

FIGURA 7.40 I segnali che inducono e che reprimono l'apoptosi.



R. Alessandro, C. Bucci, S. Fasano
Manuale di Biologia e Genetica
per il semestre filtro, V Ed.
EdiSES Edizioni

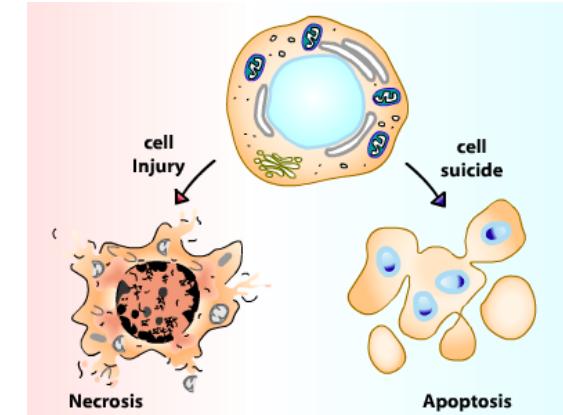
Morte cellulare

- La morte cellulare può essere innescata da un danno causato da agenti esterni (ischemia, danni al DNA indotti da raggi UV) o da un malfunzionamento cellulare (mancanza di fattori di crescita, mancanza di ancoraggio).
- La morte cellulare è un processo fisiologico durante lo sviluppo embrionale e dopo la nascita in tessuti ad elevato ricambio (epidermide, endotelio) in troviamo in continuazione cellule che muoiono che vengono sostituite da nuove cellule.
- E' più difficile indurre morte di una cellula trasformata (cancerosa) rispetto ad una cellula normale.

Caratteristiche morfologiche: necrosi e apoptosi

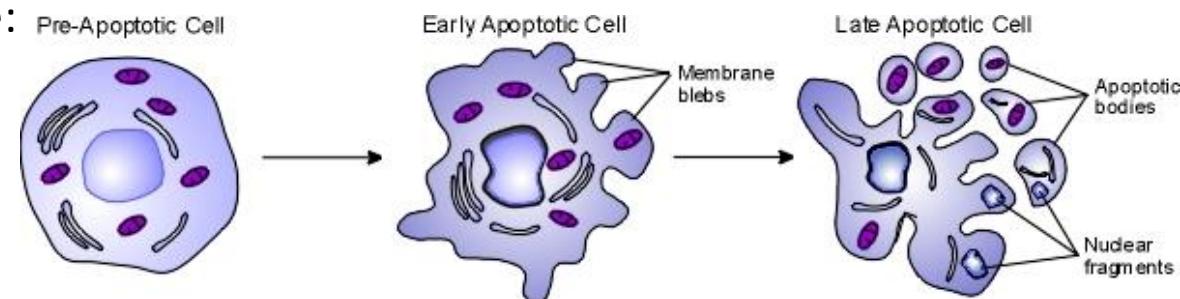
Le cellule che muoiono come risultato di un danno acuto (esempio: ischemia e calo di ATP che ne consegue) tipicamente si rigonfiano e scoppiano, versando il loro contenuto sulle cellule vicine – un processo chiamato **necrosi**– provocando una risposta infiammatoria potenzialmente dannosa.

La **necrosi** è una morte improvvisa, **accidentale**, al contrario dell'**apoptosi** che è una morte «**programmata**».



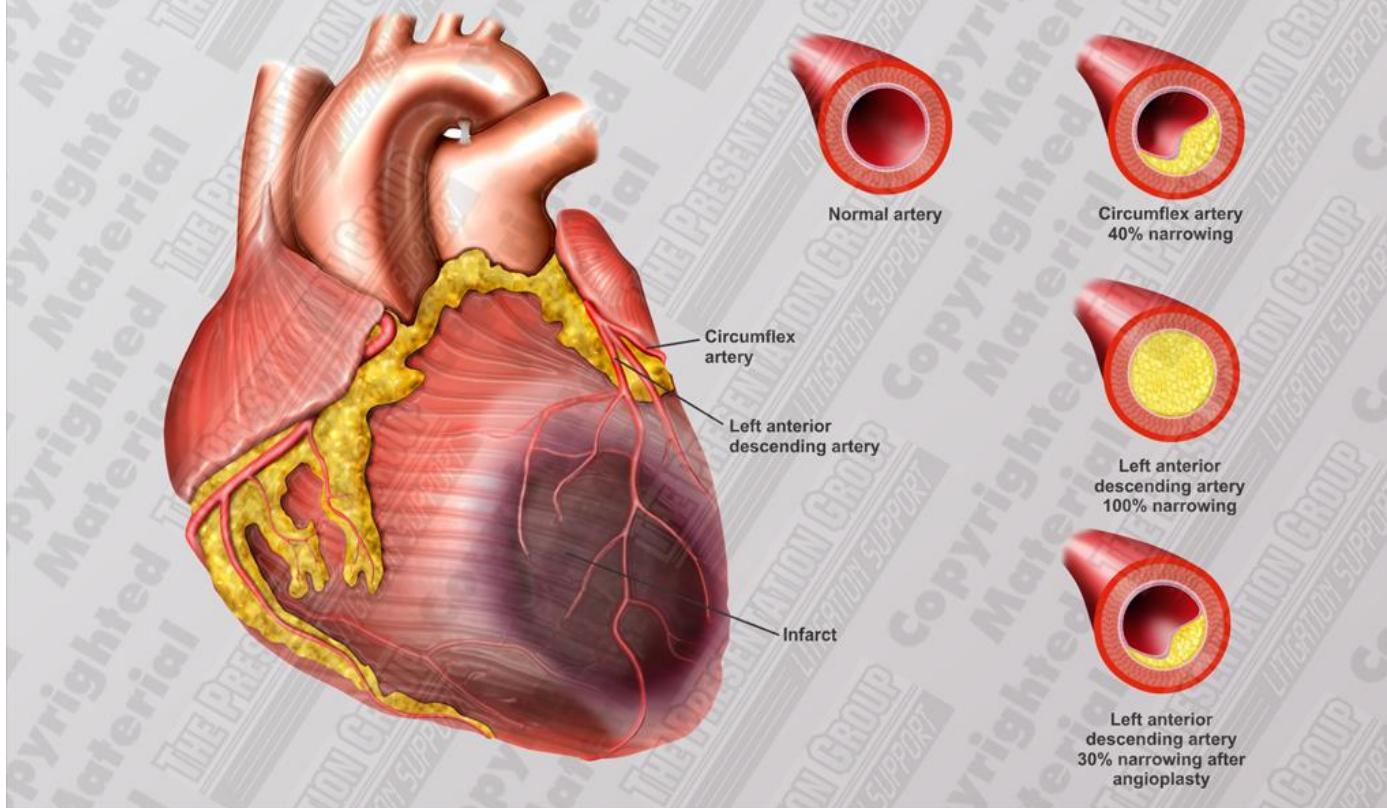
Nell' apoptosi (la parola greca ptosis significa “cadere”) le cellule si “suicidano” attivando un programma intracellulare di morte. Questo processo è perciò chiamato morte cellulare programmata. Una cellula che subisce l'apoptosi muore senza danneggiare le cellule vicine e presenta le seguenti caratteristiche:

- La **membrana cellulare mantiene la sua integrità** ma la cellula si raggrinzisce
- Il **citoscheletro collassa**
- la **cromatina si condensa**, il DNA nucleare si frammenta
- si formano frammenti cellulari i cosiddetti “**corpi apoptotici**”
- la **superficie cellulare si altera**, mostrando proprietà che causano la rapida fagocitosi della cellula morente



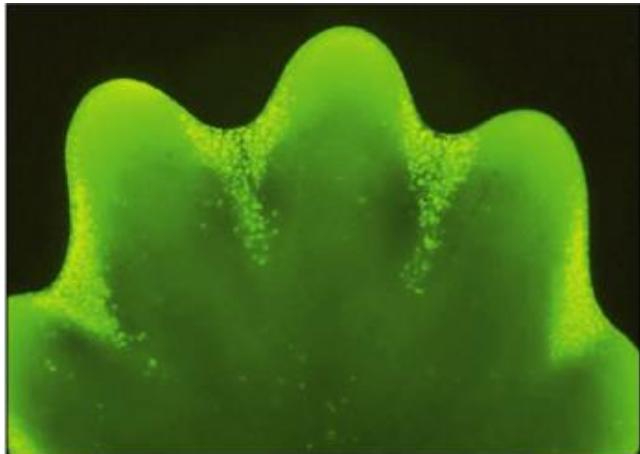
MYOCARDIAL INFARCTION

ANTERIOR VIEW OF HEART

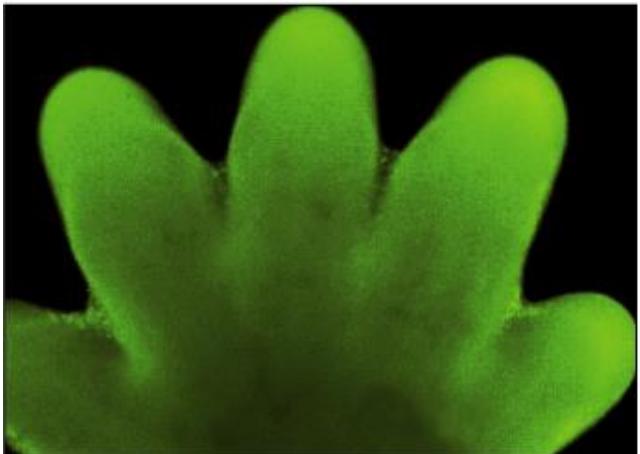


Necrosi dei cardiomiociti nell'area infartuata causata
dall'insufficiente apporto di sangue

Apoptosi durante il rimodellamento tissutale



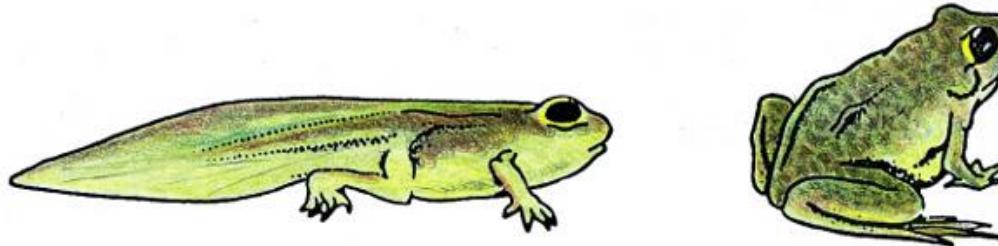
(A)



(B)

1 mm

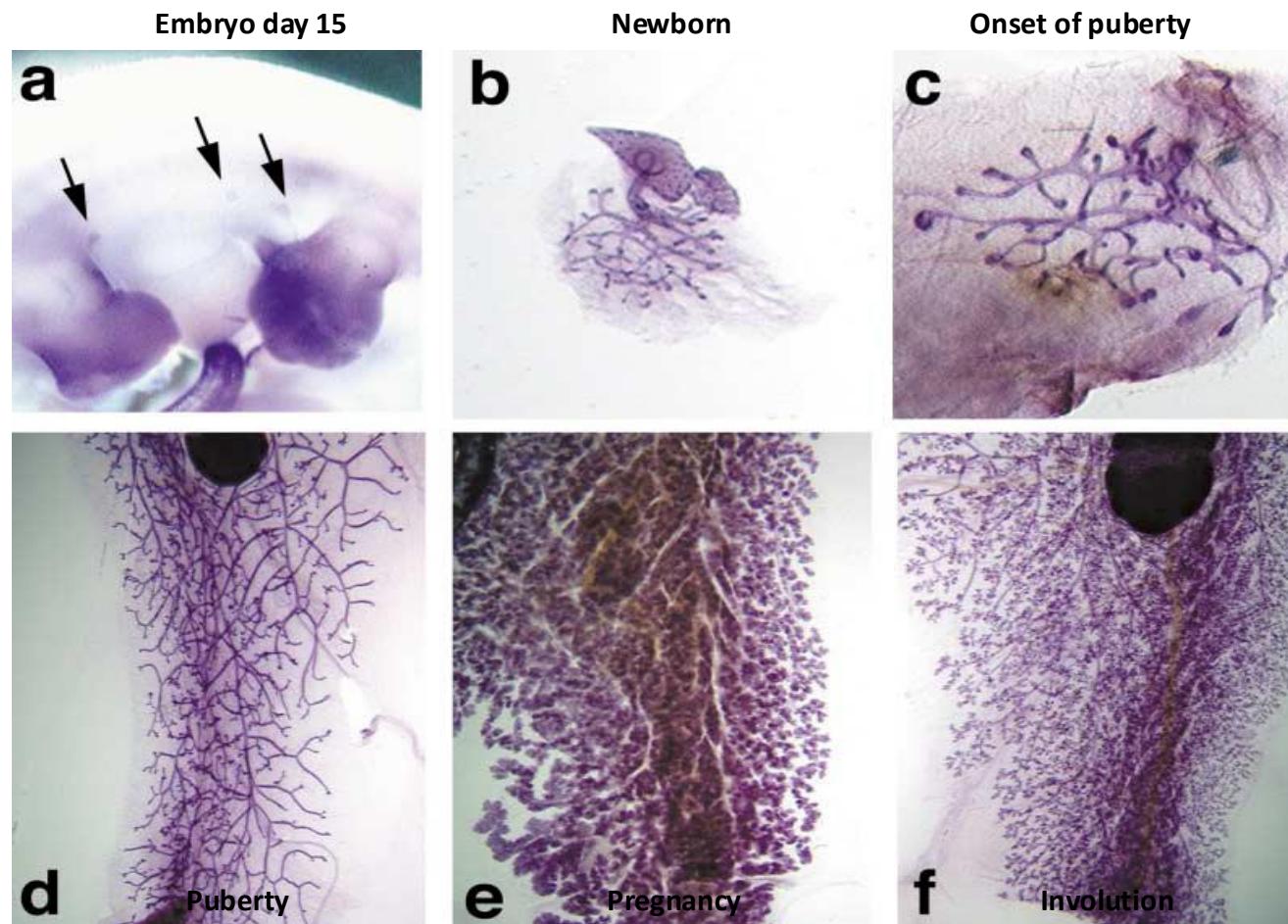
Apoptosi durante la metamorfosi di un girino in una rana

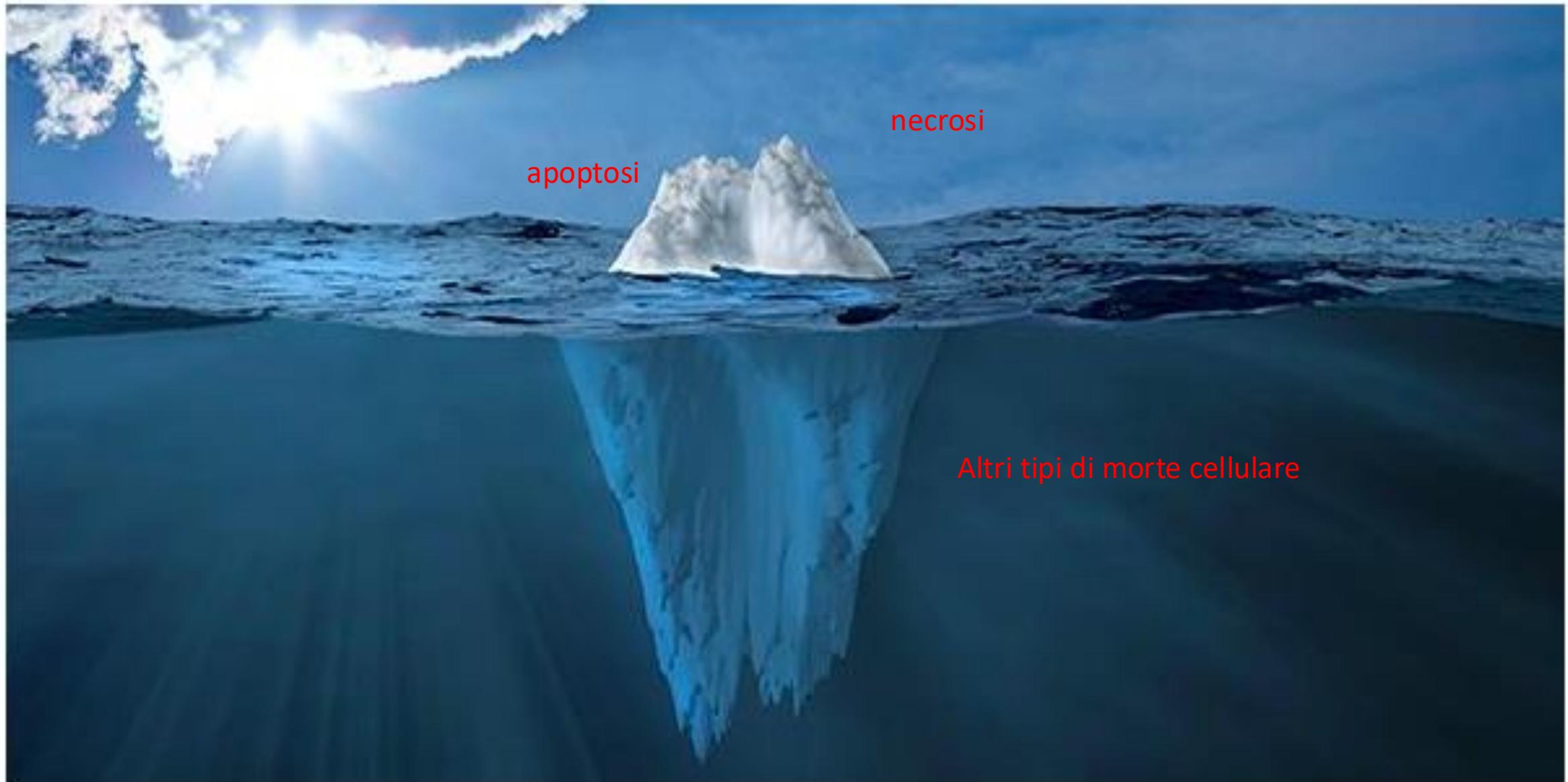


Nel sistema nervoso in sviluppo, per esempio la morte cellulare adatta il numero di cellule nervose in modo che corrisponda al numero di cellula bersaglio che richiedono innervazione.

Nei tessuti adulti, la morte cellulare bilancia esattamente la divisione cellulare. Se non fosse così, il tessuto crescerebbe o si restringerebbe.

Apoptosi delle cellule della ghiandola mammaria al termine dell'allattamento





apoptosi

necrosi

Altri tipi di morte cellulare

Le caspasi: enzimi **proteolitici** caratterizzati dalla presenza di un residuo di **cisteina** nel sito attivo e che effettuano il taglio proteolitico in corrispondenza di **acido aspartico**

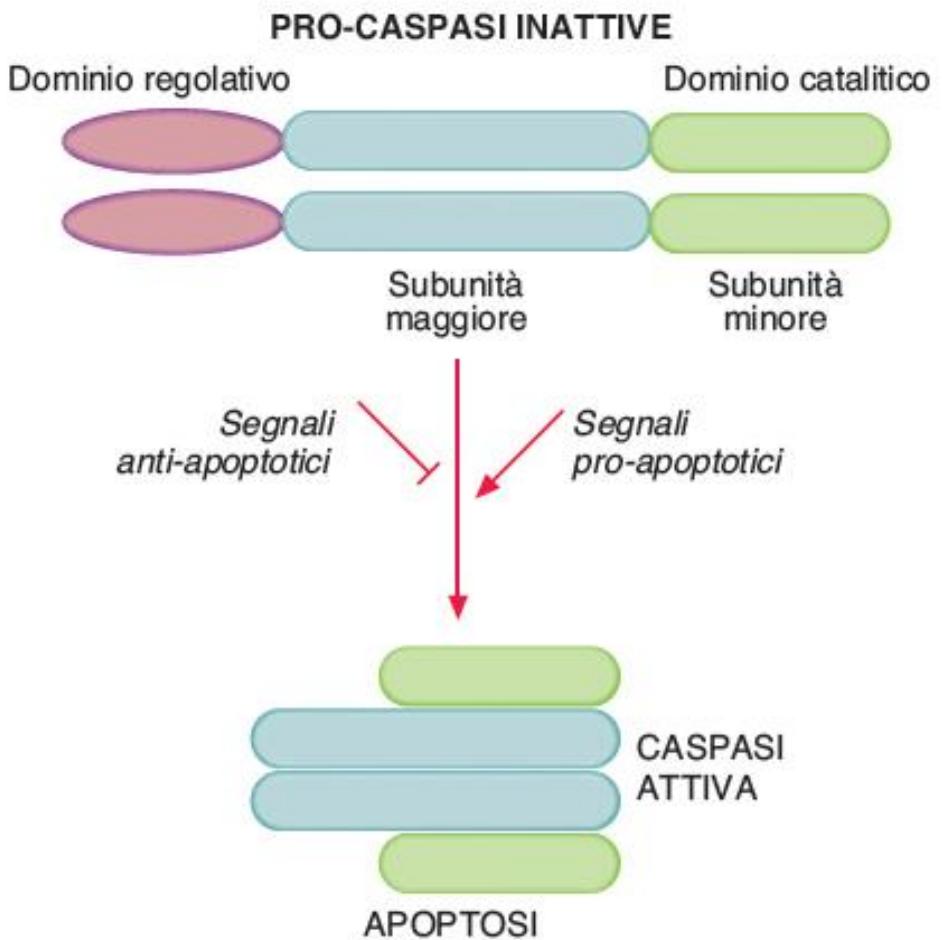


FIGURA 7.42 Le caspasi. Durante l'apoptosi queste cisteinoproteasi vengono attivate mediante processamento proteolitico. La forma attiva dell'enzima è formata da un tetramero.

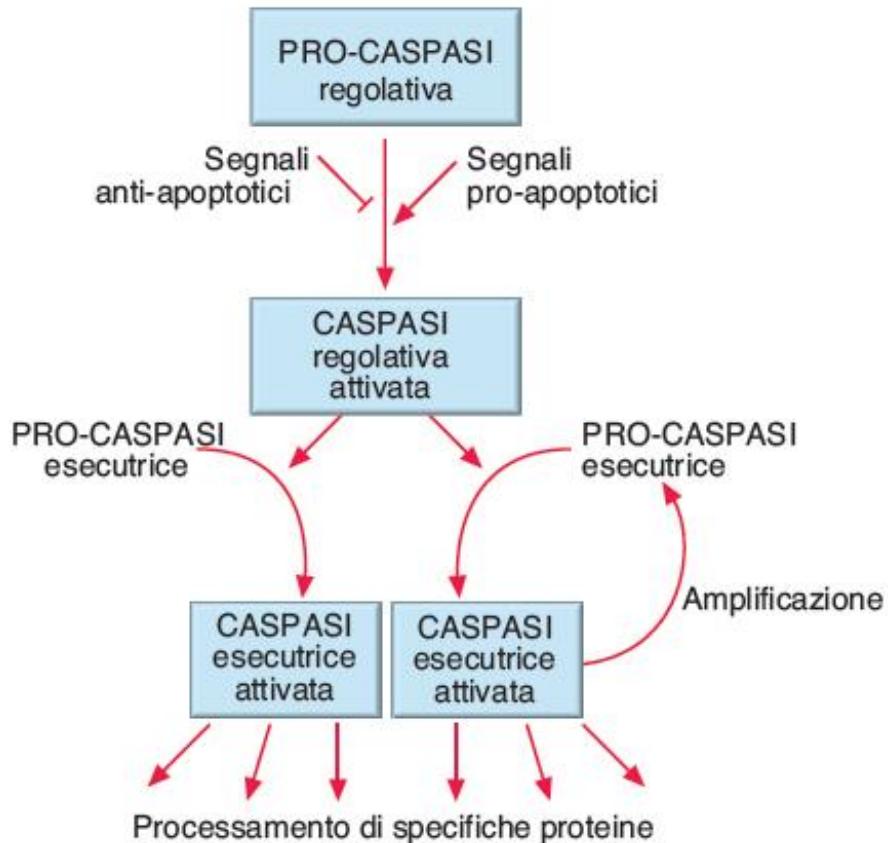


FIGURA 7.43 La cascata proteolitica delle caspasi. Un segnale apoptotico attiva la caspasi regolativa, la quale processa le caspasi esecutrici in un sistema di amplificazione a cascata. Le caspasi esecutrici processano specifiche proteine cellulari, innescando così i cambiamenti morfologici tipici dell'apoptosi.

Via estrarinseca o recettoriale: recettori di morte-Fas (presente su tutte le cellule)

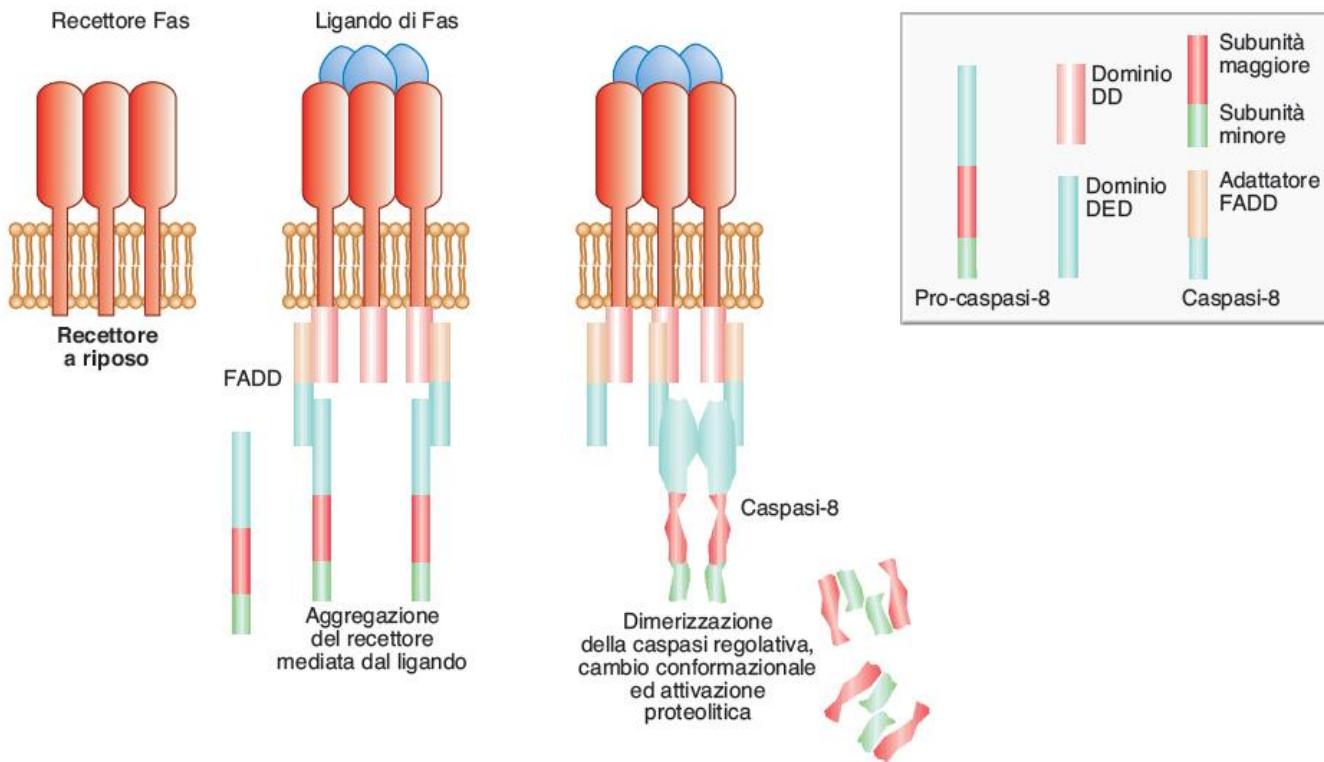


FIGURA 7.44 Attivazione della caspasi-8 mediata dall'interazione di FasL (ligando) con FasR (recettore). FasL induce l'aggregazione del recettore, successivamente la proteina FADD si lega al dominio di morte del recettore mediando, a sua volta, il reclutamento del pro-enzima caspasi-8 presso il recettore, grazie all'interazione tra i due domini DED. L'avvicinamento di più monomeri di pro-caspasi-8 stimola l'oligomerizzazione di più pro-enzimi con il conseguente cambio conformazionale richiesto per l'innesto dell'attività proteolitica. Il complesso proteico che controlla l'attivazione di caspasi-8 è denominato DISC. Caspasi-8 può essere rilasciata dopo processamento proteolitico dal DISC e processare i suoi substrati tra i quali la caspasi esecutrice caspasi-3 e la proteina BH3-only Bid.

- ✓ **FADD:** Fas associated DD
- ✓ **DD:** Death Domain
- ✓ **DED:** Death Effector Domain

- ✓ **caspasi 8:** regolatrice
- ✓ **caspasi 3:** esecutrice

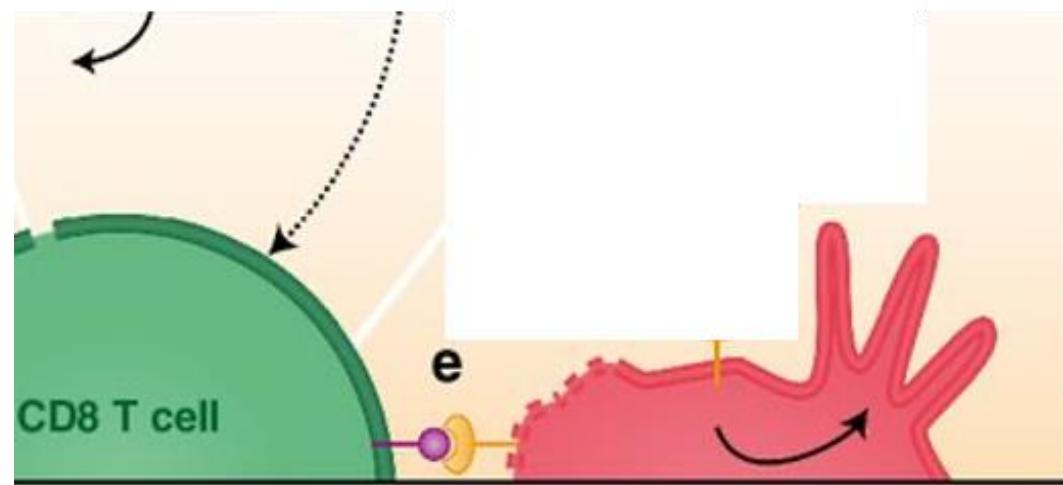
Via estrarinseca o recettoriale: recettori di morte-Fas

ESEMPI:

- Linfociti T maturi al termine della risposta immunitaria
- Cellule infettate da virus
- Cellule tumorali

MEDIATA DA:

- Linfociti T citotossici (ligando sulla superficie)
- Cellule Natural Killer (ligando sulla superficie)



Via intrinseca: cause

- Danno al DNA
- Perdita di Segnali di Sopravvivenza (Deprivazione di Fattori Trofici/Crescita):
- Accumulo di proteine malripiegate nel RE (stress proteotossico)
- Disfunzione mitocondriale

Via intrinseca- rilascio di citocromo c dai mitocondri

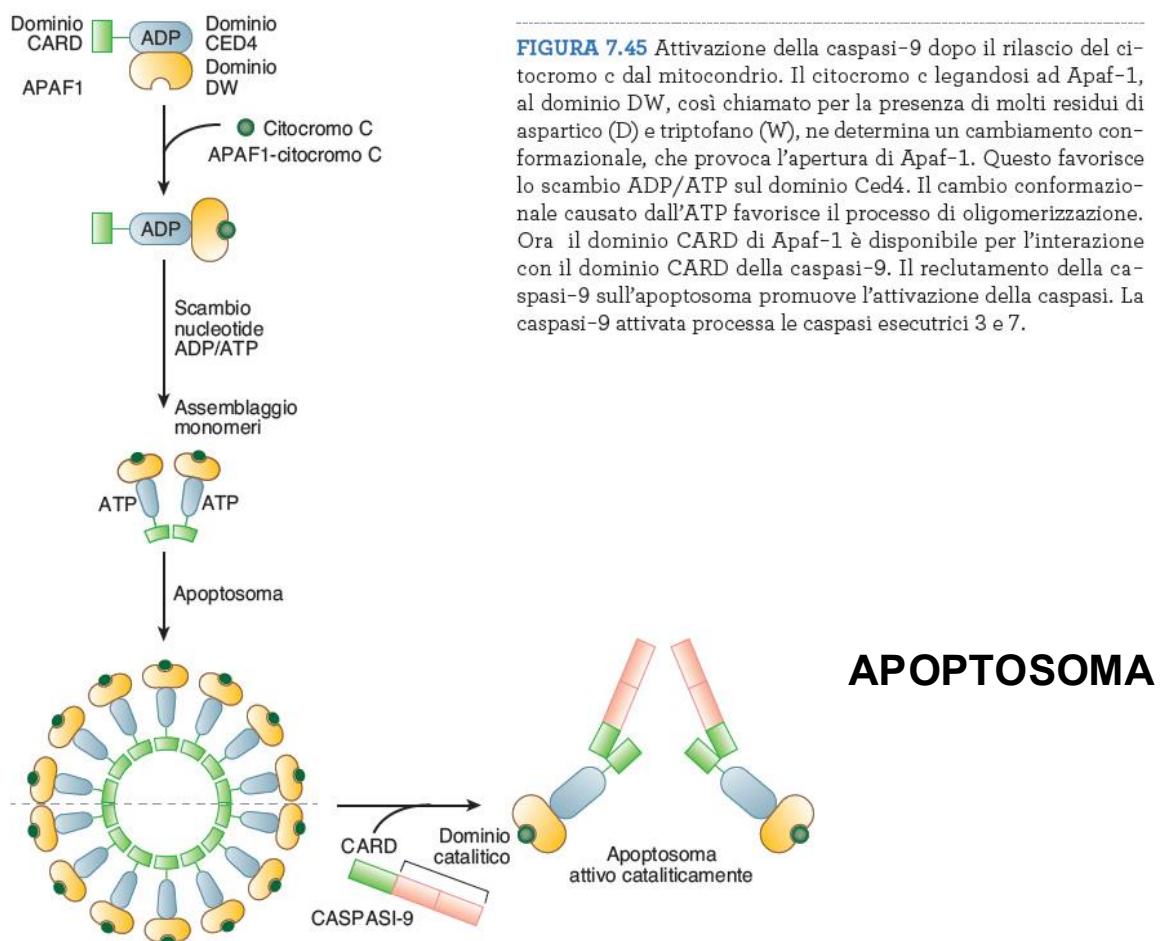


FIGURA 7.45 Attivazione della caspasi-9 dopo il rilascio del citocromo c dal mitocondrio. Il citocromo c legandosi ad Apaf-1, al dominio DW, così chiamato per la presenza di molti residui di aspartico (D) e triptofano (W), ne determina un cambiamento conformazionale, che provoca l'apertura di Apaf-1. Questo favorisce lo scambio ADP/ATP sul dominio Ced4. Il cambio conformazionale causato dall'ATP favorisce il processo di oligomerizzazione. Ora il dominio CARD di Apaf-1 è disponibile per l'interazione con il dominio CARD della caspasi-9. Il reclutamento della caspasi-9 sull'apoptosoma promuove l'attivazione della caspasi. La caspasi-9 attivata processa le caspasi esecutrici 3 e 7.

CARD: caspase activation and recruitment domain

APOPTOSOMA

- ✓ **caspasi 9:** regolatrice
- ✓ **caspasi 3, 7:** esecutrici

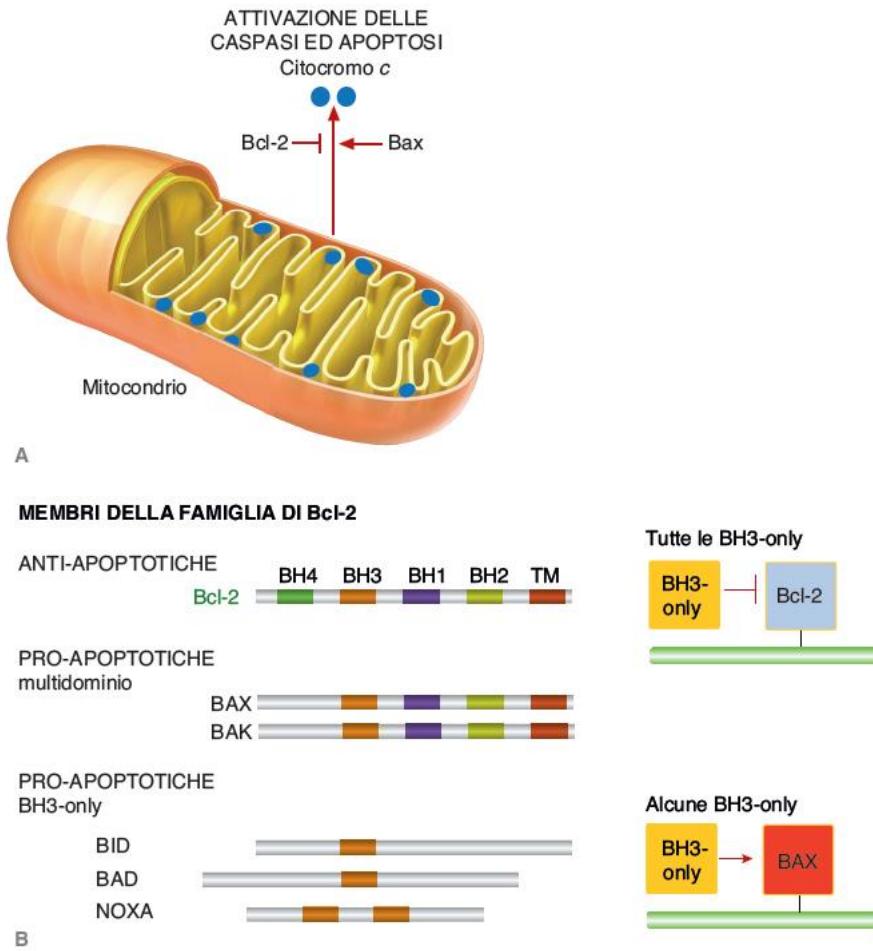


FIGURA 7.46 (A) Controllo della fuoriuscita del citocromo *c* dal mitocondrio da parte delle proteine della famiglia di Bcl-2. Bcl-2 anti-apoptotica, che contiene tutti e 4 i domini BH, blocca la fuoriuscita del citocromo *c* dal mitocondrio; al contrario, Bax pro-apoptotica, caratterizzata dalla presenza dei domini BH1, 2 e 3, ne facilita l'uscita. **(B)** Proteine della famiglia di Bcl-2. Rappresentazione di alcuni membri più rappresentativi della famiglia di Bcl-2 con l'indicazione dei diversi domini BH. TM indica la presenza di un dominio idrofobico per l'inserzione sulle membrane intracellulari, in particolare sulla membrana esterna del mitocondrio. Sono anche indicati i due principali meccanismi d'azione delle BH3-only.

Regolazione apoptosi intrinseca: Bax e Bcl2

Il rapporto Bcl2/Bax regola la **MOMP** (Permeabilità della Membrana Mitocondriale Esterna) consentendo o inibendo il rilascio di citocromo c dallo spazio intermembrana nel citosol

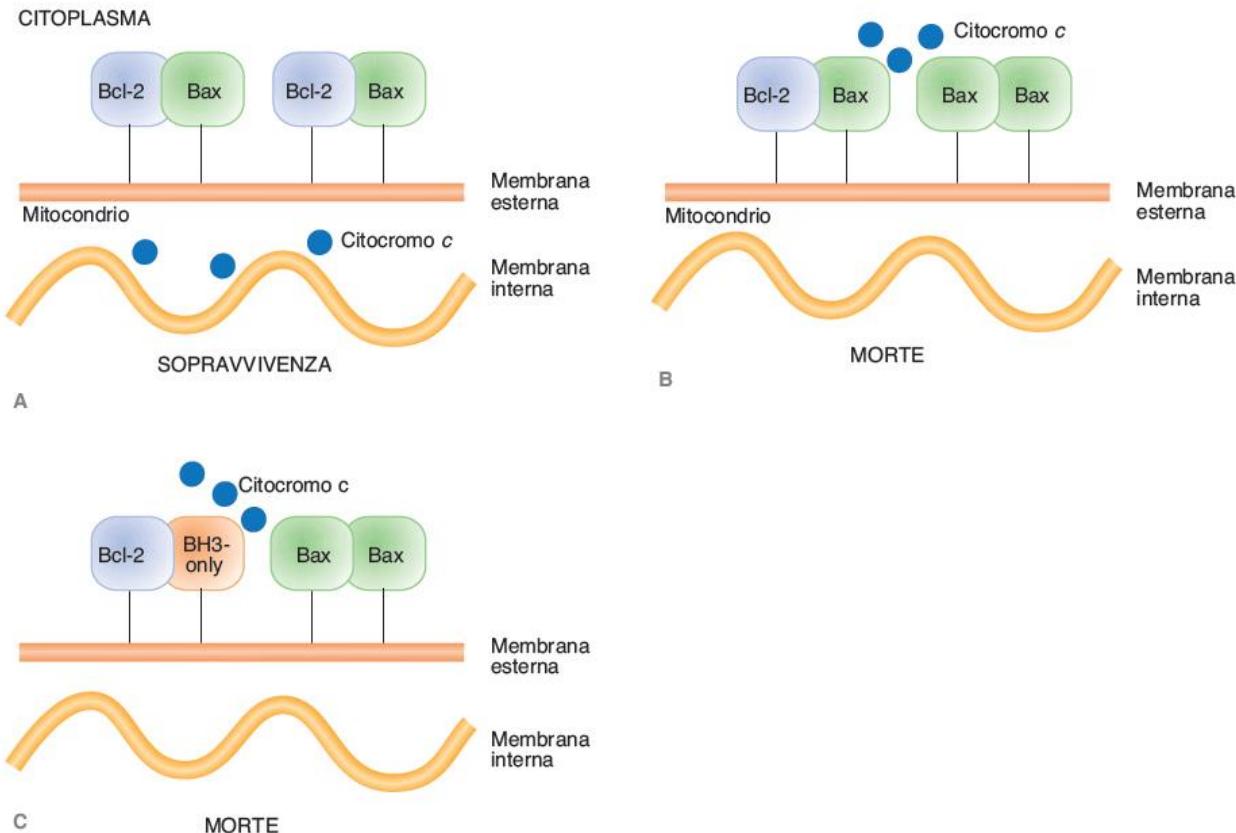


FIGURA 7.47 Meccanismi d'azione delle proteine della famiglia di Bcl-2. (A) Le proteine anti-apoptotiche del tipo di Bcl-2 sequestrano le proteine pro-apoptotiche multidominio del tipo di Bax, impedendo l'azione di quest'ultime nel rilascio del citocromo c dal mitocondrio. (B) Un aumento dei livelli della multidominio pro-apoptotica non viene più tamponato dalla proteina Bcl-2 anti-apoptotica. Bax oligomerizza e il citocromo c fuoriesce nel citoplasma. (C) L'arrivo di una proteina BH3-only pro-apoptotica compete con Bax per il legame all'anti-apoptotica Bcl-2. Ne consegue che Bax è libera di oligomerizzare e promuovere la fuoriuscita del citocromo c nel citoplasma.

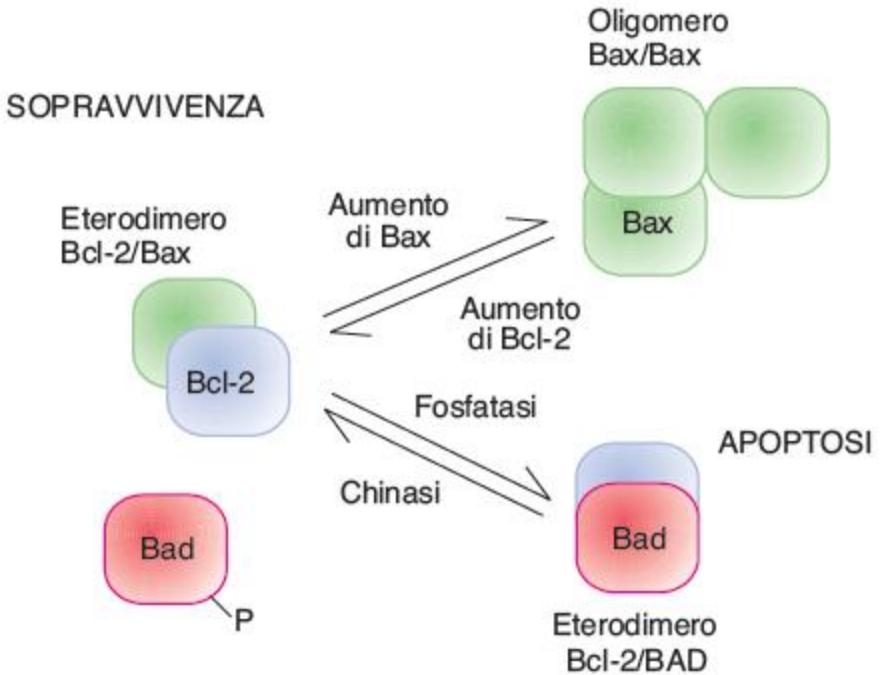
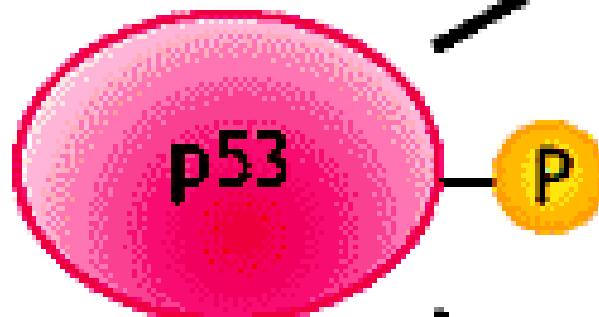


FIGURA 7.48 Regolazione delle proteine BH3-only della famiglia di Bcl-2. Il controllo dei livelli d'espressione delle proteine Bcl-2 anti- e pro-apoptotiche è cruciale per la sopravvivenza della cellula. Anche la fosforilazione contribuisce a regolare le interazioni tra i diversi membri della famiglia di Bcl-2. La BH3-only Bad, ad esempio, quando è fosforilata non esplica più la sua funzione pro-apoptotica perché non è più capace di sequestrare Bcl-2.



Attivazione
di p53



- danni

+ danni

Arresto del
ciclo cellulare
e riparo del
danno

Morte della
cellula per
apoptosi



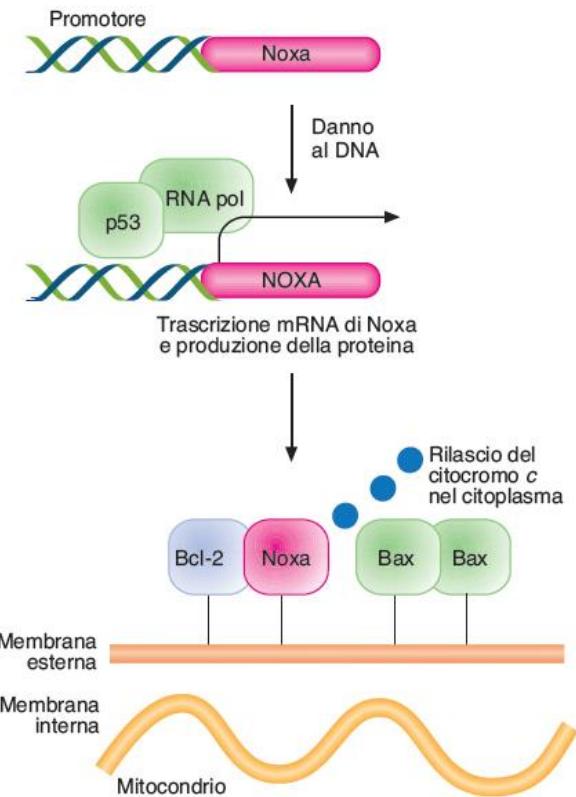


FIGURA 7.49 Regolazione delle proteine BH3-only della famiglia di Bcl-2. La proteina BH3-only Noxa è normalmente poco espressa nelle cellule. A seguito del danno al DNA o dell'aumento di proteine unfolded nel reticolo endoplasmatico aumentano i livelli dell'oncosoppressore p53, il quale lega il promotore del gene Noxa e ne stimola la trascrizione; di conseguenza aumentano i livelli della proteina Noxa sulla membrana esterna del mitocondrio ove Noxa si lega alle proteine Bcl-2 anti-apoptotiche, svincolando Bax dal legame con queste ultime. Bax può così oligomerizzare e promuovere il rilascio del citocromo c.

**In che modo p53 induce apoptosi?
Il ruolo di NOXA, una proteina BH3-only**

Attivazione della via intrinseca tramite la via estrinseca ruolo di BID (BH3-Interacting Domain Death agonist)

- BID (citoplasmatica) viene attivata dalla **caspasi-8** (la caspasi iniziatrice della via estrinseca)
- La forma attiva trasloca ai mitocondri, dove agisce come attivatore di Bax (BID possiede **soltanto il dominio BH3** e blocca anche Bcl2) innescando la MOMP e il rilascio del citocromo c.

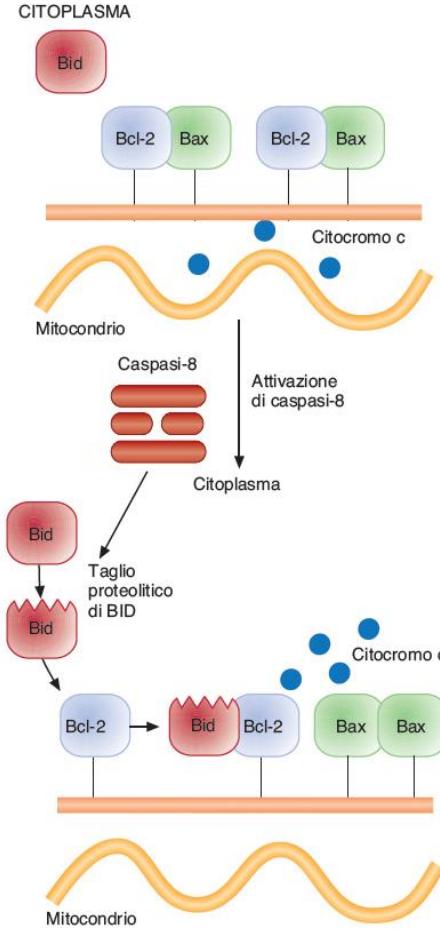


FIGURA 7.50 Regolazione delle proteine BH3-only della famiglia di Bcl-2. Bid, una proteina BH3-only presente nel citoplasma, costituisce un substrato della caspasi-8. Il processamento di Bid, indotto dalla caspasi-8, promuove la traslocazione di Bid sulla membrana esterna del mitocondrio, ove si lega alle proteine Bcl-2, anti-apoptotiche, svincolando Bax dal legame con queste ultime. Bax può così oligomerizzare e promuovere il rilascio del citocromo c.

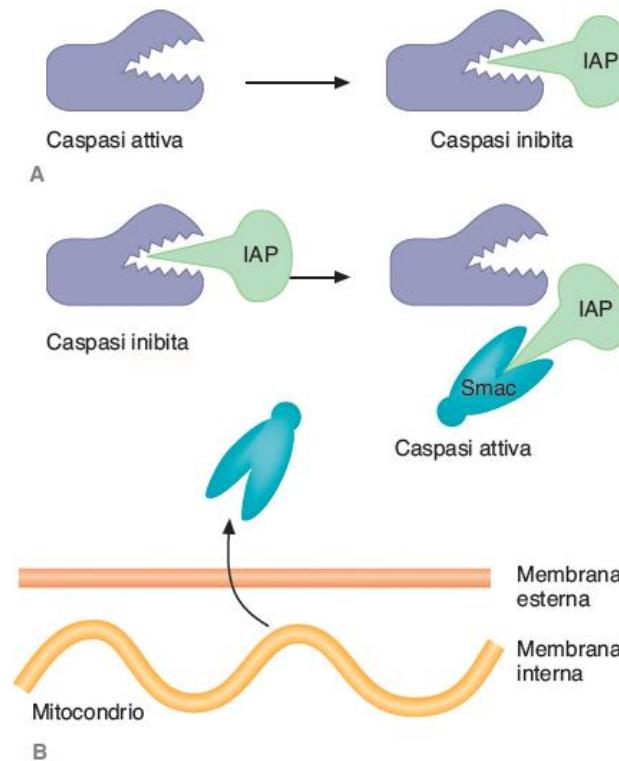


FIGURA 7.51 Inibitori delle caspasi. (A) Le proteine IAP (Inhibitor of Apoptosis Proteins) si complessano alle caspasi, riconoscendo delle sequenze amminoacidiche esposte dopo il processamento proteolitico. In questo modo le IAP occupano stericamente i siti catalitici e inibiscono l'attività enzimatica. (B) Le caspasi possono comunque essere attivate grazie al rilascio dal mitocondrio di proteine antagoniste delle IAP quali Smac. Queste proteine contengono delle sequenze amminoacidiche molto simili a quelle esposte dopo attivazione sulle caspasi e richieste dalle IAP per legare gli enzimi attivi. Smac e proteine analoghe agiscono da competitori delle caspasi per il legame alle IAP.

Inibitori delle caspasi

IAP: Inhibitor of apoptosis protein

Smac: Second mitochondrial activator caspase

IAP (Inhibitor of Apoptosis Proteins) si lega alle caspasi iniziatrici (come Caspasi-9) e alle caspasi effettive (come Caspasi-3 e Caspasi-7) attive per inibire la loro attività proteolitica.

Smac/DIABLO (Second Mitochondrial Activator of Caspases) risiede nello spazio intermembrana del mitocondrio. Una volta nel citosol, Smac si lega agli IAP, e ne blocca l'attività inibitoria sulle caspasi. Smac rimuove il freno (IAP) permettendo alle caspasi attivate (soprattutto dalla via dell'apoptosoma) di eseguire la morte cellulare.

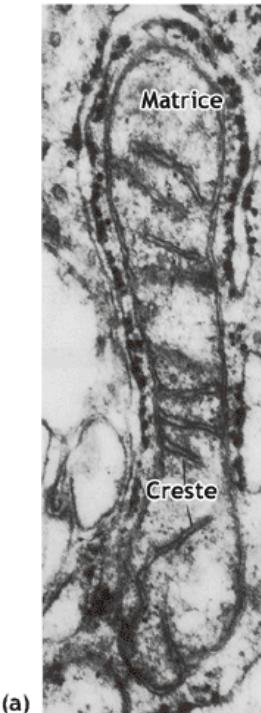


Mitocondrio: centrale energetica della cellula

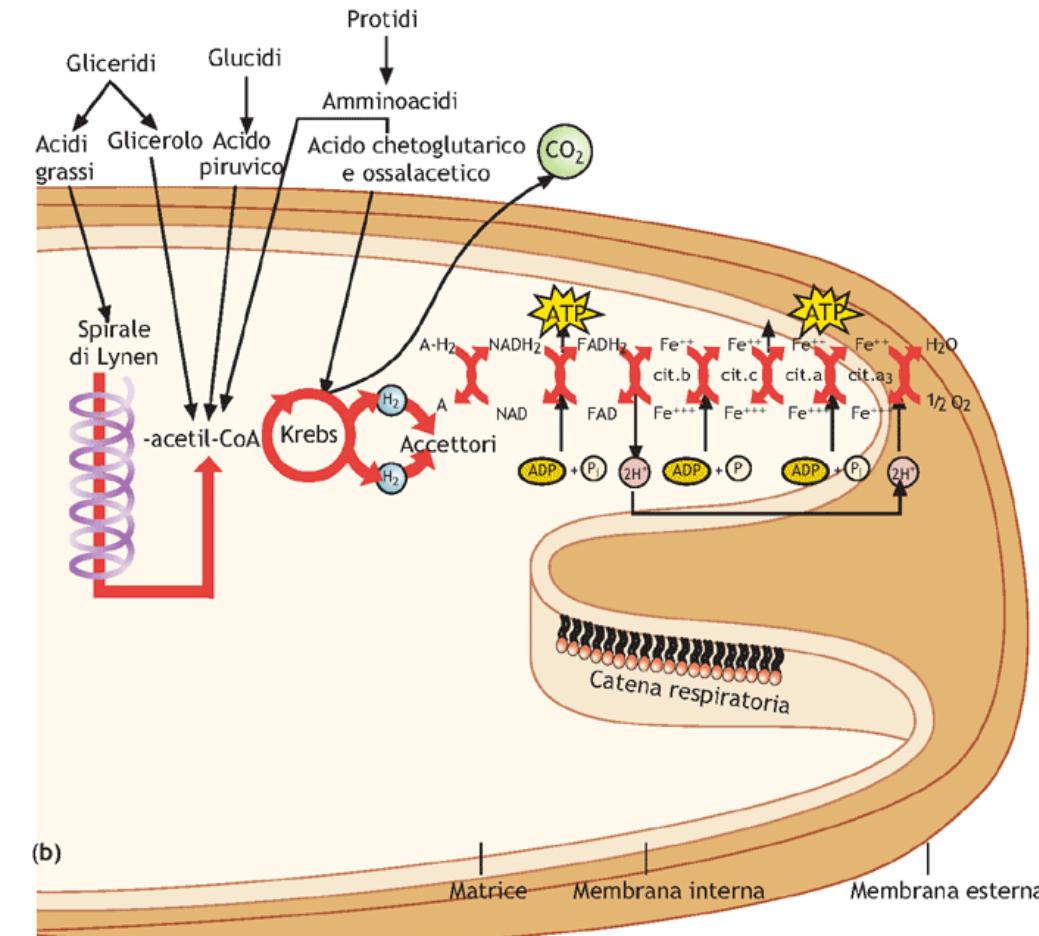
Carboidrati, amminoacidi e acidi grassi introdotti come alimento dentro le cellule vengono assorbiti dai mitocondri che li ossidano fino ad **CO₂** e **H₂O** (**respirazione cellulare- utilizzo di O₂**) e utilizzano l'energia ricavata per convertire adenosin-difosfato (ADP) in adenosin-trifosfato (ATP) mediante l'aggiunta di fosfato inorganico, ricostituendo così la tipica molecola responsabile dei trasferimenti di energia del mondo vivente.

Questo processo avviene in vari passaggi:

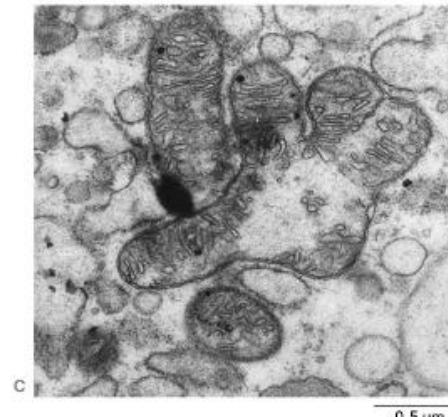
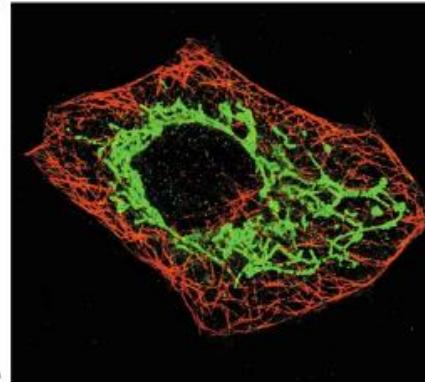
- 1) citoplasma: glicolisi del glucosio con formazione di piruvato
- 2) ossidazione acidi grassi- metabolismo aminoacidi- matrice mitocondriale
- 3) acetil CoA ciclo di Krebs - matrice mitocondriale- strappa elettroni che verranno ceduti alla catena di traporto degli elettroni a livello delle creste mitocondriali e l'energia ricavata verrà utilizzata per la sintesi di ATP (fosforilazione ossidativa).



(a)



Shiva, dio della creazione e della distruzione



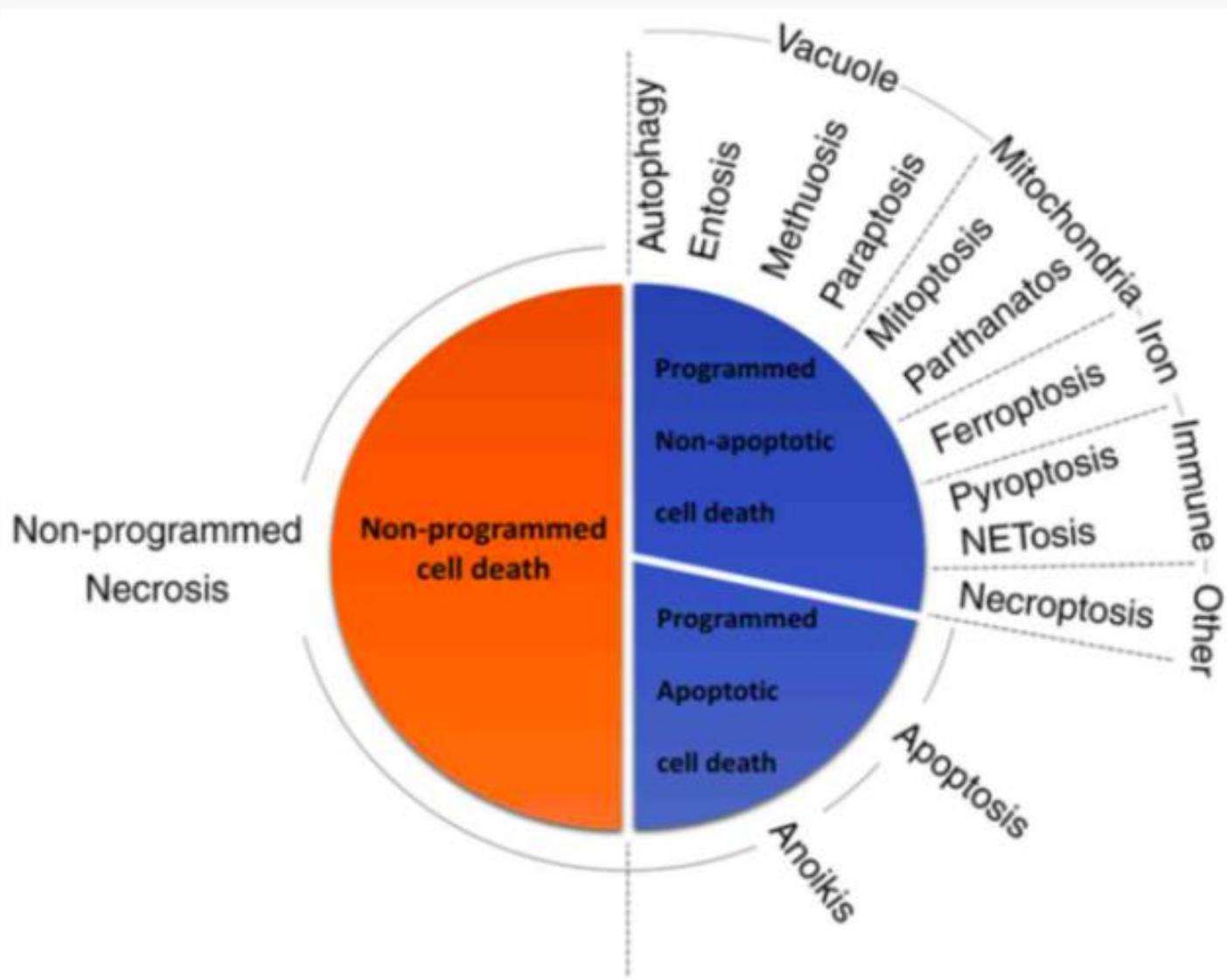
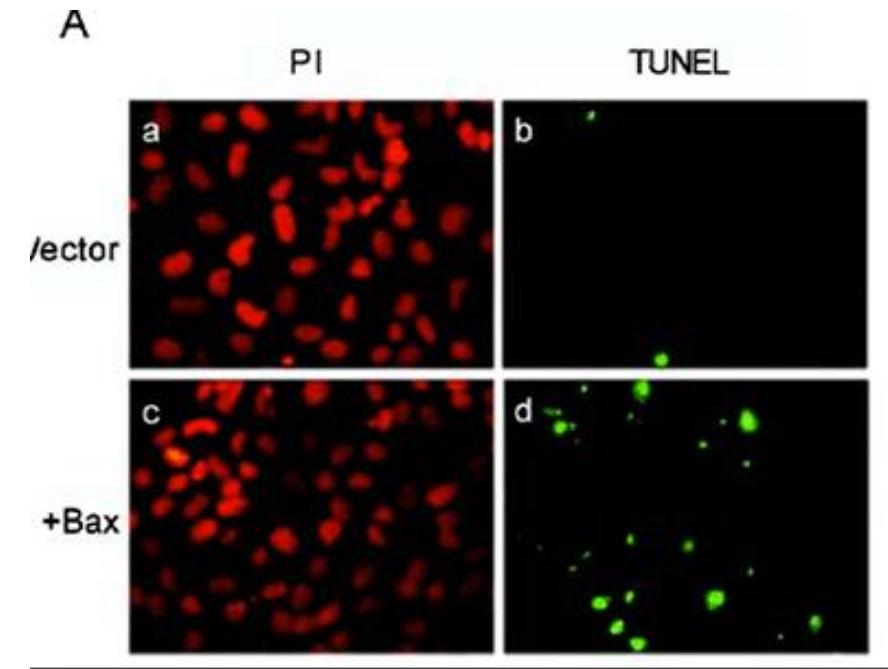
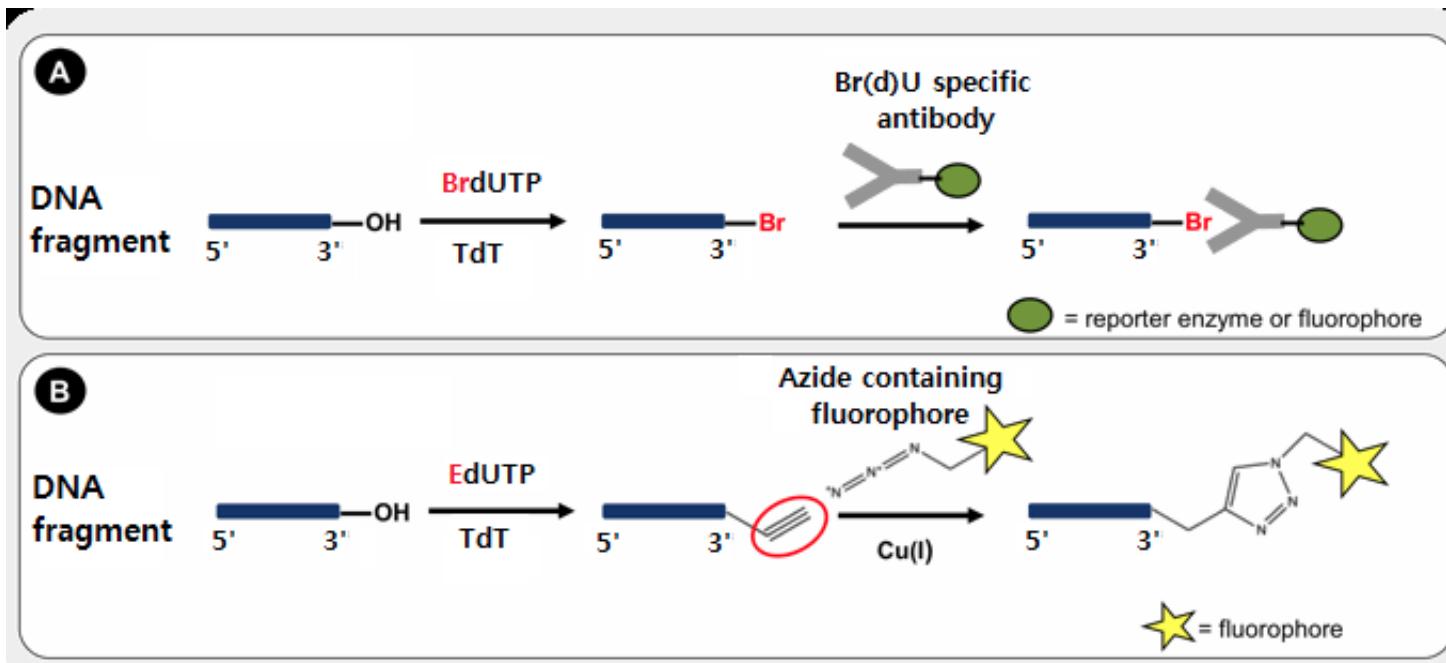


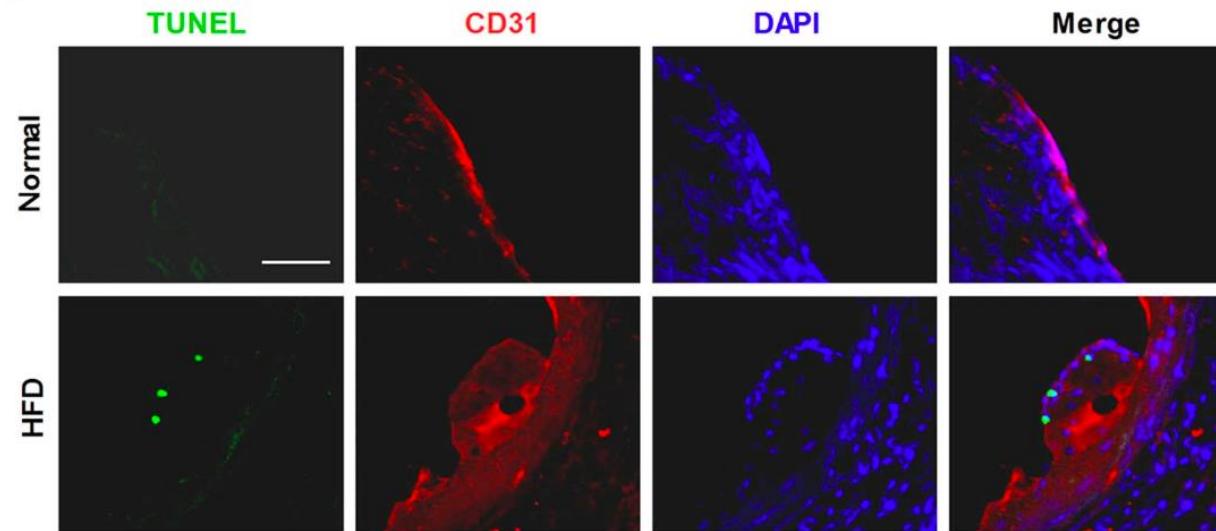
Figure 1 - Cell death classification. The cell death entities are categorized according to their signal-dependency, morphological characteristics and molecular mechanisms. The pie area in the figure does not represent the frequency of occurrence of each cell death.

Visualizzazione di apoptosi al microscopio: TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling)



Deossinucleotidil transferasi terminale aggiunge dUTP al 3'OH del DNA frammentato

e

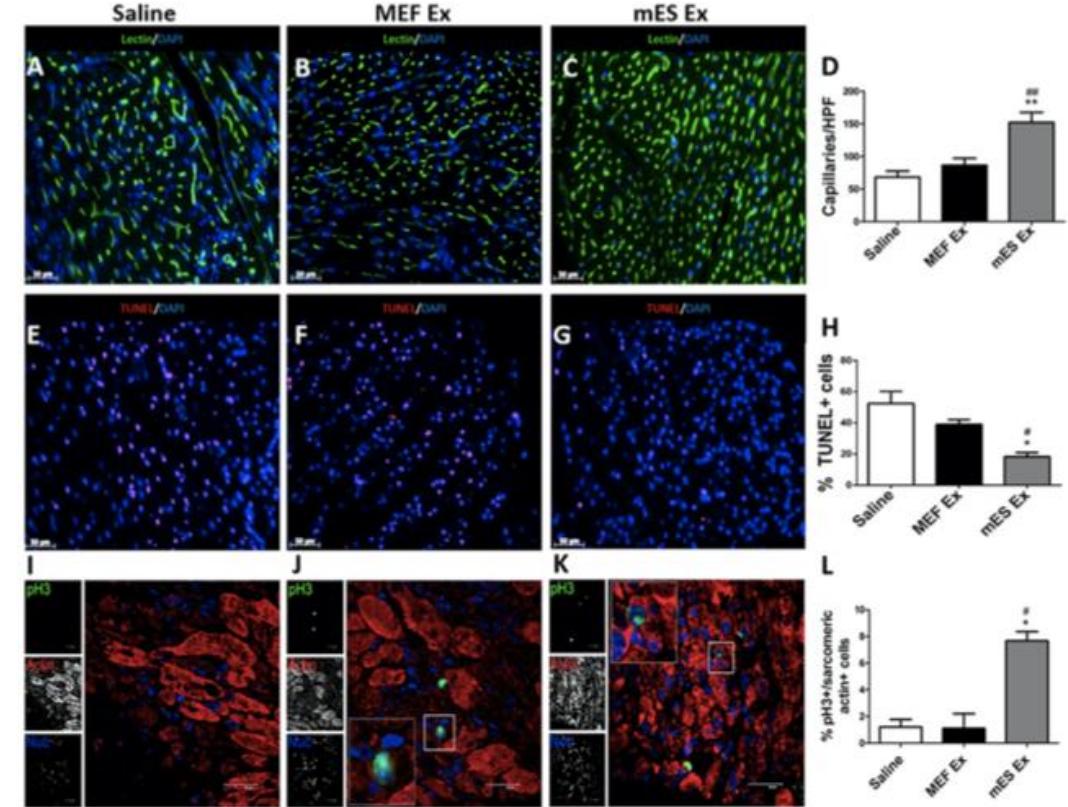


Characterization of atherosclerotic lesions in ApoE^{-/-} mice.

Apoptosi nell'endotelio dell'arco aortico

<https://doi.org/10.1038/srep09401>

Apoptosi endoteliale causata da
LDL (Low-Density-Lipoprotein) ossidate



Apoptosi cardiomiociti nel cuore infartuato

DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.117.305990

Cellule apoptotiche – fucsia

Saline- no trattamento

MEF Ex esosomi da fibroblasti

mES Ex esosomi da staminali

Visualizzazione di apoptosi al microscopio: TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) su tessuti

TUNEL Apoptosi in biopsie tumorali

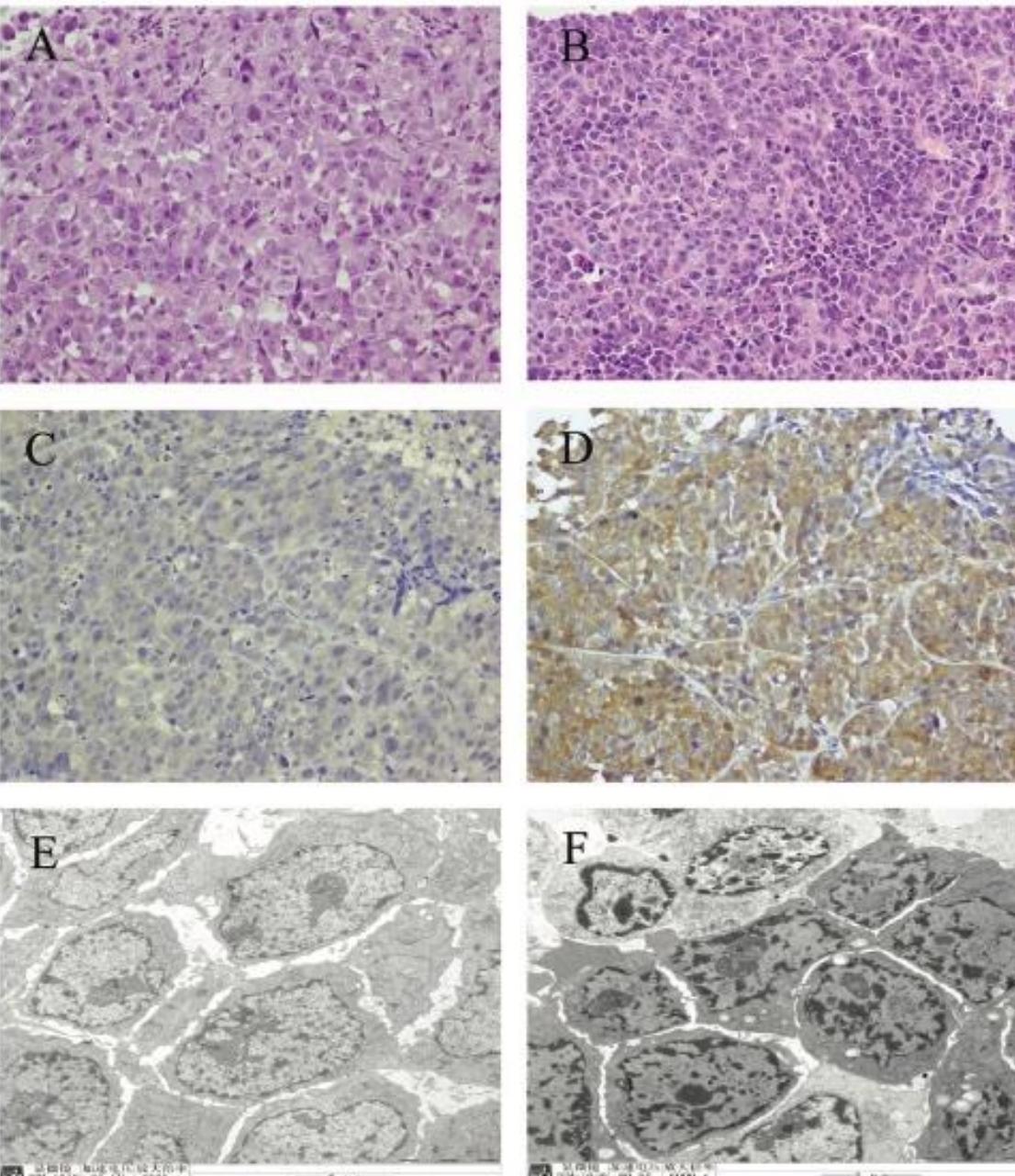
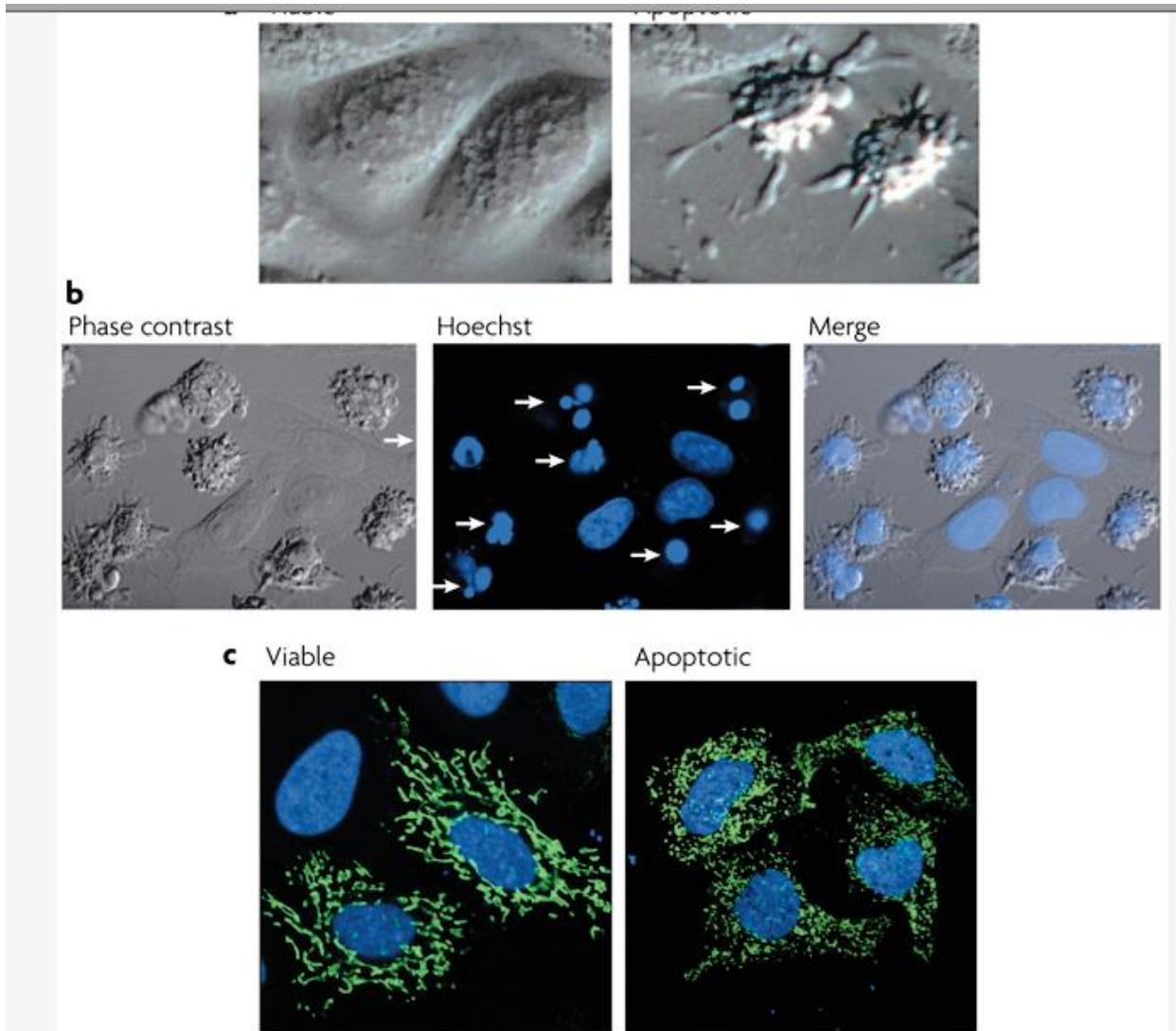


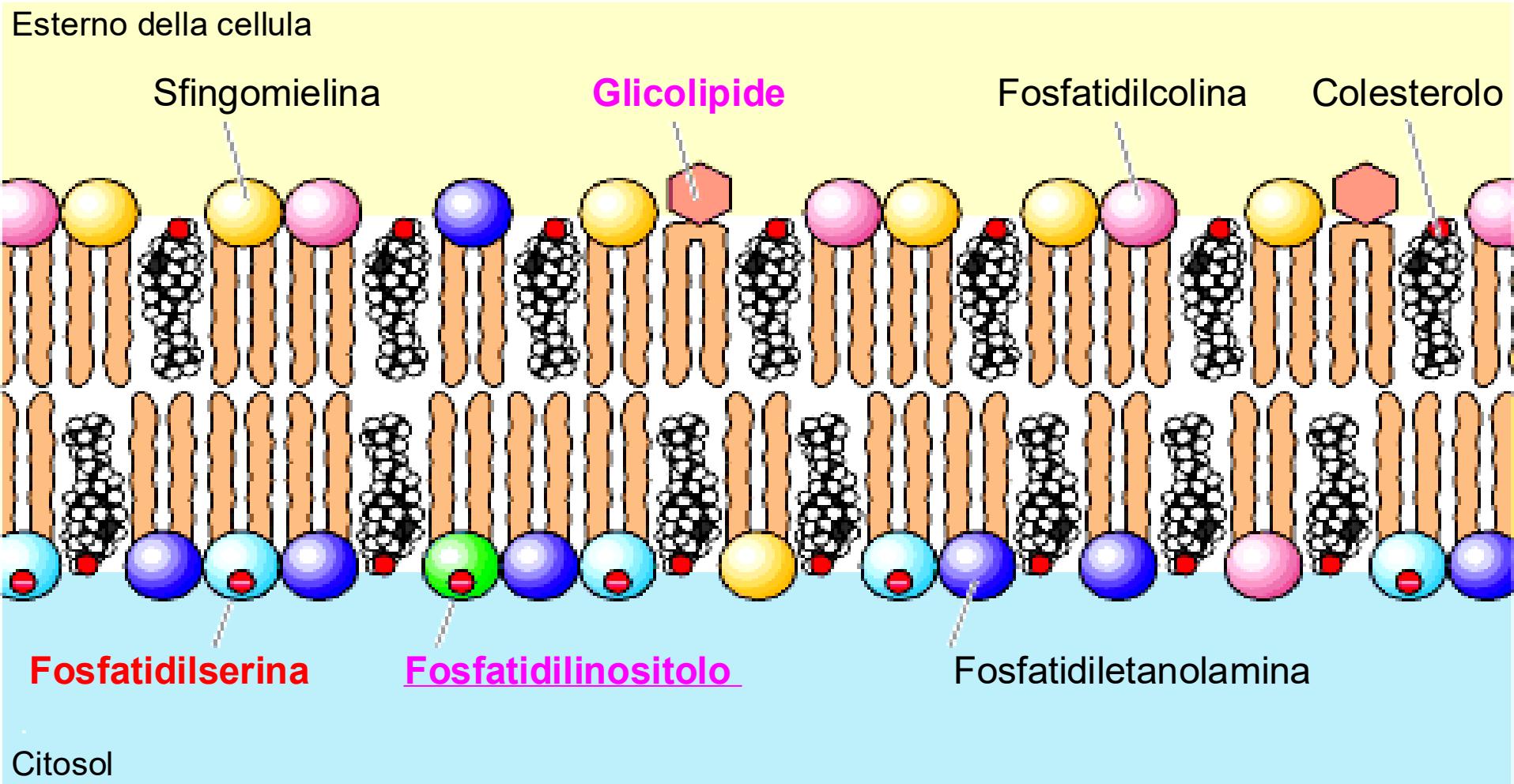
Figure 8. Representative images of the histological staining of tumor tissues and transmission electron microscopy (TEM), untreated tumor (A, C, and E), and paclitaxel-treated tumor (B, D, and F). (A and B) Hematoxylin and eosin staining (Original magnification $\times 400$). (C and D) TUNEL staining (original magnification $\times 400$). (E and F) Ultrastructural changes observed by TEM (original magnification $\times 6000$).

Visualizzazione di apoptosi in colture cellulari

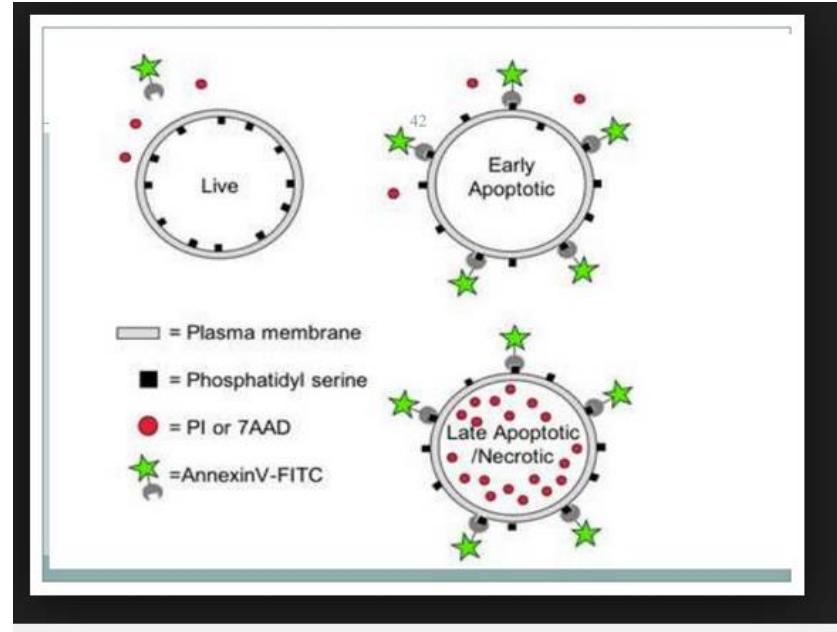


Colorazione di Hoechst (evidenzia il DNA)

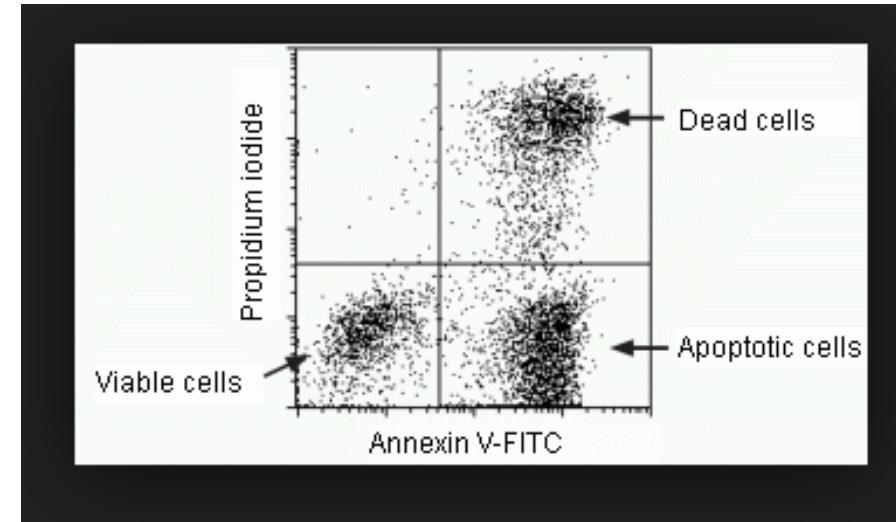
Asimmetria lipidi nella membrana plasmatica



Analisi citoflurimetrica della morte cellulare: annessina V (cellule apoptotiche) e ioduro di propidio (cellule necrotiche)



Colorazione



Analisi citoflurimetro



Necroptosis

- RIPK1 Receptor-Interacting Protein Kinase 1
RIPK3 Receptor-Interacting Protein Kinase 3
MLKL Mixed Lineage Kinase Like

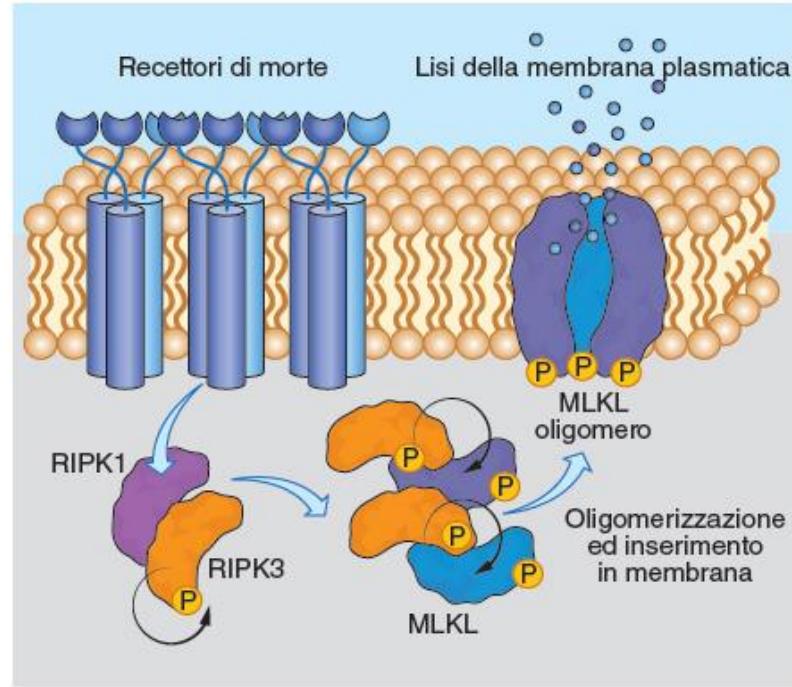
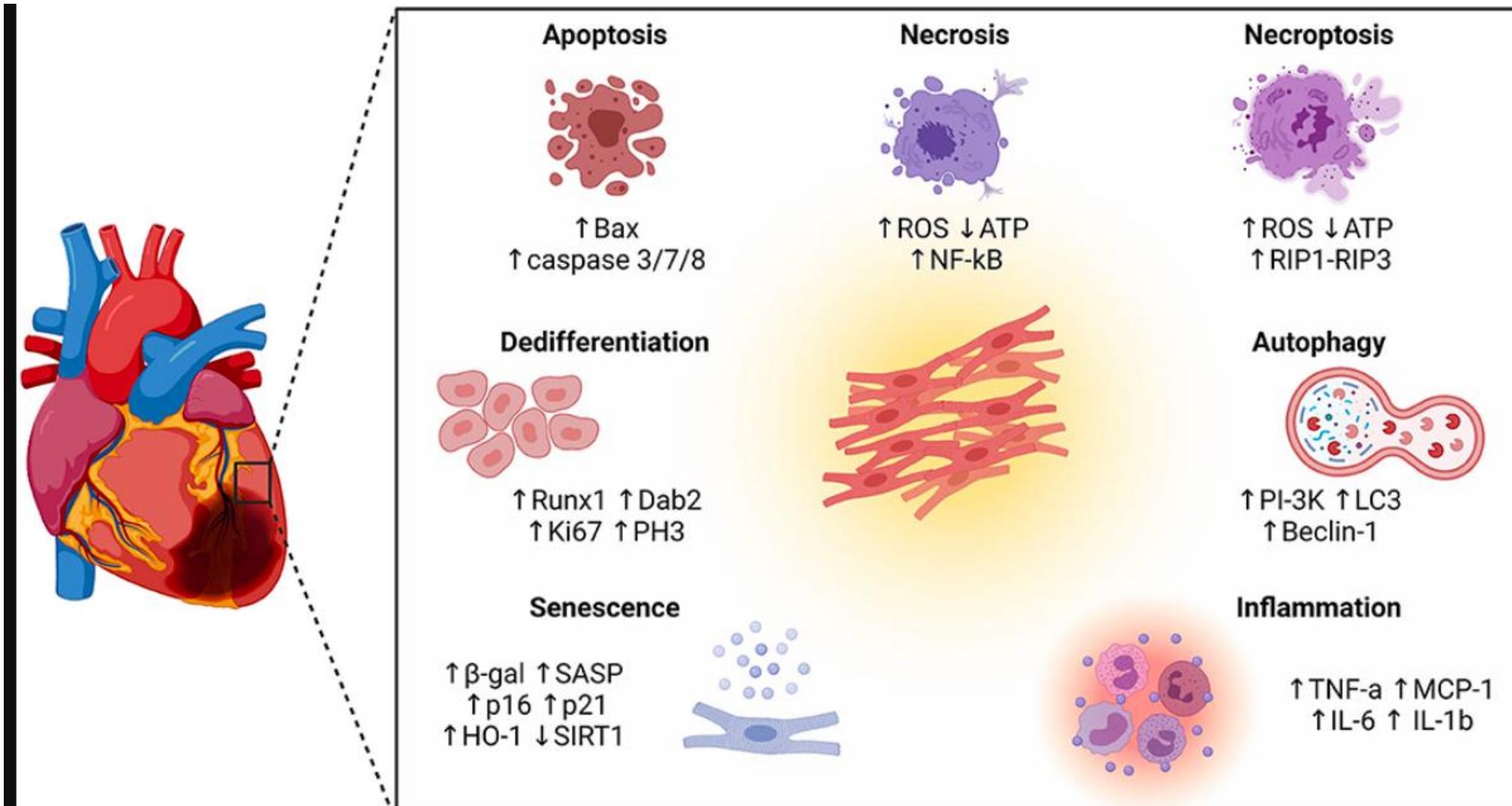
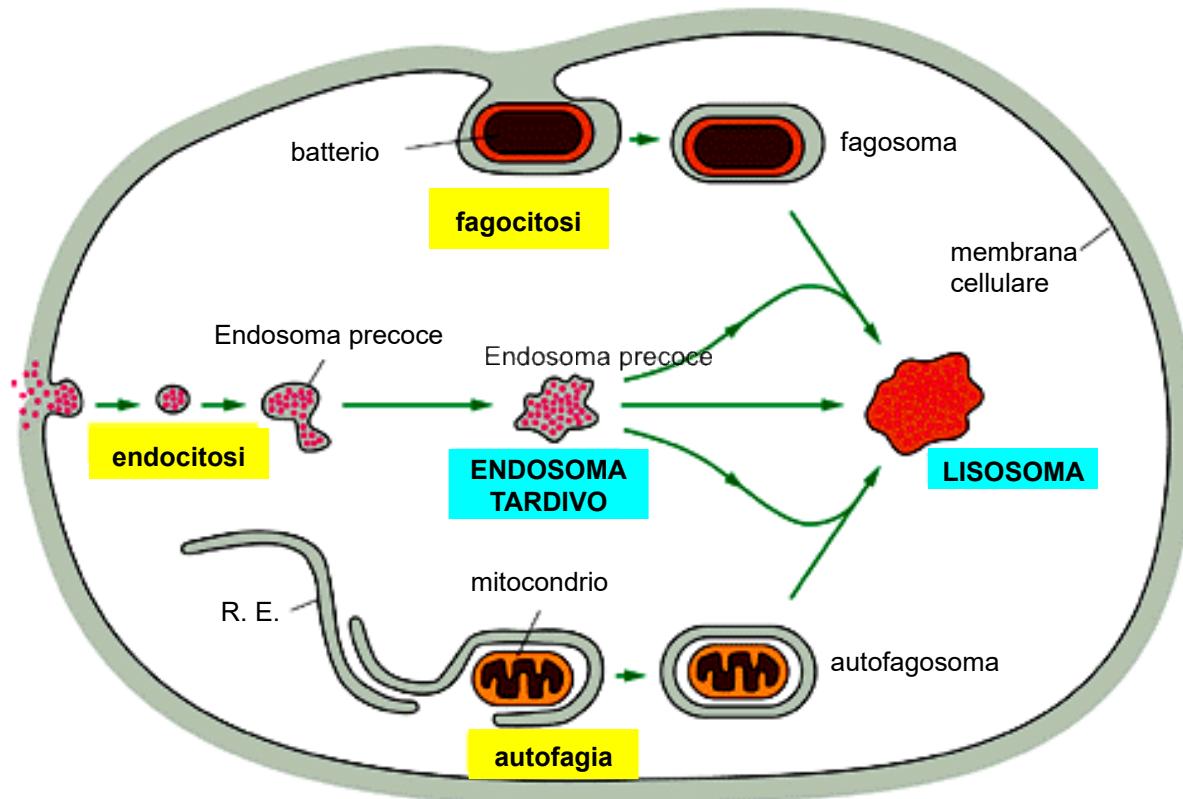


FIGURA 7.52 La necroptosi. L'attivazione dei recettori di morte (quali quello per il TNF- α o FAS) ma anche la presenza di virus, induce l'attivazione di RIPK1. A sua volta RIPK1, una volta attiva, interagisce e attiva la chinasi RIPK3 attraverso la fosforilazione. Una volta attivata, RIPK3 recluta e fosforila MLKL. MLKL fosforilata si assembla in oligomeri, che traslocano verso la membrana plasmatica, causando la rottura della membrana, il rilascio di componenti cellulari e l'innesto dell'infiammazione.

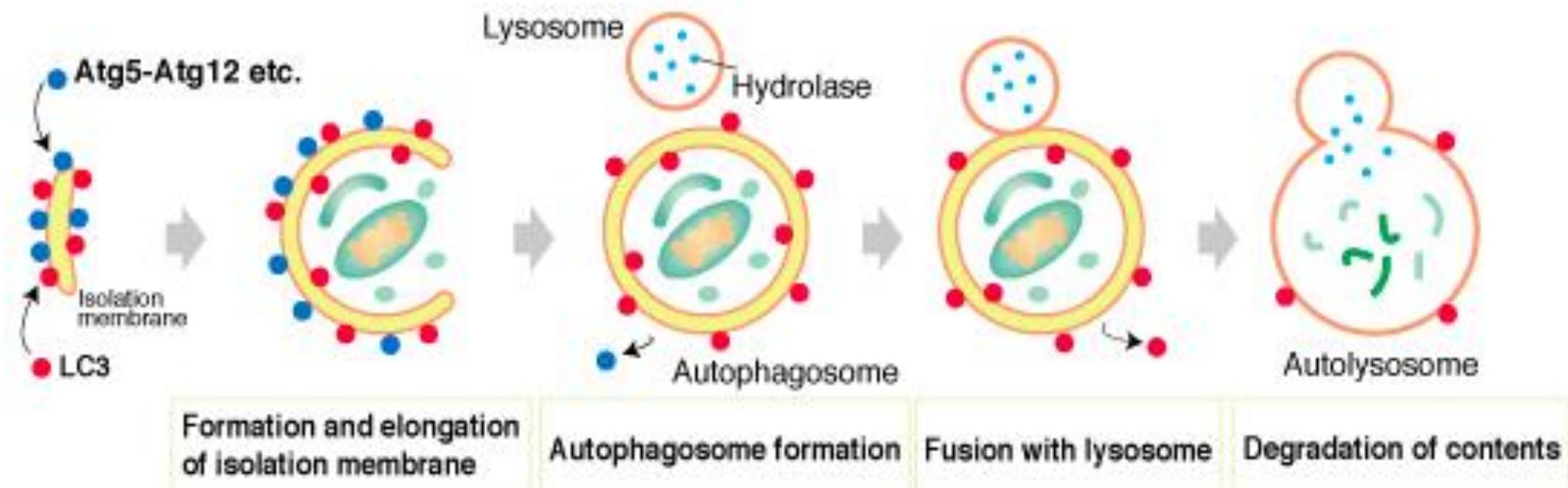


Autofagia



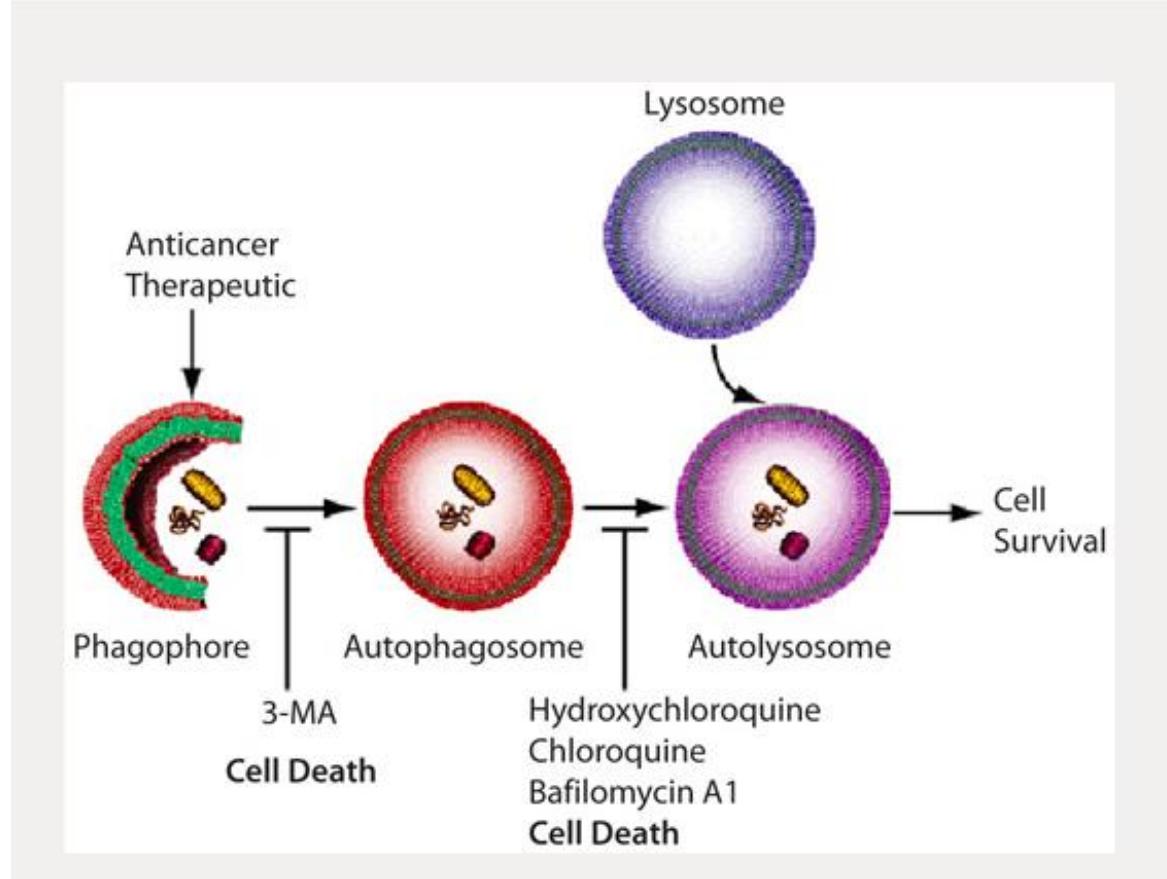
Processo di degradazione di costituenti citoplasmatici nel lisosoma

Autofagia



Processo di formazione dell'autofagosoma

Autofagia



Le cellule tumorali hanno bisogno di autofagia per sopravvivere;

Il blocco dell'autofagia può essere un modo per bloccare la crescita tumorale

[Cell Death & Differentiation](#) volume 27, pages 843–857(2020)

HOME > SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE > VOL. 10, NO. 443 > CARDIOPROTECTIVE EFFECTS OF AUTOPHAGY: EAT YOUR HEART OUT, HEART FAILURE!

 | EDITORS' CHOICE | MYOCARDIAL INFARCTION



Cardioprotective effects of autophagy: Eat your heart out, heart failure!

GAETANO SANTULLI

SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE • 30 May 2018 • Vol 10, Issue 443 • DOI: 10.1126/scitranslmed.aau0462

 2



Piroptosis

Attivazione di PAMPs/DAMPs (recettori immunità innata) →

Assemblaggio dell'Inflamasoma →

Attivazione Caspasi-1 →

1) Matura IL-1 β (Infiammazione, recluta globuli bianchi)

2) taglia Gasdermina →

Formazione di Pori →

Lisi

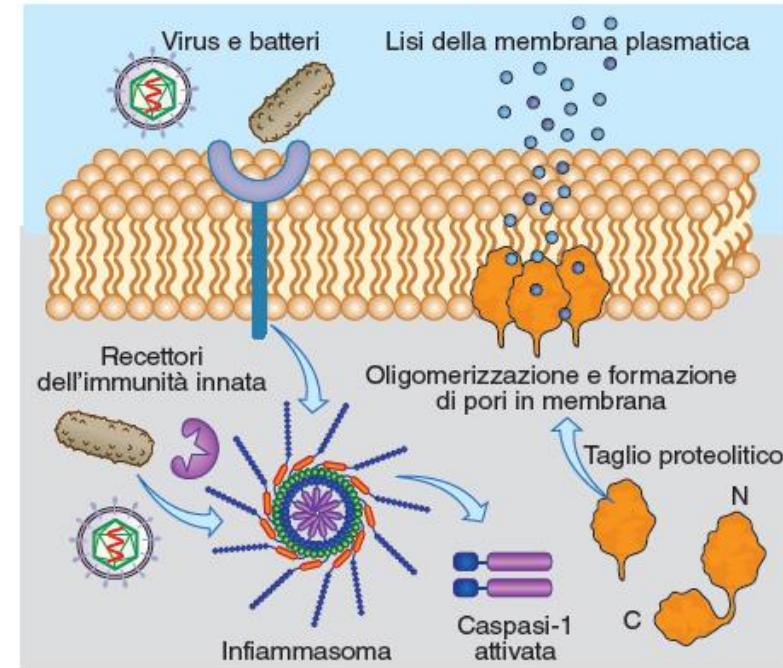


FIGURA 7.53 La piroptosi. L'attivazione dei recettori dell'immunità innata (PRR) avviene grazie al riconoscimento di particolari strutture ripetute caratteristiche dei batteri e dei virus. L'attivazione dei PRR porta alla formazione di un complesso multiproteico (che per certi versi ricorda l'apoptosoma), richiesto per l'attivazione della pro-caspasi-1. La caspasi-1 attivata oltre a processare la citochina infiammatoria IL1B (non rappresentata) processa le gasdermine, generando una regione amino-terminale che si inserisce nella membrana plasmatica. Qui oligomerizza, formando dei pori che rilasciano contenuti cellulari e portando così alla morte cellulare.