

Lezione numero 1, 12/10/20 – Prof. Feliciello

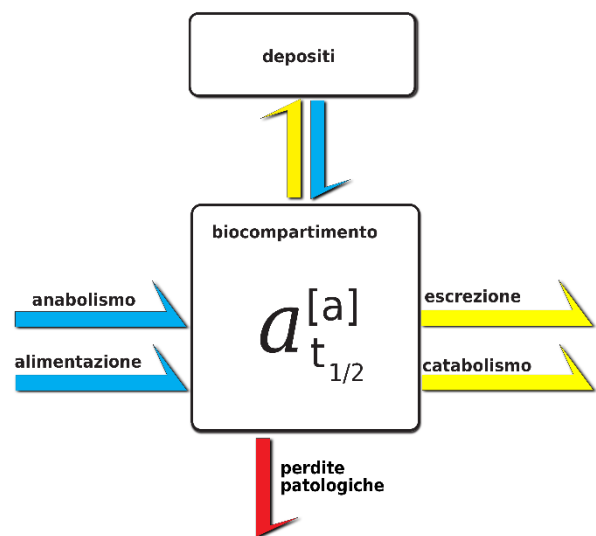
Introduzione alla patologia generale, apoptosi, necrosi e necroptosi.

La patologia generale è una branca della medicina che studia tutto ciò che riguarda l'**eziologia** (→ cause) e la **patogenesi** (→ meccanismi molecolari) delle malattie. Essa si basa sull'anatomia, la biologia, la genetica, la chimica e le varie altre discipline di base ed è il punto di raccordo tra queste discipline e la patologia sistematica. La patologia nasce formalmente con **Virchow**, il quale ha per primo definito la **patologia cellulare**: in contrasto con uno studio della patologia da un punto di vista macroscopico, lui è stato il primo ad affermare che *ogni malattia, intesa nel senso macroscopico, ha il suo fondamento in lesioni e alterazioni cellulari*. Un'altra definizione di condizione patologica può essere data considerando che l'OMS identifica "**lo stato di salute**" come uno **stato di benessere fisico, mentale e sociale**, in assenza di una di queste condizioni si può riscontrare una condizione patologica.

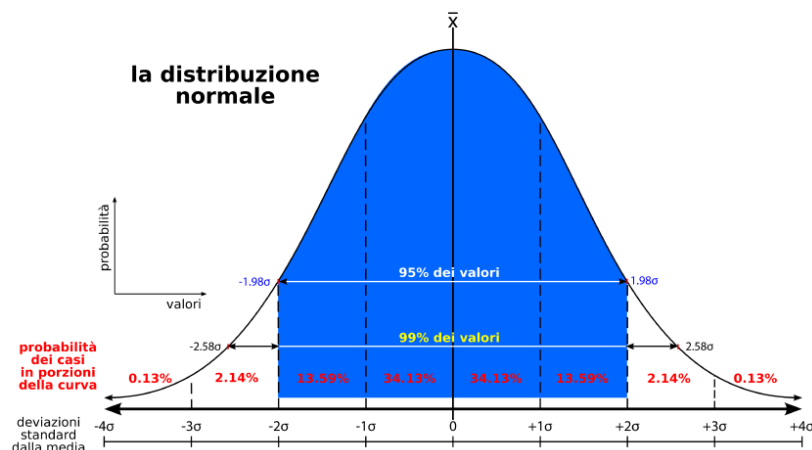
Le sostanze presenti nel nostro corpo possono avere diversi destini:

1. deposito o mobilizzazione;
2. catabolismo o anabolismo;
3. assunzione dall'esterno o escrezione.

In un soggetto sano, in ogni momento, è presente un equilibrio tra tutti questi eventi e tale equilibrio prende il nome di **omeostasi**. Nel momento in cui viene perso lo stato di omeostasi ed il nostro corpo non è in grado di adattarsi al cambiamento si instaura una condizione di malattia. Ad esempio: consideriamo un soggetto ipoteso, nel momento in cui questo soggetto viene esposto a forti sbalzi di temperatura non riesce ad adattare la sua pressione sanguigna e quindi può andare incontro alle crisi ipotensive.

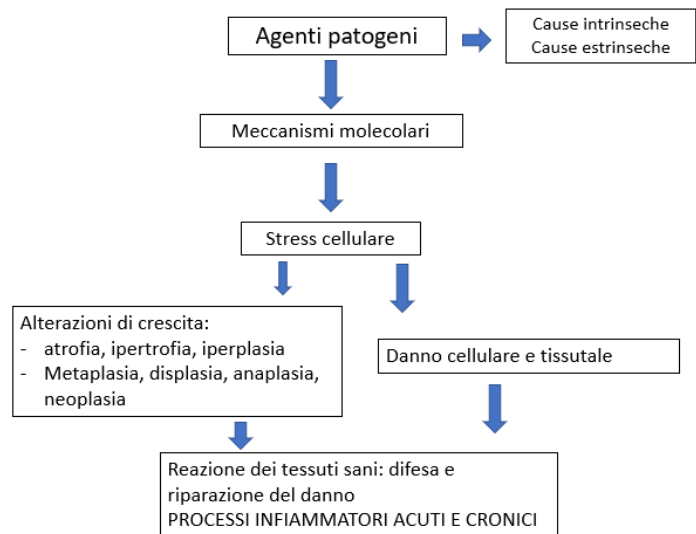


La **popolazione generale** può essere rappresentata **graficamente** utilizzando una **distribuzione normale** dove il 95% degli individui presenta un buono stato di salute (porzione blu) e il 5% della popolazione, diviso nelle due code, non presenta un buono stato di salute. Tuttavia, bisogna notare che quanto detto non indica *necessariamente* una condizione negativa per la funzionalità generale dell'organismo, infatti in determinati contesti questi soggetti "malati" potrebbero adattarsi meglio rispetto a quelli "sani" ed essere quindi portatori di un vantaggio dato proprio dalla loro malattia (→ vantaggio dell'eterozigote, ad esempio soggetti resistenti alla malaria perché portatori di HbS).



Ogni giorno veniamo a contatto con **agenti patogeni** i quali, talvolta, vengono definiti anche **agenti eziologici di malattia**; gli agenti patogeni possono essere sia intrinseci o che estrinseci. Ogni patologia ha una sua eziologia ma spesso essa è ignota e dunque si parla di malattia a eziopatogenesi non conosciuta o idiopatica.

Gli **agenti intrinseci** sono agenti endogeni o costituzionali e nella maggior parte dei casi tali agenti sono gli stessi geni che subiscono mutazioni; ad esempio un agente patologico intrinseco è il gene della distrofina che quando muta causa la “distrofia”. Gli **agenti estrinseci** invece sono agenti provenienti dall'esterno. Dato che la presenza di un agente patogeno non esclude l'altro spesso capita che una patologia sia causata da più agenti patogeni, questo vuol dire che quindi è possibile avere una predisposizione genetica per una certa patologia ma per la sua manifestazione è necessario anche il contributo di un agente patogeno estrinseco.



Con **patogenesi** si definisce il meccanismo molecolare con cui un agente eziologico causa una malattia. Facciamo un esempio considerando l'AIDS:

- l'agente patogeno è il virus HIV (agente patogeno esterno);
- il meccanismo patogenetico è l'eliminazione tramite apoptosi o necrosi dei linfociti T CD4 helper.

In seguito all'inizio del meccanismo patogenesi viene a generarsi uno stress cellulare che può risolversi in:

1. alterazioni di crescita: atrofia, ipertrofia, iperplasia;
2. alterazioni nei processi di differenziamento cellulare: metaplasia, anaplasia, displasia, neoplasia;
3. danno cellulare e tissutale;
4. morte cellulare.

Le reazioni dei tessuti allo stress cellulare determina, spesso, la genesi di **processi infiammatori acuti e cronici** attraverso i quali le cellule e i tessuti rispondono ad un determinato danno cellulare. A questo proposito è importante ribadire che **l'infiammazione non è una condizione patologica** ma è uno dei sistemi di difesa del nostro organismo contro un agente patogeno.

Le malattie possono essere classificate secondo vari criteri, secondo il criterio temporale è possibile distinguere:

1. malattie acute → si sviluppano e si risolvono in un arco di 4-5 settimane;
2. malattie croniche → durano mesi o anni.

Il decorso completo di una malattia consta di tre fasi: inizio, decorso clinico, guarigione. Ovviamente non tutte le malattie si articolano in queste tre fasi poiché è come che una patologia si risolva con la morte del soggetto o con la cronicizzazione dello stato patologico, escludendo in entrambi i casi il momento della guarigione. Inoltre, occorre precisare che questa classificazione non descrive in alcun modo la **severità** dello stato patologico, infatti esistono malattie sia croniche che acute che possono dare sintomatologia lieve o grave. Ancora, anche se la malattia viene superata, essa può lasciare sequele o avere delle complicanze.

È possibile classificare le patologie in base ad un criterio **topografico**:

1. **focali**: si sviluppano in un sito specifico. Esempi di patologie focali possono essere gli stadi precoci di un cancro oppure un ascesso;
2. **diffuse**: ad esempio la meningite, è importante sottolineare che quando una malattia interessa un intero sistema è più corretto definirla sistemica;
3. **multifocali**: hanno più foci, un esempio è una malattia esantematica;
4. **generalizzate**: riguardano l'intero organismo e quindi sono diffuse in tutto il corpo.

In linea di massima è possibile affermare una malattia maggiormente diffusa a livello tissutale darà un quadro patologico più grave.

Altri criteri in base a cui distinguere le malattie sono:

1. **criterio funzionale**:
 - **malattie metaboliche**: sono alterazioni nel metabolismo di una determinata sostanza, come ad esempio la mucopolisaccaridosi;
 - **malattie psichiatriche**: sono malattie con alterazioni della sfera neuropsichica del soggetto.
2. **criterio eziologico** (si classificano in base all'agente patogeno): **genetica o virale**;
3. **criterio epidemiologico**:
 - **malattie stagionali**: alcuni tipi di febbre sono dovute a particolari tipi di infezioni che ricorrono nel tempo.

Considerando che alcune malattie sono ad eziologia sconosciuta, esse non possono essere classificate sotto questo punto di vista. Un esempio di malattia ad eziologia ignota è la SLA, infatti nel 90% dei casi l'eziologia resta ignota ed è nota unicamente la patogenesi e cioè la morte neuronale (nello specifico dei neuroni motori). I **fattori eziologici** possono essere distinti in esogeni ed endogeni; quelli esogeni sono più variabili è possibile distinguere fattori chimici, fisici e microbiologici mentre quelli endogeni sono dovuti ad alterazioni genetiche e cromosomiche. In base alla capacità dei fattori eziologici di causare lo stato di malattia è possibile distinguerli in:

1. **causa determinante**: l'agente patogeno causa da solo la malattia, si parla spesso di mutazioni genetiche;
2. **causa coadiuvante o concausa**: è un fattore che contribuisce all'azione di un altro fattore patogeno nel causare la malattia, la maggior parte delle malattie richiede concause.

Alcune persone sono particolarmente sensibili rispetto ad un agente eziologico, tali individui vengono definiti *recettivi* verso quel determinato agente patogeno; le persone che invece non sono sensibili a quell'agente patogeno vengono definite *refrattarie* nei suoi confronti. Le persone possono essere resistenti agli agenti patogeni nel senso che il loro organismo è in grado di contrastare la sua presenza attuando varie strategie, come ad esempio quella dell'infiammazione.

La **patogenesi** può essere distinta in:

1. degenerativa → Alzheimer;
2. proliferativa → tumori;
3. infiammatoria.

È interessante notare come spessissimo le malattie abbiano una patogenesi multipla; oggi è molto produttiva la ricerca sull'associazione tra cancro e infiammazione, infatti si è osservato che i tessuti infiammati cronicamente sono quelli che possono più frequentemente determinare genesi tumorale. Per ogni malattia va sempre considerato lo studio a partire dai sintomi fino all'aspetto molecolare e viceversa ed è quindi imprescindibile la corretta conoscenza della sua eziopatogenesi (che nella maggior parte dei casi è multipla).

APOPTOSI

L'apoptosi è un tipo di morte cellulare che fu individuata nel 1972, tuttavia questo processo rimase non approfondito a sufficienza per molti anni a causa dell'inadeguatezza delle tecnologie di quel periodo. L'avvento della biologia molecolare ha reso palese l'esistenza e l'importanza fisiologica di questo evento cellulare e ci ha permesso di individuare le proteine e i geni coinvolti nell'intero processo. L'apoptosi è definita come un **"fisiologico suicidio cellulare programmato"** necessario per la normale omeostasi del turnover cellulare e durante l'embriogenesi.

L'apoptosi è un suicidio programmato e attivo in quanto esiste un ben definito sistema di geni e proteine che si attiva in momenti specifici e in risposta a stimoli specifici. L'apoptosi è un processo importantissimo in molte patologie umane, infatti alterazioni a suo carico provocano malattie che agiscono sulla proliferazione sia in senso negativo che in positivo:

1. una **eccessiva apoptosi** porta a degenerazione tissutale come nel caso dell'Alzheimer, Parkinson e malattie neurodegenerative o di alcune malattie a base autoimmune (artrite reumatoide) o virale (AIDS);
2. una **ridotta apoptosi** porta a eccessiva proliferazione cellulare di cellule danneggiate e ciò porta all'instaurarsi delle cosiddette malattie proliferative.

L'apoptosi è un processo geneticamente determinato e sistematico che interessa tutte le cellule dell'organismo ed è particolarmente abbondante nei tessuti in cui vi è continuo ricambio cellulare come ad esempio nell'intestino, nell'epidermide e in tutti i distretti caratterizzati dalla presenza di **cellule labili**. L'apoptosi è un fenomeno che si distingue nettamente dalla necrosi poiché la **necrosi** è un processo causato da un danno irreversibile ed esteso ad intere aree di tessuto ed è caratterizzata da fenomeni diversi in dipendenza del tessuto e della natura del danno. In caso di necrosi la cellula si rigonfia ed esplose, rilasciando il suo intero contenuto nello spazio extracellulare e questo evento è responsabile dell'attivazione del processo di infiammazione; inoltre nella necrosi è assente il fenomeno della fagocitosi. Invece l'apoptosi è un fenomeno fisiologico, avviene con le stesse modalità in tutti i tessuti e la cellula apoptotica risulta essere morfologicamente differente da quella necrotica perché:

1. non scoppia, bensì collassa e **si raggrinzisce**;
2. forma delle **vescicole** sulla superficie dovute all'invaginazione della membrana;
3. si frammenta e porta alla formazione di **corpi apoptici**, dei frammenti cellulari rivestiti da membrana che non scatenano una risposta infiammatoria.

Il motivo per cui l'apoptosi non genera infiammazione è che durante il processo viene esposta verso lo spazio extracellulare la fosfatidilserina (NB: in cellule sane essa è posta esclusivamente verso il versante intracellulare) e ciò costituisce un segnale di attivazione per i macrofagi che eliminano tutti i residui.

Caratteristica	Necrosi	Apoptosi
Volume cellulare	Aumentato (rigonfiamento)	Ridotto (contrazione)
Nucleo	Picnosi → cariorecessi → kariolisi	Frammentazione in frammenti di dimensioni nucleosomiche
Membrana citoplasmatica	Danneggiata	Intatta; struttura alterata, soprattutto nell'orientamento lipidico
Contenuto cellulare	Digestione enzimatica; può essere perso dalla cellula	Intatto; può essere secreto in corpi apoptotici
Infiammazione delle aree adiacenti	Frequente	Assente
Ruolo fisiologico o patologico	Sempre patologico (culmine del danno cellulare irreversibile)	Spesso fisiologico, quale mezzo per eliminare le cellule indesiderate; può essere patologico in seguito ad alcuni tipi di danno cellulare, soprattutto dopo un danno a carico del DNA

Le cellule apoptotiche e quelle necrotiche sono molto diverse tra loro per varie ragioni, una di queste è il destino a cui va incontro il DNA. Nel caso dell'apoptosi il DNA viene degradato da nucleasi specifiche che sono in grado di tagliare il DNA a livello del DNA linker in modo tale da isolare i nucleosomi o gruppi di nucleosomi; in seguito a questa attività nucleasica selettiva si ottiene, in seguito ad elettroforesi su gel d'agarosio, un peculiare pattern di separazione che viene definito *ladder* (a scala). Nel caso della necrosi questa degradazione selettiva del DNA non si verifica e quindi dopo l'elettroforesi si ottiene un pattern che viene definito *smear* (strisciato).

Meccanismi molecolari dell'apoptosi

Il numero di cellule dell'organismo che ogni giorno vengono ricambiate è di 10^{13} , la velocità di proliferazione e quella di morte devono essere ben controllate per evitare di incorrere in disordini da accumulo o perdita di cellule e la comprensione dei meccanismi alla base dell'apoptosi è fondamentale.

L'apoptosi è stata individuata per la prima volta in *C. Elegans*, un nematode che inizialmente è costituito da 1090 cellule ma che alla fine del suo sviluppo risulta essere costituito da 959 cellule (perde *sempre* 131 cellule). Ulteriori studi hanno evidenziato che in *C. Elegans* esistono tre geni fondamentali che controllano il meccanismo apoptotico:

- **CED-3** e **CED-4**: codificano per proteine *pro-apoptotiche*;
- **CED-9**: codifica per inibitori di CED3 e CED4 ed esplica, dunque, attività *anti-apoptotica*.

L'avvio del processo di apoptosi è determinato dai **mitocondri**. Quando la cellula riceve un segnale di morte il mitocondrio va incontro a rigonfiamento, rottura della membrana e formazione di pori e la fuoriuscita delle sostanze che esso contiene dà il via alla necrosi o all'apoptosi. Il fatto che la cellula vada verso l'uno o l'altro destino dipende dalla presenza o meno di adeguate scorte di ATP all'interno della cellula. Nel primo caso il mitocondrio è in grado di rilasciare il **citocromo C** che attiva le caspasi e la cellula si avvia quindi verso l'apoptosi, nel secondo caso la cellula non è più in grado di generare ATP, si riduce la differenza di potenziale tra le due membrane, aumentano i ROS e la cellula muore per necrosi.

Il processo di apoptosi può essere diviso in tre parti:

1. ricezione del segnale di morte;
2. attivazione delle caspasi;
3. morte della cellula.

In base al pathway di attivazione è possibile distinguere una **via intrinseca** (mitocondriale) e una **via estrinseca** (recettoriale) dell'apoptosi.

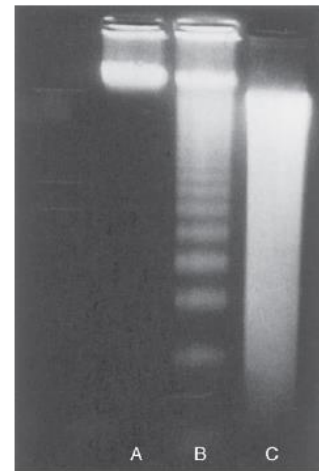


FIGURA 1.23 Elettroforesi su gel di agarosio di DNA estratto da colture cellulari. Colorazione con bromuro di etidio; fotografato a luce ultravioletta. **Pozzetto A.** Coltura di cellule vitali. **Pozzetto B.** Coltura di cellule esposte al calore che mostrano un'estesa apoptosi; si noti l'aspetto a scala (*ladder*) dei frammenti di DNA, che rappresentano multipli di oligonucleosomi. **Pozzetto C.** Coltura che mostra necrosi cellulare; si noti la strisciata (*smearing*) diffusa del DNA. (Da Kerr JFR, Harmon BV: Definition

