULK1 ed ULK2, inibendo l'autofagia
- L'inibizione di mTOR ed AMPK attiva le ULKs, che formano un complesso con altre proteine Atg che innesca la formazione dell'autofagosoma

## Degenerazione amiloidea

- L'accumulo è extracellulare e impedisce gli scambi di sostanze con la cellula
- E' correlata ad Alzheimer
- E' caratterizzato da materiale fibrillare in conformazione beta, che data la conformazione non può essere degradato

- Le proteine misfolded sono legate da BiP che attiva le allarmine e geni di adattamento
- Può essere sistemica, spesso dovuta all'accumulo di immunoglobuline
  - In caso di infiammazioni croniche e mieloma
- Può essere localizzata ad esempio nel cervello (Alzheimer)
  - Può essere dovuto a varie proteine

## Apoptosi

- Nell'apoptosi si ha disgregazione in corpi apoptotici che sono poi catturati da leucociti
- Il nucleo si frammenta e la cromatina si condensa
- L'apoptosi è altamente regolata ed una volta innescata è irreversibile
- Non è una morte cellulare infiammatoria, anche se sembra che il leucocita comunque riceva segnali quando fagocita i corpi apoptici
- Definirla programmata è un po' impreciso, può essere tale ma anche no, ad esempio può essere indotta a seguito di un danno
- Avviene per definire la struttura di organi in ontogenesi, e nei linfociti anti-self nel timo
- Può avvenire per deprivazione di fattori di crescita ed anche in patologie neurodegenerative
- Valutare apoptosi
  - Tecnica Tunnel
  - Ladder in elettroforesi
  - Caspasi 3 clivata
    - \* E' la caspasi esecutrice che taglia il DNA
- La via intrinseca origina da sensing di stress cellulare, mentre quella estrinseca da signaling da parte di altre cellule
  - Entrambe convergono sulla caspasi 3
  - Si ha l'attivazione di caspasi iniziatrici, che attivano a loro volta caspasi esecutrici (3, 6, 7)
- La via estrinseca è innescata da un recettore contenente death domains
  - Recettori con death domains son TNFR e FAS
  - Il signaling porta alla formazione del complesso DISC
  - FAS recluta FADD che attiva la caspasi 8, la quale attiva BID che va nel mitocondrio
    - \* Si attiva anche la caspasi 10, che cliva la 3
  - TNFR recluta TRADD che attiva le caspasi 1 e 4, che attivano la 3
- La via intrinseca è innescata dal rilascio di citocromo C dal mitocondrio per perforazione della membrana mitocondriale esterna
  - Bax, Bak e Puma promuovono la perforazione mentre Bcl-2 e Bcl-xl la inibiscono
  - Il citocromo C nel citosol lega APAF1 ed ATP, formando l'apoptosoma
  - Questo complesso attiva la pro-caspasi 9
  - La caspasi 9 cliva la procaspasi 3, attivandola
  - Dal mitocondrio viene rilasciata anche SMAC, che inibisce IAP nel citosol
    - \* IAP normalmente sopprime le caspasi
- L'aumento dei livelli di  $Ca^{++}$  intracellulare innesca apoptosi intrinseca
- Radiazioni, tossine, e ROS causano danno al DNA, che attiva p53
  - p53 può attivare direttamente la caspasi 3 e può indurre il rilascio di citocromo C dai mitocondri
  - Trascrive Bax, Bak e Puma
- Le cellule che non fanno apoptosi (cristallino) fanno senescenza, ossia entrano in G0
- TNF induce anche infiammazione, oltre che apoptosi dipende dal signaling network a valle
- Le proteine PARP inibiscono l'apoptosi e stimolano meccanismi di repair
  - Si prova ad inibire PARP a scopo farmacologico per i tumori, per indurre apoptosi
    - \* E' un esempio di sintetic lethality che ha rivoluzionato la prognosi del tumore alla mammella e all'ovaio
- L'etoposide lega il DNA e la Topoisomerasi II, impedendo a questa di rilegare gli strands
  - Introduce quindi DSBs, con più efficienza in cellule che si dividono attivamente come quelle neoplastiche
  - Il danno al DNA può indurre apoptosi della cellula

- A scopo terapeutico non posso spingere troppo verso l'apoptosi altrimenti danneggio troppo le cellule sane
- In alcuni casi posso avere cancro secondario alla chemioterapia, indotto da questa

## Cancro

- I tumori o neoplasie sono l'insieme di una popolazione di cellule somatiche che ha solitamente origine clonale ed ha subito una serie di danni genomici peculiari
- Le mutazioni cancerogene tipicamente causano
  - Autonomia moltiplicativa
  - Perdita di capacità differenziativa
  - Perdita della capacità di fare PCD
- Studiare genoma e proteoma del tumore può non essere sufficiente
  - Un approccio è studiare il metaboloma
- Si pensa vi debbano essere più mutazioni contemporanee per indurre cancro
  - Possono pure essere modifiche epigenetiche (!)
  - Coinvolgono aumento della proliferazione e diminuzione della stabilità genomica
- Spesso un tumore ha più cloni distinti mutati da un clone originale unico, è eterogeneo
- Se ho già un allele mutato dallo zigote, basta un danno solo a causare mancanza del gene
  - Questo è alla base dei tumori precoci familiari
- Tutti i citotipi possono eventualmente andare incontro ad una trasformazione neoplastica
- Non tutte le anomalie di accrescimento e proliferazione sono neoplasie (es. ipertrofia ed iperplasia)
  - Non sono trasformazioni neoplastiche perché sono reversibili al cessare dello stimolo che ne ha causato l'insorgere
- Il termine tumore deriva dall'aspetto macroscopico che solitamente è rilevato sul sito anatomico di origine
- Il termine cancro deriva da granchio ed è dovuto al fatto che le cellule tumorali formano propaggini che infiltrano e distruggono il tessuto sano, come chele di un granchio
  - Inizialmente indicava solo i tumori epiteliali maligni ma ora è usato impropriamente per tutte le neoplasie maligne
- I tumori hanno cause multiple, esogene ed endogene
- I tumori vengono classificati in benigni e maligni in base alle loro modalità di accrescimento e al loro comportamento nei riguardi dei tessuti limitrofi
  - Le differenze tra neoplasie benigne e maligne sono principalmente invasività e formazione di metastasi
  - Non necessariamente un tumore benigno cresce più lentamente di uno maligno, e spesso non è così
  - I tumori benigni mantengono caratteristiche morfofunzionali simili a quelle originali e si sviluppano in modo espansivo
    - \* Lo sviluppo espansivo comprime le cellule circostanti senza disintegrarle
    - \* Può comunque causare danni da compressione
    - \* Non rispettano i meccanismi di omeostasi proliferativa e di secrezione di prodotti (adenomi)
    - \* Una volta asportati, non recidivano
  - I tumori maligni presentano cellule morfologicamente distinte da quelle normali, polimorfiche
    - \* Il nucleo è spesso ipercromico ed in fase mitotica
    - \* Infiltra e distrugge i tessuti limitrofi
    - \* Le cellule tumorali danno metastasi, ossia si distaccano e viaggiano sospese nel sangue e nella linfa formando emboli neoplastici
      - L'embolo neoplastico può arrestarsi e dare origine a tumori secondari
      - La metastatizzazione trasforma il tumore da patologia locale a sistemica
    - \* Data la difficoltà nell'asportare chirurgicamente tutte le cellule neoplastiche, danno spesso recidiva
    - \* Producono cachessia nell'organismo perché producono od inducono la produzione di citochine come il TNF

- Il Pap-Test (Papanicolau) è consiste nell'analisi microscopica di cellule di sfaldamento presenti nel secreto vaginale
  - Permette anche l'individuazione di lesioni precancerose e processi infiammatori di vario tipo
  - Metodi simili sono applicabili in altri tumori interessanti superfici di organi che comunicano con l'esterno
- Napoleone Ferrara ha scoperto il VEGF e fatto anticorpi contro di esso che limitano l'angiogenesi tumorale
- Spesso oggi si fa overdiagnosi, che limita l'attenzione dedicata ai casi veramente importanti

## Classificazione

- Una neoplasia presenta un parenchima, che dà il nome al tumore, ed uno stroma che lo sostiene
- I tumori sono classificati in base al tessuto di origine, che spesso può essere dedotto da analisi istologiche o biochimica
  - Tumori di origine incerta sono definiti anaplastici
- I tumori benigni epiteliali si presentano come una protuberanza che emerge dal tessuto di origine
  - Il polipo ha un peduncolo che lo connette al tessuto di origine
    - \* Hanno uno stroma connettivale con vasi e un rivestimento epiteliale
  - Spesso non presentano atipie
  - Il papilloma è simile ma ha un peduncolo connettivale ramificato
    - \* In alcuni casi (vescica) può essere considerato maligno
  - La verruca è una neoplasia ipercheratosica, a volte di origine virale
- I tumori maligni epiteliali sono detti epiteliomi o carcinomi
  - Hanno margini mal definiti
  - Sono spesso coriacei e possono dar luogo ad ulcere e sanguinamenti
  - L'epitelioma basocellulare origina dallo strato basale e quello spinocellulare o squamoso da cellule cheratinizzate
    - \* Quello spinocellulare è più soggetto a metastasi
- I tumori benigni dell'epitelio ghiandolare sono detti adenomi
  - Spesso riproducono l'architettura della ghiandola di origine
  - Posso dare tumori misti come i fibroadenomi mammari e i tumori della parotide
- I tumori maligni dell'epitelio ghiandolare sono detti adenocarcinomi
  - Ricordano ancora la struttura della ghiandola di origine
  - Se sono molto indifferenziati sono detti carcinomi
    - \* Sono formati da isole o cordoni cellulari che non hanno struttura ghiandolare
- I tumori benigni del connettivo sono detti mesenchimali
  - Sono chiamati col nome del tessuto di origine seguito da -oma
- I tumori connettivali maligni sono detti sarcomi
  - Sono distinti in blastici (differenziati) ed anaplastici
  - Hanno cellularità molto più elevata del tessuto di origine
- I tumori emolifopoietici sono detti leucemie (staminali midollari) o linfomi (linfociti maturi)
  - Le leucemie possono essere linfoidi o mieloidi
  - I linfomi possono essere Hodgkin (con cellule multinucleate dette di Reed-Sternberg) e non Hodgkin
  - I plasmacitomi derivano da una plasmacellula differenziata e producono quantità abnormi della sua immunoglobulina
    - \* A volte producono un eccesso di catene leggere che sono filtrate dal glomerulo renale e in parte riassorbite dal tubulo, danneggiandolo
- I melanociti derivano dalla cresta neurale e possono dare tumori benigni o maligni
  - Quelli benigni sono detti nevi
    - \* Se divengono displastici sono soggetti a trasformazione maligna
  - Il tumore maligno è detto melanoma
- I tumori del sistema nervoso sono distinti in tumori delle cellule neuroepiteliali, delle guaine e delle meningi
- Esistono anche tumori placentari e che originano dagli annessi embrionali

- I teratomi sono tumori molto indifferenziati che derivano da tessuto non presenti normalmente nel loro sito di origine
- Esistono anche teratomi benigni frequenti nelle gonadi
- I tumori sono classificati in gradi da I a IV in base a quanto sono differenziati

## Invasività e metastatizzazione

- L'invasività neoplastica dipende dal fatto che le cellule tumorali hanno poca adesione omotipica
  - L'invasività è la capacità di infiltrare il tessuto sano, danneggiandolo fisicamente
  - Spesso è dovuto alla riduzione della produzione di caderine
  - Si ha perdita di inibizione da contatto
  - Rilasciano proteasi che degradano la ECM
  - Metabolizzano il glucosio per via glicolitica anche in presenza di ossigeno (lo fanno solo le cellule della retina in condizioni fisiologiche)
    - \* Questo produce lattato che abbassa il pH locale, favorendo l'azione delle proteasi
  - Aumentano l'espressione di integrine che promuovono l'adesione eterotipica ed alla matrice
  - Rilascia fattori angiogenetici
    - \* Lo sviluppo avascolare del tumore può arrivare fino ad 1 mm
- La metastatizzazione è la capacità di formare tumori secondari
  - Non è sempre correlata all'invasività
  - Il 60% di pazienti hanno metastasi al momento della diagnosi
  - Una cellula tumorale ha fenotipo metastatico se
    - \* E' capace di distaccarsi dalla sede di origine
    - \* Riesce ad invadere il connettivo ed i capillari
    - \* Sopravvive nel sangue (o linfa)
    - \* Riesce ad arrestarsi in determinate sedi del circolo sanguigno (o linfatico) tramite l'espressione di integrine
    - \* Riesce ad uscire dal vaso
    - \* Si moltiplica ed invade i tessuti in cui si arresta esprimendo molecole di adesione che interagiscono nella nuova sede
    - \* Produce fattori angiogenetici nella nuova sede che gli garantiscono nutrimento
  - Il fenotipo metastatico è spesso organotropico, in base alle molecole di adesione espresse
  - Alcuni organi non presentano quasi mai metastasi (cuore, muscolo scheletrico, milza)
  - La via di diffusione ematica è usata principalmente dai sarcomi ed alcuni carcinomi
    - \* Viene raggiunta direttamente o tramite la linfa, attraverso il dotto toracico
    - \* Una volta nel sangue le cellule sono avvolte da un reticolo di fibrina e piastrine in quanto l'alterazione dell'endotelio dovuta alla loro azione produce effetti coagulativi
      - In circolazione le cellule metastatiche aderiscono e formano trombi, che le mascherano dal sistema immunitario
  - La via linfatica è preferita dai carcinomi
    - \* Consente il raggiungimento dei linfonodi regionali, prima stazione di arresto
  - La via transcelomatica usa pleure, peritoneo e pericardio come via di trasmissione
    - \* Il fluido del peritoneo è detto ascite
    - \* Il pericardio può essere raggiunto da metastasi pleuriche
  - La via canalicolare sfrutta il dotto di vari organi (ghiandole, tubuli renali, uretere)
  - Possiamo avere metastasi per contiguità, che non viaggiano nel circolo ematico
    - \* Un esempio è il trasferimento da pancreas a fegato
  - Le metastasi sono un fenomeno poco attivo poiché le cellule metastatiche non hanno solitamente capacità di locomozione
  - La degradazione della matrice innesca una reazione immunitaria, che produce fattori di crescita per provare a riparare la lesione ed indirettamente stimola l'angiogenesi tumorale
  - Le metastasi si depositano in zone a lento flusso ematico
  - Per poter metastatizzare le cellule neoplastiche compiono una Epithelial to Mesenchymal Transition (EMT)

- \* Le cellule fanno transizione inversa da mesenchima ad epitelio nel sito di arrivo
- La metastasi fa angiogenesi, e può a sua volta metastatizzare
- Le metastasi sono frequenti in ossa, cervello, fegato, polmoni

## Cancerogenesi

- La cancerogenesi è un processo multifasico caratterizzato da iniziazione, promozione e progressione
- Tutti i meccanismi cancerogenetici causano danni genomici
- La popolazione neoplastica è molto variegata e non clonale
- I cancerogeni chimici agiscono al raggiungimento di una dose soglia, che può anche essere dilazionata nel tempo
- La cancerogenesi chimica sperimentale viene iniziata da parte di un cancerogeno genotossico e promossa in modo aspecifico con olio di croton, un agente infiammatorio
- Le sigarette hanno effetto infiammatorio e per questo promuovono la carcinogenesi
- Gli idrocarburi policiclici aromatici sono spesso derivati del benzene
  - Il DMBA (dimetil-benz-antracene) è usato sperimentalmente come cancerogeno
  - Altri sono il benzopirene, le nitrosamine ed i carbammati

## Oncogeni ed oncosoppressori

- Sono stati scoperti come geni virali ma poi identificati anche nel genoma dell'ospite
- Gli oncogeni cellulari derivano da protooncogeni cellulari altamente conservati
  - Sono geni che presiedono a fenomeni di moltiplicazione e proliferazione
  - La trasformazione in oncogeni è causata da stimoli esogeni
  - Le mutazioni degli oncogeni sono dominanti
- Gli oncosoppressori sono normalmente coinvolti nel limitare la replicazione cellulare
  - La loro mutazione deve avvenire in entrambi gli alleli per causare carcinogenesi
    - \* Ci sono eccezioni
  - La mutazione di p53 causa la sindrome di Li-Fraumeni, che predispone ad una vasta gamma di tumori
  - Sono oncosoppressori anche i geni che presiedono alla PCD
- Il ciclo cellulare è controllato da geni gate keepers e care takers
  - I geni gate keepers controllano la proliferazione
  - I geni care takers presiedono all'integrità genomica
- Il primo oncosoppressore ad essere scoperto è stato pRb (Retinoblastoma protein)
  - E' un gate keeper
  - Causa retinoblastoma perchè l'occhio è particolarmente suscettibile a danni genomici
    - \* E' sempre esposto a radiazione UV e le cellule della retina non possono farle cellule della retina non possono faretosi
  - Blocca la progressione da fase G1 a fase S
  - Lega ed inibisce E2F, che è un TF che trascrive i geni di fase S
  - Rb è fosforilato ed inibito dalle CDK di fase S
  - L'attivazione di Rb è regolata dal bilanciamento tra GFs e inibitori di crescita
- p53 agisce come omotetramero e gioca un ruolo essenziale in progressione del ciclo cellulare, apoptosi e integrità genomica
  - Ha un'emivita normale di circa 20 minuti
    - \* Normalmente p53 è degradato dal proteasoma perchè l'E3 ubiquitina ligasi MDM2 lo ubiquitina
    - \* p53 vive poco perchè altrimenti in overexpression da apoptosi, letale in embriogenesi nel topo
  - La sua assenza non è letale in ontogenesi, ma i topi p53 ko sviluppano cancro in 3 mesi dalla nascita
  - Ha un dominio attivatore TAD, un dominio PRR (proline rich repeat), un dominio DNA binding ed una regione di tetramerizzazione
  - La maggior parte delle mutazioni avvengono nel DNA binding domain
  - E' attivato dai sensori ATM e ATR, che screenano il DNA alla ricerca di danno

- \* Sono delle chinasi
    - \* ATM fosforila p53, che si distacca da MDM2 e quindi non è degradato
    - \* ATR è attivato in risposta a ssDNA esposto
    - \* ATM è attivato da DSBs
  - Quando attivato blocca il ciclo cellulare
    - \* Se il DNA è riparato si continua col ciclo, ma se non viene riparato innesca senescenza tramite p21, oppure apoptosi attivando Bax
  - MDM2 è un oncogene
  - p53 produce anche MDM2 in un loop negativo
  - L'acetilazione delle K di p53 modula la risposta al danno (repair, apoptosi, senescenza)
  - E' un oncosoppressore dominante, ne basta una sola copia mutata(!)
    - \* Agisce da dominante negativo
  - p53 agisce sia come TF che a livello citosolico
  - Il fatto che i p53 ko siano vitali significa che le sue funzioni sono quasi tutte ridondanti, eccetto nella tumorigenesi
    - \* Non è essenziale per l'apoptosi, che deve necessariamente avvenire in ontogenesi
  - p53 trascrive Puma, Noxa e Bax, che spingono verso l'apoptosi
  - Nel citosol p53 va nel mitocondrio dove regola apoptosi
  - Può regolare il metabolismo cellulare tramite TIGAR
    - \* TIGAR regola il metabolismo del glucosio e autofagia
  - Gli elefanti non hanno praticamente cancro ed hanno 40 copie di p53
  - Le nutline (molecole simili ad imidazolo) inibiscono l'interazione di p53 con MDM2 e quindi forzano l'attivazione di p53
  - PRIMA-1-met è un farmaco che riattiva le conformazioni mutanti di p53, è in trial di fase 2
- BRCA1 è una proteina che prende parte ad HR, nel DSB repair
    - Effetto Jolie, tutti vogliono fare mastectomia se sanno di avere BRCA1 mutato in famiglia, anche se spesso non è necessario
    - Sue mutazioni sono implicate in cancro a mammella, utero, colon e prostata
    - E' una proteina molto grande che fa sensing del DNA damage
    - Anche una sola copia mutata rende più probabile mutare la seconda, perchè limita le capacità di DNA repair
  - PARP è una proteina che in risposta a danno single strand sintetizza uno stretch di poli-A che funge da segnalatore
    - Questa poli-A sembra segnalare anche per apoptosi
    - Quando si innesca apoptosi PARP è inattivato dalla caspasi 3
    - PARP inhibitors bloccano il riparo di danni single strand e questo causa dopo replicazione la formazione di DSBs
    - Le cellule tumorali spesso sono mutanti per meccanismi di DSBR e quindi vanno in apoptosi a seguito di danno al DNA
    - E' un esempio di synthetic lethality
  - CDK4 è una chinasi che regola il passaggio del checkpoint G1-S
  - APC è una proteina che quando mutata causa la poliposi multipla familiare del colon
    - Nei mutanti si ha incidenza di cancro a 60 anni al 100%(!)
    - E' un regolatore negativo della beta catenina, formando il destruction complex per questa
      - \* La beta catenina è un segnalatore intracellulare coinvolto nella regolazione dell'adesione cellulare che è attivata segnala tramite il pathway Wnt
    - Il colon è uno dei tessuti a più alto tasso di replicazione
  - CD44 è una molecola complessa, con 10 esoni a splicing alternativo
    - E' implicato nella metastatizzazione
    - E' un recettore per acido ialuronico e collagene
    - E' coinvolto in angiogenesi, proliferazione, survival
  - Mutazioni del sistema di mismatch repair (MSH, MLH) predispongono al cancro coloretale non poliposico ereditario (sindrome di Lynch)



## Immortalizzazione

- Le cellule sono normalmente sierodipendenti, ossia necessitano di fattori di crescita presenti nel siero
- Molte cellule tumorali sintetizzano i fattori di crescita di cui necessitano e quindi non sono sierodipendenti
- Cellule normali si dividono 50-100 volte prima di andare in senescenza, mentre quelle tumorali possono dar luogo a linee cellulari
  - Questo è dovuto all'iperespressione della telomerasi
- In molti tumori si ha iperespressione della ciclina D che porta all'ingresso in G1 dalla G0
  - Questo porta all'ingresso immediato in G1 dopo la fase M ed il salto della G0

## Azione del sistema immunitario

- I meccanismi di difesa contro i tumori sono sia innati (NK) che specifici
- I meccanismi specifici (BCs e TCs) riconoscono antigeni tumorali costituiti da geni cellulari mutati
- Un approccio terapeutico è l'uso di molecole che attivano il sistema immunitario per combattere un tumore

## Epidemiologia

- Nel corso del XX secolo l'incidenza dei tumori ha subito un costante incremento
- I tumori sono la seconda causa di morte nei paesi industrializzati, dopo le malattie cardiocircolatorie
- L'80% dei tumori ha causa esogena e solo il 5% ha base genetica
- Il carcinoma allo stomaco era molto frequente all'inizio del '900, mentre ora è più raro
  - Era dovuto alla cattiva conservazione degli alimenti
  - Il frigorifero è stato uno dei maggiori contributi alla sua diminuzione
  - I norcini hanno ancora un alto tasso di incidenza dovuto all'uso di nitriti
  - Forse *Helicobacter pylori* causa infiammazione cronica, causando cancro allo stomaco
    - \* La sua eradicazione potrebbe essere concausa della diminuzione di questo cancro
- Il carcinoma polmonare è aumentato enormemente a causa del fumo
  - Ha iniziato ad aumentare negli anni 50 e poi ha iniziato a scendere nel 90 per la maggior sensibilizzazione all'argomento
- L'incidenza di tutti i tipi di tumori aumenta dopo i 30 anni
  - Specialmente l'incremento si osserva dopo l'età riproduttiva, dove non agisce la selezione
  - Questo nella donna coincide con la menopausa
- L'aumento della vita media aumenta sensibilmente l'incidenza delle neoplasie nella popolazione
- Si ritiene che i tumori infantili (sotto i 5 anni) abbiano origine intrauterina
- L'incidenza di tumori è equivalente per i 2 sessi, ma la distribuzione in rapporto con l'età è molto diversa
  - Sotto i 10 anni l'incidenza è maggiore nel maschio
  - Tra i 20 e 60 anni l'incidenza è elevata nelle donne, specie per tumori a mammella e utero
  - Sopra i 60 anni l'incidenza è molto maggiore nel maschio
- Il carcinoma del collo dell'utero è raro nella vergine e più frequente nelle pluripare
- Al contrario, le nullipare hanno maggiore incidenza di carcinomi dell'endometrio e dell'ovaio
- L'esposizione professionale è un importante fattore di rischio
  - Gli spazzacamino sviluppano frequentemente tumore a livello delle pieghe scrotali
- L'esposizione ambientale è aumentata molto con l'urbanizzazione
  - Uno dei principali fattori di rischio sono gli idrocarburi policiclici aromatici
- Il rischio oncogenico iatrogeno è quello dovuto a farmaci
- Il rischio oncogenico alimentare può essere qualitativo (dovuto al tipo di alimento), quantitativo (iperalimentazione) o accidentale (inquinamento dell'alimento con composti cancerogeni)
  - Contaminanti cancerogeni sono le aflatossine
- Il rischio voluttuario è dovuto all'esposizione volontaria a fattori di rischio come il fumo di sigaretta
- Il sangue occulto nelle feci se positivo è quasi sempre veritiero
- Per il tumore al pancreas si hanno solo 6 mesi di sopravvivenza poichè viene di solito individuato in stadio avanzato

- Il tumore all'utero è in discesa per uso di preservativi (minor trasmissione di HPV)
  - Questo è dovuto anche al Pap-test ed alla vaccinazione anti-HPV
- I tumori più frequenti sono alla mammella ed alla prostata, ma sono raramente fatali
- Nei melanoma day spesso viene offerta la mappatura gratuita dei nei
- I tumori epiteliali sono più frequenti di quelli mesenchimali poichè gli epitelii sono a contatto con l'esterno

## Chemioterapia

- I chemioterapici danneggiano soprattutto le cellule in divisione, ma non solo
  - Anche il CNS è soggetto a questi danni, e si sviluppa il cosiddetto *chemiobrain*
  - Si hanno problemi al sistema immunitario, perdita di capelli

## Inflammatione

- L'inflammatione o flogosi è l'insieme delle modificazioni che si verificano in un distretto colpito da un danno non letale
  - Il danno può essere causato da agenti fisici, chimici o biologici
  - Si svolge con le stesse modalità, indipendentemente dall'agente che lo ha causato
- E' una manifestazione prevalentemente locale
  - Si ha comunque anche un effetto sistemico tramite citochine che inducono la risposta di fase acuta da parte del fegato
- Si indica con l'organo colpito seguito dal suffisso -ite
- Febbre e leucocitosi (aumento del numero di leucociti ematici) sono due manifestazioni caratteristiche
- E' normalmente utile, ma se lo stimolo nocivo è particolarmente intenso la flogosi può divenire dannosa
  - E' difficile determinare quando la flogosi passa da meccanismo omeostatico a fenomeno patologico per se stessa
- I sintomi cardinali della flogosi sono
  - *Calor*, aumento della temperatura locale
  - *Tumor*, gonfiore
  - *Rubor*, rossore
  - *Dolor*, indolenzimento
  - *Functio laesa*, compromissione funzionale
- I vasi della zona infiammata aumentano il flusso ematico e lo rallentano fino alla stasi
  - Questo permette la fuoriuscita di fluido e leucociti che si accumulano nella matrice del connettivo
- L'inflammatione acuta o angioflogosi ha prevalenza di effetti vascolari
  - Non è necessariamente un fenomeno di breve durata (!)
  - E' dominata da una risposta di tipo Th1
- L'inflammatione cronica o istoflogosi ha una prevalenza di effetti del tessuto per migrazione nello stesso di monociti e linfociti
  - Può seguire l'inflammatione acuta od essere tale sin dal principio
  - E' dominata da una risposta Th2

## Angioflogosi

- Si svolge essenzialmente in corrispondenza del microcircolo, che va a subire delle modificazioni tipiche del processo flogistico acuto
  - Brevissima vasocostrizione (10-20 secondi) di natura simpatica, che non gioca un ruolo significativo
  - Vasodilatazione provocata dall'effetto di molecole rilassanti la muscolatura liscia delle arteriole terminali
  - Iperemia attiva provocata dal rilassamento delle arteriole e dal cedimento degli sfinteri precapillari
  - Iperemia passiva indotta dal rallentamento del sangue nel microcircolo
    - \* Aumenta la superficie circolatoria per cedimento degli sfinteri precapillari

- \* Aumenta la viscosità ematica per fuoriuscita della componente plasmatica che concentra la partecorpuscolata rimanente
  - \* Marginazione dei leucociti mediata da molecole di adesione
- Diapedesi dei leucociti mediata da chemiotassi verso citochine, chemochine, prodotti microbici e del complemento
- Formazione dell'essudato costituito da cellule sospese in un fluido
  - \* E' dovuto all'aumento della pressione idrostatica a causa dell'iperemia e alla riduzione della pressione colloidale-dovuta alla fuoriuscita di proteine
  - \* Determina la formazione dell'edema ed il *tumor*
- Fagocitosi dei detriti cellulari e dei microrganismi
  - \* A questo segue la risoluzione o cronicizzazione del processo infiammatorio e l'innescare dei meccanismi riparativi del tessuto
- I mediatori chimici della flogosi possono essere preformati o di nuova sintesi, oppure formati da precursori inattivi (mediatori di fase fluida)
- L'istamina è importante nella vasodilatazione iniziale
  - Viene rapidamente degradata e le cellule divengono rapidamente resistenti al suo effetto
  - E' prodotta da mastociti e basofili, che la conservano in granuli e la rilasciano per degranulazione esplosiva
  - E' captata da recettori H1 e H2
    - \* I recettori H1 sono espressi dalle fibrocellule della parete vascolare e ne mediano la contrazione, che allarga le giunzioni intraendoteliali
    - \* I recettori H2 mediano effetti antiinfiammatori ma partecipano anche alla vasodilatazione
      - Sono anche presenti a livello gastrico e nel respiratorio dove stimolano la secrezione di muco
- La serotonina è un'altra ammina biogena con effetto simile all'istamina, sintetizzata dal triptofano
- I derivati dell'acido arachidonico sono importanti nella genesi e mantenimento della flogosi
- L'acido arachidonico è presente nelle membrane, particolarmente di macrofagi, mastociti e piastrine e viene liberato dai fosfolipidi di membrana dalla fosfolipasi A2
  - Prende una di 2 vie biosintetiche, quella delle ciclossigenasi o quella delle lipossigenasi
  - Le ciclossigenasi (COX) producono prostaglandine e trombassano A2
    - \* Le prostaglandine sono vasodlatatori, aumentano la permeabilità capillare e la sensibilità al dolore
    - \* Il trombassano A2 causa vasocostrizione, broncocostrizione ed aggregazione piastrinica
    - \* La COX esiste in forma costitutiva ed inducibile
    - \* COX1 è presente nella mucosa gastrica ed altre cellule, mentre COX2 è espressa particolarmente in caso di infiammazione
    - \* Le COX sono il target dei FANS (NSAID)
  - Le lipossigenasi producono leucotrieni, che causano broncocostrizione e sono agenti chemiotattici
- Gli enzimi lisosomiali sono importanti per l'azione dei fagociti
- Le citochine sono mediatori molto precisi del processo infiammatorio
  - Le citochine Th1 comprendono molte chemochine e sono coinvolte nella cronicizzazione della flogosi
  - Le citochine Th2 agiscono su granulociti e linfociti B e presiedono alla flogosi acuta e mediata da anticorpi
    - \* Sono coinvolte nella risposta allergica
  - La presenza di citochine di un tipo inibisce il rilascio del tipo opposto
  - La loro produzione è regolata principalmente da NF $\kappa$ B
- L'ossido nitrico (NO) è prodotto da endotelio, astrociti, macrofagi a partire dall'arginina usando la NOS
  - Esiste una NOS costitutiva (cNOS), una inducibile (iNOS) ed una celebrale (nNOS)
  - Finge anche da neurotrasmettitore (eccitotossicità da glutammato)
  - Molti mediatori della flogosi attivano la NOS inducibile
  - Causa rilassamento della muscolatura liscia delle venule e l'inibizione dell'aggregazione piastrinica
  - E' usato dai fagociti come meccanismo di killing
- Le chinine sono peptidi coinvolti nell'indurre vasodilatazione e contrazione della muscolatura liscia
  - Derivano da precursori plasmatici detti chinogeni

- Vengono idrolizzati dagli enzimi callicreina e plasmina, che sono presenti anch'essi nel plasma come precursori (zimogeni)
- La callicreina viene attivata dall'atripsina e dal fattore di Hageman, è essa stessa chemiotattica ed attiva il fattore di Hageman e la plasmina
- La plasmina è attivata dalla callicreina, da enzimi batterici e da attivatori del plasminogeno dei fagociti
  - \* Oltre ad attivare le chinine attiva il complemento per via classica ed il fattore di Hageman
  - \* Idrolizza anche la fibrina
- Il complemento si attiva sia per via classica che alternativa nel corso della flogosi ed ha attività di killing e proinfiammatoria
- Le cellule immunitarie vengono attivate da citochine come IL8 per i neutrofili e IL4 per gli eosinofili
- I mastociti sono cellule rotondeggianti residenti nel connettivo contenenti granuli di eparina ed istamina
  - Rispondono ad allergeni ed anafilattossine (C3a e C5a)
  - A seguito di stimolazione degranulano istamina in modo esplosivo
- I basofili sono gli equivalenti ematici dei mastociti
- I neutrofili si muovono attivamente e sono richiamati per primi nel focolaio flogistico, specie in presenza di batteri piogeni
  - Sono fagociti e liberano metaboliti dell'acido arachidonico ed enzimi lisosomiali
- Gli eosinofili sono attivati da citochine Th2 come IL4 in risposta ad allergeni e parassiti
  - Uccidono i parassiti con ROS ed una perforina detta proteina basica maggiore
- I monociti/macrofagi (sono detti macrofagi se nel connettivo) sono attivati da  $IFN\gamma$ 
  - Fagocitano microrganismi, fungono da APC, producono citochine (IL1, IL6, IL8, IL12,  $TNF\alpha$ )
  - Partecipano alla cronicizzazione
- I natural killer sono richiamati da citochine Th1 ed uccidono cellule infette da virus e microrganismi tramite perforine e granzimi
- Le piastrine a seguito del danneggiamento vascolare in sede di flogosi producono derivato dell'acido arachidonico, perforine e ROS
- I linfociti arrivano tardivamente e sono i principali produttori di citochine
- Le plasmacellule producono anticorpi
- Le cellule endoteliali presentano recettori per citochine e rispondono in particolare al  $TNF\alpha$ 
  - A seguito di stimolazione provocano iperemia, aumento della permeabilità capillare, esprimono selettine, favoriscono la diapedesi dei leucociti e favoriscono la coagulazione ematica
- I fibroblasti sono essenziali per la risoluzione della flogosi in quanto ricostituiscono la matrice connettivale
- L'essudato si forma per aumento della permeabilità capillare e della pressione idrostatica, per crollo della pressione oncotica e per diminuzione del drenaggio linfatico
  - Il passaggio di fluido verso l'interstizio è definita edema infiammatorio
  - Ha un pH acido per presenza di lattato
  - La componente liquida deriva dal plasma e contiene proteine plasmatiche e sostanze liberate dalle cellule lese come acidi nucleici e fosfolipidi, e mucopolisaccaridi della matrice (acido ialuronico)
  - La parte corpuscolata comprende polimorfonucleati
  - Il contenuto proteico è inferiore a quello plasmatico (3-4% contro il 7.5-8%)
- Il trasudato è invece un edema che si forma in assenza di flogosi per variazioni pressorie (vedi cap 19)
  - Ha un contenuto proteico inferiore a quello dell'essudato
- Per distinguere essudato e trasudato se ne fa cadere una goccia in un cilindro contenente qualche goccia di soluzione di acido acetico
  - Nell'essudato i complessi proteine-mucopolisaccaridi precipitano e formano una nube simile al fumo di sigaretta
  - Nel trasudato questi complessi non sono presenti e la nube non si forma
- La flogosi acuta si distingue in varie forme, caratterizzate da un essudato peculiare
  - Si ricorda la flogosi sierosa, fibrosa (con extravaso del fibrinogeno), catarrale, purulenta, emorragica (rottura della parete capillare), necrotica ed allergica (con prevalenza di eosinofili)
- La flogosi acuta può produrre uno di questi 3 esiti
  - La necrosi causata dagli enzimi lisosomiali dei leucociti, che danneggiano anche le cellule self

- \* Si può formare un essudato purulento detto ascesso, che necessita di essere svuotato per incisione
  - \* Se il pus trova spontaneamente un'apertura verso l'esterno si produce una fistola
- La cronicizzazione, quando la flogosi non riesce ad eliminare l'agente flogogeno
- La guarigione, con riassorbimento dell'essudato e apoptosi dei leucociti rimanenti dopo la fagocitosi di agente flogogeno e detriti cellulari
- L'epatizzazione è una raccolta di essudato negli alveoli polmonari che impedisce la penetrazione dell'aria
  - Alla percussione il suono è ottuso
  - E' così chiamata perchè il polmone assume un aspetto simile a quello del fegato
  - Inizialmente si ha epatizzazione rossa, con essudato emorragico
  - Segue l'epatizzazione grigia a causa della compressione dei vasi dell'interstizio, che diminuisce l'irrorazione ematica e rende visibili per trasparenza i depositi carboniosi
  - In via di risoluzione si ha epatizzazione gialla per la presenza di leucociti che compiono un processo di lipofanerosi (degenerazione grassa)

## **Fagocitosi**

## **Istoflogosi**