

Marcia (adattati)

O...

Muori!*



** tutto quello che avreste voluto sapere su come le cellule reagiscono allo stress...ma non avete osato chiedere...*

Maurizio Romano, PhD
Dipartimento di Scienze della Vita
Edificio R – Stanza 219
<http://tinyurl.com/edificior>
<http://tinyurl.com/maurizioromanoita>

Università di Trieste
Via A. Valerio, 28
Tel: 040-3757316
e-mail: mromano@units.it

Risposte cellulari allo stress

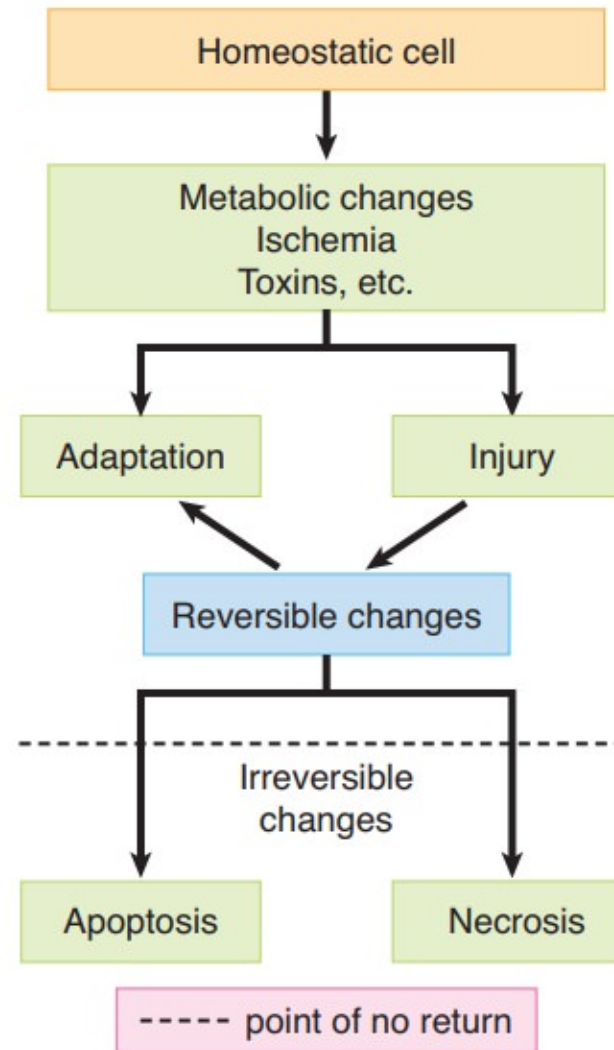


Figure 2-2. Cellular Response to Stress and Injurious Stimuli

Considerazioni generali sul Danno cellulare

1) **VULNERABILITÀ**: sistemi intracellulari particolarmente vulnerabili:

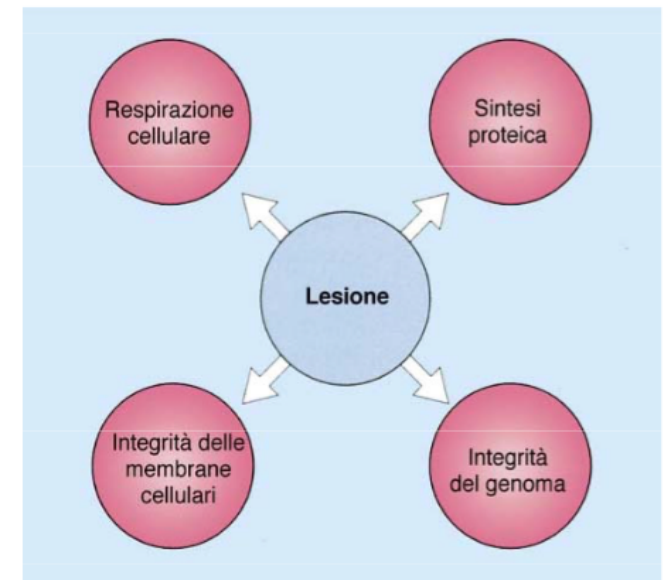
- A) Respirazione aerobia
- B) Integrità delle membrane
- C) Sintesi degli enzimi e proteine strutturali
- D) Integrità genetica della cellula

2) **INTERCONNESSIONE**: gli **elementi strutturali e biochimici** della cellula sono così **strettamente correlati fra loro**, che qualunque sia il punto iniziale su cui lo stimolo lesivo agisce, **al danno localizzato seguono effetti secondari**.

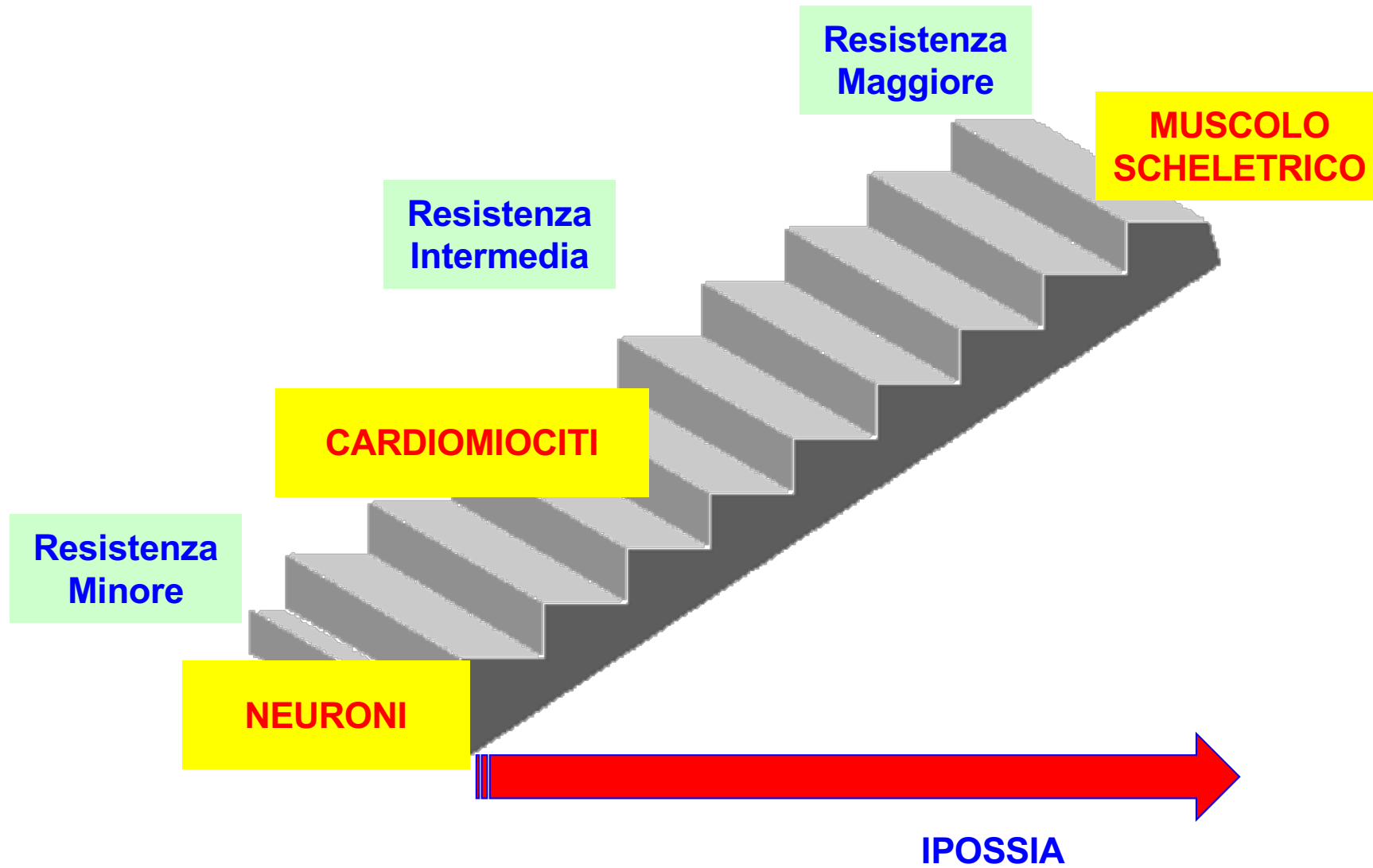
3) **Alterazioni morfologiche**: **diventano evidenti solo dopo che è stato leso qualche sistema biochimico critico**.

4) **ESITO del DANNO**: **dipende da**

- Tipo, durata ed intensità della stimolo lesivo
- &
- Tipo, stato nutritivo e capacità di adattamento della cellula interessata.



Tipi cellulari & resistenza all'IPOSSIA...



Effetti del rallentamento del metabolismo...

Michi, 15 anni, per 43 minuti sott'acqua: il risveglio al San Raffaele, miracolo della scienza

Portato in ospedale in condizioni disperate è stato salvato da un'intuizione dei medici: l'acqua fredda lo aveva come 'ibernato'. Poi un "super bypass" lo ha riportato in vita

di ALESSANDRA CORICA



Lo leggo dopo | 26 maggio 2015

Articoli Correlati

Zangrillo, San Raffaele: "Senza l'Ecmo non avremmo potuto"



Il San Raffaele

È rimasto sott'acqua per 43 minuti e quando l'hanno riportato a galla, il suo cuore era fermo. Tanto che tutti ormai pensavano non ci fosse nulla da fare. Portato al San Raffaele di Milano, però è riuscito a salvarsi. E, tra qualche giorno, sarà dimesso, in tempo per il match Juve-Barcellona del 6 giugno. Uno dei suoi primi pensieri: dopo essersi svegliato, ha subito chiesto: "Hanno già giocato la finale di Champions?".

Tweet

71

G+1

4

LinkedIn

0

Pinterest

MORTE APPARENTE (?)/ Ragazzo cade nel lago ghiacciato, torna in vita dopo 45 minuti

Publicazione: giovedì 5 febbraio 2015

Redazione

Bio-Rad Laboratories

Dedicated to Supplying Research Tools for Breakthrough Discoveries »



Immagine di archivio

Medici e infermieri che si sono occupati di lui non hanno altra parola per descrivere il suo caso se non "miracolo", come riportano in questi gironi diversi siti americani. John Smith, un ragazzino americano di 14 anni, era caduto nell'acqua ghiacciata del Lake Saint Louise nello stato del Missouri durante una gita con altri due amici. Era rimasto immerso per ben quindici minuti, la temperatura sotto allo zero aveva immediatamente fermato i battiti del suo cuore, e nonostante i soccorsi, John era rimasto senza vita per ben 45 minuti. I medici non avevano speranze, impossibile salvarlo, tanto che avevano già detto alla madre che il figlio era morto. Joyce, la mamma, nonostante la terribile notizia, è entrata nella camera

del figlio e si è messa a pregare: Dio, ti prego manda il tuo Santo Spirito e salva mio figlio, voglio mio figlio, ti prego salvalo, sono le parole che i medici presenti le hanno sentito dire. Ed ecco che cosa è successo: il cuore del ragazzino ha ripreso a battere e 48 ore dopo si è risvegliato dal suo stato. Per uno dei medici curanti, il dottor Jeremy Garrett, non ci sono state altre parole per definire quello che era accaduto: un autentico miracolo, ha detto. John potrà tornare a casa fra pochi giorni, si è completamente ripreso e ha così commentato: "Sono sorpreso di essere vivo è un vero miracolo che sono vivo, e ringrazio Dio c'è un motivo per cui sono vivo, quindi sto solo andando a seguire ciò che Dio ha in serbo per me durante la mia vita".

IPOTERMIA come TERAPIA

- L'arresto cardiaco improvviso è una delle principali cause di morte nel mondo. Solo il 7% dei pazienti colpiti sopravvive e spesso subisce danni cerebrali irreversibili.
- Una ipotermia controllata (32-34° C), iniziata precocemente e mantenuta per 12-24 ore si è affermata come strategia efficace nel recupero neurologico dei soggetti dopo arresto cardiaco.
- **Ipotermia riduce il fabbisogno di ossigeno cerebrale** (6% per ogni grado C di riduzione della temperatura)
- **Rallenta il metabolismo** del corpo, **previene danni cerebrali** sopprimendo reazioni chimiche nocive nel cervello e preservando le cellule e la funzione cognitiva; **previene il rilascio di sostanze neurotossiche endogene (ROS).**



Foto Andrea Fabbri - MedEmIt



IL FREDDO COME TERAPIA PER L'ARRESTO CARDIACO
L'IPOTERMIA PUÒ CONTRIBUIRE ALLA SALVEZZA DI UN PAZIENTE
lunedì 24 dicembre 2012
di **Antonio Cautilli**

[Segnala l'articolo ad un amico](#)

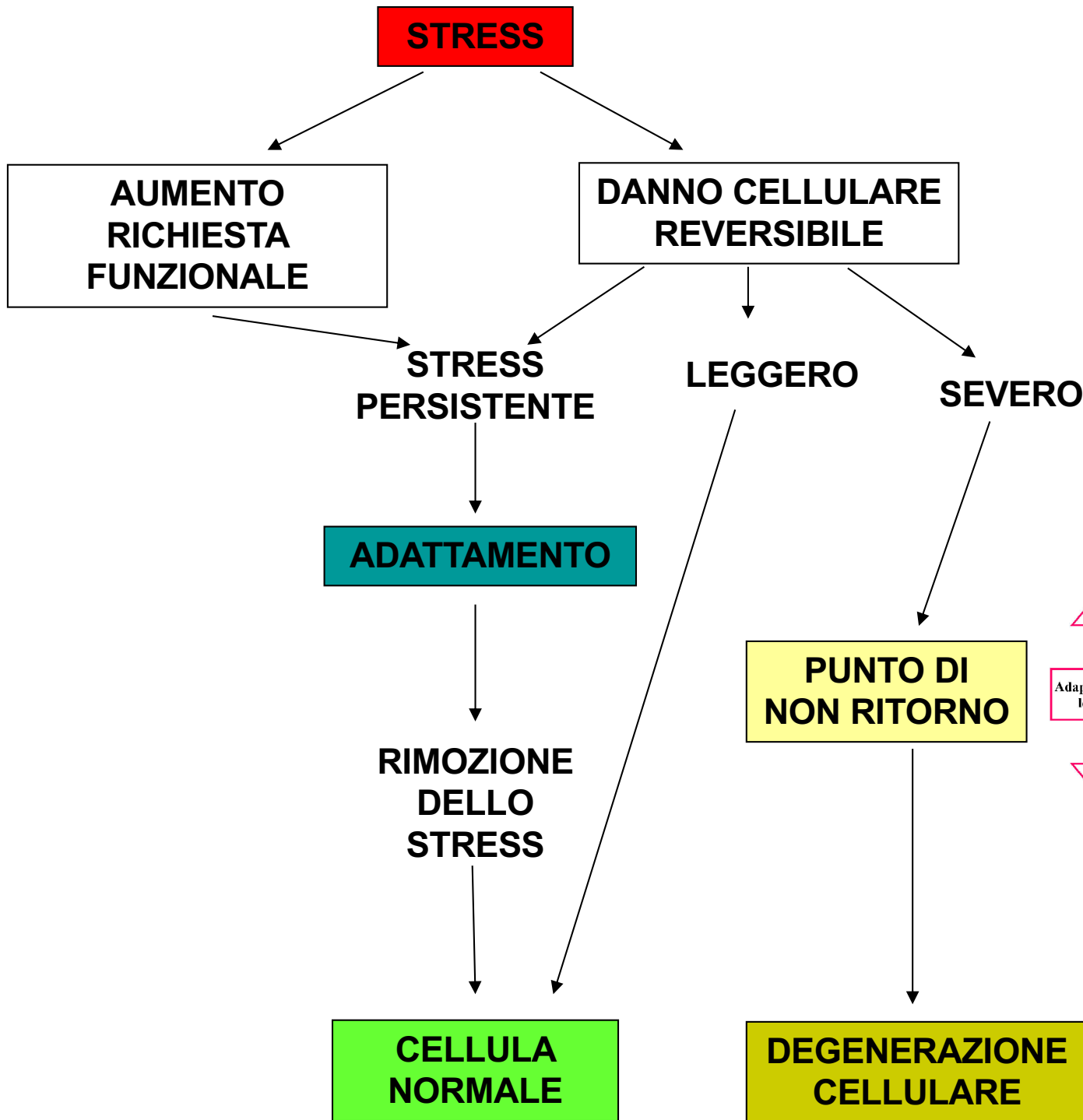
Un po' come il calciatore che riprende a giocare dopo che il massaggiatore ha usato la "bomboletta del ghiaccio". L'ipotermia terapeutica usata quando, ripristinato il battito, non si riacquista coscienza

Nella stessa rubrica
Grazie, Vincenzo
Il freddo come terapia per l'arresto cardiaco

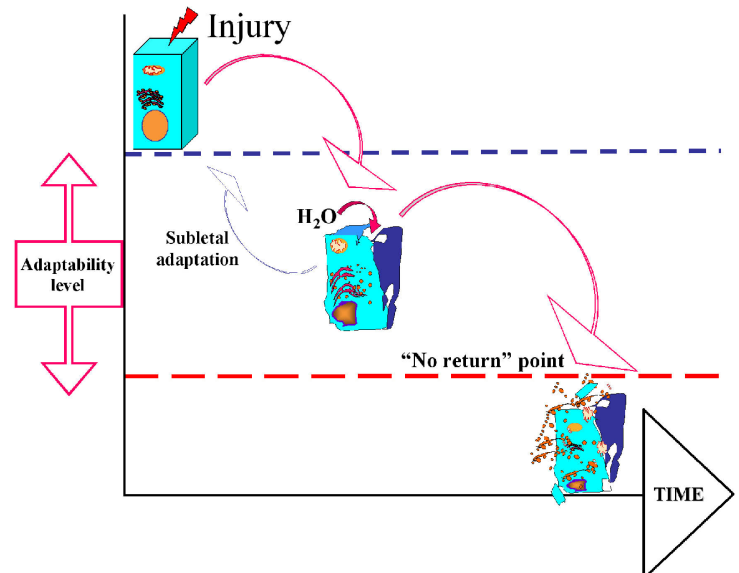
Meccanismi biochimici generali del Danno

Qualunque agente lesivo iniziale, ci sono **aspetti biochimici comuni** importanti nella genesi del danno e la morte cellulare

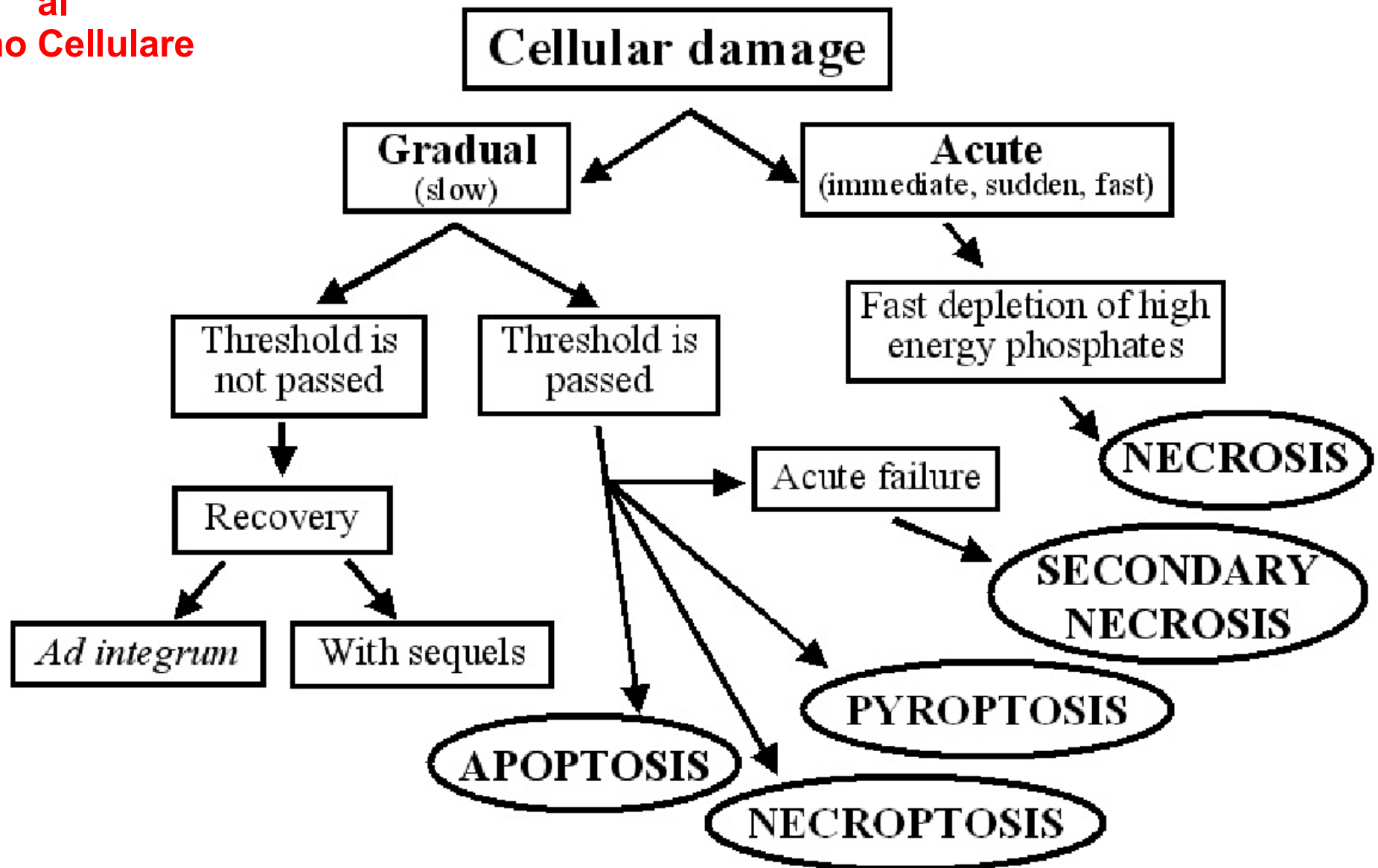
- 1) **Perdita di ATP** (glicolisi, fosforilazione ossidativa).
- 2) **Ossigeno e radicali liberi ossigeno-derivati** (cellule generano energia riducendo O_2 ad H_2O . Durante tale processo si formano radicali liberi).
- 3) **Perdita della omeostasi del calcio intracellulare** (aumento $[Ca^{2+}]_{intracellulare} \Rightarrow$ attiva fosfolipasi, proteasi, ATPasi, endonucleasi).
- 4) **Alterazioni della permeabilità delle membrane cellulari** (membrana plasmatica, membrana mitocondriale, membrana degli organelli cellulari).
- 5) **Alterazioni mitocondriale irreversibile** (da aumento $[Ca^{2+}]$; da stress ossidativo; da aumento di permeabilità di membrana. Distacco del citocromo c dalla membrana mitocondriale).



Risposta al Danno Cellulare



**Risposta
al
Danno Cellulare**



Anossia

mancanza totale di ossigeno

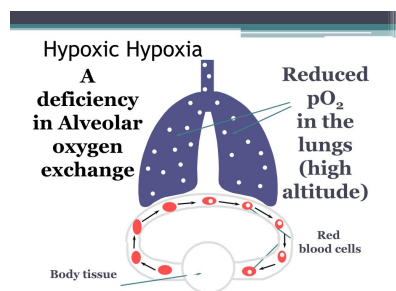
Ipossia

Ipossia

diminuzione della pressione parziale di ossigeno

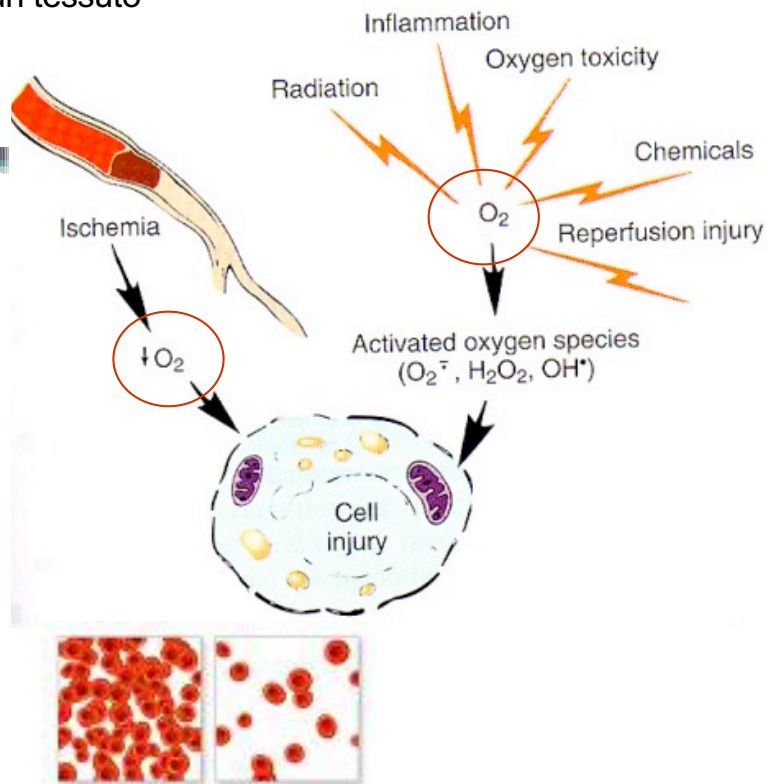
Ipossia Ischemica

mancata perfusione ematica di un tessuto
(Infarto miocardio)



Ipossia Ipossica

diminuzione della pO_2 nel sangue arterioso (elevata altitudine)



Ipossia Anemica

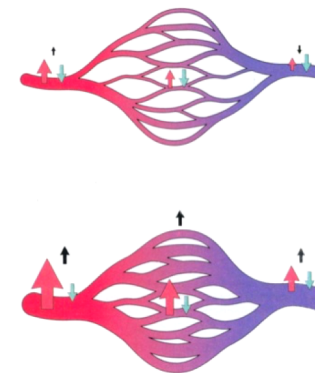
riduzione della funzione di trasporto di ossigeno nelle emazie (diminuzione degli eritrociti in seguito ad anemie di qualsiasi genere; avvelenamento CO)

Ipossia Istotossica

inibizione dei processi respiratori dovuta ad agenti tossici (Cianuro blocca citocromo ossidasi)

Ipossia Stagnante

da rallentamento del circolo (Infarto -> stasi -> tessuti; shock)



Cause del Danno cellulare: Ipossia

Ipossia ischemica

A. Cause generali: a) insufficienza cardiaca; b) shock (ipovolemico, cardiogeno, ostruttivo, distributivo)

B. Cause locali

1. Fattori determinanti:

a) sistema arterioso;

- trombosi arteriosa
- aterosclerosi
- embolia
- arteriti

b) sistema venoso;

- trombosi venosa
- incontinenza venosa
- compressione
- torsioni di peduncoli vascolari
- spasmo
- chilomicroni
- leucocitosi

c) microcircolazione

- trombi di fibrina
- compressione
- aggregati ed agglutinati di globuli rossi
- cristalli

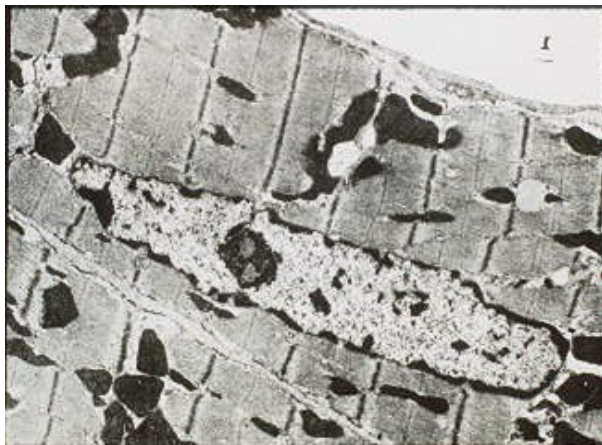
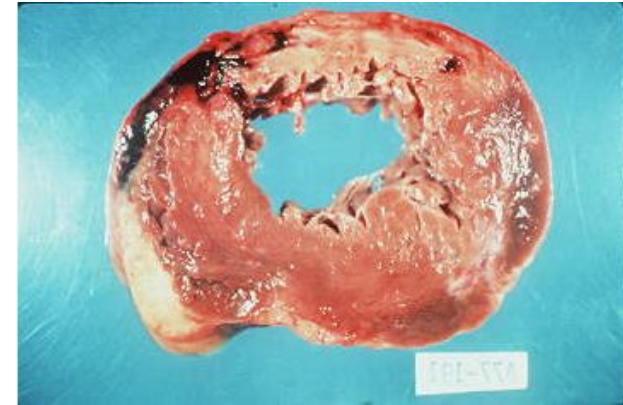
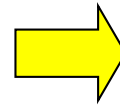
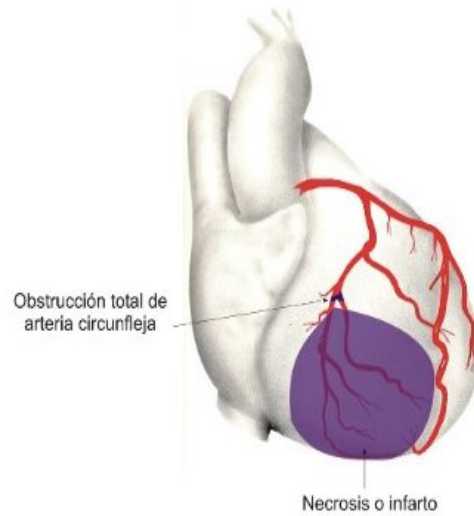
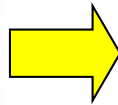
Modalità d'interazione con l'ospite

- Grado della ostruzione o della compressione
- Velocità dello sviluppo dell'ostruzione o della compressione

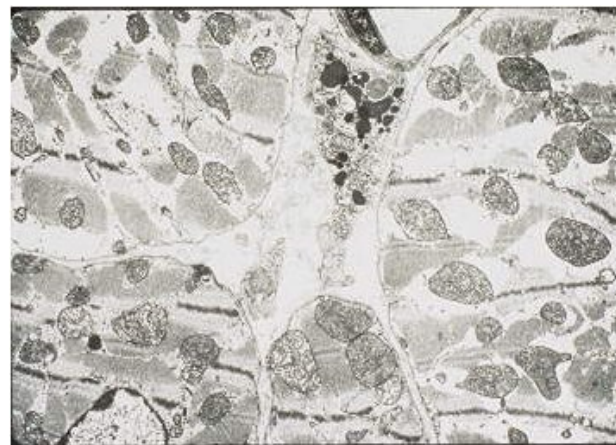
2. Fattori favorenti

- a) Vulnerabilità del tessuto
- b) Caratteristiche dell'irrorazione dell'organo:
 - irrorazione doppia
 - irrorazione parallela
 - irrorazione unica con circoli anastmotici
 - irrorazione unica terminale
 - irrorazione con terminalità funzionale
- c) Alterazioni sistemiche:
 - stati di ipossia
 - stato endocrino-metabolico

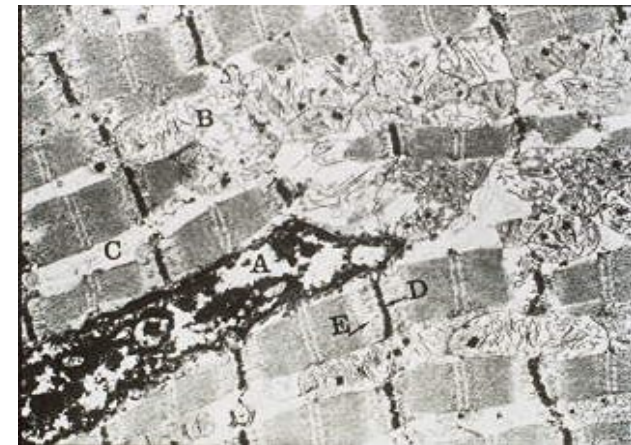
DANNO DA ISCHEMIA (Es: INFARTO DEL MIOCARDIO)



**MIOCARDIO
NORMALE**



**DANNO
REVERSIBILE**



**DANNO
IRREVERSIBILE**

Fasi del danno ischemico

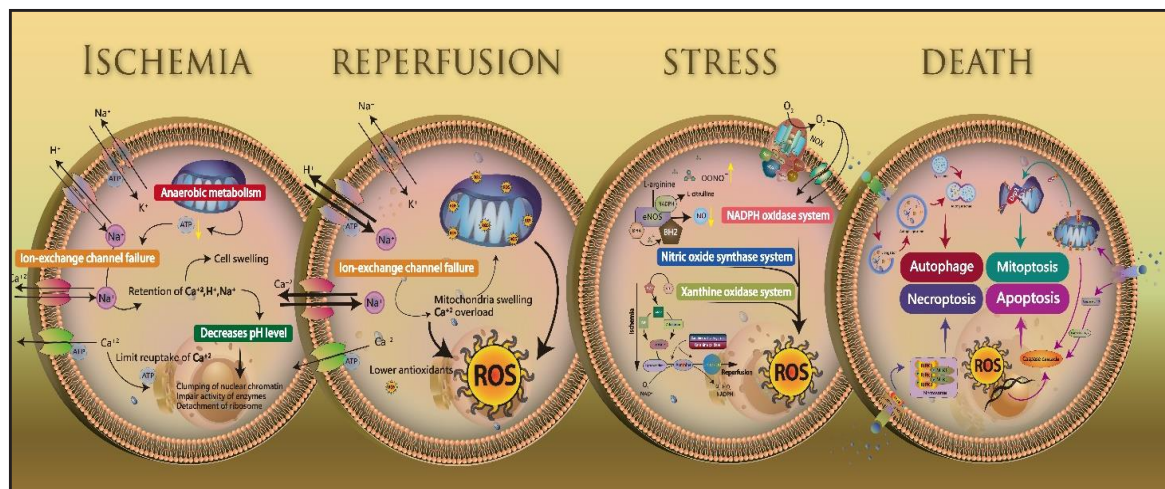
Durante ipossia, la glicolisi può continuare. Con l'ischemia viene compromesso il trasporto dei substrati per la glicolisi.

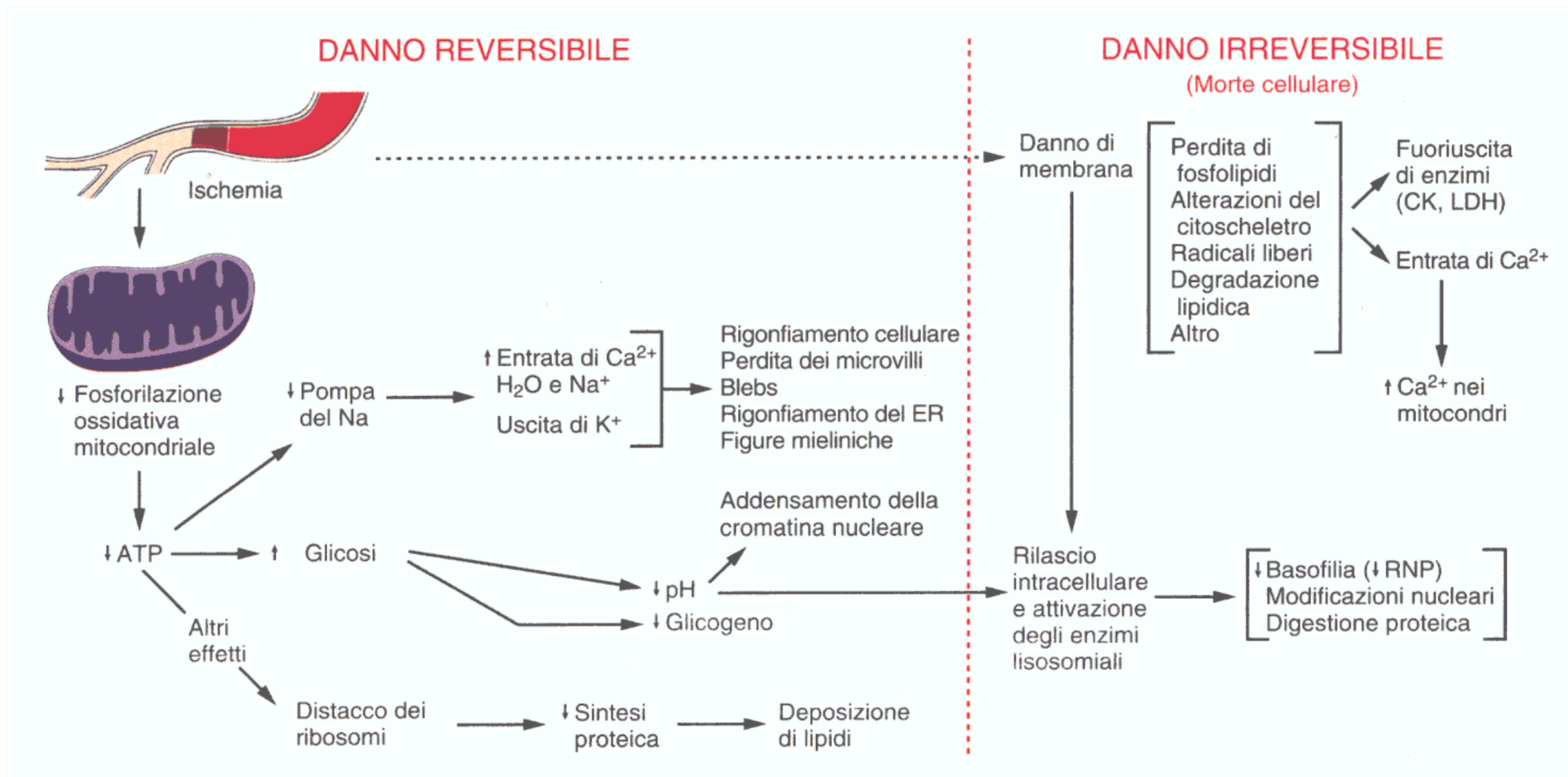
DANNO REVERSIBILE

- BLOCCO FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA MITOCONDRIALE
- **ALTERAZIONE DEL METABOLISMO ENERGETICO CELLULARE**
- BLOCCO SINTESI PROTEICA
- **PERDITA Omeostasi IONICA => RIGONFIAMENTO CELLULARE**
- AGGREGAZIONE DELLA CROMATINA
- **CONSEGUENZE FUNZIONALI** (es. blocco contrazione muscolare entro 60 sec. dalla occlusione coronarica).


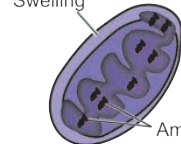
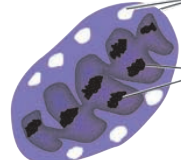

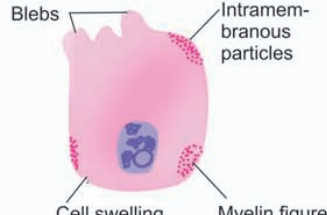


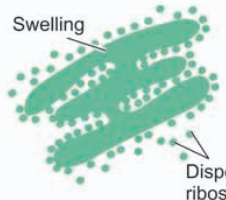
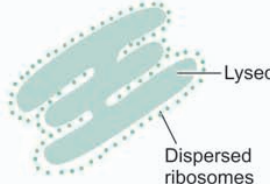








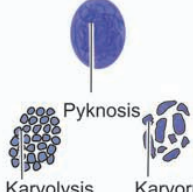
DANNO IRREVERSIBILE

- **AUMENTO [Calcio]intracellulare** (attivazione ROS; danno membrane; contrazione del citoscheletro; attivazione di proteasi e delle caspasi)
- RIGONFIAMENTO DEI MITOCONDRI
- **ROTTURA DEI LISOSOMI ED AUTOLISI**
- PICNOSI NUCLEARE SEGUITA DA CARIOLISI O CARIORESSI
- **ALTERAZIONI DELLA MEMBRANA PLASMATICA**
- CONSEGUENZE FUNZIONALI (Aumento Transaminasi, LDH, CK e Troponine nel sangue)

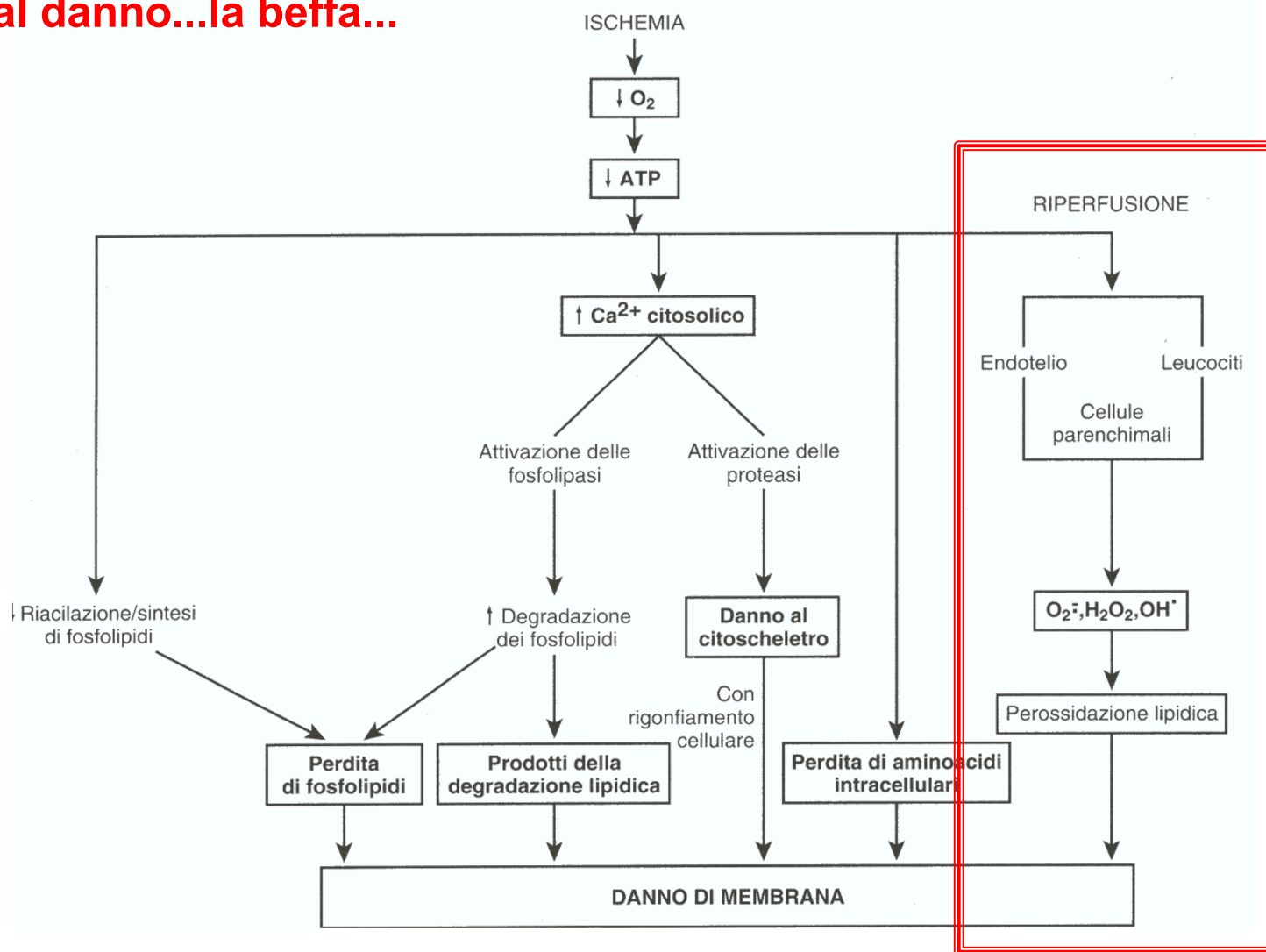




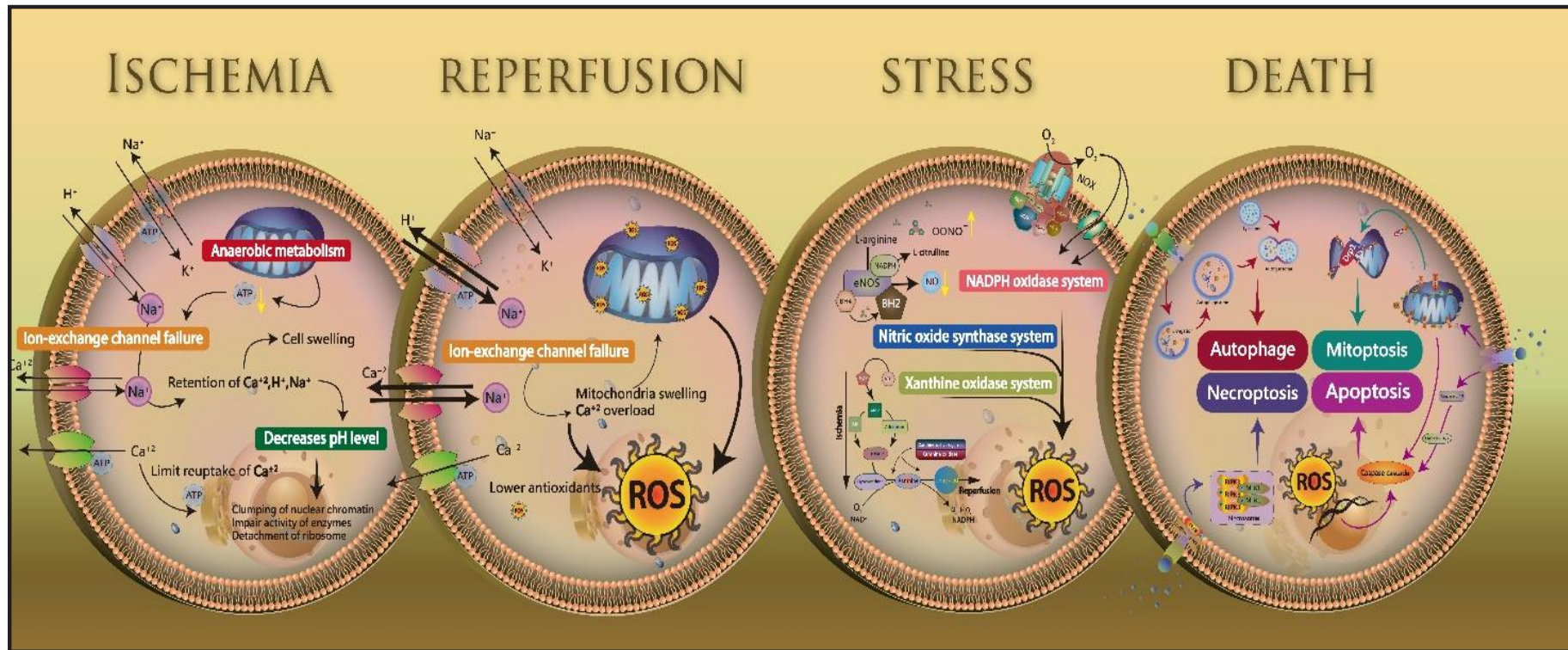
Alterazioni associate al danno ischemico

ORGANELLES IN NORMAL CELL	A, REVERSIBLE CELL INJURY	B, IRREVERSIBLE CELL INJURY
 <p>1. MITOCHONDRIA</p>	 <p>Swelling Amorphous densities</p>	 <p>Swollen with vacuoles Large densities</p>
 <p>2. MEMBRANES</p>	 <p>Blebs Intramembranous particles Cell swelling Myelin figure</p>	 <p>Disruption Myelin figure</p>
 <p>3. RER AND RIBOSOMES</p>	 <p>Swelling Dispersed ribosomes</p>	 <p>Lysed Dispersed ribosomes</p>
 <p>4. LYSOSOMES</p>	 <p>Autophagy</p>	 <p>Swollen, ruptured</p>
 <p>5. CYTOSKELETON</p>	 <p>Aggregated</p>	 <p>Disrupted</p>
 <p>6. NUCLEUS</p>	 <p>Clumped chromatin</p>	 <p>Pyknosis Karyolysis Karyorrhexis</p>

Oltre al danno...la beffa...



...oltre la fase ischemica...



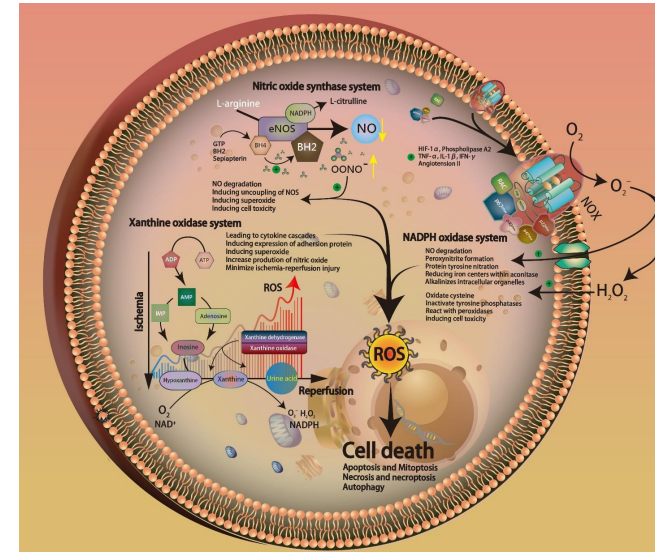
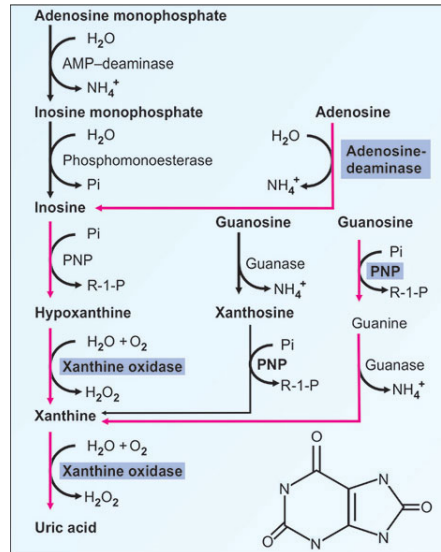
Cell Physiol Biochem 2018;46:1650-1667

- **Stato ischemico attiva il metabolismo anaerobio** => edema cellulare e ad una ridotta attività enzimatica citoplasmatica.
- **Danno mitocondriale + squilibrio elettrolitico** nello stato di reperfusion promuovono lo stress ossidativo attraverso tre sistemi principali: **sistema della NADPH ossidasi**; **sistema dell'ossido nitrico sintasi** e **sistema della xantina ossidasi**.
- **ROS** => danno cellulare => morte cellulare attraverso quattro vie: autofagia, necrosi, mitoptosi ("suicidio" dei mitocondri), necroptosi (necrosi programmata).

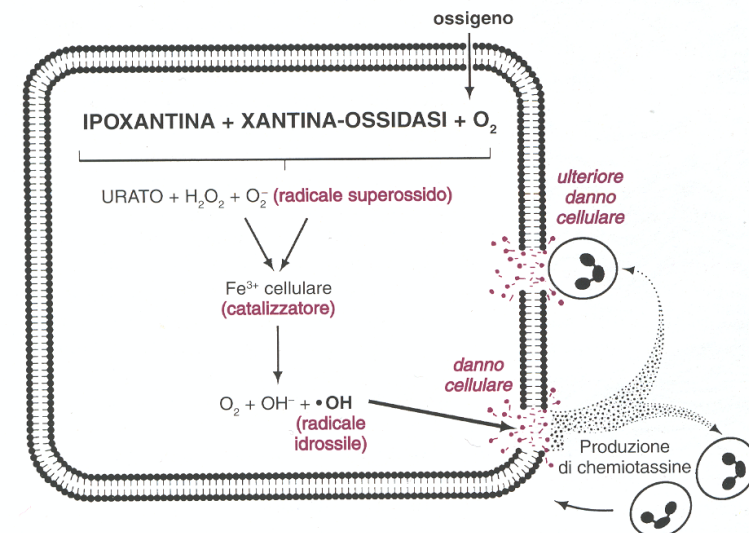
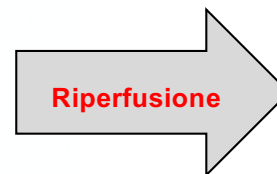
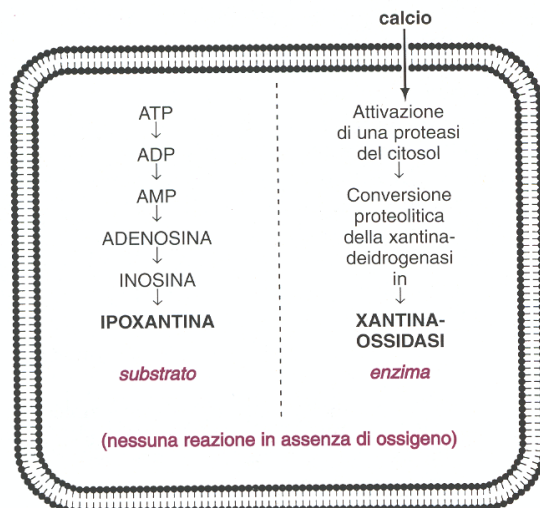
Danno da riperfusione

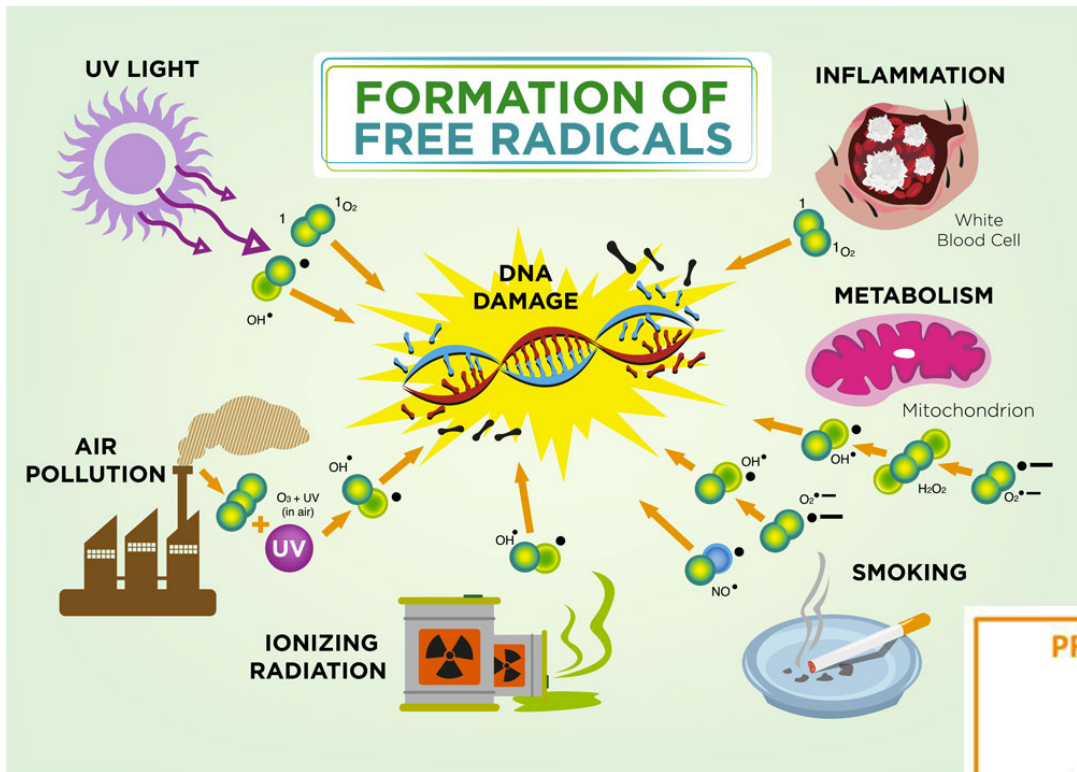
Danno da riperfusione è responsabile del **50-75%** delle dimensioni finali dell'infarto dopo riperfusione

- **Ipoxantina e xantina ossidasi prodotte dalle c. endoteliali** (ma non possono reagire in assenza di ossigeno)
- **Entrata massiccia di Ca^{2+} nelle cellule -> ingresso Ca^{2+} nei mitocondri**
- Durante il processo di riossigenazione -> **aumento produzione ROS** da parte delle cellule parenchimali, endoteliali e dei leucociti.

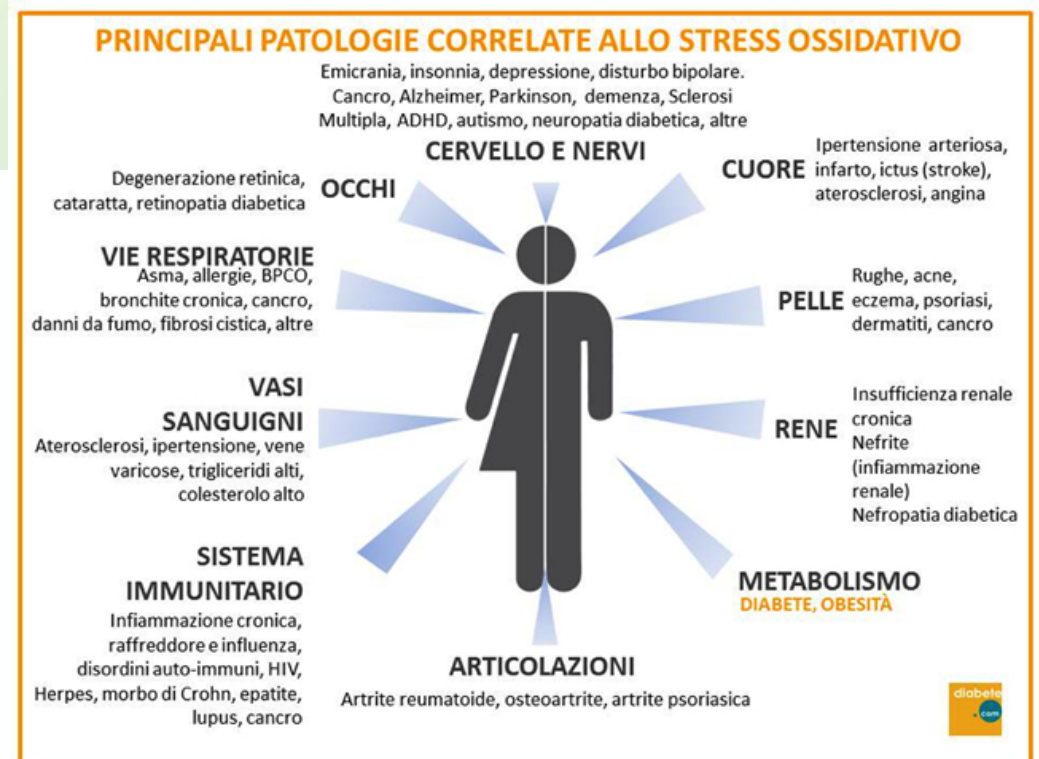


Cell Physiol Biochem 2018;46:1650-1667





Danno da Radicali Liberi



Danno da Radicali Liberi

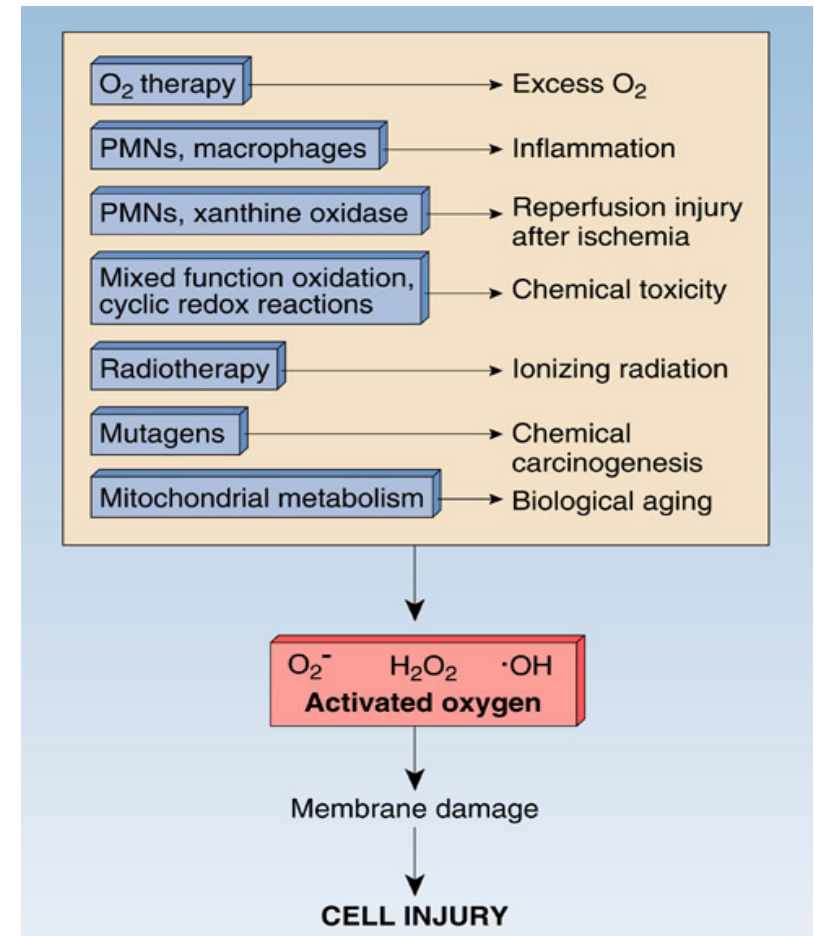
- **Specie chimiche dotate di un elettrone spaiato nell'orbita più esterna.**
- **Energia creata da questa configurazione instabile viene rilasciata attraverso reazioni con le molecole vicine (lipidi, proteine, acidi nucleici).**

FORMAZIONE DEI RADICALI LIBERI (Iniziazione)

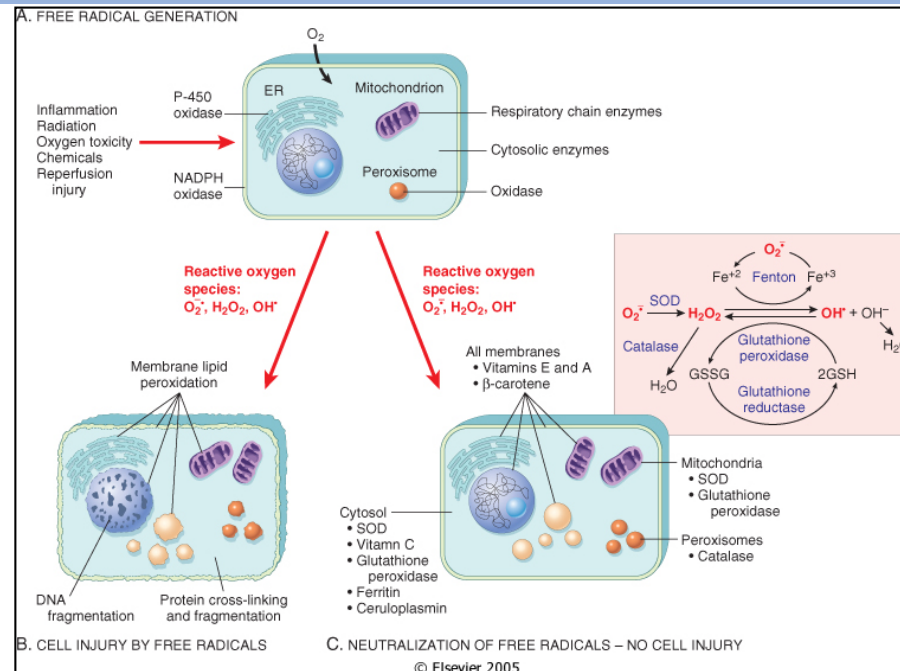
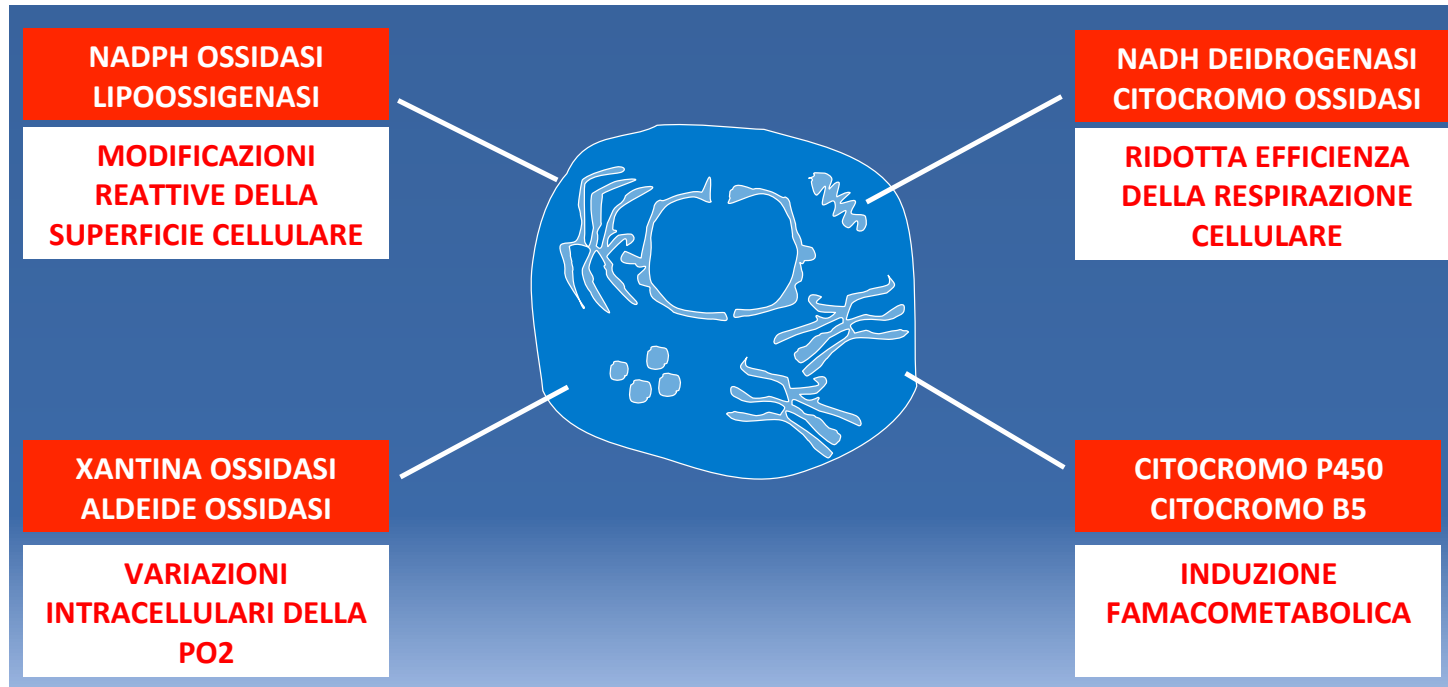
- **RADIAZIONI (UV, raggi X).** Idrolisi dell'acqua con formazione di OH^\bullet e H^\bullet
- **METABOLIZZAZIONE DI SOSTANZE CHIMICHE ESOGENE** (CCl_4)
- **Reazioni di ossido-riduzione che normalmente avvengono durante i processi metabolici**
- **OSSIDO NITRICO** (NO viene generato da cellule endoteliali, macrofagi, neuroni, può essere convertito in Perossinitrito - ONOO^- -)

MECCANISMI ANTI RADICALI LIBERI

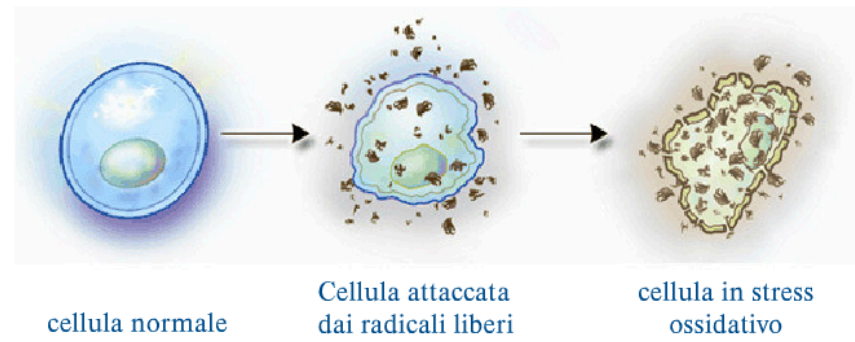
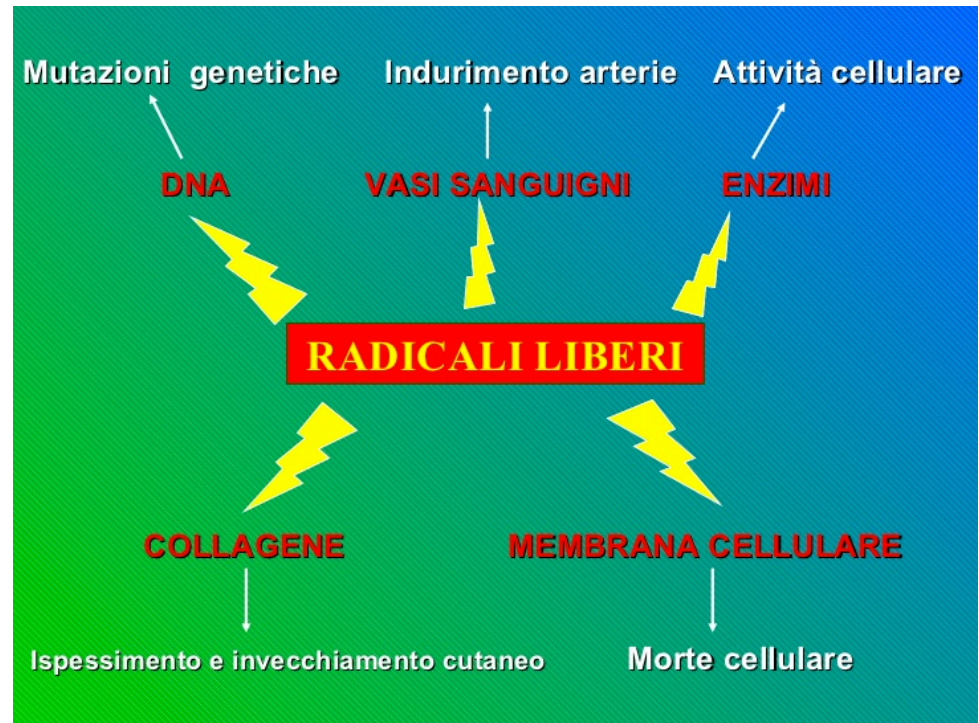
- **ANTIOSSIDANTI** (vitamina E, A, C, glutazione)
- **PROTEINE CONTENENTI METALLI** (rame, ferro). Transferrina, lattoferrina, ceruloplasmina.
- **ENZIMI** (catalasi, SOD, Glutazione perossidasi)



Attività metaboliche in grado di generare ROS



Danno da Radicali Liberi



Danno da Radicali Liberi

<https://youtu.be/0ytPriYwUZU>



- ❖ 8-Hydroxydeoxyguanosine (8-oxodG) è marker comunemente usato per il danno al DNA derivato dallo stress ossidativo.
- ❖ Formazione di 8-OxodG è regolata dalla capacità antiossidante locale e dall'attività degli enzimi di riparazione del DNA.

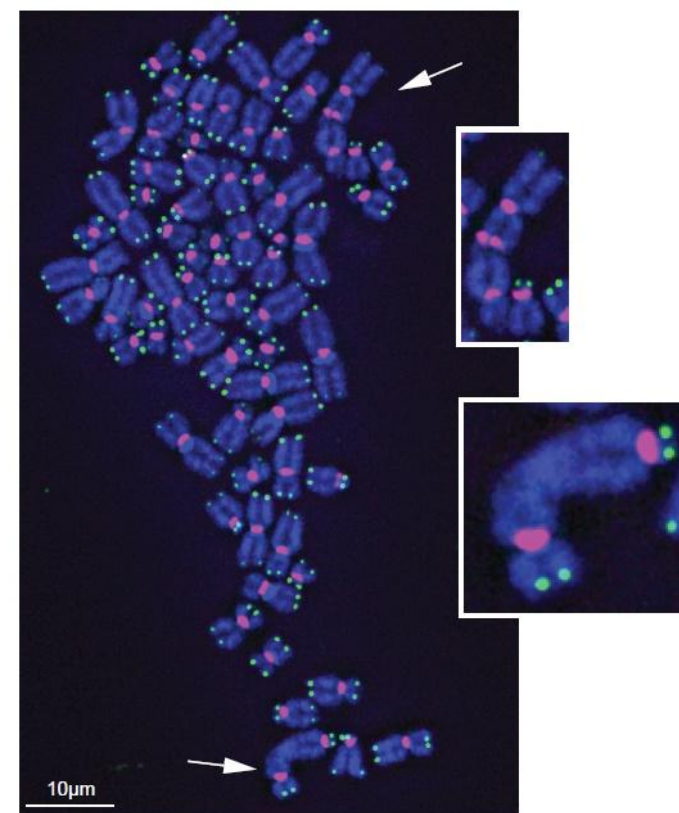
TABLE 5-3 Endogenous DNA Lesions Arising and Repaired in a Diploid Mammalian Cell in 24 Hours

DNA lesion	Number repaired in 24 h
Hydrolysis	
Depurination	18,000
Depyrimidination	600
Cytosine deamination	100
5-Methylcytosine deamination	10
Oxidation	
8-oxo G	1500
Ring-saturated pyrimidines (thymine glycol, cytosine hydrates)	2000
Lipid peroxidation products (M1G, etheno-A, etheno-C)	1000
Nonenzymatic methylation by S-adenosylmethionine	
7-Methylguanine	6000
3-Methyladenine	1200
Nonenzymatic methylation by nitrosated polyamines and peptides	
O ⁶ -Methylguanine	20-100

The DNA lesions listed in the table are the result of the normal chemical reactions that take place in cells. Cells that are exposed to external chemicals and radiation suffer greater and more diverse forms of DNA damage. (From T. Lindahl and D.E. Barnes, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 65:127-133, 2000.)

Danni al DNA da ROS

TELOMERASI



Danni dello stress ossidativo sui telomeri (in verde) alle estremità dei cromosomi (in blu) ne provocano la fusione (freccia). Fouquerel et al. (2019). Mol Cell.

Danno da Agenti Chimici



ESPLOSIVO



INFIAMMABILE



COMBURENTE



GAS COMPRESSI



CORROSIVO

Danno da Agenti Chimici

AZIONE DIRETTA

- **Piombo** (1ppm = 1 mgr/l = 100µg/dl = 4.83 µM; Pb nel sangue, in massima parte legato a Hb nelle emazie; "imita" il **Calcio**: si accumula nei tessuti minerali (ossa e denti), nei tessuti molli (reni, midollo osseo, fegato e cervello)
- **Cloruro di mercurio** -> incremento della permeabilità di membrana e blocco trasport ATP-dipendente (intestino e reni)
- **Cianuro** => blocca la citocromo ossidasi mitocondriale
- **Agenti chemioterapici** => danno di membrana diretto

AZIONE INDIRETTA (attraverso attivazione metabolica)

Tetracloruro di carbonio -> Cyt P450

Acetaminofene (Paracetamolo) -> Cyt P450

Reazioni di tipo A	Reazioni di tipo B
<p>Alotano Amineptina Amiodarone Aspirina Ciproterone Fenitoina Isoniazide Metotrexate Paracetamolo Pirazinamide Tetracicline</p>	<p><i>Colestasi con epatite</i> ACE-inibitori, amoxicillina+ac. clavulanico, azatioprina, carbamazepina, clorpromazina, cotrimossazolo, eritromicina, FANS, flutamide, ketoconazolo, nifedipina, ranitidina, sali d'oro</p> <p><i>Colestasi senza epatite</i> Azatioprina, antibiotici beta-lattamici, ciclosporina, contraccettivi orali, flucloxacillina, griseofulvina, nitrofurantoina, steroidi anabolizzanti, warfarin</p> <p><i>Colestasi cronica</i> Amoxicillina+ac.clavulanico, antidepressivi triciclici, carbamazepina, clorpromazina, cotrimossazolo, eritromicina, fenitoina</p> <p><i>Epatite acuta</i> ACE-inibitori, antidepressivi triciclici, cotrimossazolo, fenitoina, isoniazide, ketoconazolo, FANS, metildopa, nifedipina</p> <p><i>Epatite cronica attiva</i> Amiodarone, antidepressivi triciclici, cimetidina, diclofenac, fenitoina, isoniazide, metildopa, minociclina, nitrofurantoina, paracetamolo</p> <p><i>Epatite granulomatosa</i> Allopurinolo, carbamazepina, chinidina, clorpromazina, diltiazem, fenitoina, idralazina, metildopa, procainamide</p> <p><i>Necrosi epatocellulare acuta</i> Ac. valproico, aspirina, carbamazepina, dantrolene, FANS, isoflurano, isoniazide, labetalolo, minociclina, paracetamolo</p> <p><i>Steatosi</i> Ac. valproico, amiodarone, nifedipina,</p> <p><i>Tumori epatici</i> Contraccettivi orali, danazolo, steroidi anabolizzanti</p>

Esempi di farmaci epatotossici

Danno epatico ↔ Indici di laboratorio	
DANNO EPATICO	ALT > 2-3 volte ULN o bilirubina coniugata > 2 volte ULN o AST, AP, bilirubina totale (uno di questi almeno > 2 volte ULN)
Epatocellulare	ALT > 2-3 volte ULN con AP nella norma o rapporto ALT/AP ≥ 5
Colestatico	AP > 2 volte ULN o rapporto ALT/AP ≤ 2
Misto	ALT > 2-3 volte ULN e AP > 2 volte ULN o rapporto ALT/AP tra 2 e 5
ULN = limite superiore della normalità; AP = fosfatasi alcalina	

**Tetracloruro di Carbonio
CCl₄**



Reticolo Endoplasmatico Liscio

CCl₃



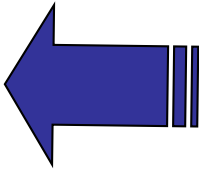
**Acidi Grassi Microsomiali
Polienoici**

Radicali Lipidici



+ O₂

**Perossidazione
Lipidica
Diffusione
autocatalitica lungo la
membrana
microsomiale**



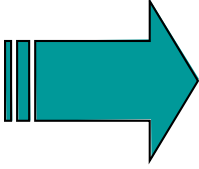
**DANNO alle
MEMBRANE del
RE**

Entro 30 min

**DISTACCO
POLISOMI**

Entro 2 ore

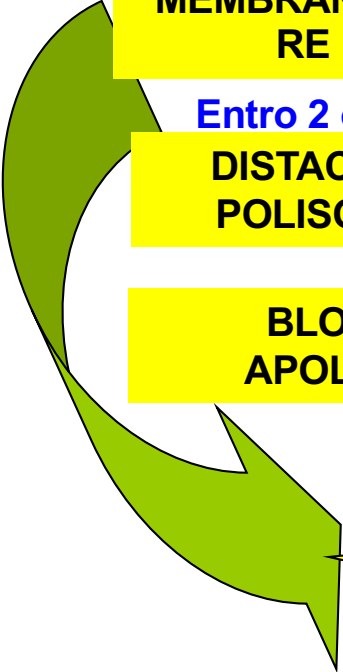
**BLOCCO SINTESI
APOLIPOPROTEINE**



**RILASCIO dei PRODOTTI
della PEROSSIDAZIONE
LIPIDICA**

**DANNO alla MEMBRANA
PLASMATICA**

**AUMENTO PERMEABILITA' a H₂O, Na⁺ &
Ca²⁺
RIGONFIAMENTO CELLULARE**

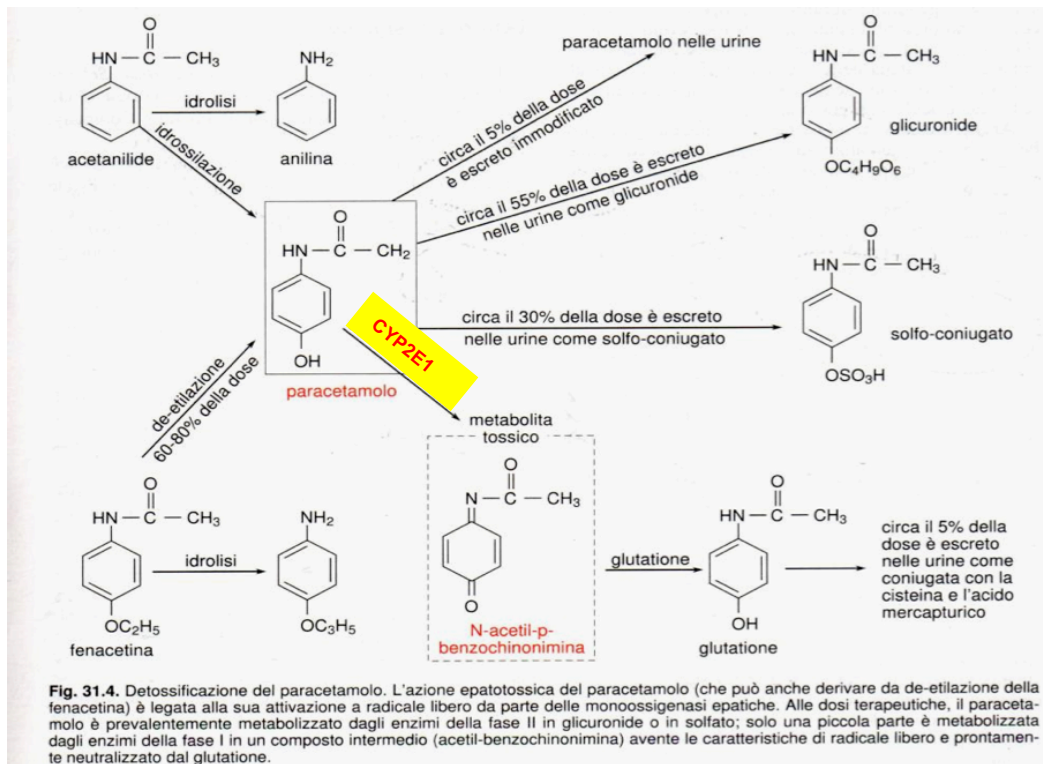


STEATOSI

NECROSI



Metabolismo e tossicità del paracetamolo



EPATOTOSSICITA' da:

- LEGAME COVALENTE del METABOLITA TOSSICO
- PEROSSIDAZIONE LIPIDICA

Trattamento dell'intossicazione da acetaminofene

- N-Acetilcisteina per via orale o EV
- Carbone attivato

Se si presume che l'acetaminofene sia ancora presente nel tratto gastrointestinale => carbone attivato.

N-acetilcisteina è l'antidoto per l'intossicazione. Questo farmaco (**precursore del glutatiene**), riduce la tossicità, aumentando le riserve di glutatiene epatico. Previene la tossicità epatica inattivando il metabolita tossico, N-acetil-p-benzochinonimina, prima che questo danneggi le cellule epatiche.

Non reverte il danno epatico già indotto.

Intossicazione acuta da paracetamolo

Tossico un sovradosaggio orale acuto:

ADULTI $\geq 150 \text{ mg/kg}$ (circa 7,5 g) nelle 24 h

TOSSICITA' DA PARACETAMOLO: QUADRI CLINICI

FASE I (ENTRO 12--24h DALL'INTOSSICAZIONE)

Nausea, vomito, sudorazione, malessere generale

FASE II (DOPO 24-72h)

Dolore addominale quadranti superiori; inizio citolisi epatica (>AST-ALT, >Bilirubina, <AP)

FASE III (DOPO 72-96h)

Danno epatico conclamato(>>AST-ALT, >>Bilirubina,ALT, >>Bilirubina, <<AP); casi gravi:alterazione della coscienza, ipoglicemia, alterazioni della coagulazione

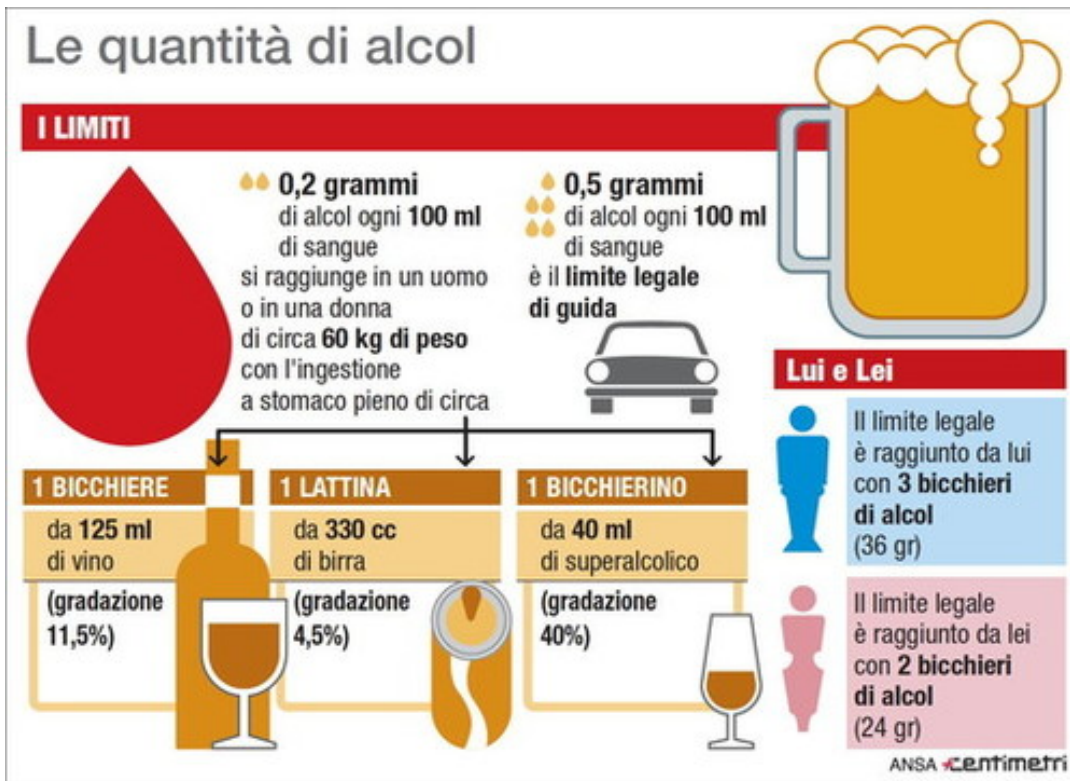
FASE IV (DOPO 5-10gg)

Risoluzione del danno epatico. Se insufficienza epatica: sepsi, CID e morte.

Danno da etanolo

L'alcoemia è la quantità di alcol che si ritrova nel sangue dopo l'ingestione di bevande alcoliche.

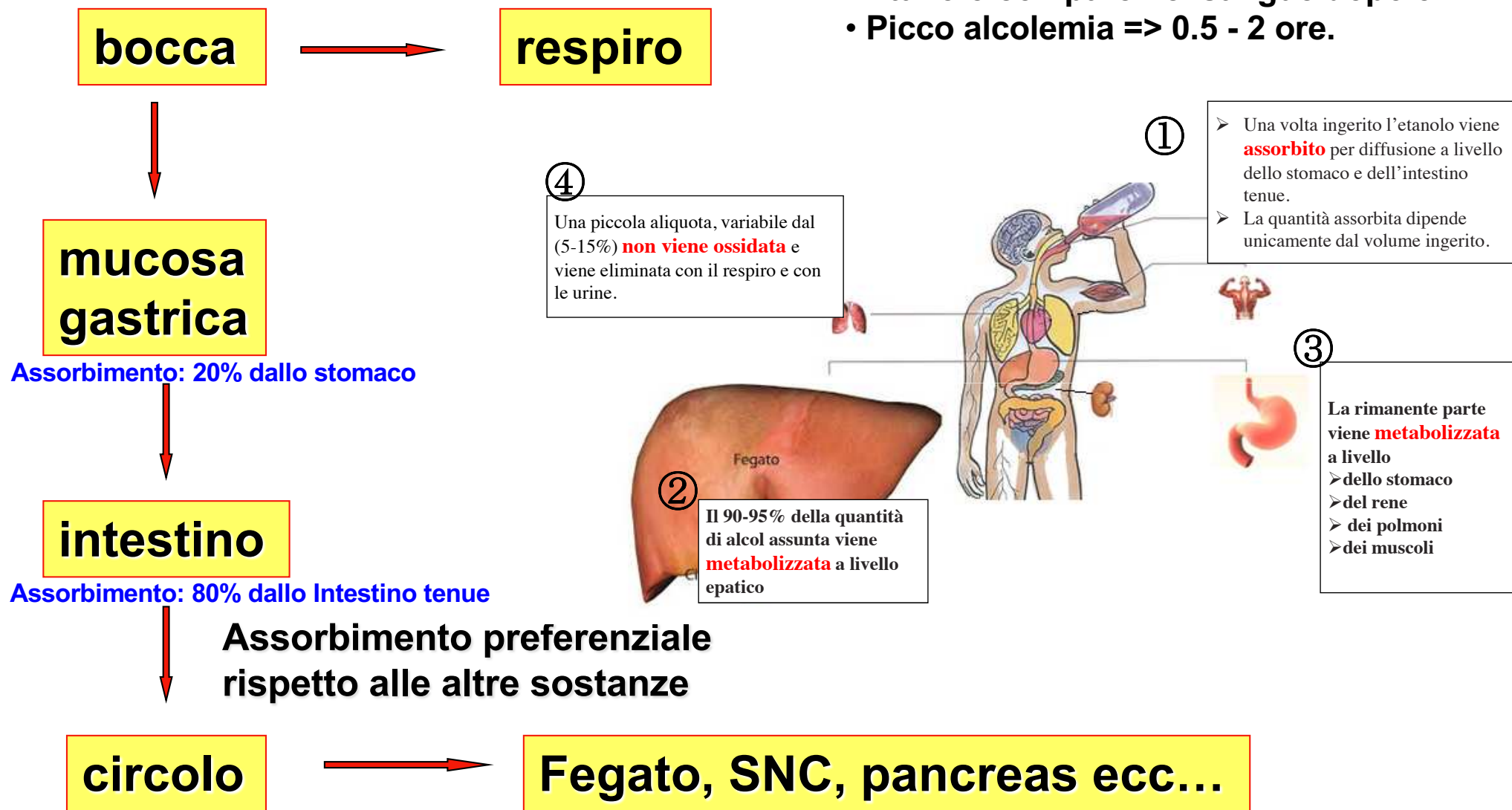
Una concentrazione di 0.2 gr ET-OH / 100 ml sangue (**0.2%**) si raggiunge in media in un adulto con l'ingestione a stomaco pieno di circa **12 grammi di alcol puro**, pari al consumo di :



QUANTITA'	ALCOLEMIA	EFFETTI
BIRRA VINO Super alcolico	0,25g/l	DISINIBIZIONE ECCITAZIONE La persona appare più espansiva e disinibita: un senso di benessere la rende più euforica e iperattiva. L'autocontrollo tende a diminuire e produce loquacità e riduzione della critica e del giudizio. L'umore cambia spesso tanto da oscillare rapidamente dall'espansività alla tristezza fino all'aggressività. Attenzione, tempi di reazione e memoria sono alterati.
	0,50g/l	IMPACCIO MOTORIO INCOERENZA LOGICA Continuando a bere alcol, i movimenti diventano sempre più impacciati e scoordinati, la persona cammina a zig-zag e corre il rischio di inciampare e cadere. In questa fase di solito si è portati a parlare, molto ma il filo logico perde di coerenza. L'attenzione è scarsa e i tempi di reazione sono molto rallentati. Anche la vista e l'udito ne risentono.
	Da 1,0g/l	DISTURBI DELL'EQUILIBRIO E DELLA MARCIA CONFUSIONE MENTALE TORPORE Continuare a bere diventa pericoloso. Se si assumono ulteriori quantità di alcol possono comparire nausea, vomito e vertigini, la visione è alterata, mentre risultano accelerati il battito del cuore e la frequenza del respiro. La persona appare rossa, accaldata, sudata, ansimante.
Birra Un fiasco di vino Una bottiglia di SUPERALCOLICO	A 2,5g/l 4,0g/l	COMA Si corre il rischio, infine, di cadere in un sonno profondo che può arrivare fino al coma.

Assorbimento dell'Etanolo

- Etanolo compare nel sangue dopo 5 min
- Picco alcolemia => 0.5 - 2 ore.



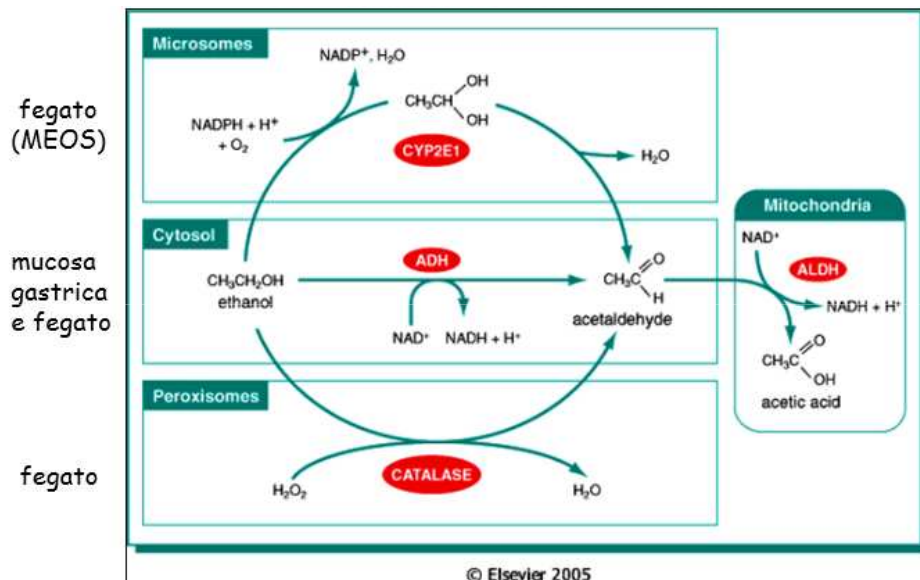
Metabolismo

FEGATO (Alcolista occasionale):

- Alcoldeidrogenasi (ADH) **90%**
- Meos (CYP450 2E1) **8%**
- Catalasi **2%**

FEGATO (Alcolista cronico):

- Meos **50%**
- Alcoldeidrogenasi (ADH) **45%**
- Catalasi **5%**



CYP2E1: Cytochrome p450, famiglia 2, sottogruppo E1
 MEOS: sistema microsomiale di ossidazione dell'etanolo

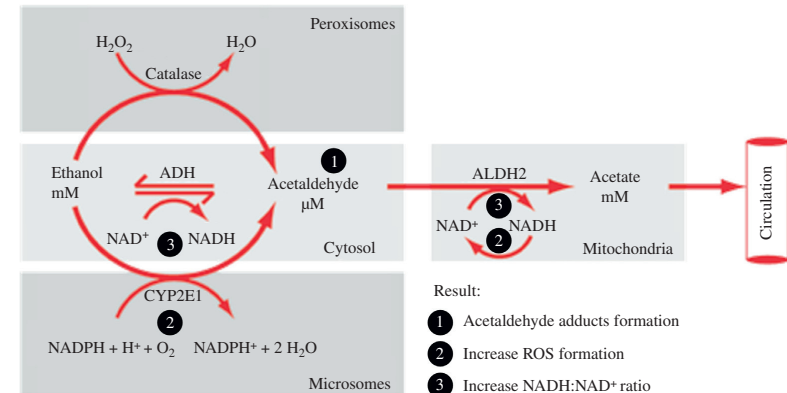


FIGURE 4.1 Oxidative pathways of alcohol metabolism. Source: From Zakhari, S. (2006). Overview: How is alcohol metabolized by the body? Alcohol Health and Research World, 29(4), 245. <https://pubs.niaaa.nih.gov/publications/arh294/245-255.htm>.

Acetaldeide => Acetato

Ossidazione da acetaldeide ad acetato: acetaldeide deidrogenasi (ALDH)

Effetti TOSSICI

Abuso di etanolo:

- Alterato metabolismo di farmaci
- Iperlipidemia
- Attivazione di carcinogeni
- Aumento catabolismo
- Alterazioni delle membrane
- Perdita di funzione delle proteine
- Perossidazione lipidica
- Inibizione della riparazione del DNA

Acetaldeide:

- Tossica a livello cellulare,
- Influenze negative su sviluppo embrionale
- Ipnotico (diplopia, vomito)
- Forma addotti con aa (nuovi antigeni)
- Altera lipidi (danno membrana mitocondriale)
- Substrato per la xantina ossidasi (RPS alla riperfusione).

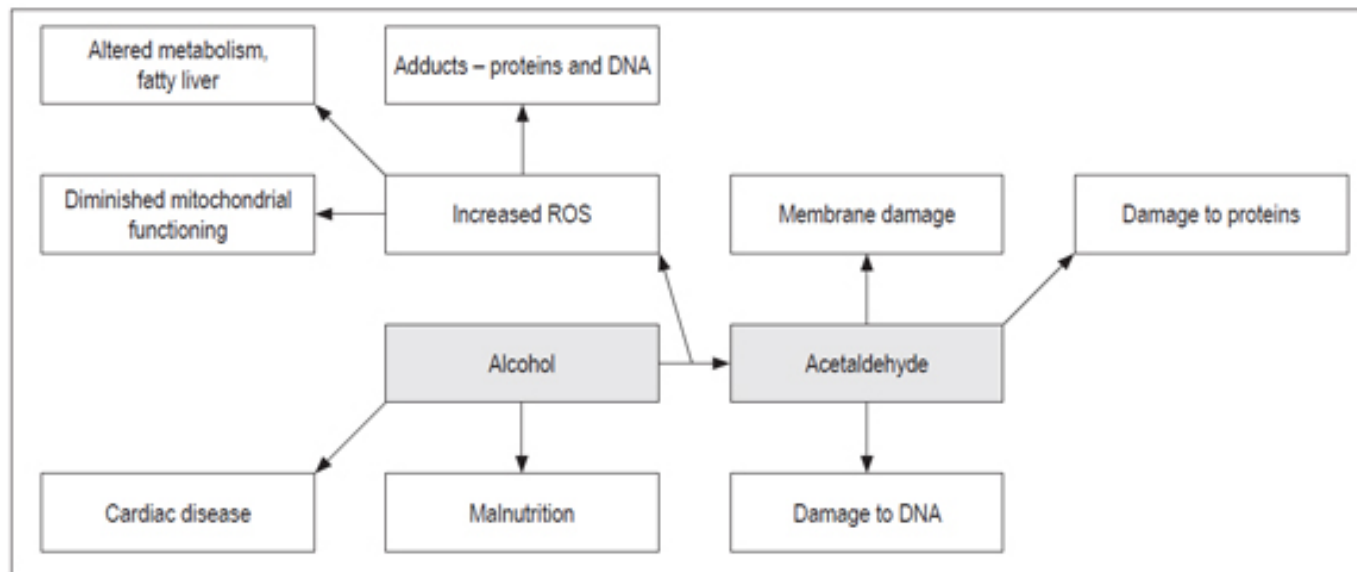


Figure 3. Toxic effects of alcohol metabolism. ROS: Reactive oxygen species



LIFE DNATest

Intolleranze e Sensibilità Alimentari

SENSIBILITÀ ALL'ALCOL

**La salute è scritta
nel tuo DNA**

Personalizza la tua alimentazione
con un semplice test genetico



Test Genetico per la sensibilità all'alcol

GENE	VARIANTI	RS number	Nucleotide	Variazione	INTERPRETAZIONE
ALDH2	E504K (*2)	rs671	G	A	Allele A = ALDH2*2= difficoltà di conversione dell'acetaldeide in acetato in seguito all'assunzione di alcol
ADH2 ADH1B	H48R (*2)	rs1229984	A	G	GG = possibile aumentata tendenza al consumo di alcolici
ADH1C	I350V (*2)	rs698	A	G	Allele G = riduzione della capacità di metabolizzare etanolo

ALDH2 (acetaldeide deidrogenasi mitocondriale)

- ❖ Polimorfismo che ne limita l'attività => accumulo di acetaldeide causa nausea e vomito
- ❖ Bassa attività dell'ALDH2 si associa a intolleranza verso le bevande alcoliche => **Protegge dall'alcolismo.**

ADH2 (alcol deidrogenasi 2, ADH1B)

- ❖ ADH2 riduce la sua attività => Alcol assunto risulta particolarmente piacevole => **Induce all'assunzione**

ADH1C (alcol deidrogenasi tipo 1C)

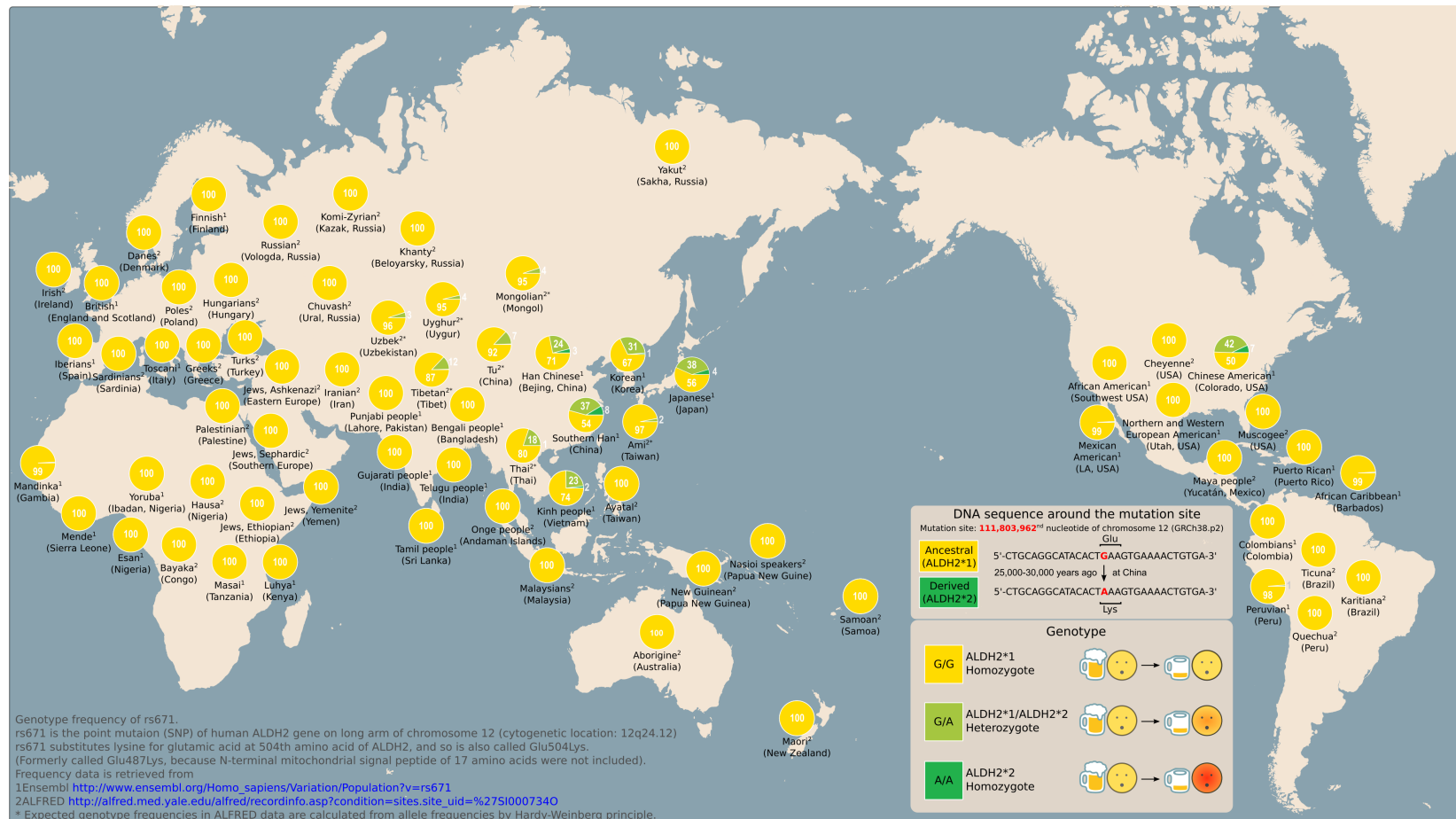
- ❖ Principale enzima epatico responsabile del metabolismo dell'alcool etilico
- ❖ Si presenta in forme diverse che si riflettono in una bassa o in un'alta attività enzimatica sulla base della presenza o meno dell'allele G.

Genotipo ALDH2-AA + genotipo ADH1B-AA => protezione contro l'alcolismo

DIFFERENZE ETNICHE

SNP rs671 = ALDH2*2 = Allele "A"

- ❖ Allele **ALDH2*2** è comune in ~ **35-45% della popolazione dell'Asia Orientale** (cinesi, giapponesi, coreani e taiwanesi, ~560 milioni di asiatici, ~8% popolazione mondiale)
- ❖ Allele **ALDH2*2** è stato trovato nel **40% di alcune popolazioni del Sud America**.
- ❖ Soggetti con l'allele **ALDH2*2** sia allo stato **omozigote che eterozigote** mancano **totalmente** attività ALDH2.
- ❖ Questi individui sono sensibili all'alcol ed hanno un **rischio RIDOTTO** di sviluppare l'alcolismo.



Frequenza genotipica dello SNP rs671 nella popolazione mondiale. In giallo è rappresentato genotipo ancestrale omozigote ALDH2, in verde chiaro il genotipo eterozigote ALDH2/ALDH2*2, in verde scuro omozigote ALDH2*2

DIFFERENZE di GENERE

Uomo ACQUA 55-65% peso corporeo
Donna ACQUA 45-55% peso corporeo



A parità di consumo di un uomo, la concentrazione di alcol sarà più elevata nelle donne

- **Donna:** la quantità di alcol metabolizzato nello stomaco è **2-4 x inferiore a quella dell'uomo** (meno ADH)
- **Ciclo mestruale:** potenziamento effetti alcol nei 2-3 giorni precedenti il ciclo e durante ovulazione.
- **Fertilità:** 3 bicchieri /settimana di vino per ridurre di 2/3 le probabilità di avere un figlio.
- **Contraccezione:** con contraccettivi orali, l'alcol resta in circolo più a lungo.
- **Aborto:** alcol >3U (1U = 12gr alcol) a settimana nel primo trimestre => aumenta 2 - 3 x rischio di aborto.
- **Menopausa:** danni all'equilibrio ormonale, alla produzione di estradiolo, testosterone e prolattina.
- **Osteoporosi:** numerosi studi hanno dimostrato gli effetti dell'alcol sulle ossa.
- **Allattamento:** alcol si distribuisce rapidamente e facilmente dal sangue al latte e quindi al bambino.

Rischio debole



Un **uomo** non dovrebbe bere più di **2 bicchieri** di bevande alcoliche **al giorno**



Una **donna** non dovrebbe bere più di **1 bicchiere** di bevande alcoliche **al giorno**

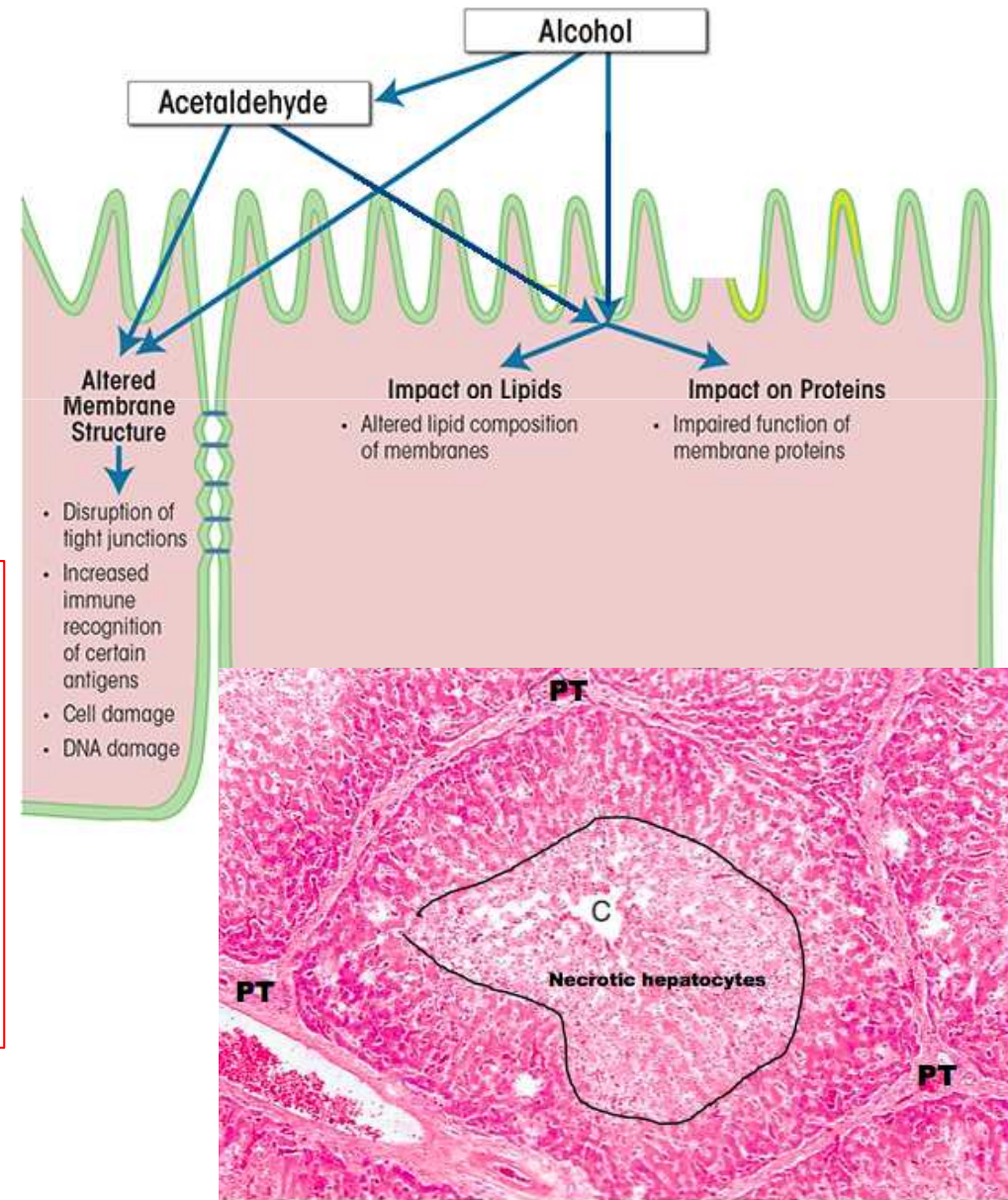


Osservare un periodo di **astinenza** di **2 giorni** (**idealmente diversi giorni**) alla settimana : il fegato ha bisogno di almeno 24 ore per eliminare tutte le tossine

DANNI DA ALCOL AGLI EPATOCITI

- **Acetaldeide =>>**
si lega ai gruppi sulfidrilici delle proteine, denaturandole

- **Compressione liposomi su epatociti**→danno ischemico
 - **Danni da acetaldeide ai mitocondri**→deplezione di ATP
 - **Produzione radicali liberi (ROS via XOX)**
 - **Eccessivo consumo ossigeno (CYPE2)**
-
- **Ipermetabolismo farmaci**
 - **Ipermetabolismo ormoni**
 - **Attivazione carcinogeni**



Epatopatia alcolica

- I disturbi del fegato che si verificano nelle persone con un disturbo da consumo di alcol:

- ❖ **Steatosi epatica (fegato grasso; in > 90%)**
- ❖ **Epatite alcolica (dal 10 al 35%)**
- ❖ **Cirrosi epatica (dal 10 al 20%)**

- **Carcinoma epatocellulare** può svilupparsi in pazienti con cirrosi, specie se coesiste accumulo di ferro.

Fattori di rischio per l'epatopatia alcolica

- **Quantità e durata del consumo di alcol (generalmente > 8 anni)**
- **Sesso**
- **Disturbi genetici e metabolici**
- **Obesità**

Quantità di alcol

- **Correlazione lineare** quantità, durata del consumo di alcol e lo sviluppo dell'epatopatia.
- **Rischio di disturbi epatici** aumenta per gli **uomini che bevono > 40 g di alcol/die**, in particolare **> 80 g di alcol/die** (p. es., 2-8 lattine di birra, 3-6 bicchierini di superalcolici, 3-6 bicchieri di vino) per > 10 anni.
- **Cirrosi**: il consumo abituale deve essere **> 80 g/die per > 10 anni**. Tuttavia, solo alcune persone che fanno abuso di alcol sviluppano una malattia del fegato. Pertanto, le variazioni dell'assunzione di alcol non spiegano completamente la differente predisposizione, indicando così il possibile coinvolgimento di altri fattori.

Sesso

- Le donne sono più suscettibili nei confronti dell'epatopatia correlata all'alcol.
- Le **donne richiedono 20-40 g/die** di alcol per essere a rischio (producono meno ADH gastrica => una maggior quantità di alcol raggiunge fegato).

Fattori genetici

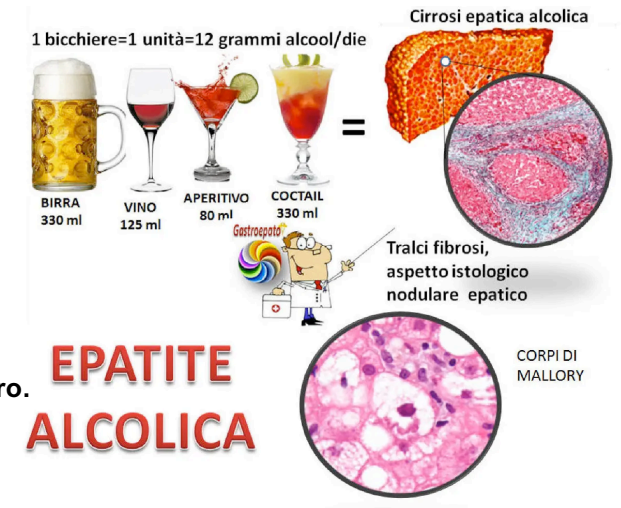
- Epatopatia alcolica ha spesso carattere familiare, suggerendo la presenza di fattori genetici (p. es., deficit di enzimi citoplasmatici che eliminano l'alcol).

Stato nutrizionale

- Dieta ricca di grassi insaturi aumenta la suscettibilità, così come l'obesità.

Altri fattori

- Accumulo di **ferro** nel fegato (non necessariamente in relazione all'assunzione di ferro) e la concomitante presenza di **HCV**.



Conseguenze abuso di alcool

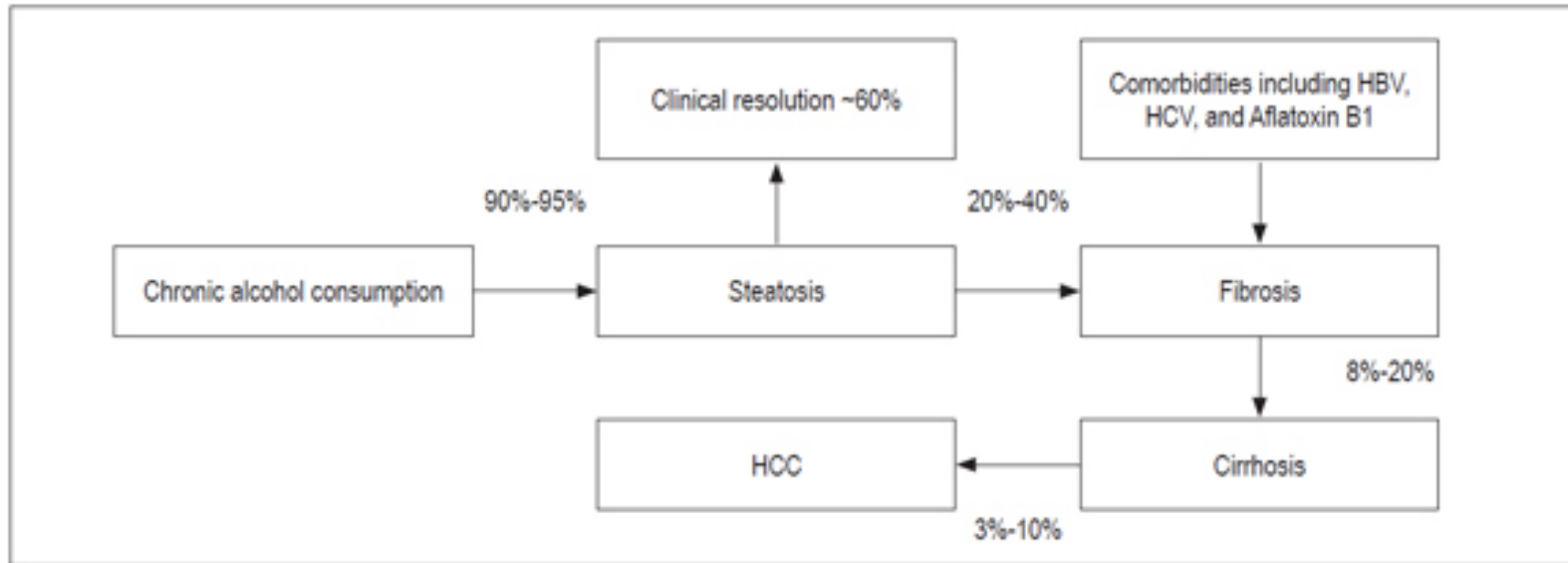
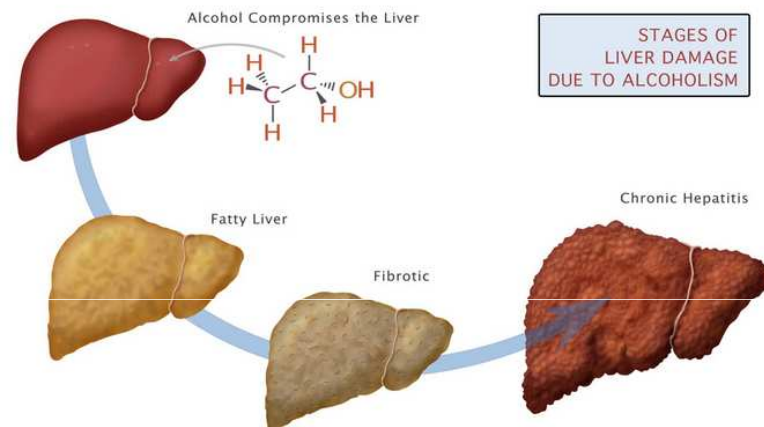
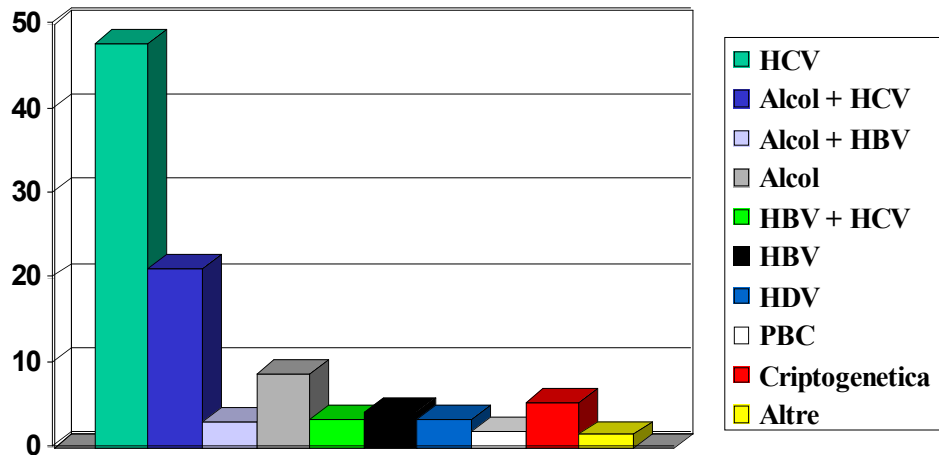


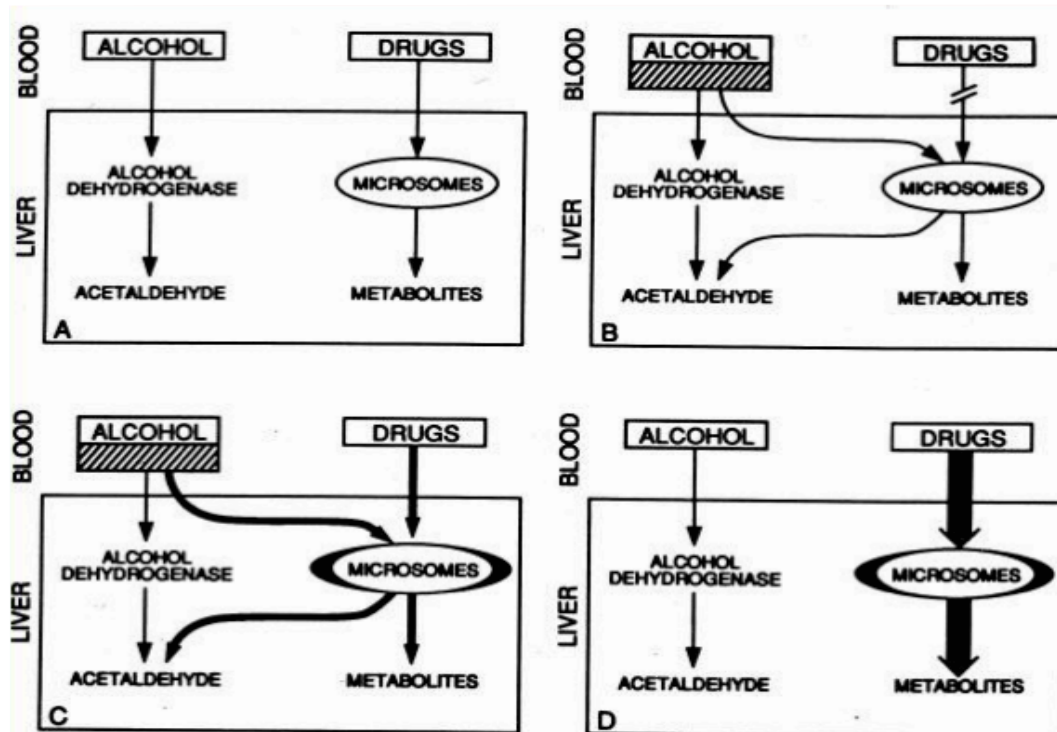
Figure 2. Liver Diseases associated with chronic alcohol abuse. HBV: hepatitis B virus, HCV: hepatitis C, HCC: hepatocellular carcinoma

Cause di cirrosi in Italia



→Necrosi centrolobulare → epatite alcolica → fibrosi epatica → cirrosi

Sostanze con epatotossicità aumentata in caso di abuso di etanolo



- benzodiazepine
- acetaminofene
- aflatossina B
- bromobenzene
- cloroformio
- cocaina
- barbiturici
- dimetilnitrosamina
- dietilnitrosamina
- galattosamina
- alotano
- isoniazide

Induzione del **MEOS** determina anche:

- alterazioni del metabolismo dei farmaci
- Inattivazione di vitamine avitaminosi (es. vit B1, associata a gravi alterazioni mentali)
- Inattivazione ormonale → ginecomastia da estrogeni prodotti dal metabolismo del testosterone
- Suscettibilità ai carcinogeni attivati dal MEOS => insorgenza di tumori.

Marcatori di danno epatico da alcol

Gli **esami di laboratorio** possono essere suddivisi in:

ROUTINARI: GGT = più sensibili e meno specifici; MCV/GGT+MCV = meno sensibili e più specifici; AST/ALT/Acido urico, trigliceridi, urea = meno sensibili e meno specifici.

NON ROUTINARI: più utilizzati = CDT; meno utilizzati = 5-HTLO/ Beta esosaminidasi / Malonildialdeide / Dolicolo urinario.

Attualmente non è disponibile un singolo esame di laboratorio ideale con alta specificità e sensibilità. Pertanto è meglio associare più marker biologici per ottenere indicazioni più accurate.

GGT:GAMMA-GLUTAMIL TRASFERASI

Risulta essere un test di primo livello nella diagnosi di consumo di alcol. La GGT sierica che aumenta per un meccanismo di induzione enzimatica indipendentemente dalla presenza o meno di danno epatico alcol-correlato.

Emivita: é compresa tra 14 e 26 giorni, il livello si regolarizza dopo 4-5 settimane di astensione dall'uso di bevande alcoliche.

Falsi positivi: pancreatite, diabete, obesità, disturbi cardiovascolari, ipertensione, azione enzimoinducente di alcuni farmaci (barbiturici, antiepilettici, anticoagulanti).

Sensibilità: maggiore negli uomini, 20-50% nei consumatori a rischio, 60-90% nell'alcolismo cronico

Specificità: 11-85%

MCV: VOLUME CELLULARE MEDIO

L'aumento dell'MCV riscontrabile negli alcolisti è secondario sia all'azione tossica diretta dell'acetaldeide sulla replicazione dei precursori degli eritrociti a livello midollare, sia all'interferenza esercitata dall'etanolo sull'assorbimento intestinale di acido folico e vit. B12.

Emivita: circa 3 mesi dopo la completa astensione dall'uso di bevande alcoliche.

Falsi positivi: carenza di folati, vit. B12, patologie epatiche non alcol-correlate, ipotiroidismo, tabagismo.

Sensibilità: maggiore nelle donne (40%), 20-30% nei consumatori a rischio, 40-50% nell'alcolismo cronico

Specificità: 94%

AST (GOT) / ALT (GPT) >2

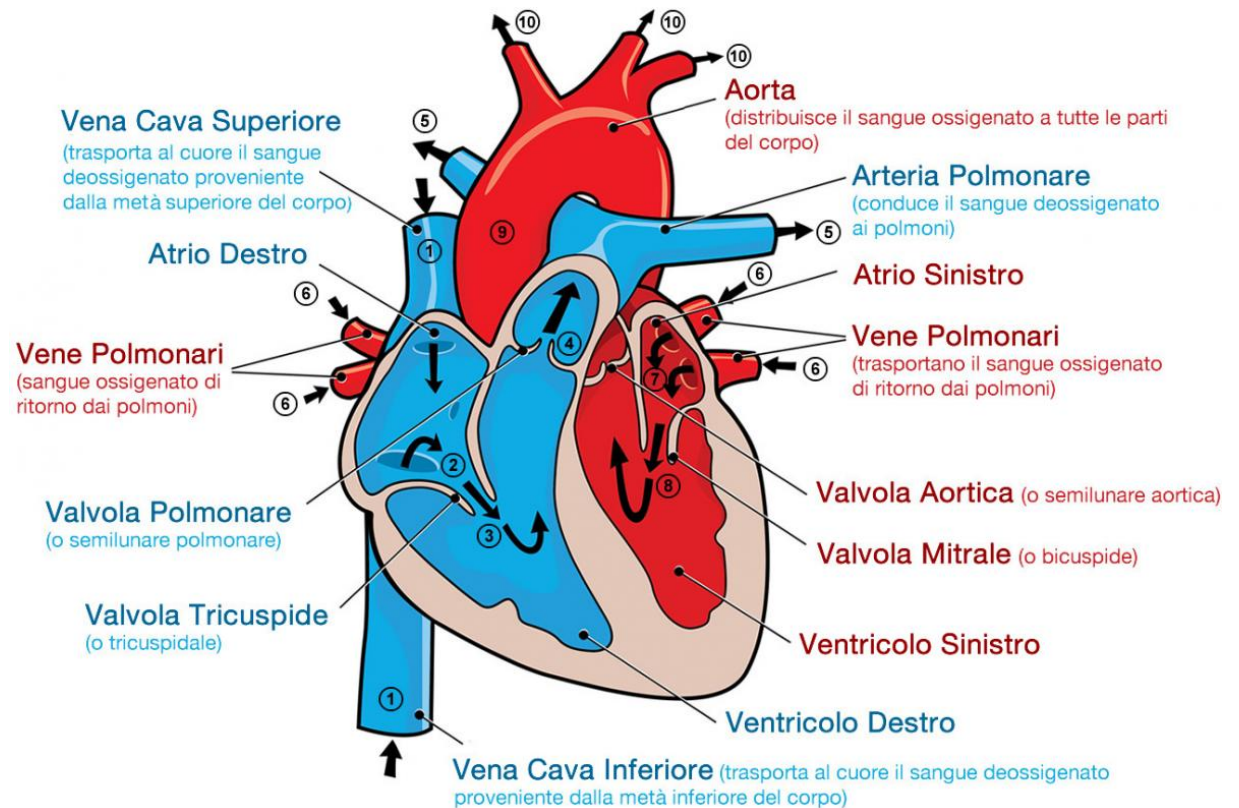
discrimina tra danno da alcool ed altre patologie

Cardiomiopatia alcolica

- Cardiomiopatia alcolica => **cardiomiopatia dilatativa dovuta al prolungato abuso di sostanze alcoliche.**

- **Individui con cardiopatia alcolica presentano, molto spesso, una storia di alcolismo tra i 5 e 15 anni.**
- **La maggior parte dei malati di cardiopatia alcolica ha tra i 35 e i 50 anni ed è di sesso maschile, in quanto la tendenza ad abusare di sostanze alcoliche per lunghi periodi di tempo è più comune tra gli uomini che non tra le donne**

- Cardiomiopatia dilatativa: **caratterizzata dalla dilatazione della cavità ventricolare sinistra ed assottigliamento della parete muscolare di tale cavità.**

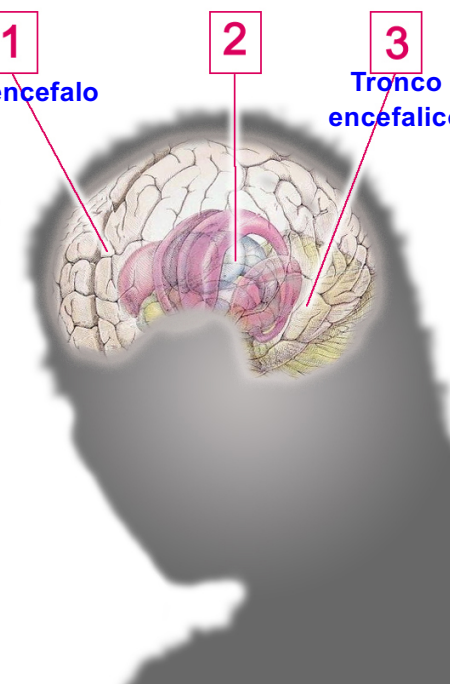


- **Espansione anomala del ventricolo sinistro**, seguita da una riduzione dello spessore del miocardio costituente il ventricolo sn.
- Cuore riscontra diverse difficoltà a pompare il sangue in circolo e a mantenere in salute i vari organi e tessuti del corpo umano.
- La cardiopatia alcolica può degenerare in diverse complicanze:
 - Insufficienza cardiaca.
 - Dilatazione e assottigliamento del miocardio estese ad atrio sinistro e parte destra del cuore;
 - Rigurgito valvolare.
 - Arresto cardiaco.
 - Embolia polmonare.
 - Peggioramento delle aritmie già presenti

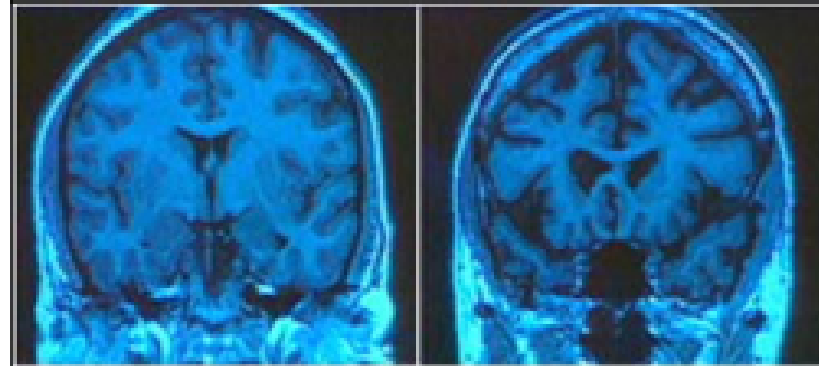
Danno al cervello

HOW ALCOHOL ATTACKS THE BRAIN

A guide to the sequential damage alcohol inflicts on neural tissue

- 
1. First, alcohol affects the forebrain and **assaults motor coordination and decision making.**
 2. Then, alcohol knocks out the midbrain, and you **lose control over emotions and increase chances of a blackout.**
 3. Finally, alcohol batters the brainstem as it **affects heart rate, body temperature, appetite and consciousness**, a dangerous and potentially fatal condition.

Risonanza Magnetica Encefalica

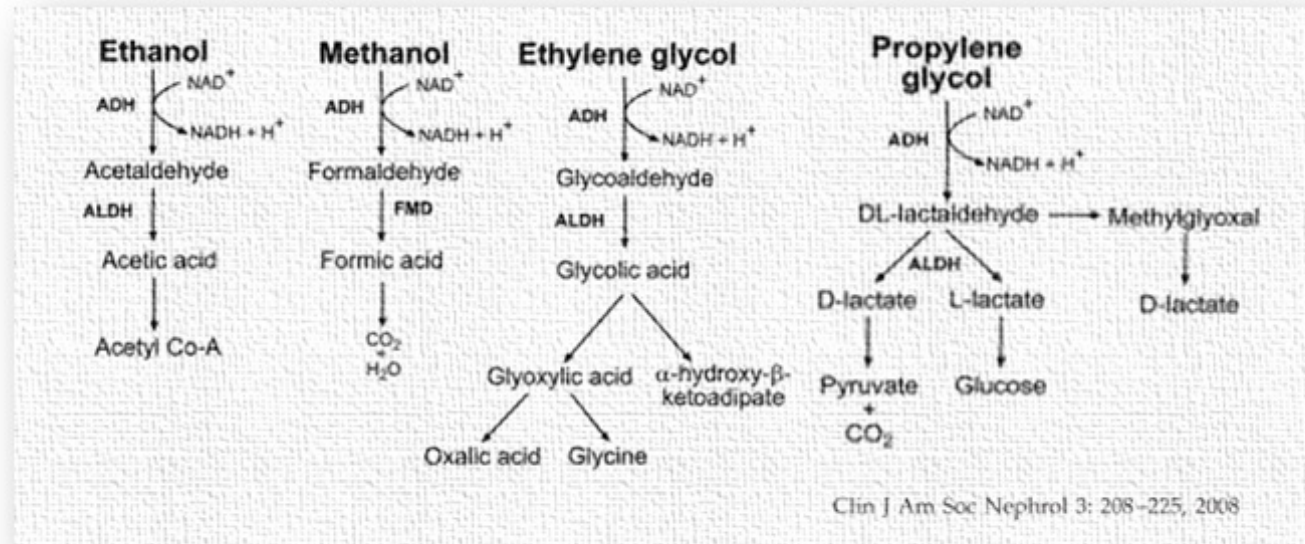


43enne
Normale

43enne
Alcol dipendente

**la tonalità di colore blu
indica il livello di attività
cerebrale**

Oltre l'Etanolo...



Fragolino: vino rosso frizzante prodotto dall'uva fragola

Quest'uva appartiene alla specie *Vitis labrusca* (Uva Fragola o Isabella) introdotta dagli USA per combattere la fillossera.

Questi vini hanno alta produttività, basso costo (non necessitano di tutti gli antiparassitari e concimi richiesti invece dalla *Vitis vinifera*) ma hanno una qualità minore (?).

Unione Europea ha vietato la vinificazione dell'uva labrusca.

- contenuti di **tannino** tossici
- contenuti di **metanolo** tossici

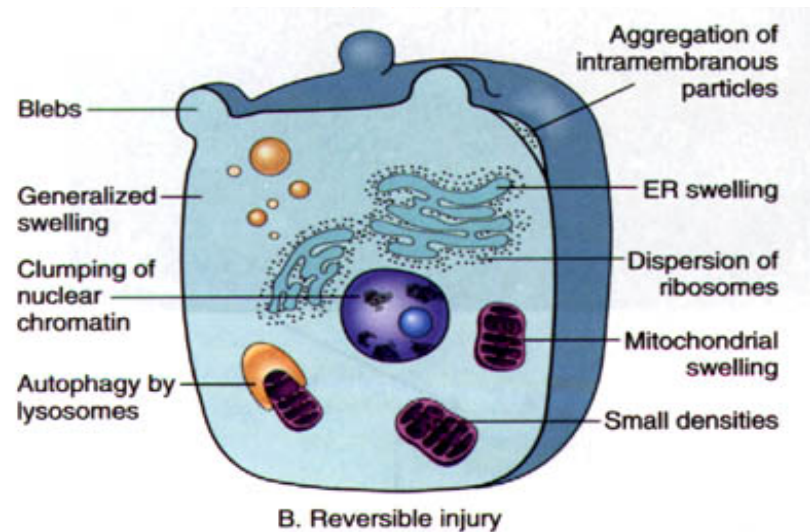
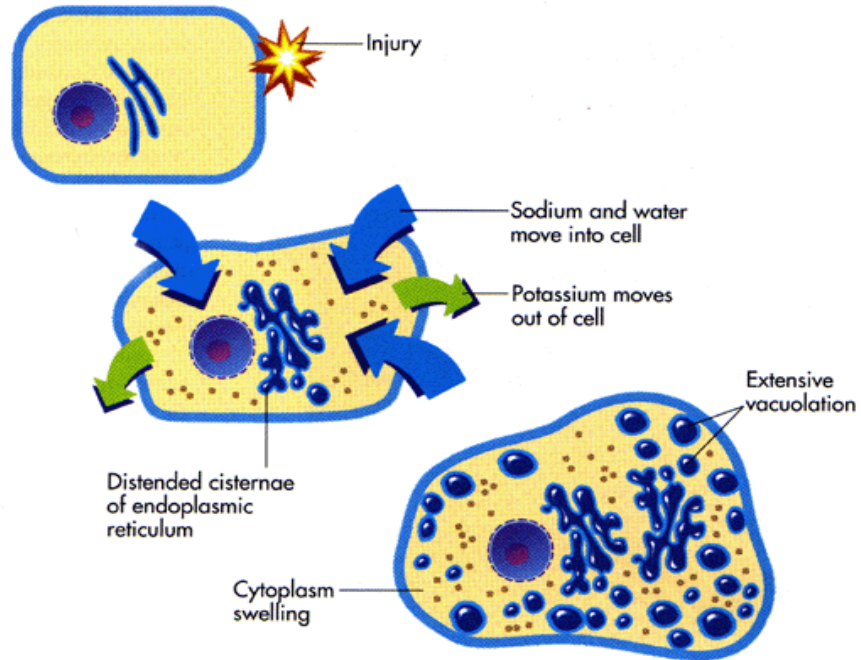
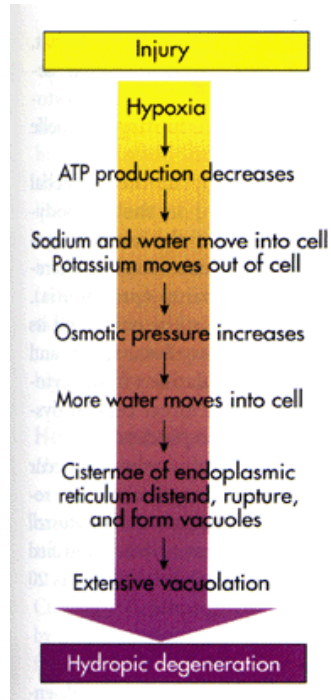
ANTIDOTO

Fomepizolo (4-metilpirazolo): inibitore antagonista competitivo ADH.

Impedisce la trasformazione del **metanolo a formaldeide ed acido formico**, del **glicole etilenico ad acido ossalico, glicolico, formico**, e la stessa metabolizzazione dell'**etanolo ad acetaldeide**.

PS **Disulfiram e Cefoperazone:** inibitori ALDH. Accumulo di acetaldeide nel sangue => palpitazioni, cefalea, vomito, etc...

Danno cellulare reversibile: riassunto



Meccanismi del Danno cellulare **IRREVERSIBILE**

- **Alterazioni Mitocondriali irreversibili**
 - ✓ Blocco del trasporto degli elettroni
 - ✓ Perdita della permeabilità selettiva della membrana
 - ✓ Deplezione di ATP
 - ✓ Alterazione permanente delle pompe di membrana
- **Danno alle membrane**
 - ✓ Attivazione delle Fosfolipasi Calcio-dipendenti
- **Danno al citoscheletro mediato dalle proteasi attivate**
- **Denaturazione delle proteine intracellulari**

REVERSIBLE CELL INJURY		
VERSUS		
IRREVERSIBLE CELL INJURY		
Characteristic	Reversible Cell Injury	Irreversible Cell Injury
Adaptive Response from Cell	Adaptive response of cell is intact and in balance or better than cell injuries.	Adaptive response from cell has been exceeded by cell injuries
Cell Membrane Function	Sodium-potassium pumps malfunction, resulting in loss of homeostasis of fluids and ions	Cell membrane starts to degrade, including organelle membranes, releasing enzymes
Global Cellular Response	Swelling, increase fat storage	Loss of cellular permeability, chemical absorption and toxin formation
Mitochondrial Changes	Swelling, rarefaction, and accumulation of phospholipid rich densities	Swelling, leakage of Cytochrome C into cell cytoplasm, calcification
Nucleus/Chromatin Response	Aggregation of fibular elements in the nucleus	Dissolution of chromatin

Dopo il Danno (irreversibile)...la Morte (cellulare)

	Necrosis <i>(uncontrolled cell death)</i>	Apoptosis <i>(programmed cell suicide)</i>
Size	Cellular swelling	Cellular shrinkage
	Many cells affected	One cell affected
Uptake	Cell contents ingested by macrophages	Cell contents ingested by neighbouring cells
	Significant inflammation	No inflammatory response
Membrane	Loss of membrane integrity	Membrane blebbing, but integrity maintained
	Cell lysis occurs	Apoptotic bodies form
Organelles	Organelle swelling and lysosomal leakage	Mitochondria release pro-apoptotic proteins
	Random degradation of DNA	Chromatin condensation and non-random DNA degradation

- **Necrosi:** Somma delle alterazioni morfologiche associate con la morte dei tessuti viventi
- Bilancio tra la **denaturazione** delle proteine e la **degradazione enzimatica** (Autolisi ed Eterolisi)
- **Richiede ore per essere visibile** (4 - 12h dopo un infarto al Miocardio)

MORFOLOGIA

- ✓ **Rigonfiamento cellulare** (Degenerazione vacuolare)
- ✓ **Aumento della eosinofilia citoplasmatica**
- ✓ **Alterazioni della membrana plasmatica** (vescicolazione, alterazione dei microvilli, allargamento delle giunzioni intercellulari)
- ✓ **Alterazioni nucleari** (picnosi, cariolisi)

Dalla degradazione di componenti cellulari


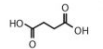




DAMPs (danger-associated molecular pattern molecules)

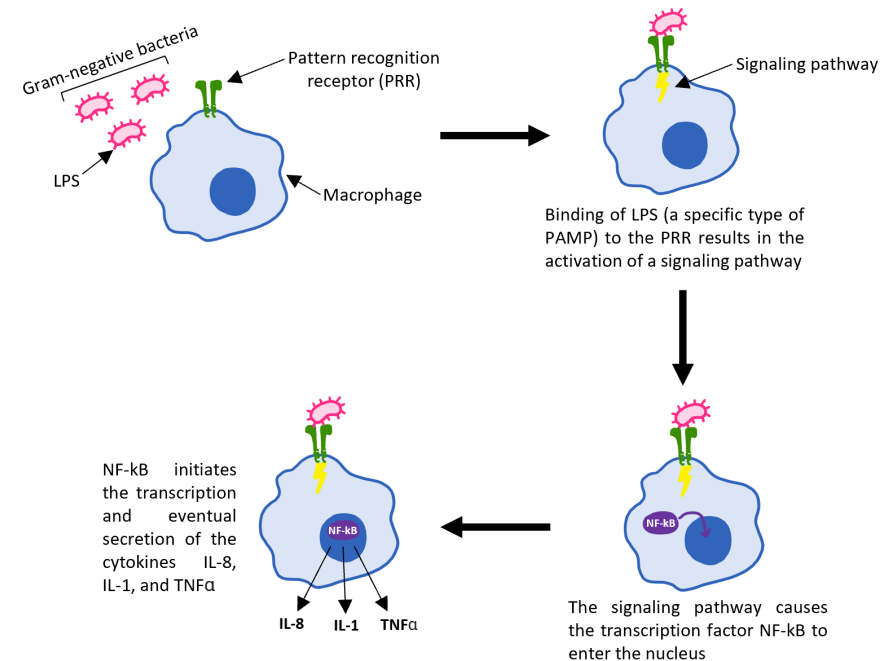
- Molecole della cellula ospite che possono iniziare e perpetuare una risposta infiammatoria.

Proteine citoplasmatiche, nucleari, frammenti di DNA, nucleotidi, nucleosidi che rilasciati nello spazio extracellulare, in un ambiente ossidante, vengono denaturate e divengono DAMPs.

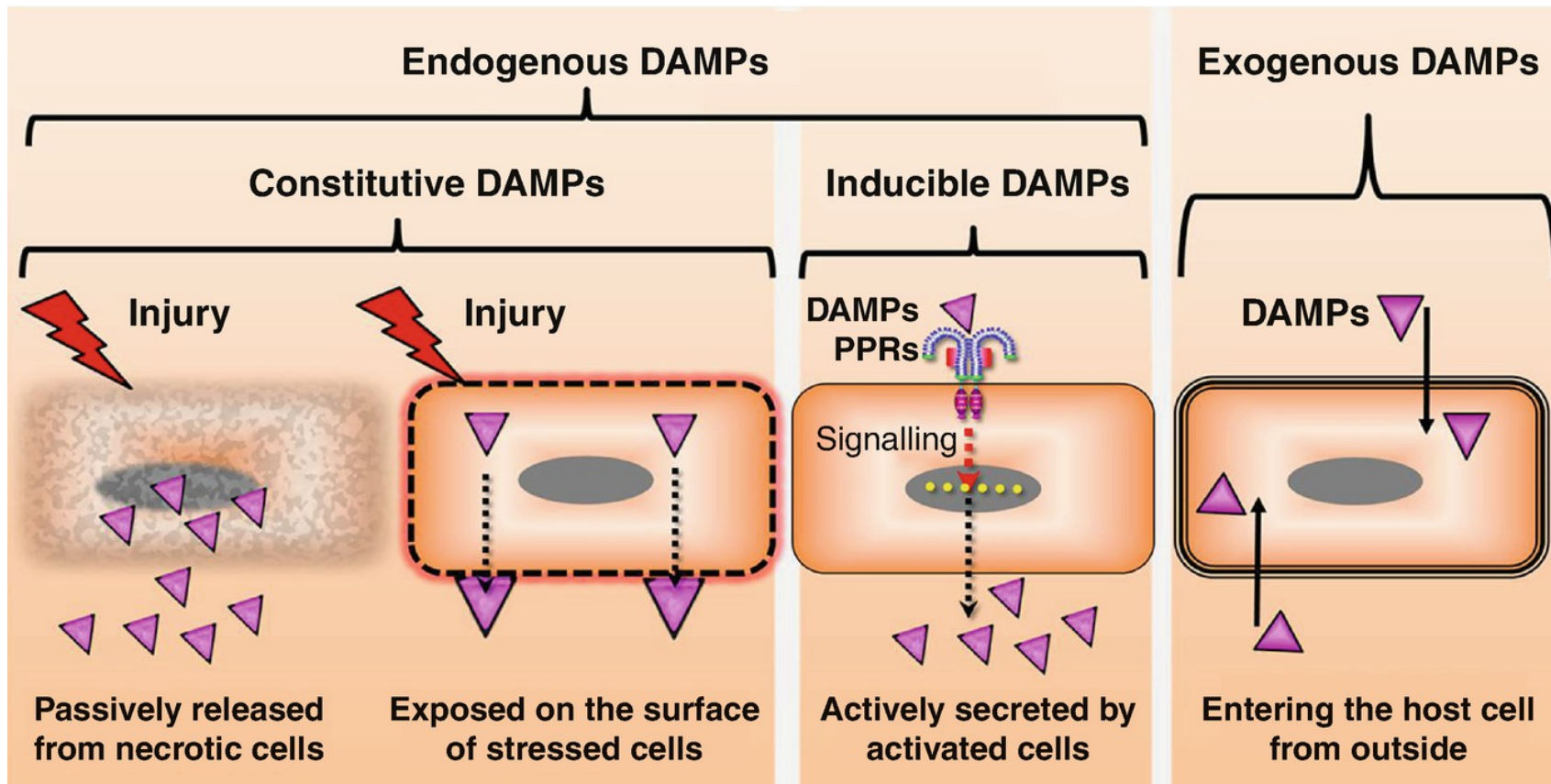
PAMPs (patogen-associated molecular pattern molecules)

- Molecole di che possono iniziare e perpetuare la risposta infiammatoria indotta questa volta da un organismo patogeno infettivo

DAMP	Mechanism
 ATP	Extracellular ATP signals through P2XR to induce inflammasome activation, apoptosis and ROS.
 Succinate	Secretion of succinate triggers pro-inflammatory differentiation of T lymphocytes.
 Cardiolipin	Translocation of cardiolipin to the OMM is associated with increased apoptosis and autophagy.
 N-formyl peptides	Extracellular N-formyl peptides act as chemoattractants of neutrophils via FP receptors.
 Mitochondrial DNA	Extra-mitochondrial mtDNA is detected by different PRR.
 TFAM	TFAM is recognised by RAGE, which guides TFAM-mtDNA complexes to the endosomal pathway.



Classificazione dei DAMPs



Land W.G. (2018) Prologue: About DAMPs, PAMPs, and MAMPs. In: Damage-Associated Molecular Patterns in Human Diseases. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78655-1_11

Un primo approccio per ordinarli in 4 categorie principali consiste nel definirli come **DAMP endogeni ed esogeni**.

DAMP endogeni sono ulteriormente suddivisi in:

- ❖ DAMP **costitutivi** rilasciati passivamente
- ❖ DAMP di **membrana cellulare**
- ❖ DAMP **inducibili** secreti attivamente

Table 11.1 Classification of DAMPs as used in this book

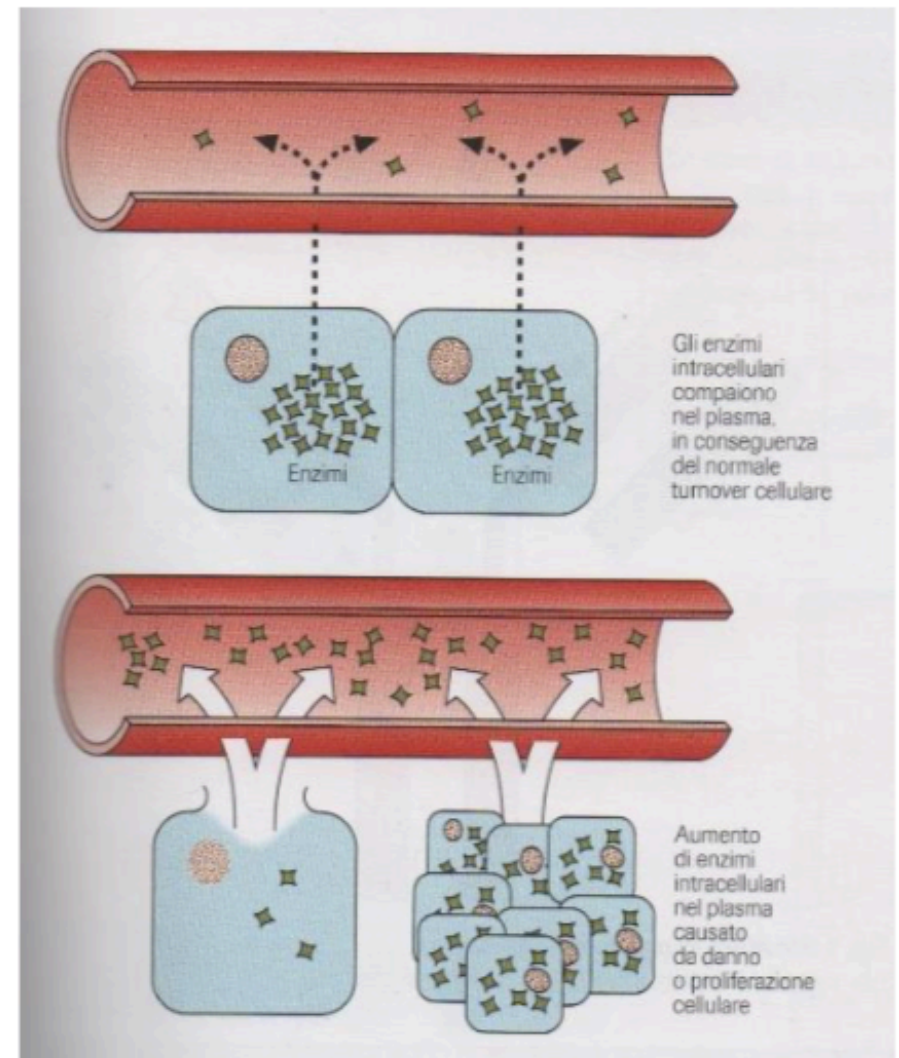
Category I: Endogenous DAMPs: Constitutively Expressed Native Molecules (Cat. I DAMPs)	
Class A: DAMPs passively released from necrotic cells	Subclass 1: DAMPs except indirectly NLRP3-activating molecules Subclass 2: DAMPs indirectly activating the NLRP3 inflammasome
Class B: DAMPs exposed on the cell surface	Subclass 1: Phagocytosis-facilitating molecules ("chaperones") Subclass 2: MHC class I chain-related molecules
Category II: Endogenous DAMPs: Constitutively Expressed, Injury-Modified Molecules (Cat. II DAMPs)	
Class A: DAMPs released from the extracellular matrix	Subclass 1: Proteoglycan Subclass 2: Glycosaminoglycan Subclass 3: Glycoprotein
Class B: Cell-extrinsic modified DAMPs	Subclass 1: Oxidation-specific epitopes (membrane-bound) Subclass 2: Distinct structural sugar patterns (membrane-bound) Subclass 3: Plasma-derived modified soluble molecules
Class C: Cell-intrinsic modified DAMPs	Subclass 1: Nuclear DNA breaks Subclass 2: Cytosolic DNA (nuclear and mitochondrial) Subclass 3: Cytosolic RNA (accumulated, processed) Subclass 4: Dyshomeostasis-associated molecular patterns Subclass 5: Abnormally accumulating metabolic molecules
Category III: Endogenous DAMPs: Inducible DAMPs (Cat. III DAMPs)	
Class A: Native molecules acting as inducible DAMPs	Subclass 1: Actively secreted molecules (also passively released) Subclass 2: Cytokines secreted by (DAMP-) activated cells Subclass 3: Full-length interleukin-1 family members Subclass 4: Complement-related and vascular molecules Subclass 5: Galectins Subclass 6: NF-κB signalling in cross-priming
Class B: Modified Molecules Acting as Inducible DAMPs	Subclass 1: Processed interleukin-1 family members Subclass 2: Processed HMGB1 secreted by activated Immune Cells Subclass 3: Anaphylatoxins C3a and C5a Subclass 4: "Prion-like" polymers
Class C: Suppressing/inhibiting DAMPs ("SAMPs")	Subclass 1: Prostaglandin E2 - cyclic AMP Subclass 2: Annexin A1 Subclass 3: Specialized pro-resolving lipid mediators Subclass 4: Phosphatidylserine - lysophosphatidylserine
Category IV: Exogenous DAMPs (Cat. IV DAMPs)	
Class A: Exogenous DAMPs indirectly sensed by NLRP3	Subclass 1: Aluminum salt Subclass 2: Asbestos fibers Subclass 3: Silica particles
Class B: Exogenous DAMPs sensed by nociceptors	Subclass 1: Noxious stimuli involved in thermosensation Subclass 2: Non-reactive compounds Subclass 3: Reactive electrophilic compounds Subclass 4: Vanilloids- capsaicin
Class C: Allergens	Subclass : Metal Allergens

Classificazione dei DAMPs

Land W.G. (2018) Prologue: About DAMPs, PAMPs, and MAMPs. In: *Damage-Associated Molecular Patterns in Human Diseases*. Springer, Cham.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-78655-1_11

Marcatore del danno cellulare

- **Tutti gli stati di sofferenza cellulare sono accompagnati spesso da alterazioni nei livelli plasmatici di proteine varie (aumenti-diminuzioni)**
- **Gli enzimi vengono rilasciati dalle cellule lese o avviate a processo di danno irreversibile. Aumentano nel sangue:**
 - Turnover cellulare
 - Lesione di una cellula sana
 - Proliferazione cellulare
 - Aumento della sintesi dell'enzima all'interno di una cellula
 - Induzione dell'enzima da parte di alcuni farmaci
- **Tanto più grave è la lesione alla membrana plasmatica, tanto più facilmente passeranno in circolo enzimi cellulari (>interstizio>via linfatica>sangue)**
- **CLEARANCE** degli enzimi plasmatici
 - Filtrazione glomerulare (per proteine di piccole dimensioni)
 - Rimozione da parte del sistema reticolo endoteliale del fegato (es cellule Kupfer) (per endocitosi recettore-mediata)



Marcatori del danno cellulare

Marker aspecifici

- Indicatori di danni tissutali assolutamente non circoscrivibili ad un tessuto specifico (lattato-deidrogenasi).

Marker poco specifici

- Indicatori di danni tissutali circoscritti a un gruppo di organi o tessuti, che però non consentono di identificare e isolare un organo/tessuto particolare (Mioglobina e creatin kinasi, marcatori di danno muscolare generico).

Marker specifici

- Indicatori di danno tissutale specifico. Esempio: troponine cardiache; isoenzimi organo-specifici (CK-MM = muscolo scheletrico; CK-BB = muscolo liscio)

Marcatori del danno cellulare: Danno epatico

Danno epatocellulare acuto: epatite virale acuta (AST, ALT)

Danno epatico colestatico: la colestasi è la soppressione del flusso biliare da ostruzione dei dotti biliari o da epatiti / cirrosi (ALP, GGT)

Danno epatocellulare cronico: epatiti croniche virali o autoimmuni. Tumori.

Danno epatocellulare alcolico: il danno epatico su base alcolica è associato sia con alcolismo acuto che cronico

FOSFATASI ALCALINE (ALP) sono sialoproteine localizzate principalmente sulla membrana cellulare. Esistono isoenzimi (ALP epatica 60%; ALP biliare; ALP ossea 30%; ALP placentale; ALP duodenale)

Valori di riferimento: 90-190 U/I per gli uomini e 85-165 U/I per le donne; bambini 110-700 U/I

gamma-GT (gamma-glutamyltranspeptidasi)

Enzima contenuto a livello microsomiale in molti tessuti: fegato, intestino tenue, milza, pancreas e reni.

Valori di riferimento: 1-30 U/I per gli uomini e 1-20 U/I per le donne

TRANSAMINASI GOT o AST

transaminasi glutamico-ossalacetico che in sigla si definisce GOT oppure AST (aspartato transferasi).

Presente nel fegato e viene analizzato per studiare le condizioni di questo organo, ma anche per valutare eventuali lesioni del muscolo cardiaco oppure alterazioni di quei muscoli che coordinano i movimenti dello scheletro.

Valori di riferimento <40-45 U/I negli adulti e fino a 80 U/I nei bambini

TRANSAMINASI GPT o ALT

transaminasi glutamico piruvico in sigla GPT oppure ALT (alanino amino transferasi); le transaminasi GPT danno la esatta valutazione della gravità dell'alterazione del fegato.

Valori di riferimento: 10-40 U/I per gli uomini e 5-35 U/I per le donne.

MARCATORI BIOCHIMICI SIERICI DELLA FUNZIONALITA' EPATICA

- 1) Bilirubina
- 2) Amminotranferasi (AST e ALT)
- 3) Fosfatasi Alcalina (ALP)
- 4) Gamma-glutamyl transpeptidasi (γ-GT)
- 5) Albumina e Tempo di protrombina

Per la diagnosi di:

- **Ostruzioni del tratto biliare (colestasi) (A , C, D)**
- **Danno acuto epatocellulare (B e D)**
- **Insufficienza epatica cronica (E)**

Tabella 9.1 Principali enzimi di importanza clinica

Enzima (sigla)	Principale origine dell'enzima presente nel sangue	Principali applicazioni cliniche
Alanina amminotransferasi (ALT)	Fegato	Danno epatico parenchimale
Amilasi (AMY)	Ghiandole salivari, pancreas	Malattie pancreatiche
Aspartato amminotransferasi (AST)	Cuore, fegato, muscolo scheletrico, eritrociti	Danno epatico parenchimale
Creatinchinasi (CK)	Muscolo scheletrico, cuore	Malattie muscolari
γ-glutamyltransferasi (GGT)	Fegato, pancreas, rene	Danno epatobiliare
Fosfatasi alcalina (ALP)	Fegato, osso, mucosa intestinale, placenta	Danno epatobiliare, malattie ossea
Lattato deidrogenasi (LDH)	Cuore, eritrociti, linfonodi, muscolo scheletrico, fegato	Anemie emolitiche e megaloblastiche, leucemia e linfomi, neoplasie
Lipasi pancreatici	Pancreas	Malattie pancreatiche

Marcatori del danno cellulare: Danno cardiaco

Infarto al miocardio è il risultato di una sequenza di eventi che spesso si sviluppa nell'arco di diversi anni (placche aterosclerotiche). Non si hanno aumenti significativi di marcatori durante tale processo. Si alterano i valori dei marcatori in seguito all'infarto acuto

Creatin Chinasi (CK): esistono tre isoenzimi (MM, MB, BB). Da seguire per infarto miocardico CK-MB
Valori di riferimento: 10-80 UI/l per gli uomini e 10-70 UI/l per le donne; lattanti 17-134 UI/l

Lattato-deidrogenasi (LDH)

Enzima contenuto nel citosol di molte cellule, importante per la glicolisi. Nel sangue compare da 6 a 12 ore post infarto miocardico, con picco a 24-60 ore. Si normalizza dopo 7-15gg

Valori di riferimento: 120-240 UI/l per gli adulti e 150-785 UI/l per i neonati.

Mioglobina

Presente nella muscolatura scheletrica e nel miocardio. Marcatore non organo specifico. Aumenta nel sangue già dopo 2 ore dall'infarto.

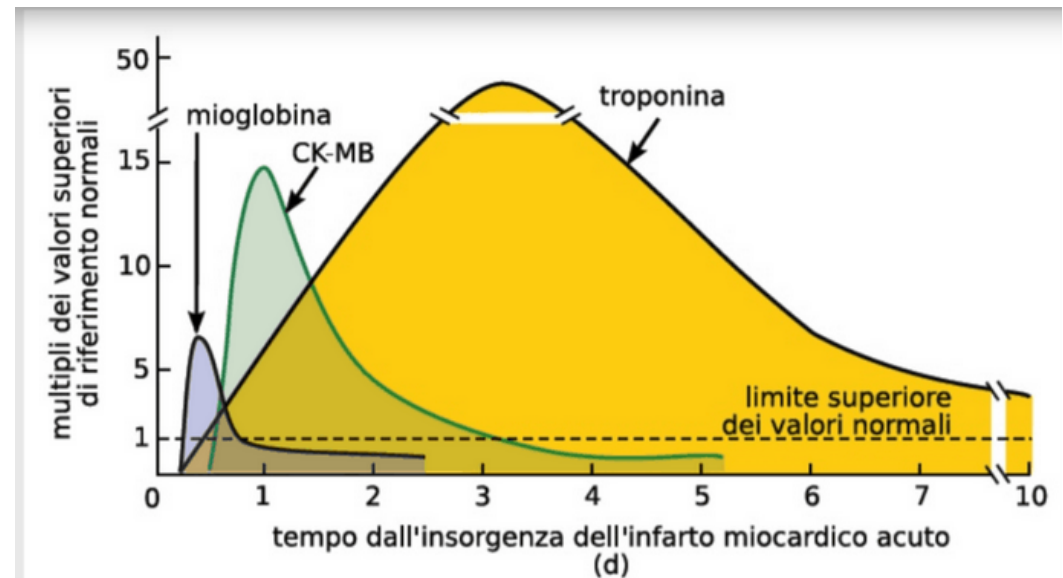
Valori di riferimento <70 µg/l negli adulti.

Troponina

Proteina regolatoria localizzata nei filamenti dei muscoli striati (composta da tre forme isotipiche). Troponina T (cTnT); Troponina I (cTnI); Troponina C (TnC). cTnT e cTnI sono **markers di MI migliori della CK-MB. Restano in circolo 7 e 10gg dopo evento**

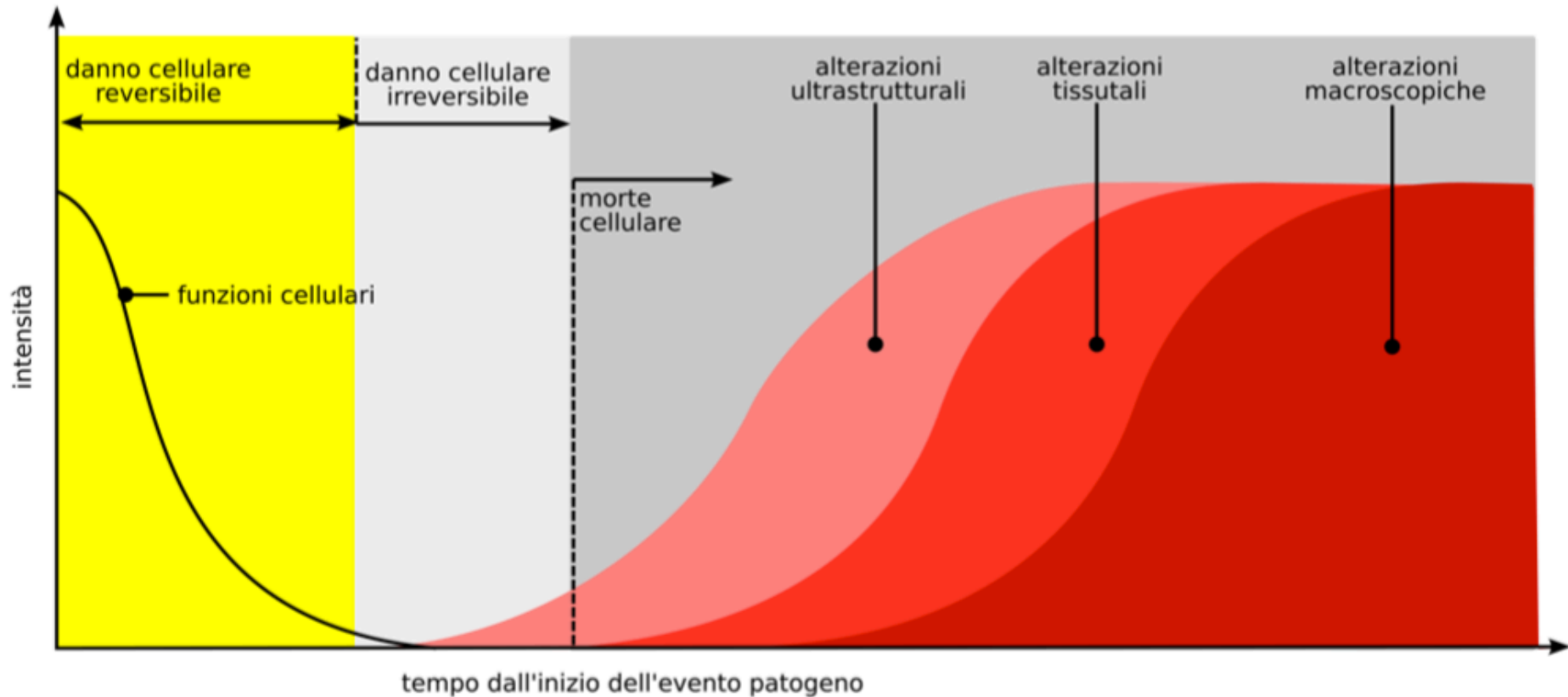
le transaminasi GPT danno la esatta valutazione della gravità dell'alterazione del fegato.

Valori di riferimento: 10-40 U/l per gli uomini e 5-35 U/l per le donne.



Tipi di Necrosi

- COAGULATIVA
- COLLIQUATIVA
- CASEOSA
- ENZIMATICA DEL GRASSO
- GANGRENOSA
- FIBRINOIDE



Necrosi Coagulativa

✓ Alterazioni citoplasmatiche

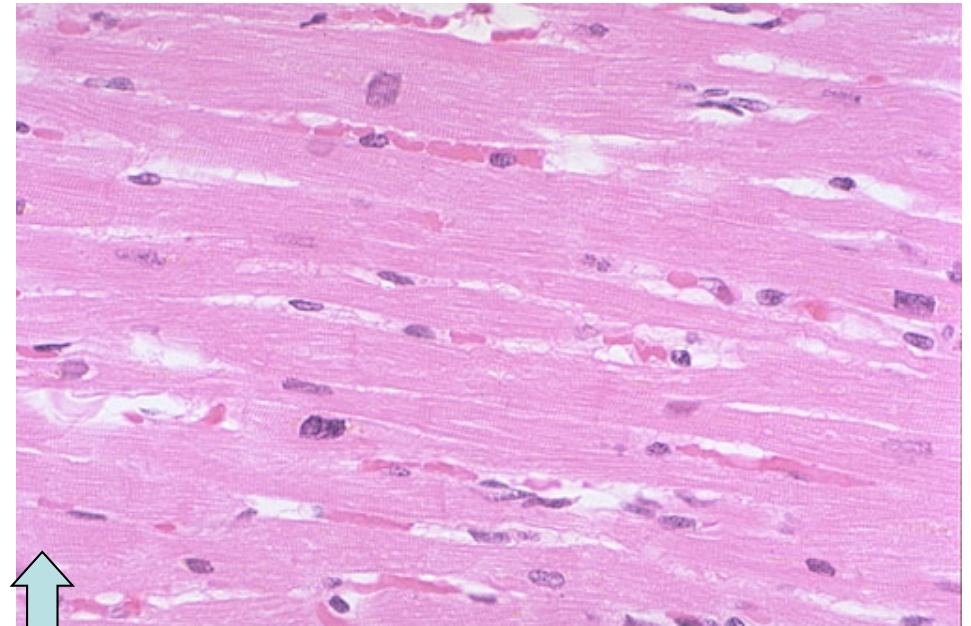
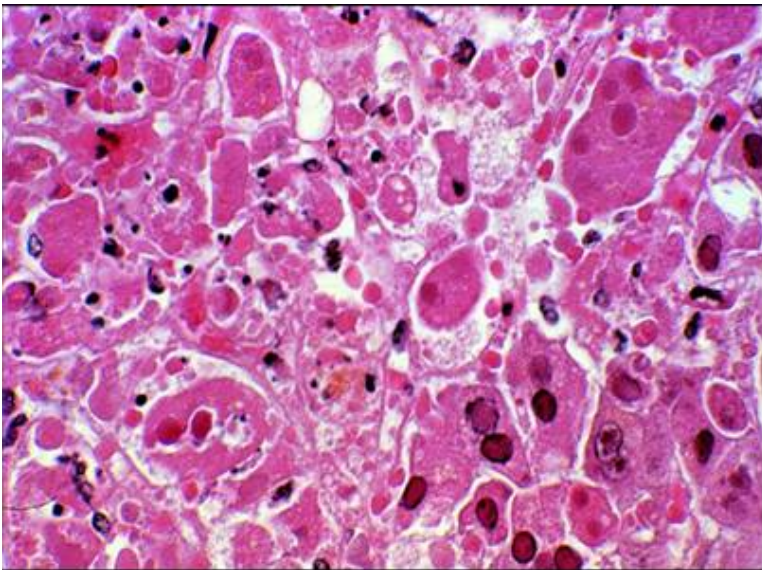
- **Prevalenza della denaturazione delle proteine citoplasmatiche (albume uovo sodo) -> Eosinofilia**
- **Omogenizzazione del citoplasma**
- **Perdita delle strie intercalari muscolari**

✓ Alterazioni nucleari

- **Aggregazione della cromatina, seguita dalla sua redistribuzione lungo la membrana nucleare**
- **Picnosi**
- **Cariolisi**

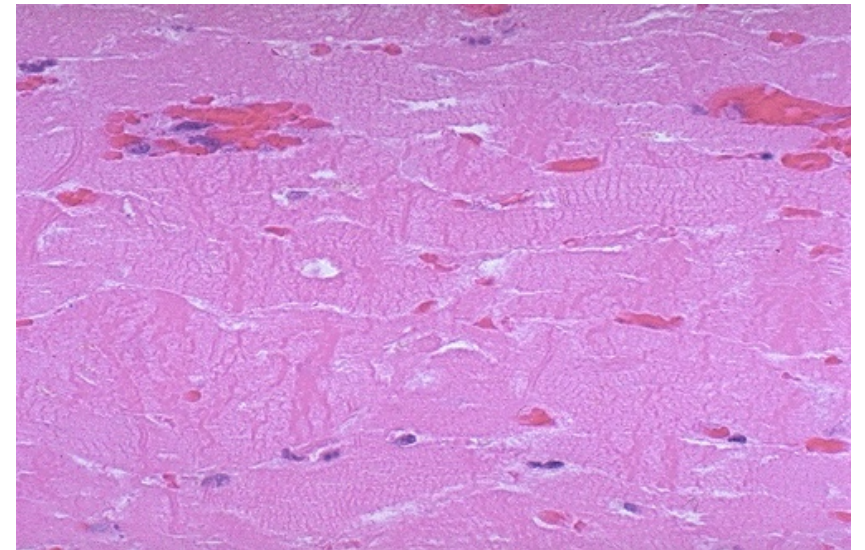
- **Esempi:**
- **Infarto al Miocardio**
- **Acidi forti (bloccano l'idrolisi)**

Picnosi nel Fegato

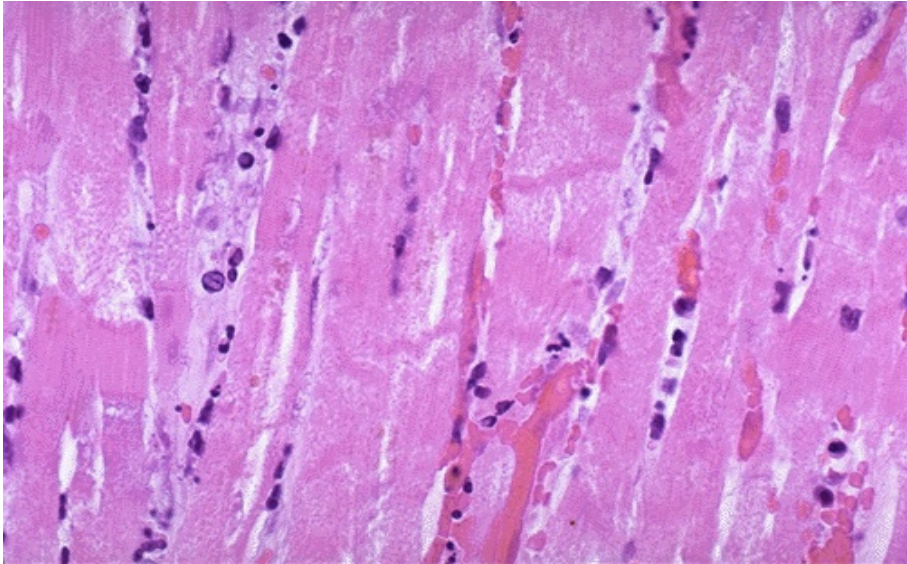


Miocardio normale

Infarto al Miocardio acuto

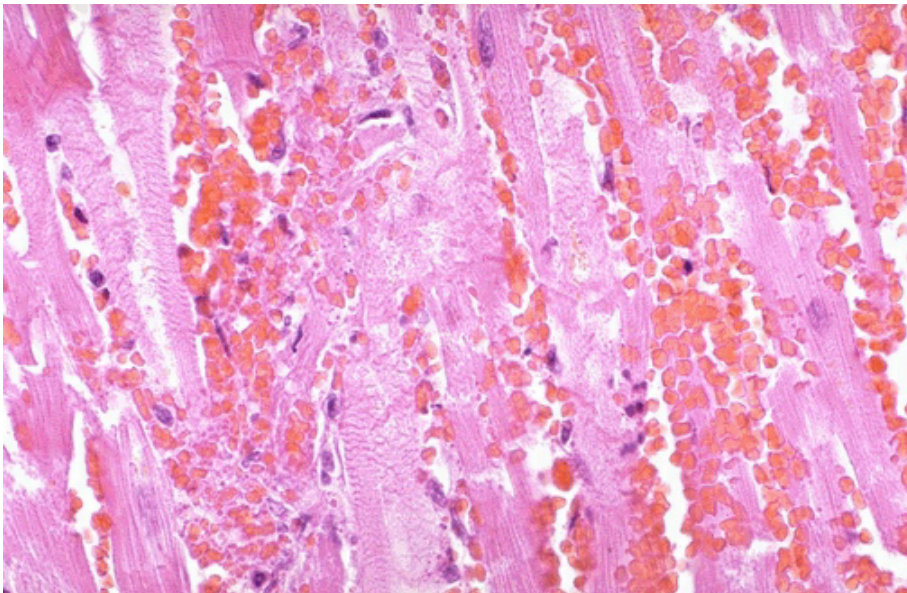


Necrosi Coagulativa



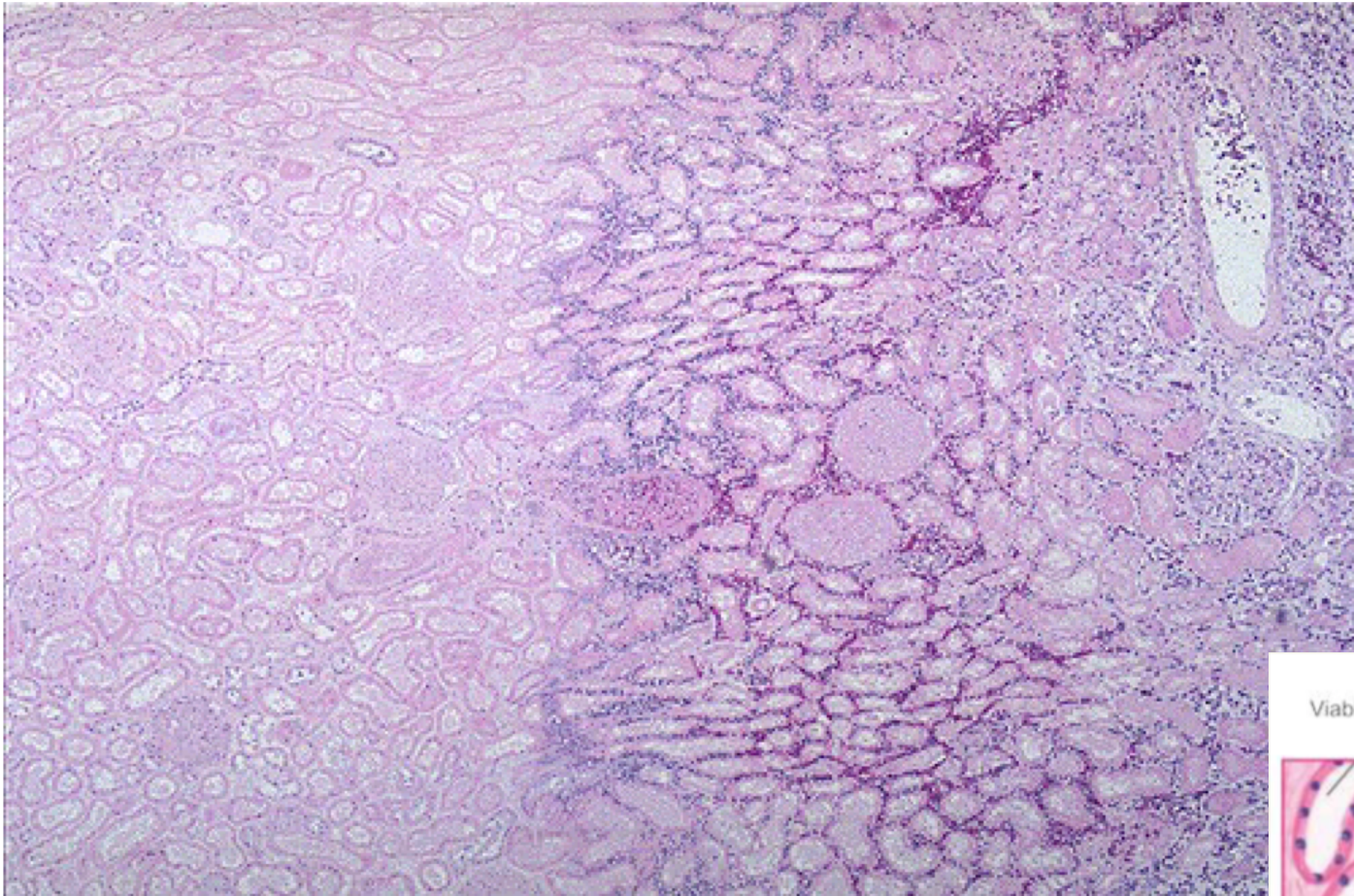
Infarto al Miocardio

This is an early acute myocardial infarction. There is increasing loss of cross striations, and some contraction bands are also seen, and the nuclei are undergoing karyolysis. Some neutrophils are beginning to infiltrate the myocardium.



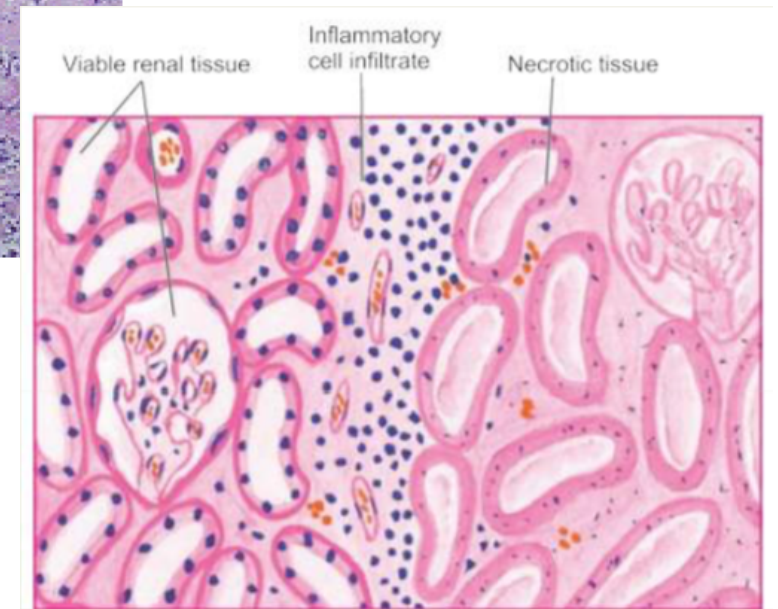
This is an acute myocardial infarction. There is loss of cross striations, and the nuclei are not present. There is extensive hemorrhage here at the border of the infarction, which accounts for the grossly apparent hyperemic border.

Necrosi Coagulativa



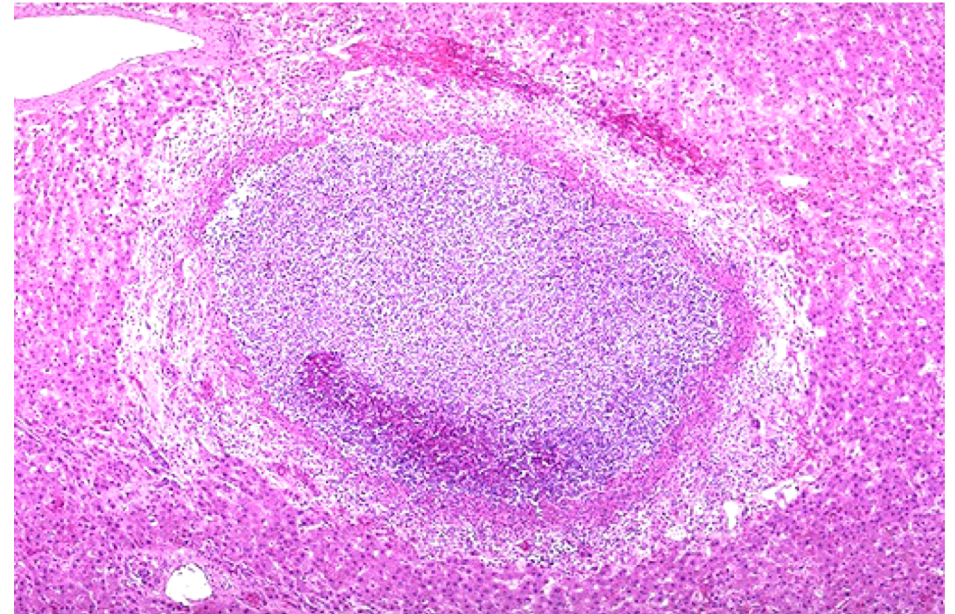
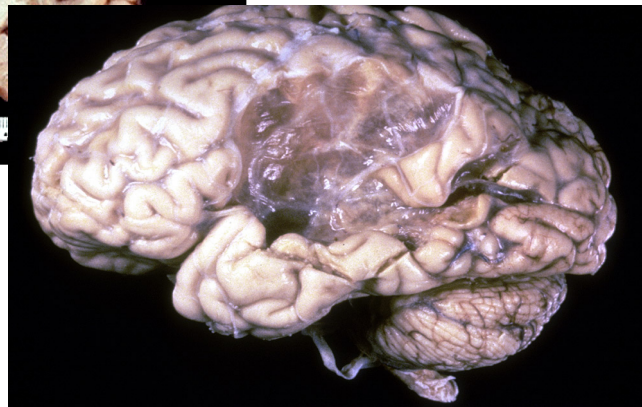
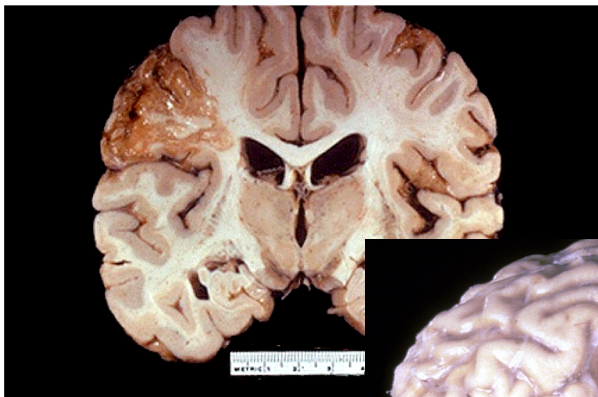
Infarto Renale

Notare la perdita del nucleo ed il mantenimento dell'architettura tissutale



Necrosi Colliquativa

- ✓ **Prevalenza della degradazione enzimatica delle proteine citoplasmatiche**
- ✓ **Primaria:** T. Nervoso, Pancreas, Mucosa Gastrointestinale.
- ✓ **Primaria:** Esposizione a basi forti
- ✓ **Primaria:** Pus
- ✓ **Secondaria:** Rammollimento dei focolai di necrosi coagulativa da batteri o leucociti



Ascesso epatico

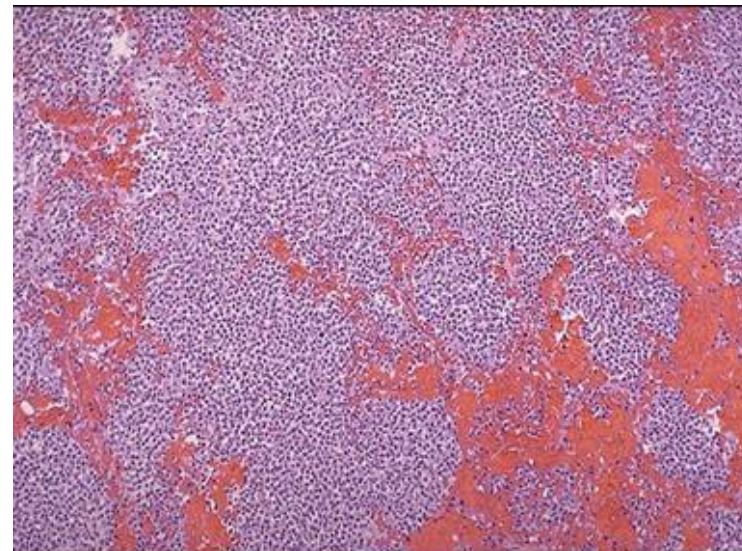
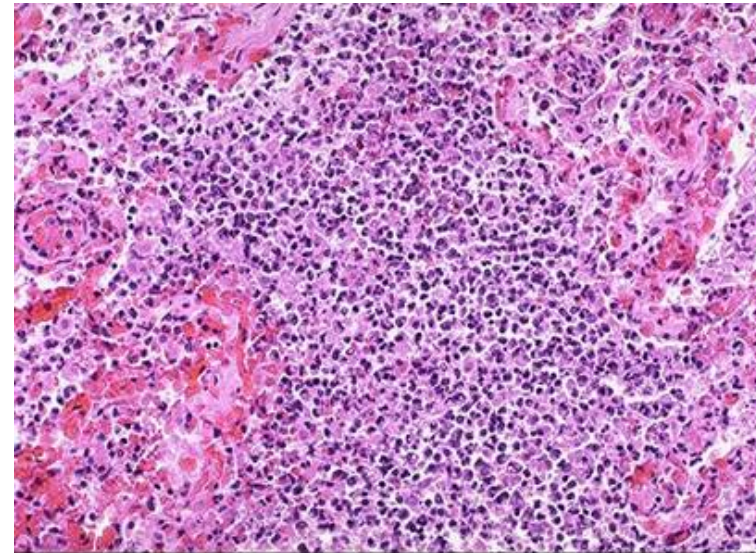
The liver shows a small abscess here filled with many neutrophils. This abscess is an example of localized liquefactive necrosis.

Ictus cerebrale

Grossly, the cerebral infarction at the upper left here demonstrates liquefactive necrosis. Eventually, the removal of the dead tissue leaves behind a cavity.

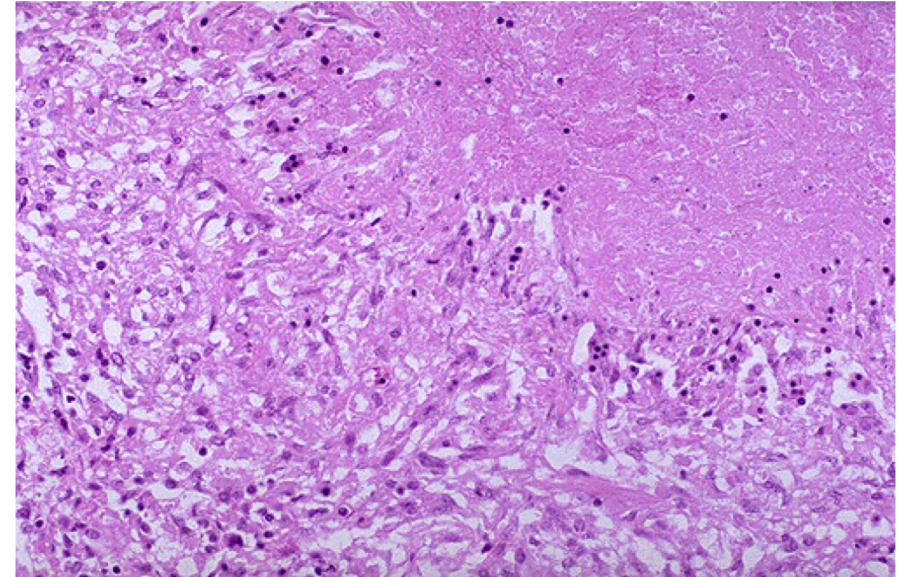
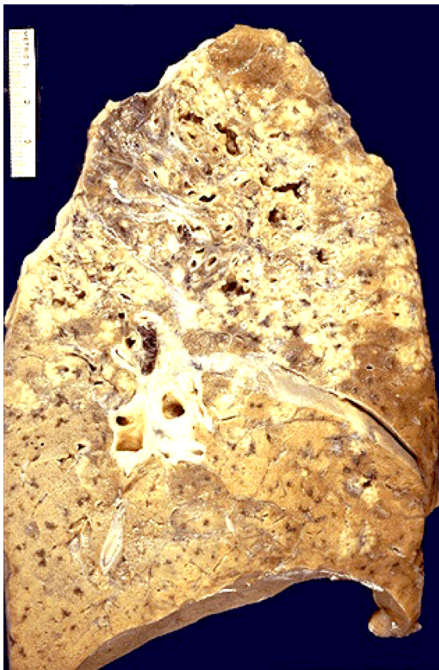
Necrosi Colliquativa

Ascesso polmonare



Necrosi Caseosa

- ✓ **Combinazione di n. coagulativa e colliquativa**
- ✓ **Consistenza simile al formaggio molle per l'abbondanza di lipidi e liquidi plasmatici coagulati**
- ✓ **Omogenea, senza dettagli riconoscibili**
- ✓ **TBC**



Tubercolosi

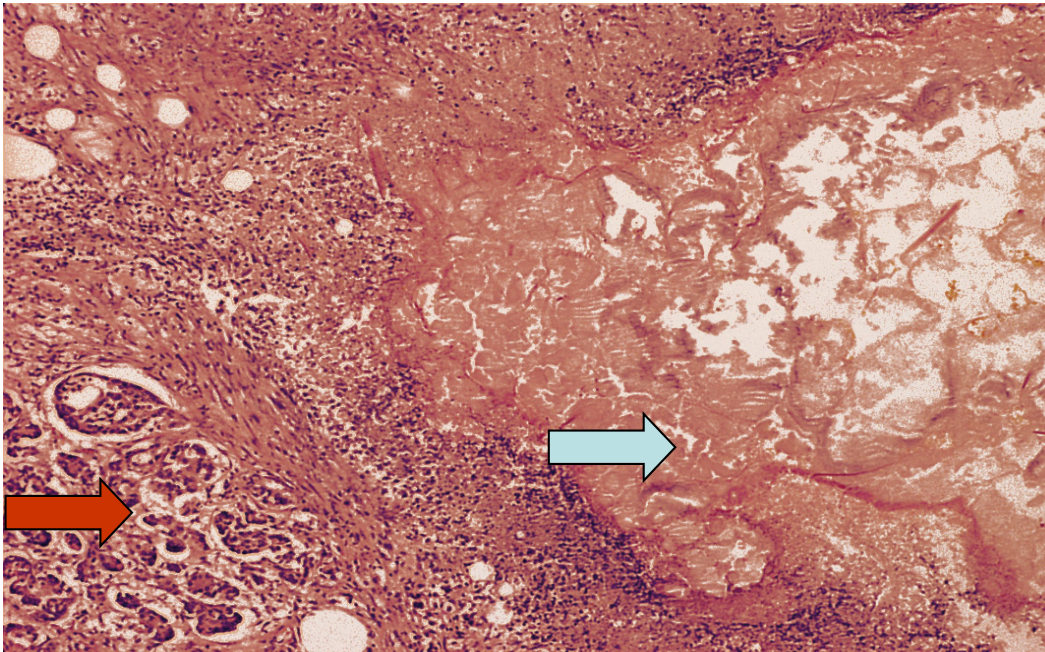
Microscopically, caseous necrosis is characterized by acellular pink areas of necrosis, as seen here at the upper right, surrounded by a granulomatous inflammatory process.

Tubercolosi

- **Necrosi caseosa estesa, con granulomi confluenti di colore marrone chiaro nella parte superiore.**
- **La distruzione del tessuto è così estesa che ci sono aree di cavitazione (spazi cistici) che si formano mentre i detriti necrotici (principalmente liquefatti) drenano attraverso i bronchi.**

Necrosi Enzimatica del Grasso

- ✓ **Necrosi del tessuto adiposo (mesenteriale, omentale, peripancreatico, perirenale, sottocute, midollare)**
- ✓ Cause: pancreatica acuta, schiacciamento, congelamento o iniezione di farmaci necrotizzanti
- ✓ **Lipasi convertono Tg in Acidi Grassi liberi**
- ✓ **Acidi Grassi liberi + Calcio = Saponi (irritanti)**
- ✓ **Liberazione di enzimi pancreatici**
- ✓ **Traumi (seno)**



Steatonecrosi del pancreas

La lesione cellulare degli acini pancreatici porta al rilascio di enzimi che danneggiano il grasso con la produzione di saponi, e questi appaiono come aree bianche

Pancreas: la freccia azzurra indica il sapone formatosi nel tessuto. La freccia rossa indica le ghiandole da cui derivano le lipasi

Necrosi Gangrenosa

- La cancrena si verifica quando la mancanza di afflusso di sangue (e quindi di ossigeno) provoca la morte dei tessuti.
- La cancrena è solitamente esterna, colpisce le estremità, ma può anche influenzare i tessuti interni.
- Le complicanze chirurgiche possono portare a cancrena interna, con segni di shock tossico.
- Il trattamento urgente è importante per prevenire ulteriori gravi malattie e morte. Ciò include la rimozione del tessuto morto e talvolta l'amputazione.

I fattori di rischio includono:

- **Fumo**
- **Obesità, diabete, ipertensione e altre cause di malattia vascolare**
- **Alcol**
- **Compromissione della funzione immunitaria (da HIV, chemioterapia e radioterapia)**
- **Droghe per via endovenosa**
- **Gravi lesioni o interventi chirurgici**
- **Complicazioni di COVID-19 (segnalazioni di persone che hanno avuto una gangrena secca alle dita delle mani e dei piedi dopo aver avuto problemi di coagulazione del sangue legati al COVID-19, coagulopatia).**

Gangrena SECCA

- E' indotta da **ischemia**
- Interessa tipicamente: mani e piedi
- Causa va ricercata in malattie metaboliche o condizioni predisponenti quali in particolare:
 - ✓ **Diabete, ipertensione**
 - ✓ **Gravi ustioni, freddo estremo ed agenti chimici**
 - ✓ **Malattia di Raynaud**: ridotta circolazione alle estremità delle dita delle mani e dei piedi, specialmente quando fa freddo.



- All'inizio, l'area può diventare arrossata ma gradualmente progredisce in un colore brunoastro
- Nella fase finale, la parte del corpo interessata apparirà avvizzita e di colore nero.
- I tessuti gangrenosi appaiono:
 - **Secchi e raggrinziti** (evaporazione)
 - **Freddi** (non circola sangue)
 - **Scuri** ossidazione di Hb e Mb
 - **Nessun cattivo odore** (non c'è putrefazione)
 - **Netta demarcazione col tessuto vivo** (linea rossa viva, reazione infiammatoria, tessuto di granulazione, tendenza alla separazione completa fino alla caduta del tessuto mummificato)

ESEMPI:

- **Gangrena secca del piede** (da aterosclerosi)
- **Congelamento**
- **Fasciature ed ingessature troppo strette**
- **Cordone ombelicale** (gangrena secca fisiologica)



Gangrena UMIDA

Disfacimento putrefattivo di un tessuto necrotico

- Inquinamento della parte necrotica da parte di germi anaerobi e loro proliferazione favorita dal ristagno venoso e linfatico
 - La pelle si gonfia e si formano vesciche che possono rompersi.
 - Può verificarsi in persone con diabete che hanno una lesione ma non se ne accorgono o se ne occupano a causa della neuropatia diabetica.
 - Richiede un trattamento immediato, poichè può diffondersi rapidamente ed essere fatale.
 - **Gangrena gassosa** (mionecrosi clostridiale) è una forma particolarmente severa di cancrena umida.
- Produzione di tossine: shock ed emolisi
 - Clostridi dal suolo, dall'intestino tramite ferite (**C. perfringens**, **C. septicum**, **C. histolyticum**, **Bacillus fusiformis**)
 - Tessuti gangrenosi appaiono:
 - **Rigonfi** (stasi ed edema)
 - **Macerati, rammolliti, liquefatti** (n. colliquativa)
 - **Scuri** (rosso scuro, verde porpora, bruno nero) per azione dell' H₂S sull'Hb (solfometemoglobina, solfuro di ferro)
 - **Maledoranti** (ac butirrico, H₂S, NH₃)
 - **Esotossine dei clostridi:**
 - ✓ Azione necrosante su miofibre;
 - ✓ Fermentazione dei carboidrati muscolari con produzione di gas ed acido lattico;
 - ✓ Abbassamento pH locale con attivazione delle catepsine;
 - ✓ Alterazioni della permeabilità capillare (edema ed emorragie);
 - ✓ Emolisi (lecitinasi degrada membrane delle emazie)

Gangrena UMIDA

- Lesioni: ferite profonde, schiaccianti o penetranti che sono sostenute in condizioni che consentono l'infezione batterica possono portare alla cancrena.
- Può essere un'evoluzione delle forme secche.
- Embolia: l'improvvisa ostruzione di un'arteria può portare alla cancrena secca, ma aumenta anche il rischio di infezione
- Carezza immunitaria: se un sistema immunitario è indebolito (da HIV, diabete, abuso prolungato di alcol o droghe, chemioterapia o radioterapia), il rischio di infezioni aumenta.



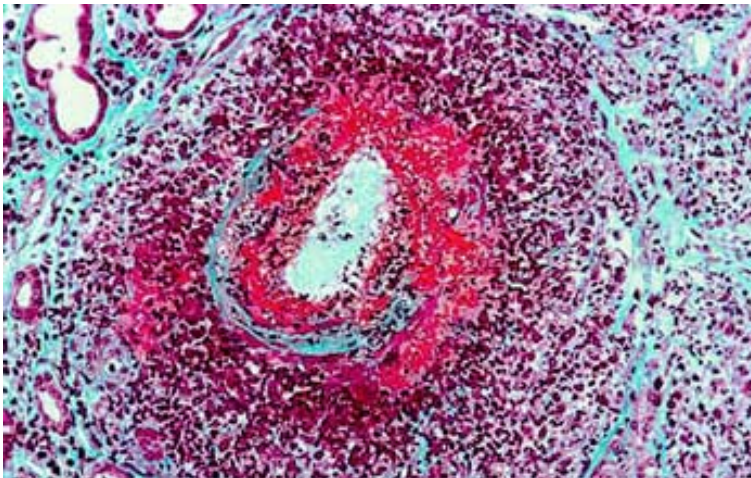
✓ Gangrena Gassosa

- Variante della g.umida con produzione di gas da parte dei batteri (**Clostridium perfringens**)
- Producono esotossina che attacca il tessuto circostante, liberando contemporaneamente del gas arricchito in anidride carbonica, il quale si espande diffondendo il processo.
- Se non trattata tempestivamente, la gangrena gassosa causa necrosi e sepsi => tossiemia e shock settico.

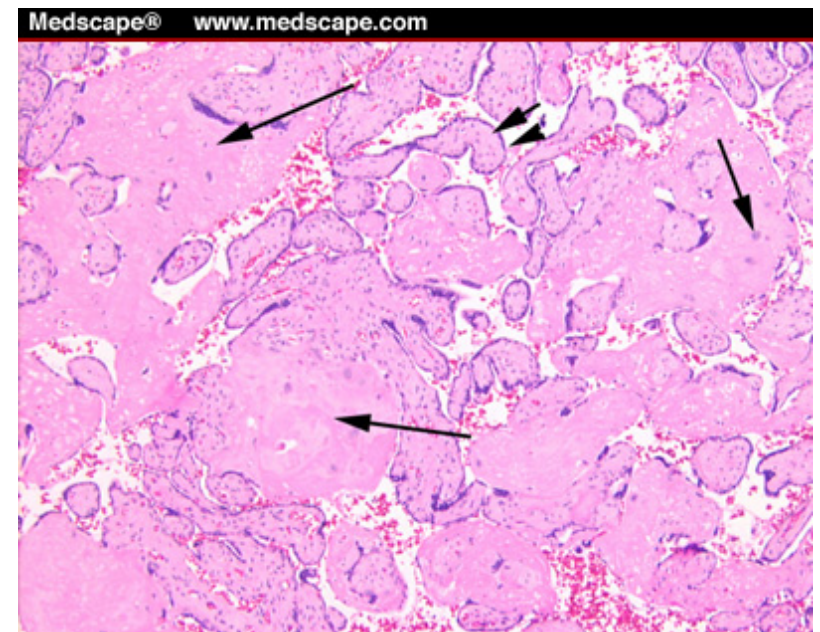
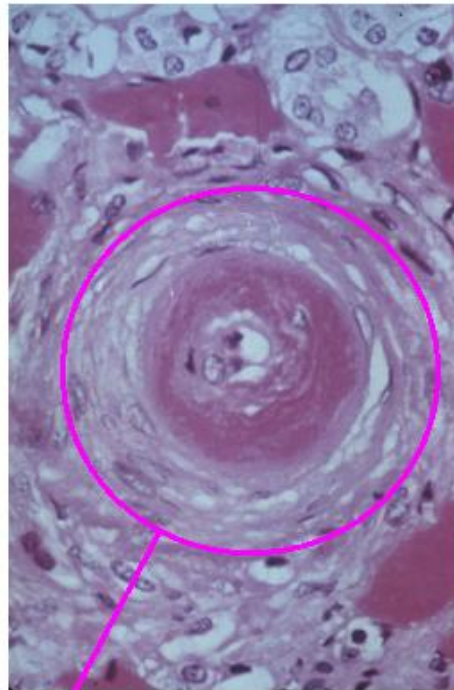
Necrosi Fibrinoide

- Si verifica nei vasi sanguigni che subiscono un'alterazione dei tessuti connettivali, con fuoriuscita di fibrina
- **Necrosi di tessuto connettivo che diviene eosinofilo con un aspetto istologico fibrillare simile alla fibrina. Si osserva a carico delle pareti vasali in caso di vasculite da immunocomplessi.**
- Costituita da proteine plasmatiche (fibrina, complemento), da carboidrati e da immunocomplessi
- **Localizzazione: connettivo degli organi e nelle pareti dei piccoli vasi**

Esempi:
Reazioni di ipersensibilità



Malattia di Wegener:
Arterite e periarterite con necrosi fibrinoide e intensa reazione infiammatoria acuta.



Placenta: processi ateromasicidelle arterie placentali.

la babele della morte cellulare...

Morte cellulare

programmata

(Programmed Cell Death,
PCD)

Tipo I: apoptosi

Tipo II: autofagia

Tipo III: necroptosi

DEFINIZIONI DI MODALITA' ATIPICHE DI MORTE CELLULARE

- **Cornification**
- **Catastrofe mitotica**
- **Anoikis**
- **Excitotoxicity**
- **Degenerazione Walleriana**
- **Paraptosis**
- **Pyroptosis**
- **Pyronecrosi**
- **Entosis**

Necroptosi

Per lungo tempo, l'apoptosi è stata considerata la sola forma di morte cellulare programmata durante lo sviluppo, omeostasi e malattia, mentre la necrosi è stato considerato come un processo regolamentata e incontrollabile.

Recenti studi hanno dimostrato che la necrosi può anche avvenire in un modo regolato.

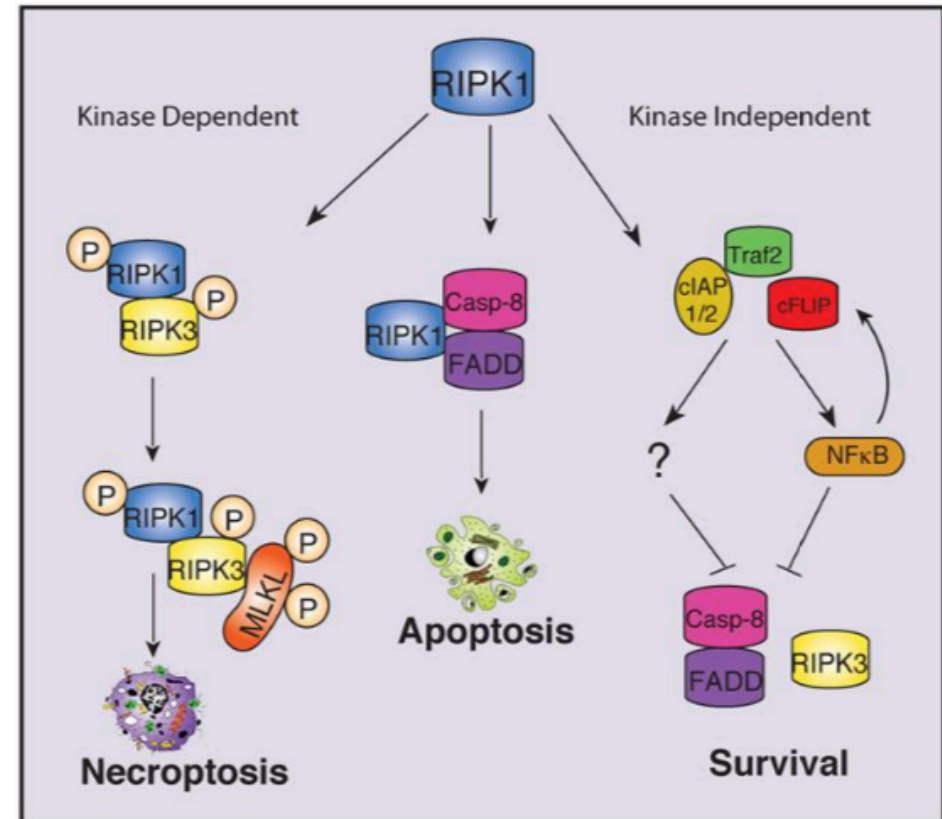
L'avvio delle necrosi programmata, **necroptosi**, da recettori di morte (come il TNFR1) richiede l'attività chinasi di una **receptor-interacting protein kinase** (RIP1, noto anche come RIPK1) e RIP3 (noto anche come RIPK3), e la sua esecuzione implica la disintegrazione attiva delle membrane mitocondriali, lisosomiali e plasmatiche.

Necroptosi partecipa alla patogenesi delle malattie, tra cui il danno ischemico, la neurodegenerazione e l'infezione da microrganismi

E' coinvolta nella morte dei **neuroni ippocampali nell' ICTUS cerebrale**.

La **casp-8** normalmente inibisce RIPK, promuovendo l'apoptosi.

La **dimerizzazione RIPK1- RIPK3** è il meccanismo che indirizza verso la necroptosi

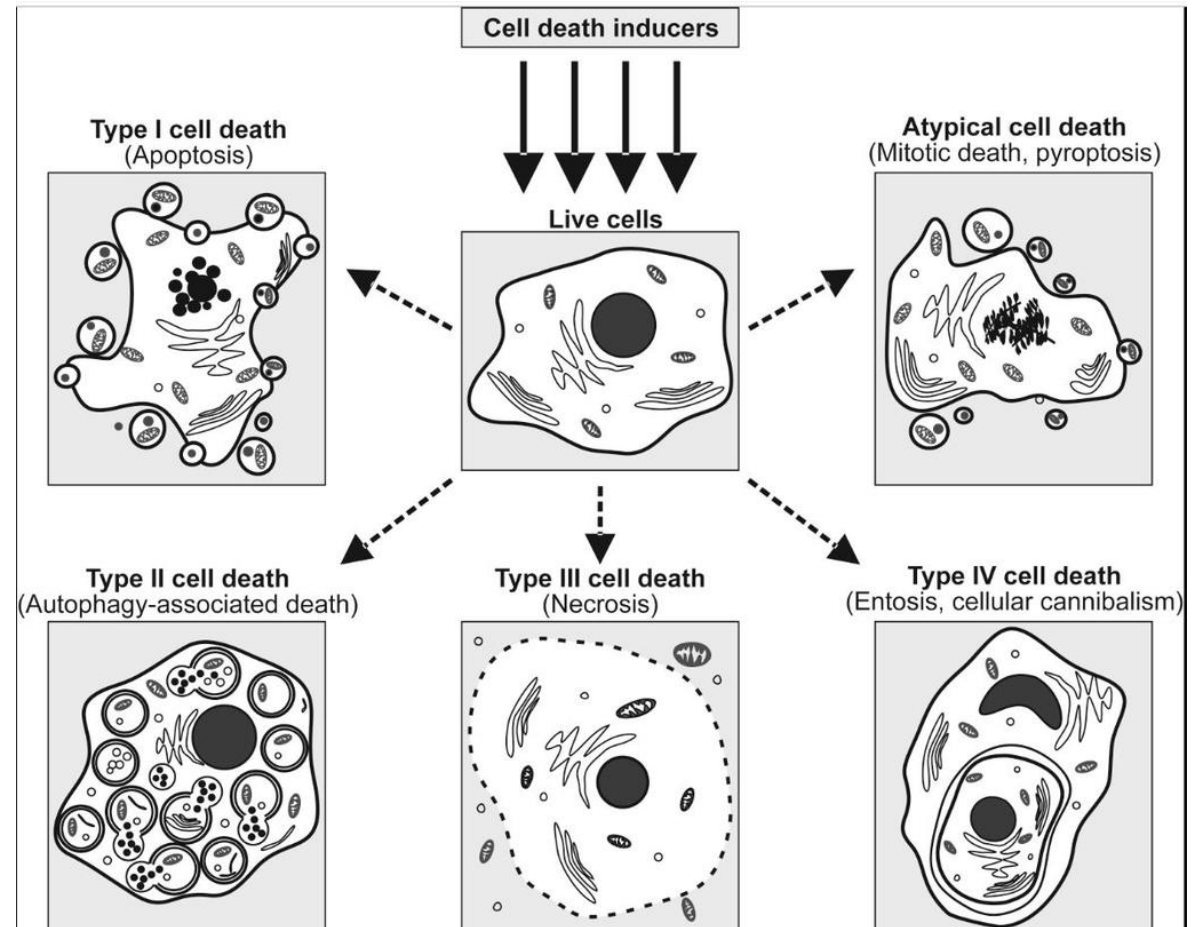


Piroptosi

Processo di **morte caspasi-1-dipendente** generalmente indotta da agenti microbici (PAMPs) e fattori di danno cellulare (DAMPs) che porta a **lisi cellulare**, con rilascio di citochine infiammatorie IL-1 β e IL-18 e materiale citoplasmatico attraverso la formazione di pori nella membrana cellulare.

Piroptosi induce:

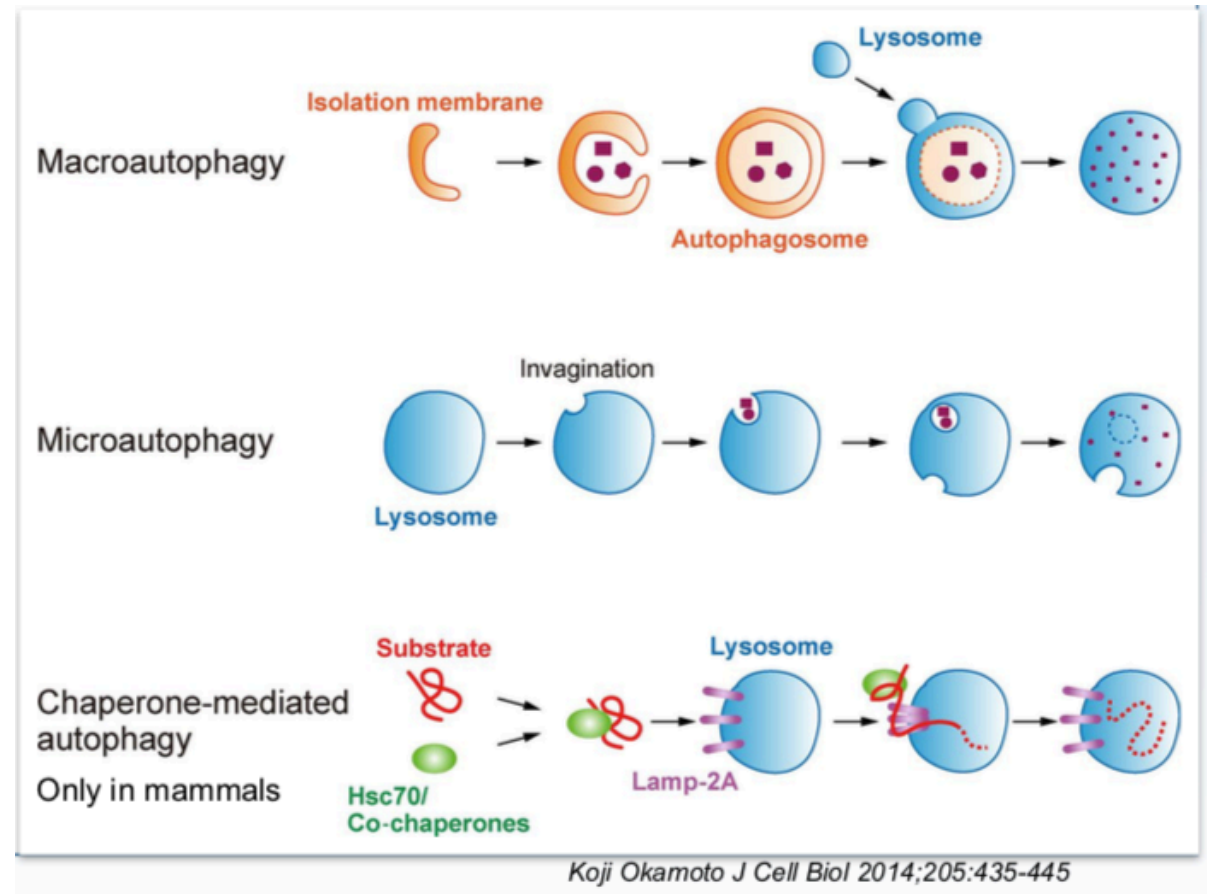
- **Frammentazione del DNA senza rilascio di citocromo c**
- **Risposta infiammatoria**



- Processo catabolico per organelli e materiale citoplasmatico a carico di autofagosomi che rende disponibili aminoacidi, nucleotidi e acidi grassi per i processi anabolici.
- Dipende dall'attivazione di ATG (autophagy- related genes) con funzione di ubiquitinasi.
- In condizioni patologiche, accade che il flusso autofagico si interrompa, per esempio in seguito ad un difetto lisosomiale.
- Ciò conduce ad un accumulo di material tossico per la cellula (es aggregati di α -sinucleina nel M. Parkinson, Tau e β -amiloide nella M Alzheimer) contribuendo al danno e alla morte dei neuroni.

Autofagia

- **Macroautofagia:** coinvolge la formazione di una doppia membrana che si richiude a formare l'autofagosoma: richiede l'attivazione delle proteine Atg.
- **Microautofagia:** deriva dall'invaginazione della membrana lisosomiale che sequestra proteine e organelli
- **Autofagia mediata da chaperonine:** solo le proteine (non organelli) vengono accompagnate verso i lisosomi dalle chaperonine hsp90 e hsc70. La mitofagia è una forma di autofagia selettiva per i mitocondri.



la babele della morte cellulare...

