



Principi di bioingegneria

Lezione 3

Cellula

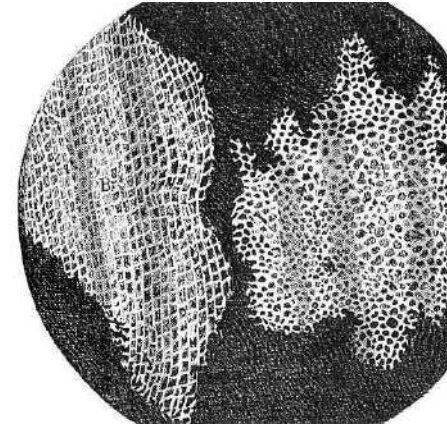
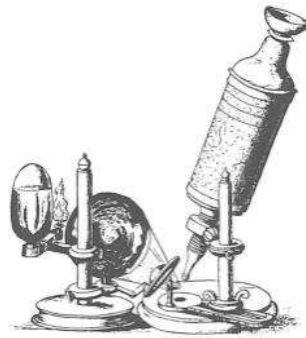
Gabriele Maria Fortunato

gabriele.fortunato@unipi.it



La scoperta delle cellule e la teoria cellulare

Nel diciottesimo secolo il matematico, fisico, astronomo e naturalista inglese Robert Hooke (1635-1702), usando un microscopio di sua invenzione, notò che il sughero e altri tessuti vegetali erano formati da piccole cavità separate da pareti; egli chiamò queste cavità «celle», cioè «piccole stanze». Il termine «cellula» ha assunto il suo attuale significato, cioè «unità di base della materia vivente», soltanto 150 anni dopo la scoperta di Hooke.



Nel 1838 Matthias J. Schleiden (1804-1881), un botanico tedesco, giunse alla conclusione che tutti i tessuti vegetali sono costituiti da insiemi organizzati di cellule.

Nell'anno seguente lo zoologo tedesco Theodor Schwann (1810-1882) estese le osservazioni di Schleiden ai tessuti animali e propose una base cellulare comune a tutti gli organismi viventi. Nel 1858 l'idea che tutti gli organismi fossero formati da una o più cellule assunse un significato ancora più ampio quando l'anatomopatologo tedesco Rudolf Virchow (1821-1902) affermò che le cellule possono essere originate solo da altre cellule preesistenti.

Cos'è la cellula?

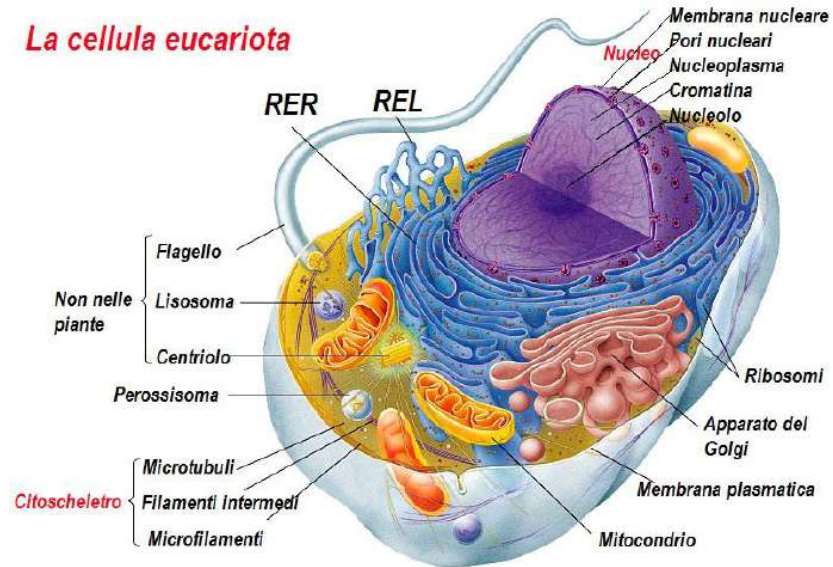
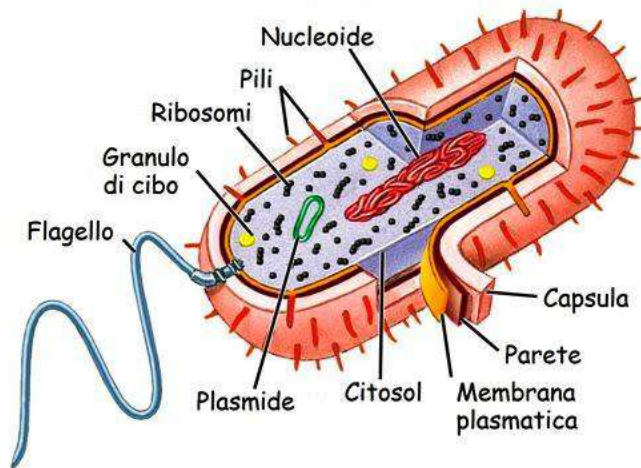
La cellula rappresenta l'unità morfologica e fisiologica elementare di tutti gli organismi viventi, animali e vegetali. Le sue proprietà la rendono autosufficiente, infatti essa è capace di nutrirsi e di produrre l'energia necessaria alle sue attività, di riprodursi, di specializzarsi in relazione alle funzioni che deve svolgere.

Ogni cellula conserva, sviluppa e replica la sua organizzazione in condizioni fisiche rigorosamente definite; infatti, tutte le sue reazioni chimiche sono sottoposte a catalisi e regolazione da parte di molecole che sono sostanzialmente le stesse sia nell'uomo sia nel batterio.

Cos'è la cellula?

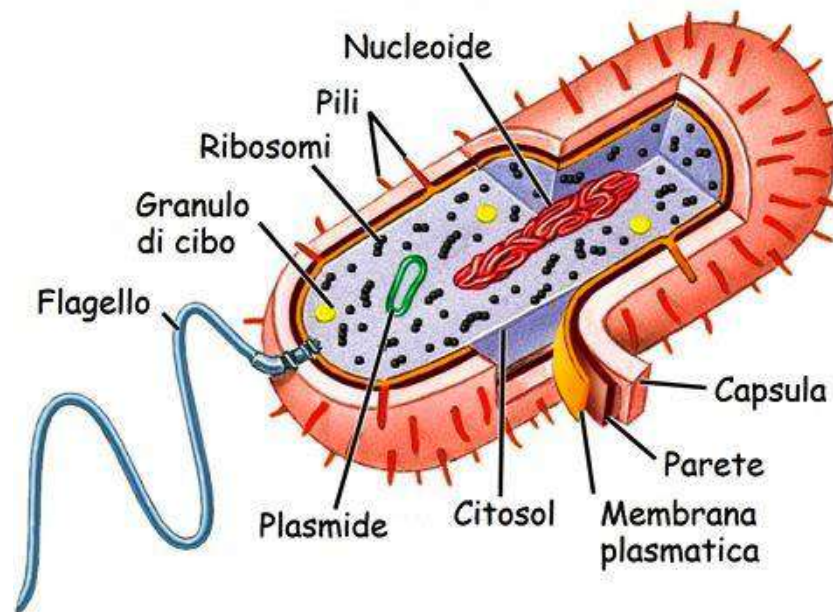
Un organismo può essere costituito da una sola cellula (nel quale caso è definito **unicellulare**) o da più cellule (organismo **pluricellulare**).

Possiamo suddividere le cellule in **procariote** ed **eucariote**



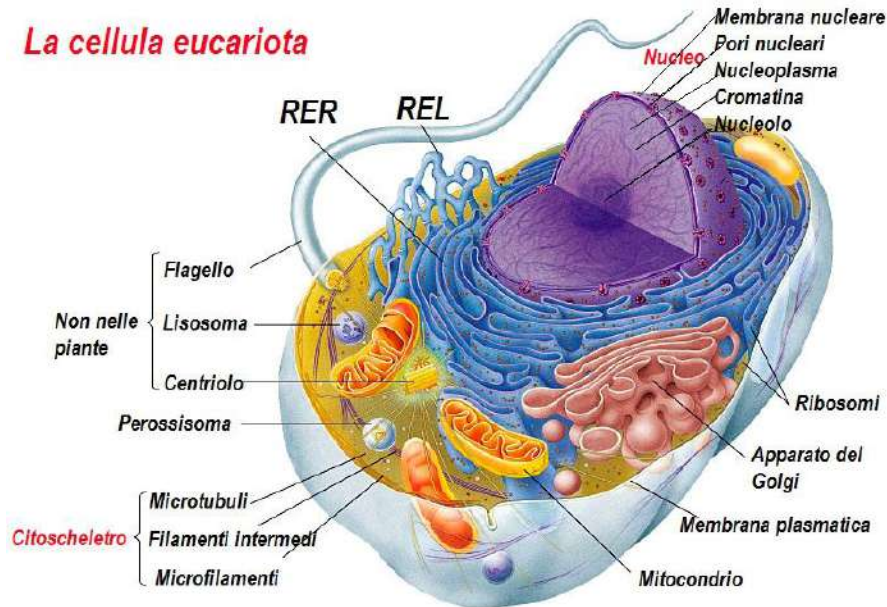
Cellule procariote

Le cellule procariote (per esempio, i batteri) presentano il materiale genetico libero nel citoplasma, mentre negli eucarioti esso si trova segregato all'interno di un nucleo circondato da membrana.



Cellule eucariote

Le **cellule eucariote** (quelle che formano il corpo delle piante, degli animali e dell'uomo) è caratterizzata da un nucleo, in cui è racchiuso il patrimonio genetico, e da organuli membranosi deputati allo svolgimento di specifiche funzioni. Queste strutture sono protette dalla massa gelatinosa del citoplasma e da un involucro detto membrana plasmatica.



Dimensioni

Nella maggior parte delle cellule le dimensioni sono comprese tra i 7 e i 50 micrometri, rendendo impossibile distinguerle a occhio nudo, e solo in seguito all'introduzione del microscopio ottico e, soprattutto, di quello elettronico è stato possibile studiarne la struttura.

Le piccole dimensioni possono essere spiegate con il fatto che se aumenta la superficie aumenta anche il volume, e questo, oltre a far diventare la cellula più ingombrante, ne accrescerebbe le necessità, rendendo più difficile il mantenimento di un equilibrato stato vitale (per esempio, per la cellula sarebbe più complicato assumere la giusta quantità di nutrimento). Va però considerato che la cellula ha necessità di una superficie di adeguata ampiezza per permettere gli scambi con l'ambiente esterno.

Forma e aspetto

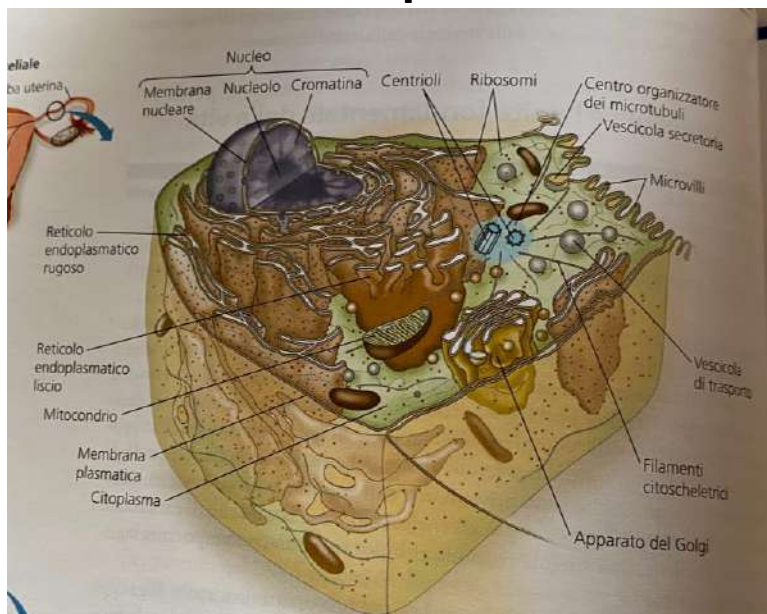
A seconda della funzione svolta, le cellule possono presentare grandi differenze nella forma: sferica, poligonale, appiattita, cilindrica, con o senza prolungamenti ecc.

Anche l'ambiente nel quale una cellula si trova può influenzarne la forma; in questo senso sono classici gli esperimenti di osmosi condotti immergendo le cellule in una soluzione salina della quale viene variata la concentrazione: se la soluzione è isotonica rispetto al contenuto cellulare, la cellula mantiene la sua forma; nel caso di soluzione ipotonica la cellula tende ad assorbire acqua dalla soluzione e si gonfia, eventualmente fino alla lisi; se la soluzione è ipertonica la cellula perde acqua, raggrinzendosi.

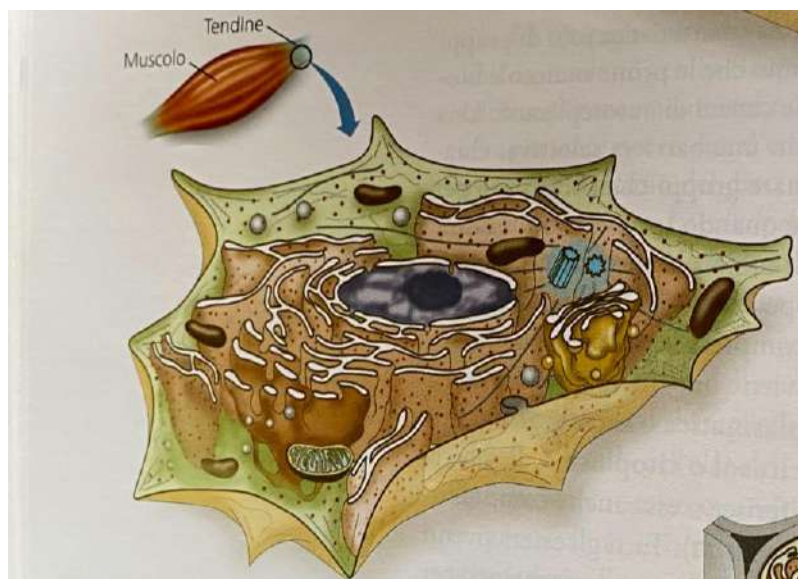
Cellule vegetali

Nel caso delle cellule vegetali, circondate da una rigida parete cellulare che non subisce l'effetto del cambiamento di concentrazione salina, se l'ambiente esterno è ipertonico rispetto alla cellula, questa tende a restringersi, e la membrana plasmatica si distacca dalla parete, mentre se l'ambiente esterno è isotonico la cellula si gonfia, determinando un aumento del turgore della parete.

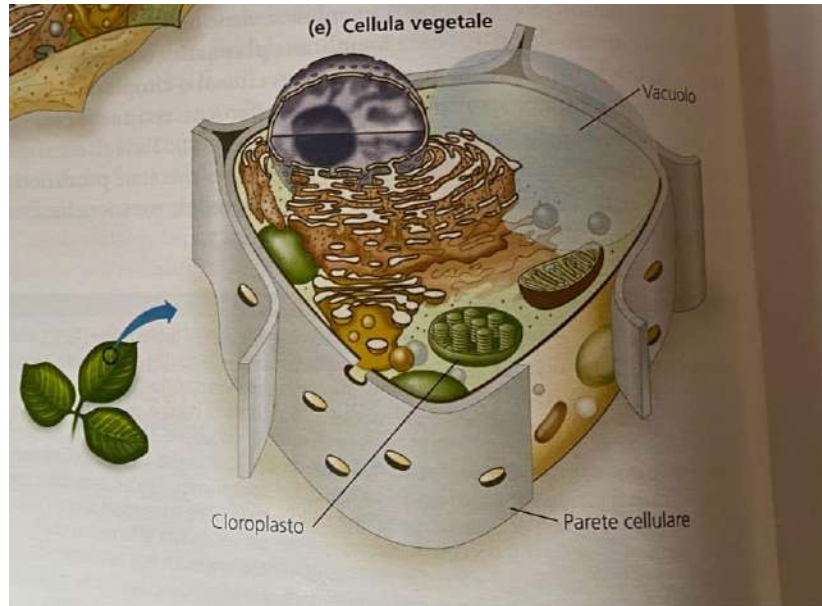
Cellula epiteliale



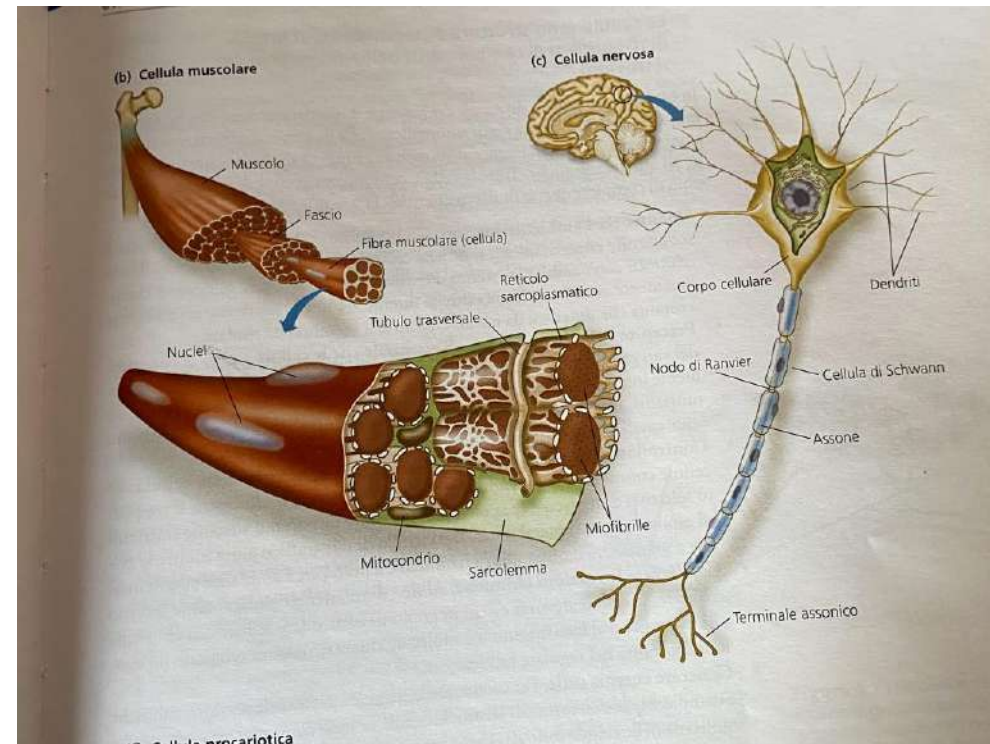
Fibroblasto



Cellula vegetale



Cellula Muscolare e Nervosa



Funzioni cellulari

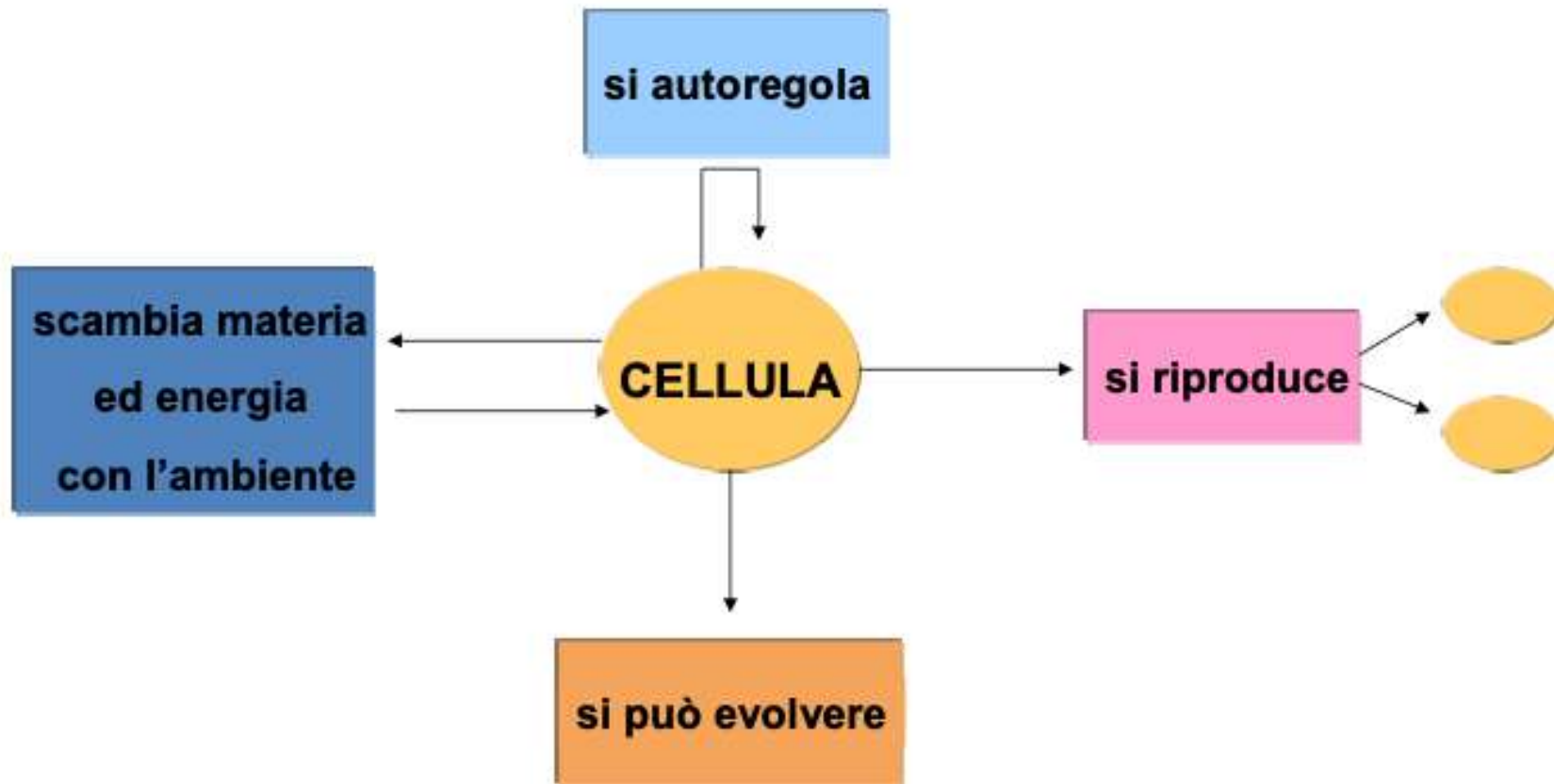
Il principio che vige alla base della attività delle cellule è la **divisione del lavoro**, in quanto nessuna molecola fondamentale all'attività cellulare è in grado di autoreplicarsi.

Le funzioni cellulari principali sono:

- **Mantenere l'ambiente interno.** Gli organismi viventi devono trattenere e conservare energia; e questo lo si ottiene mantenendo un disequilibrio chimico con l'ambiente esterno. Per rimanere vitali, le cellule devono continuamente modificare le loro attività interne al fine di mantenere un ambiente costante che differisce da quello esterno alla membrana cellulare.
- **Percepire l'ambiente esterno.** E' essenziale che le cellule siano «al corrente» dei vari cambiamenti dell'ambiente esterno che possono incidere sul loro ambiente interno (variazioni di temperatura, acidità, pressione osmotica, livelli di nutrienti, etc) . Possiamo dire che le cellule hanno dei sensori per tutte queste alterazioni.
- **Controllare il flusso di molecole in ingresso ed in uscita.** Le cellule mediamente importano nutrienti ed esportano cataboliti, un controllo attento di ciò permette di mantenere costante l'ambiente interno.
- **Catalizzare le reazioni chimiche.** Devono controllare le reazioni chimiche che avvengono al loro interno ed in ciò sono aiutate dalla presenza degli enzimi.

Funzioni cellulari

- **Generare energia utile.** Per catalizzare le reazioni chimiche e svolgere qualsiasi attività la cellula ha bisogno di energia. Molte molecole presenti nella cellula hanno il compito di catturare l'energia dall'esterno e convertirla in una forma energetica utilizzabile all'interno. L'esempio più noto di una forma di energia utile è l'adenosina trifosfato, nota come ATP.
- **Conservare l'informazione genica.** Le cellule contengono le istruzioni per la produzione della maggior parte delle molecole necessarie per rimanere in vita. Tali istruzioni sono conservate sotto forma di un semplice polimero molecolare chiamato acido deossiribonucleico o DNA
- **Sintetizzare molecole biologiche.** Una notevole quantità di energia catturata dalla cellula viene utilizzata per costruire nuove molecole biologiche, per sostituire quelle danneggiate, consentire nuove funzioni cellulari, o generare copie sufficienti della molecola stessa nel caso la cellula debba replicarsi.
- **Regolare il flusso di informazioni.** In pratica deve essere regolato il flusso delle molecole che mette in comunicazioni sia le varie parti della cellula stessa che quello tra cellule dello stesso tipo o diverse.

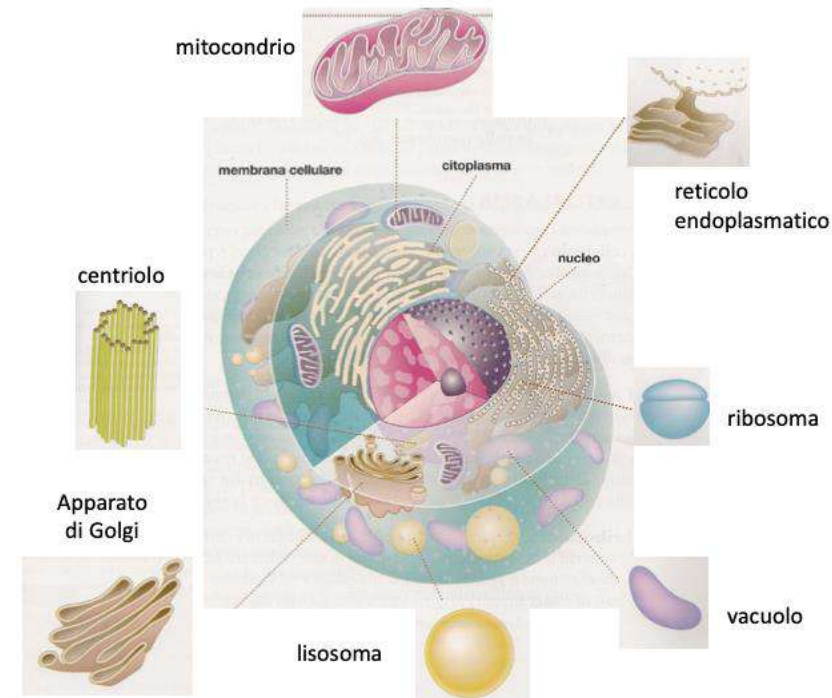


Le cellule presentano differenti forme, perché svolgono funzioni diverse. Le cellule delle piante e degli animali presentano caratteristiche diverse, ma tutte le cellule sono costituite da tre componenti fondamentali:

- **La membrana cellulare** che le ricopre completamente
- **Il citoplasma**, che è un materiale gelatinoso contenuto all'interno della cellula
- **Il nucleo**, che è una massa tondeggiante, che dirige tutte le funzioni delle cellule..

Le cellule eucariote (vegetali o animali) presentano numerosi organelli:

- mitocondri,
- vacuoli,
- lisosomi,
- ribosomi
- il reticolo endoplasmatico liscio e rugo
- apparato del Golgi

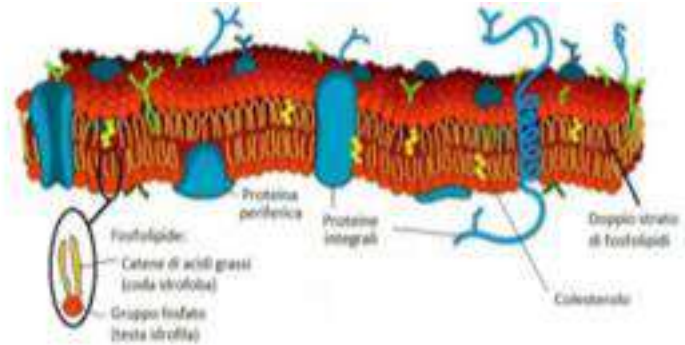


La membrana cellulare o plasmatica

La membrana cellulare detta anche membrana plasmatica, è molto sottile e avvolge completamente la cellula.

Svolge le funzioni di

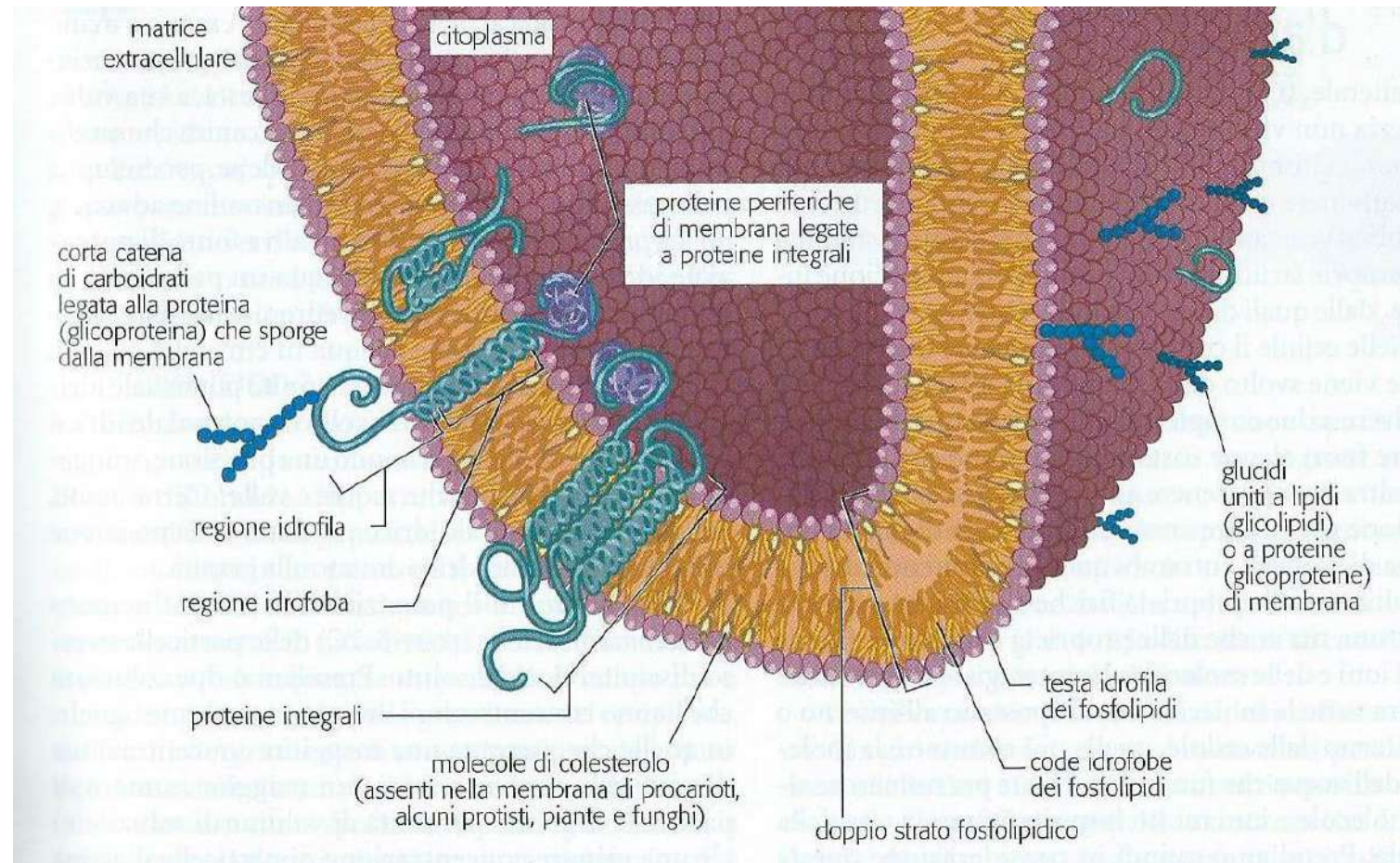
- Protezione
- Scambio di sostanze fra cellula e ambiente o cellula e cellula
- Adesione fra cellule
- Riconoscimento di messaggeri



La membrana è composta da proteine e lipidi, soprattutto fosfolipidi; questi hanno la caratteristica di essere anfipatici, ossia presentano una parte idrofilica (testa), costituita da un gruppo fosfato legato ad ammine e carboidrati, e una parte idrofobica, determinata da catene di acidi grassi.

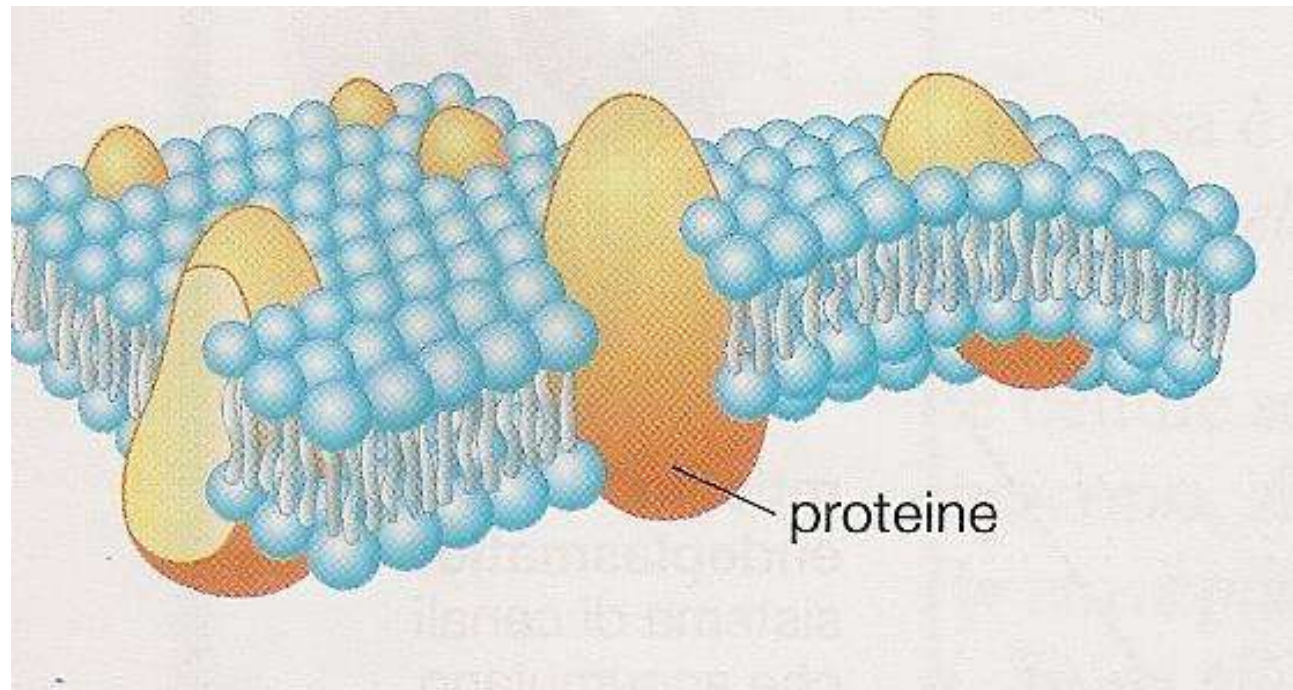
La membrana è formata da un doppio strato di fosfolipidi, ossia da molecole con una testa idrofilica rivolta verso l'esterno e due code idrofobiche rivolte verso l'interno. All'interno di questo doppio strato nuotano proteine di varia dimensione e collocazione: alcune attraversano completamente il doppio strato e «sporgono» verso l'esterno e verso l'interno della membrana.

Alcune proteine integrali sono delle glicoproteine, sporgono verso l'esterno presentando all'ambiente circostante catene di carboidrati che svolgono un ruolo importante nell'adesione fra cellule e nel riconoscimento di molecole esterne quali ormoni, messaggeri, anticorpi e virus.



Le molecole più piccole, come l'acqua e l'anidride carbonica la attraversano liberamente, mentre molecole più grandi, quali quelle del glucosio, non sono in grado di attraversarla.

La membrana compie un'azione di selezione e decide quali molecole introdurre e quali no. La membrana apre o chiude alcuni canali e utilizza proteine di trasporto per regolare l'accesso delle molecole di grandi dimensioni.



Le proteine di membrana sono di due tipi:

- Integrali, che entrano nello spessore delle membrana
- Periferiche, che aderiscono alla sua superficie

La disposizione dei fosfolipidi crea una struttura caratteristica, con le teste idrofiliche che sporgono verso gli ambienti acquosi, extra ed intra cellulare, mentre le catene degli acidi grassi sono disposte internamente alla membrana, creando così uno strato idrofobico che impedisce il passaggio di acqua e di molecole idrofiliche. All'interno di tale strato si trovano proteine e glicoproteine, oltre il colesterolo, che sono liberi di muoversi in quanto la struttura è fluida. La fluidità delle diverse membrane dipende dal contenuto di colesterolo presente.

Le proteine integrali dotate di aminoacidi idrofobici, esse sono inserite nello spessore della membrana, mentre le altre sporgono ed essendo generalmente idrofiliche ed elettriche caricamente possono legarsi alle proteine periferiche ancorandole alla superficie.

La membrana cellulare nonostante la sua continuità , non rappresenta una membrana insormontabile ma è selettivamente permeabile. Ciò significa che alcune sostanze (acqua, gas, molecole liposolubili) la possono attraversare liberamente per il principio di diffusione da siti più concentrati a siti meno concentrati, senza consumo di energia.

Gli ioni e le molecole idrosolubili, che presentano quindi una carica ben definita passano invece grazie a delle proteine di trasporto.

In questo caso si parla di trasporto passivo o diffusione facilitata che procede secondo un gradiente di concentrazione senza dispendio di energia e di trasporto attivo, che avviene contro il gradiente di concentrazione e quindi implica un dispendio di energia.

Anche le molecole liposolubili posso avvalersi del trasporto attivo, quando a seguito di mutamenti all'interno della cellula, sono necessarie quantità maggiori rispetto a quelle usali.

I composti ad alto peso molecolare vengono inglobati in vescicole che riversano il contenuto all'interno della cellula con un processo detto endocitosi.

L'endocitosi richiede energia e permette di introdurre materiale destinato alla digestione, ma anche di regolare la morfologia e le funzioni della membrana plasmatica.

La complessa struttura della membrana le garantisce di svolgere particolari funzioni quali:

- **Trasferimenti di segnali.** Ad esempio i neuroni e le cellule muscolari rispondono alle stimolazioni elettriche, trasferendo il segnale lungo la membrana in tempi brevissimi (millesimi di secondo) ed anche a notevole distanza dalla stimolazione. Questo accade perché l'impulso determina una variazione locale del potenziale elettrico di membrana, che si trasmette a tutta la membrana, solo se si è superato un determinato livello di soglia, associata anche a un flusso di ioni che si muovono tra i due lati della membrana attraverso canali specifici fatti di proteine. Per tale motivo la membrana si definisce eccitabile.
- **Risponde a stimoli chimici**, ad esempio ormoni o neuromediatrici, in tale caso la molecola (mediatore) si lega ad una specifica proteina transmembrana (recettore), attivandola. Tale attivazione può portare ad esempi all'apertura di un canale con relativo flusso ionico, o si attiva una sequenza enzimatica che permette il rilascio all'interno della cellula, di molecole con funzioni di segnali (secondi messaggeri), che a loro volta interagiscono con altri recettori interni alla cellula.
- **Oltre canali e recettori**, la membrana plasmatica possiede anche altre molecole proteiche importanti per il rapporto con l'ambiente esterno, ovvero pompe (ATP-asi, capaci di trasportare direttamente dentro ioni o protoni contro il gradiente elettrochimico) e trasportatori. La loro azione coordinata permette di acquisire metaboliti essenziali quali glucosio, aminoacidi, etc.

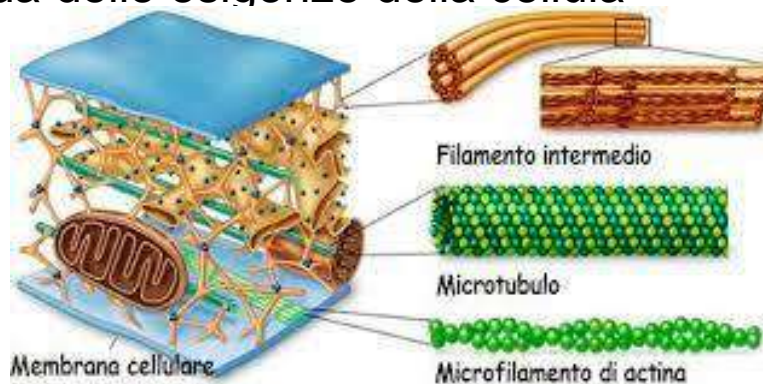
- **Adesione e integrazione al tessuto**, tramite recettori adesivi, rappresentati da proteine di membrana della famiglia delle caderine e delle integrine. Tali proteine, oltre a fornire stabilità ai tessuti e permettere l'interazione tra cellule specializzate, controllano anche il differenziamento e la proliferazione cellulare, garantendo un accrescimento corretto dei tessuti sia durante lo sviluppo embrionale sia durante gli eventi riparativi di lesioni o traumi. I vari sistemi di adesione cellulare funzionano in modo coordinato, determinando il destino delle cellule e la loro capacità di migrare, interagire e organizzarsi in tessuti. Le caderine (proteine calcio-dipendenti) e cell adhesion molecules (CAM) (che non richiedono calcio per attivarsi, intervengono nei fenomeni di riconoscimento e adesione tra cellule; invece le integrine interagiscono sia con i componenti della matrice extracellulare sia con le proteine del citoscheletro, assicurando così l'ancoraggio della cellula alla matrice, ma anche la comunicazione tra la matrice e l'interno della cellula.

Il Citoplasma

Il citoplasma o citosol è una soluzione acquosa di consistenza gelatinosa; occupa quasi tutto il volume della cellula.

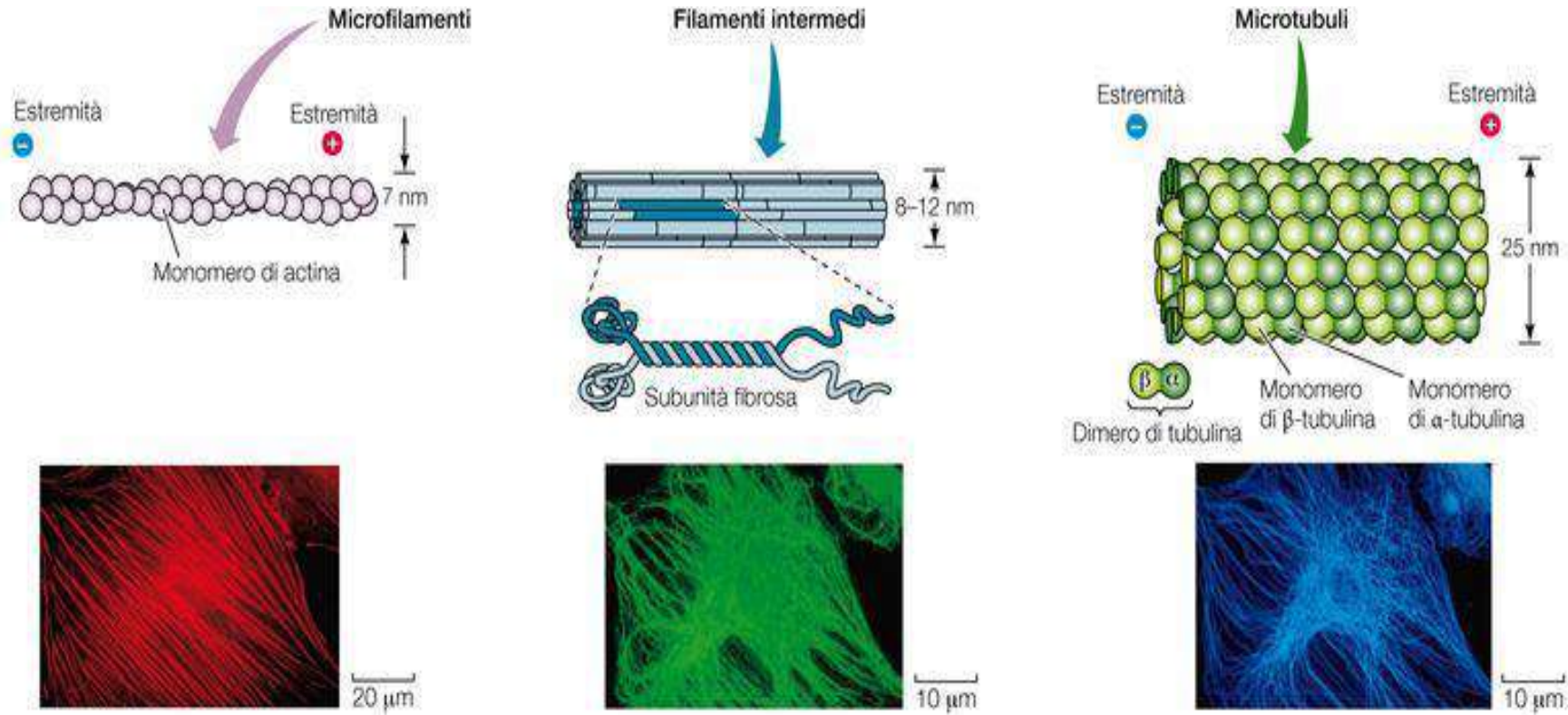
In questa soluzione sono sciolte piccole molecole come sali, aminoacidi, zuccheri e ATP oltre molecole più grandi quali le proteine. Queste molecole sono ad alta concentrazione nel citoplasma, mentre nell'ambiente esterno la loro concentrazione è molto più bassa o addirittura assente. Circa metà del citoplasma è occupato da organelli gran parte dei quali circondati da membrane.

Dentro il citosol alcuni organuli possono muoversi, ma la maggior parte di essi è ancorato a proteine strutturali appartenenti al citoscheletro che ne impediscono i movimenti. Il citoscheletro mantiene la forma della cellula, fissa gli organelli e permette alla cellula di muoversi. E' una struttura dinamica di sostegno che si modifica a seconda delle esigenze della cellula

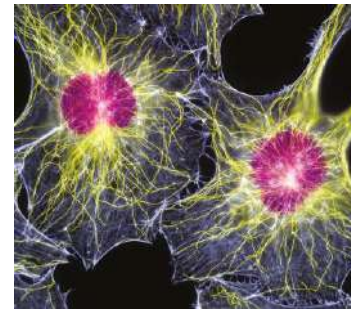


Il Movimento cellulare

Il movimento della cellula è garantito da fibre lunghe e sottili che formano il citoscheletro



I microtubuli funzionano da intelaiatura lungo la quale le proteine motrici possono spostare organuli o altri compartimenti.

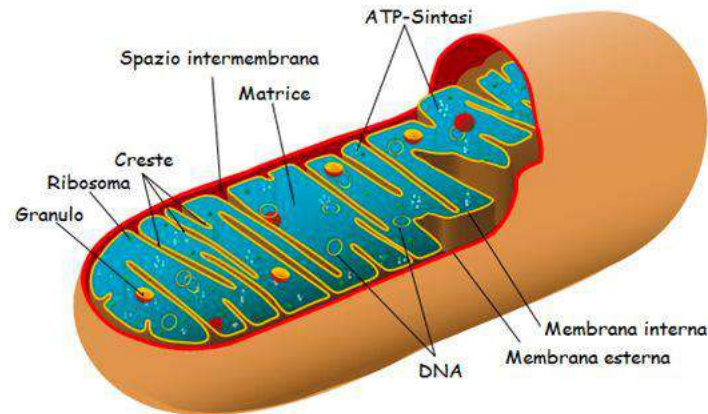


I Mitocondri

I mitocondri sono corpuscoli di forma allungata, simili ad un fagiolo, avvolti da una doppia membrana.

I mitocondri svolgono la funzione di fornire energia alla cellula. Contengono proteine che completano la reazione di respirazione cellulare combinando zuccheri e ossigeno.

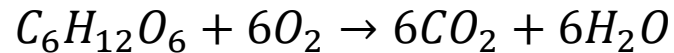
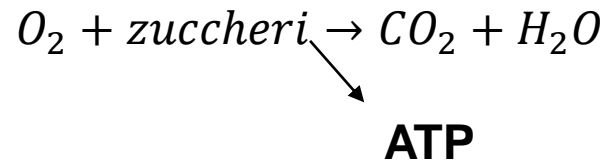
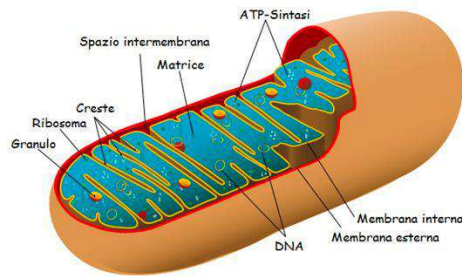
I mitocondri sono le centrali energetiche delle cellule. In una cellula comune ci sono un migliaio di mitocondri, che vivono come inquilini, conservando le proprie informazioni genetiche, duplicandosi secondo un loro programma e parlando la propria lingua.



La respirazione cellulare

Quasi tutto il cibo e l'ossigeno che immettiamo nell'organismo, dopo essere stati elaborati, sono inviati ai mitocondri, che li convertono in una particolare molecola (ATP). E' l'ATP che ci tiene in vita e si muove all'interno della cellula fornendole energia. In ogni istante una cellula produce circa un miliardo di queste molecole che in solo 2 minuti sono consumate e rimpiazzate subito da un altro miliardo.

La formula della respirazione cellulare è la seguente:



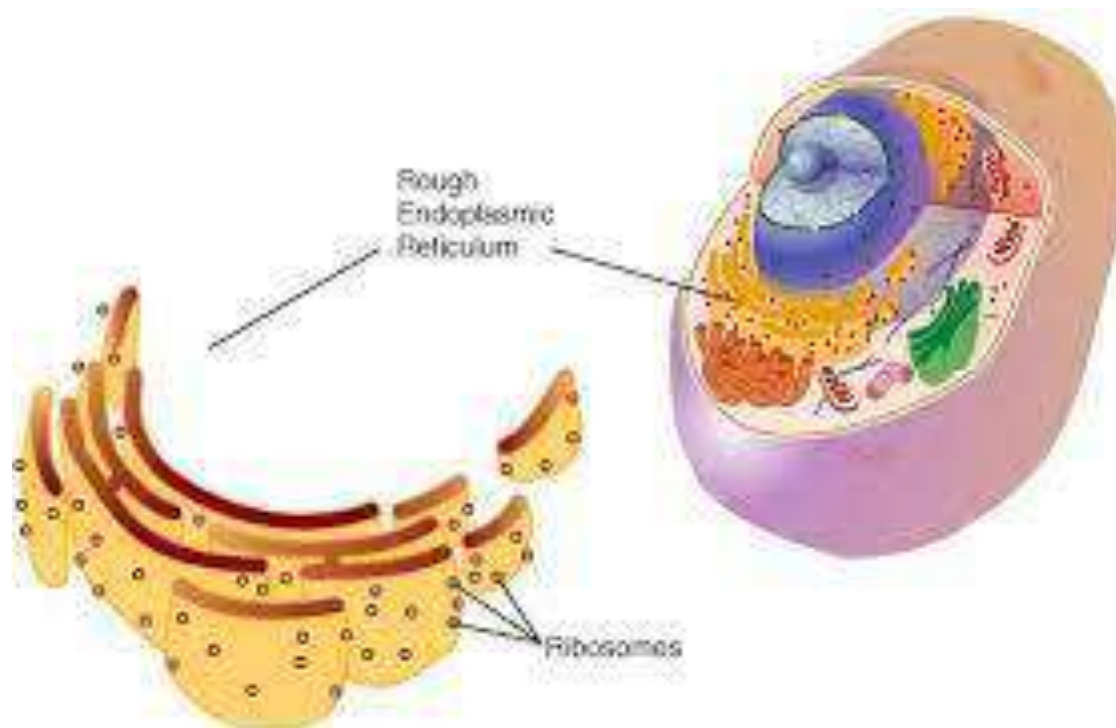
La respirazione cellulare ha sede nei mitocondri.

Essi sono suddivisi in comparti: la membrana esterna, lo spazio intramembrana, la membrana interna, le creste e la matrice.

Il glucosio viene demolito nella matrice, mentre nelle creste si produce l'ATP.

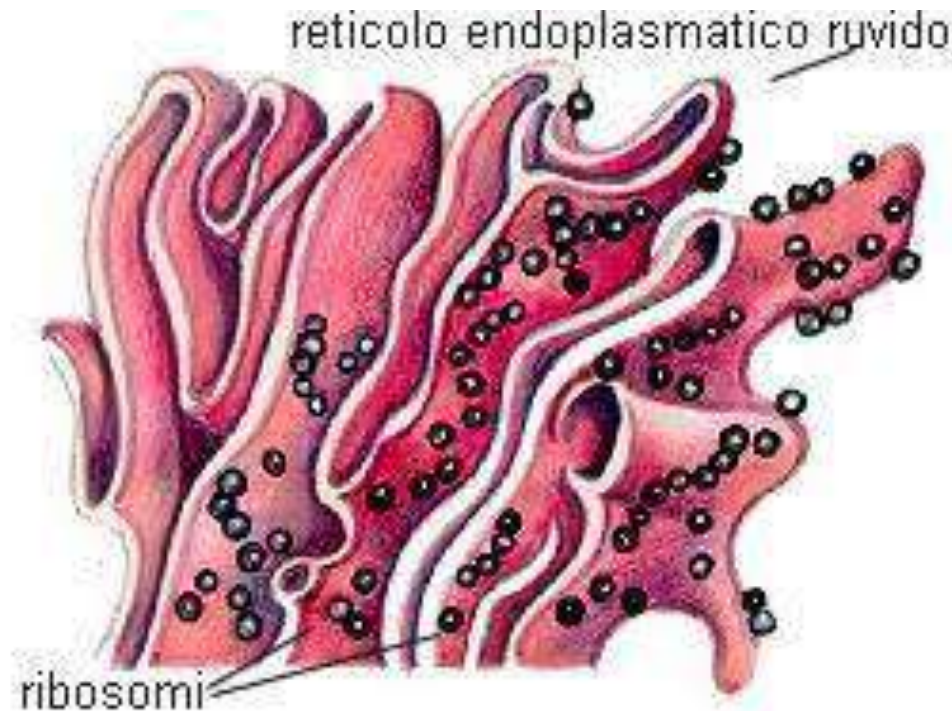
I ribosomi

I ribosomi sono corpuscoli disposti sulla superficie del reticolo endoplasmatico intorno al nucleo o liberi nel citoplasma. Svolgono la funzione di costruire le proteine necessarie alla cellula seguendo le indicazioni del DNA. Le materie prime per la costruzione delle proteine sono aminoacidi sparsi nel citoplasma



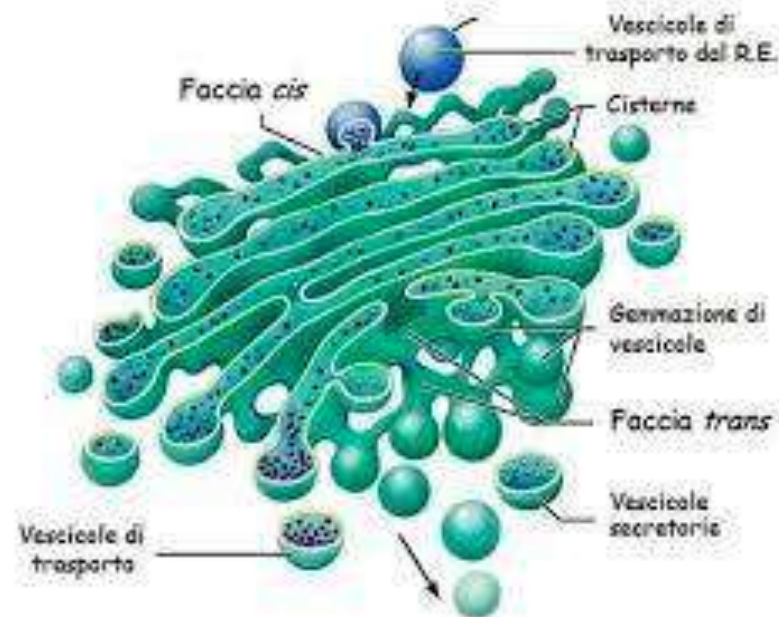
Il Reticolo endoplasmatico

Il reticolo endoplasmatico è un sistema di canali che percorre tutta la cellula. Parte del reticolo è coperto di ribosomi che sintetizzano proteine e le immettono all'interno dei canali. Il reticolo endoplasmatico svolge la funzione di sintesi, maturazione e accumulo delle proteine



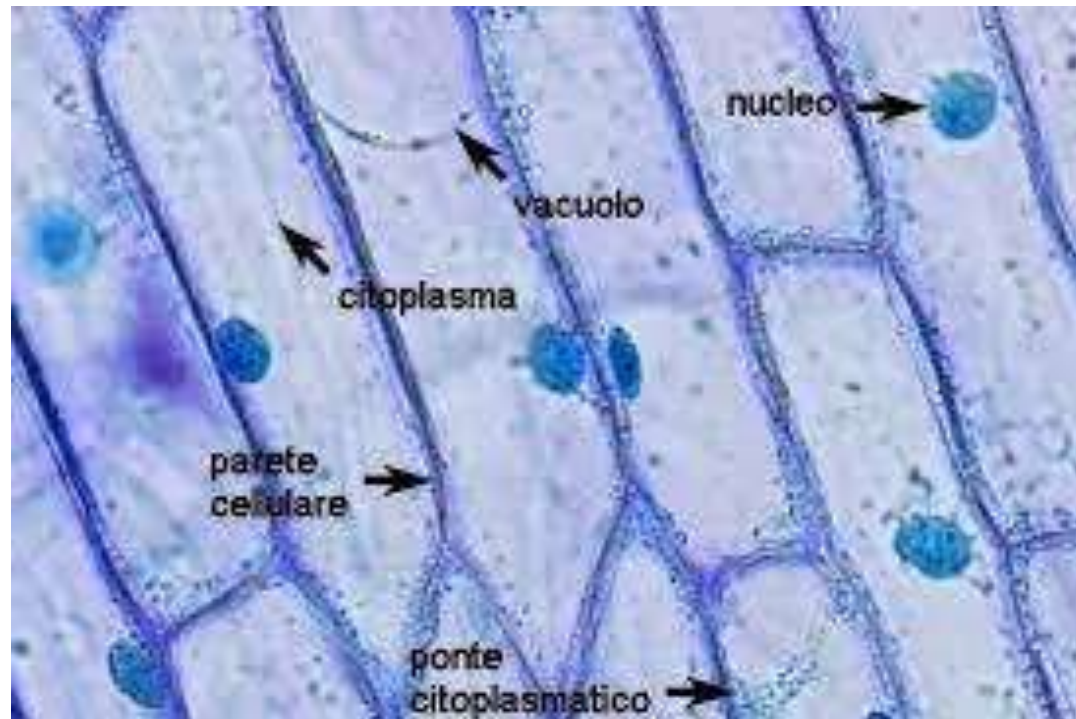
L'apparato di Golgi

I ribosomi attaccati alla membrana del reticolo endoplasmatico sintetizzano le proteine che vengono inglobate in delle vescicole e si fondono con la membrana dell'apparato del Golgi. Qui mettendo insieme le proteine, i glucidi (ad.es zuccheri) ed i lipidi vengono sintetizzate molecole più complesse come le glicoproteine ed i glicolipidi per la membrana cellulare, o le lipoproteine che vengono inglobate in vescicole e portate fuori dalla cellula. Le vescicole o vanno verso aree precise della cellula o si fondono con la membrana cellulare per poi essere espulse.



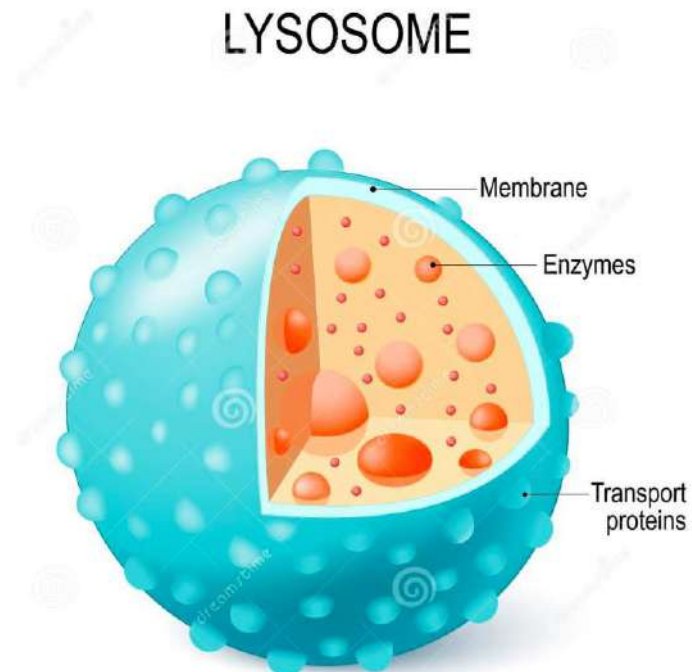
I vacuoli

I vacuoli sono vescicole contenenti acqua e sostanze necessarie alla cellula. Svolgono il ruolo di accumulo e magazzino delle sostanze utili per la cellula. Nelle cellule vegetali possono rappresentare gran parte del citoplasma.



I lisosomi

I lisosomi sono delle piccole vescicole contenenti proteine (enzimi) in grado di distruggere tutte le sostanze che si trovino al loro interno. Svolgono la funzione di smaltire i rifiuti della cellula. Nei globuli bianchi, nei lisosomi vengono distrutti batteri e virus.

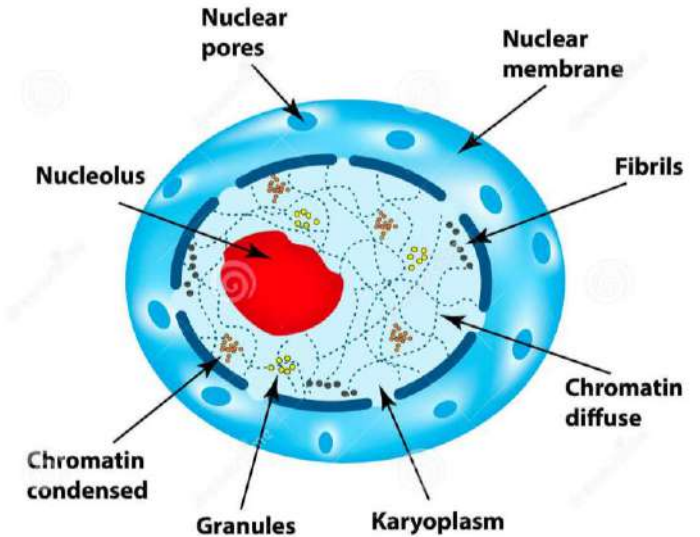


Il Nucleo

Il nucleo è una struttura arrotondata, posta generalmente al centro della cellula ed è avvolto da una membrana detta membrana nucleare.

Tale membrana presenta delle aperture detti **pori nucleari**, che permettono la comunicazione tra nucleo e citoplasma. All'interno del nucleo si trovano il nucleolo, un piccolo corpuscolo, e alcune molecole di notevole lunghezza, dette DNA. Queste ultime contengono le istruzioni per la produzione delle proteine, che sono necessarie alla costruzione delle strutture cellulari ed enzimatiche. Gli enzimi infatti facilitano le reazioni chimiche che avvengono nella cellula o nell'organismo di cui la cellula fa parte. Quindi il nucleo svolge un'azione di comando e controllo dell'attività cellulare. Durante la duplicazione della cellula, il DNA si avvolge su se stesso numerose volte fino a prendere la forma di piccoli bastoncini, detti cromosomi.

Il Nucleo contiene gli acidi nucleici, che portano le informazioni ereditarie. Essi sono generalmente sotto forma di cromatina, una massa di sottili filamenti non distinguibili al microscopio ottico, che poi come detto prima danno vita ai cromosomi. All'interno del nucleolo vengono assemblati i ribosomi.

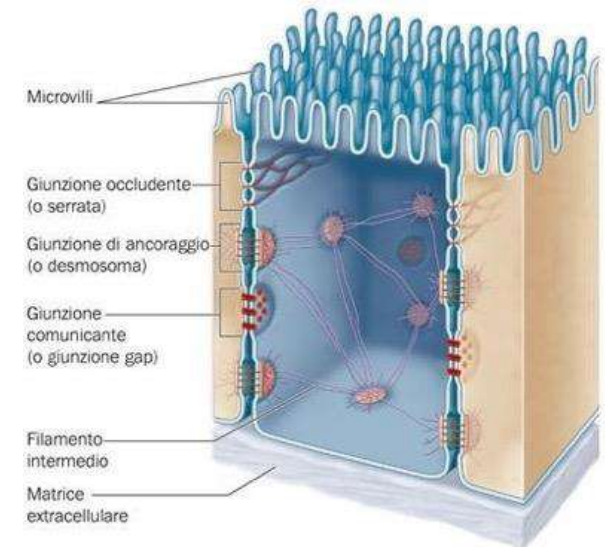


La comunicazione cellulare

Le cellule sono caratterizzate da grandi differenze nei rapporti che intercorrono tra l'una e l'altra. Per esempio, molte cellule non possono vivere totalmente indipendenti, ma devono funzionare in modo coordinato, ossia in gruppo; altre devono legarsi strettamente alle altre cellule, come avviene nella parete del lume di organi cavi; altre ancora, devono legarsi meccanicamente tra di loro senza però costituire barriere insuperabili, che finirebbero per interferire con la diffusione di liquidi nello spazio extracellulare. Per tutte queste ragioni le cellule sviluppano a livello della membrana plasmatica dei sistemi di giunzione diversa a seconda delle specifiche funzioni.

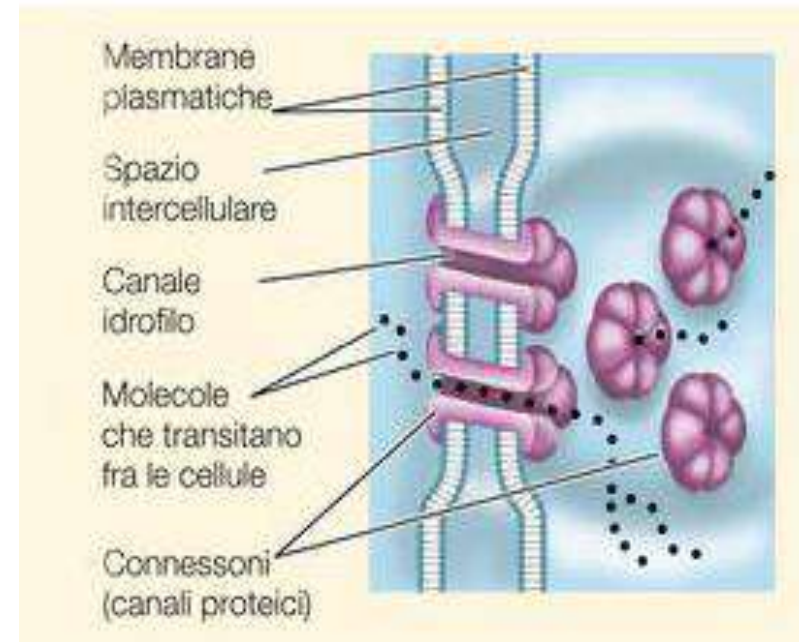
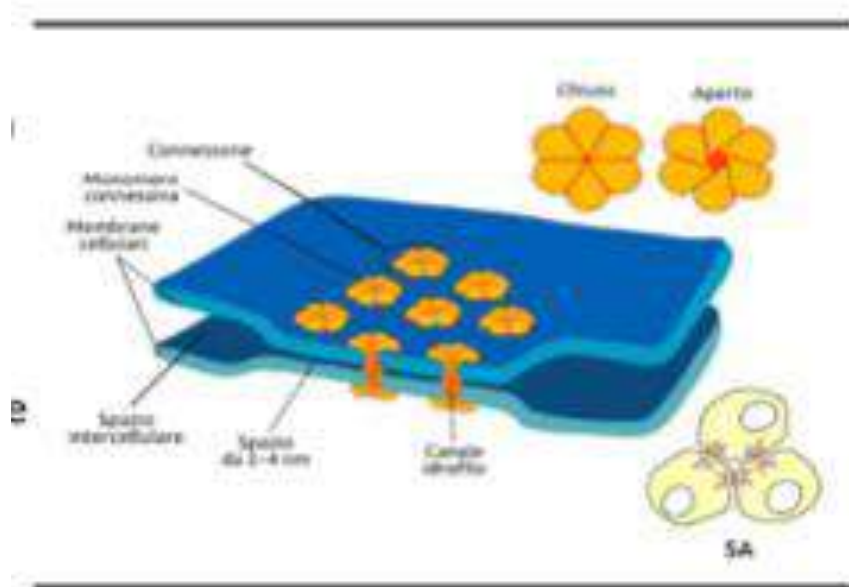
Si parla di :

- giunzioni comunicanti (gap junctions)
- giunzioni occludenti (tight junctions o zonulae occludentes)
- Giunzioni aderenti come i desmosomi



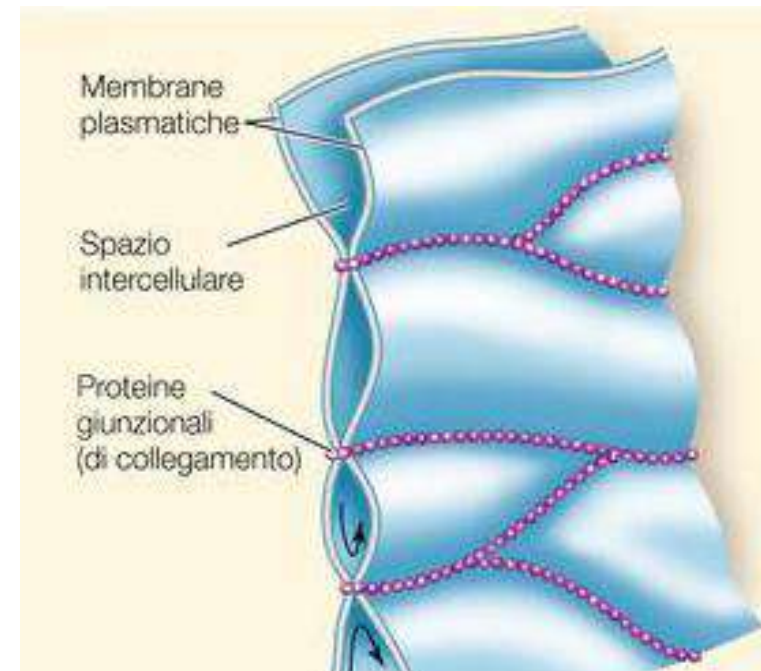
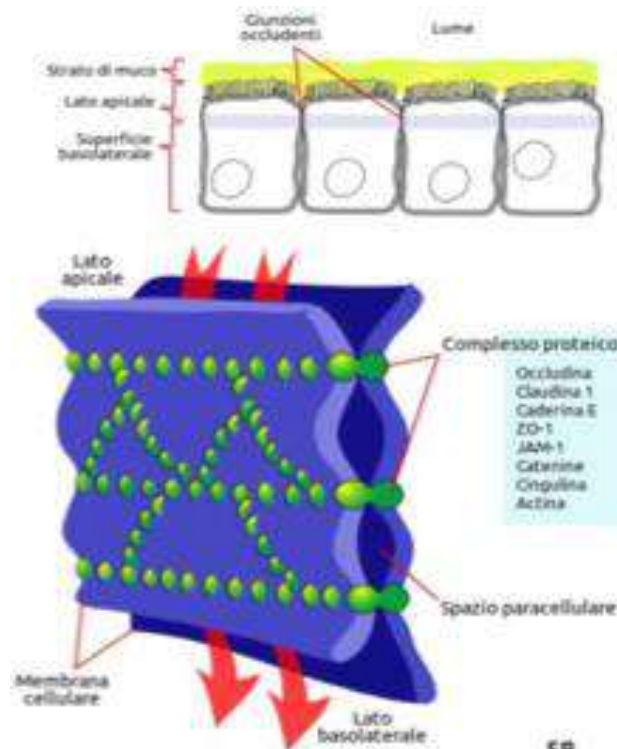
Le gap junctions

Le gap junctions sono composte da numerosi canali (connessioni) a elevata permeabilità, costituiti da proteine di una sola famiglia: le connesine. Questi canali sono distribuiti nella membrana cellulare di cellule adiacenti e sono in comunicazione tra una cellula ed un'altra, con uno spazio intercellulare molto ridotto. In questo modo ioni e secondi messaggeri possono passare facilmente da una cellula all'altra. Quando vengono stimolati, gruppi di cellule collegate da giunzioni comunicanti sono capaci di rispondere in blocco.



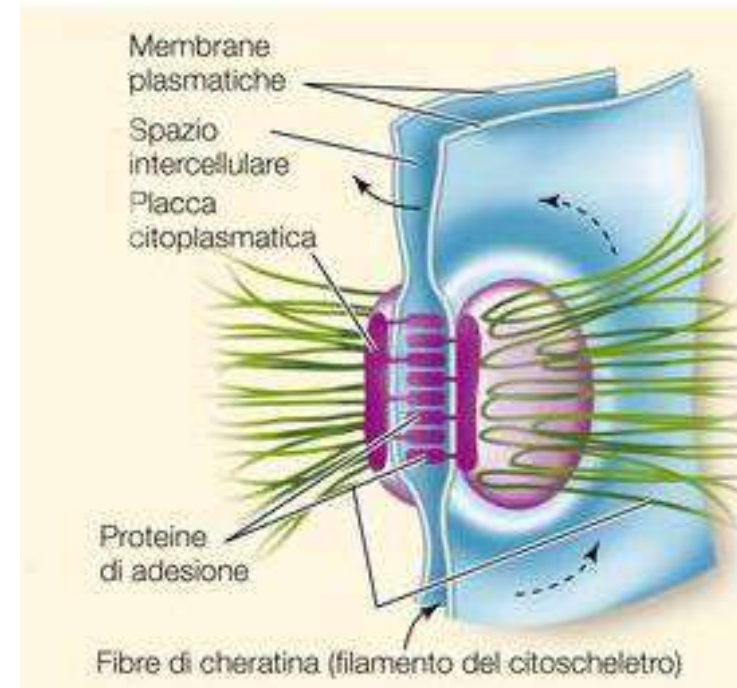
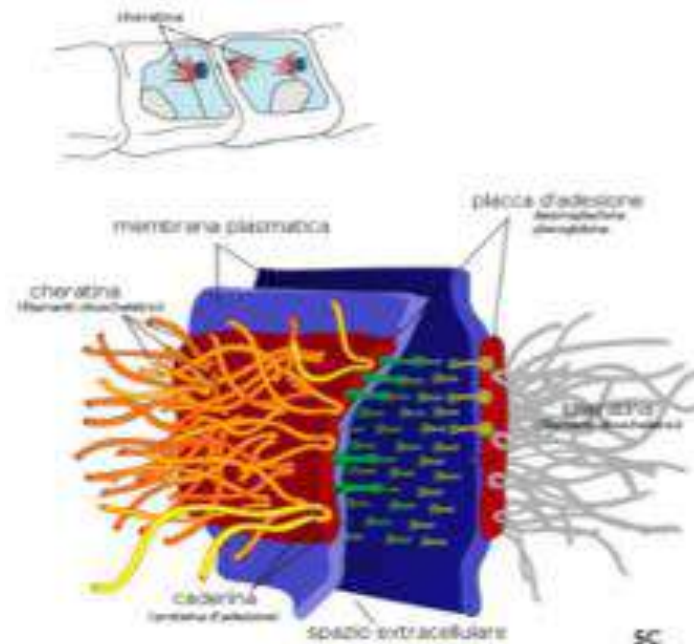
Le tight junctions

Le tight junctions sono composte da molecole proteiche giustapposte sui rispettivi lati di due cellule adiacenti. In questo caso però la giunzione rappresenta una saldatura della superficie delle due cellule ed è quindi priva della funzione di canale. Le proteine che hanno un ruolo principale nella formazione di tali giunzioni sono la claudina e l'occludina, che sporgono dalla superficie esterna delle cellule e si uniscono con legame non covalente. Tali giunzioni sono presenti soprattutto agli apici di cellule polarizzate, come quelle degli epiteli (pelle, mucosa intestinale, etc), e la loro funzione è quella di impedire che le sostanze idrosolubili passino attraverso lo strato cellulare.



I desmosomi

I desmosomi sono caratterizzati da una zona di proteine addensate, chiamata placca di adesione, che prende contatto con il citoscheletro. Nello spazio intercellulare sporgono le caderine, una famiglia di proteine che si legano alla placca e tra di loro. La particolare struttura dei desmosomi, che permette una continuità funzionale, attraverso lo spazio intercellulare, tra il citoscheletro di due cellule adiacenti, è preposta soprattutto a funzioni meccaniche, scaricando sul tessuto le forze generate, per esempio, gli urti.

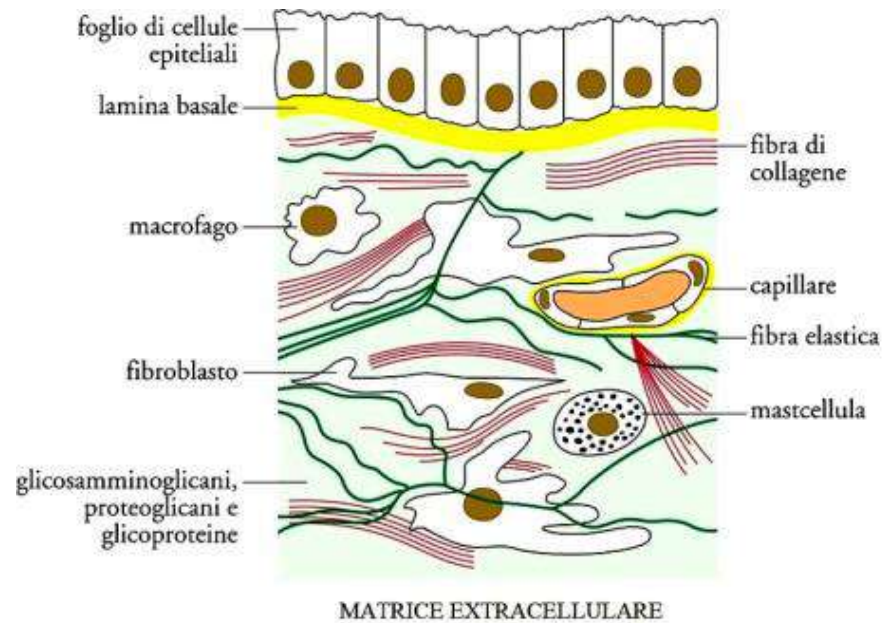


La matrice extracellulare

Le cellule sono immerse in una sostanza nota come matrice extracellulare, composta da vari tipi di proteine e polisaccaridi che si aggregano in un reticolo organizzato in maniera compatta e connesso alla superficie delle cellule che l'hanno prodotto e di quelle circostanti.

Tale matrice funge da impalcatura di sostegno nei tessuti, inoltre influenza le dimensioni, la motilità e la crescita delle cellule e talvolta, soprattutto nelle prime fasi dello sviluppo embrionale, costituisce un substrato attraverso il quale le cellule si muovono.

Sono soprattutto due i tipi di macromolecole che si trovano nella matrice extracellulare: le proteine fibrose e i glicosaminoglicani, questi ultimi solitamente legati alle proteine per formare i proteoglicani (come il condroitinsolfato o l'acido ialuronico), mentre le proteine fibrose si dividono in due gruppi, uno con funzione principalmente strutturale (i collagene e l'elastina), l'altro soprattutto adesiva (come la fibronectina e le laminine).

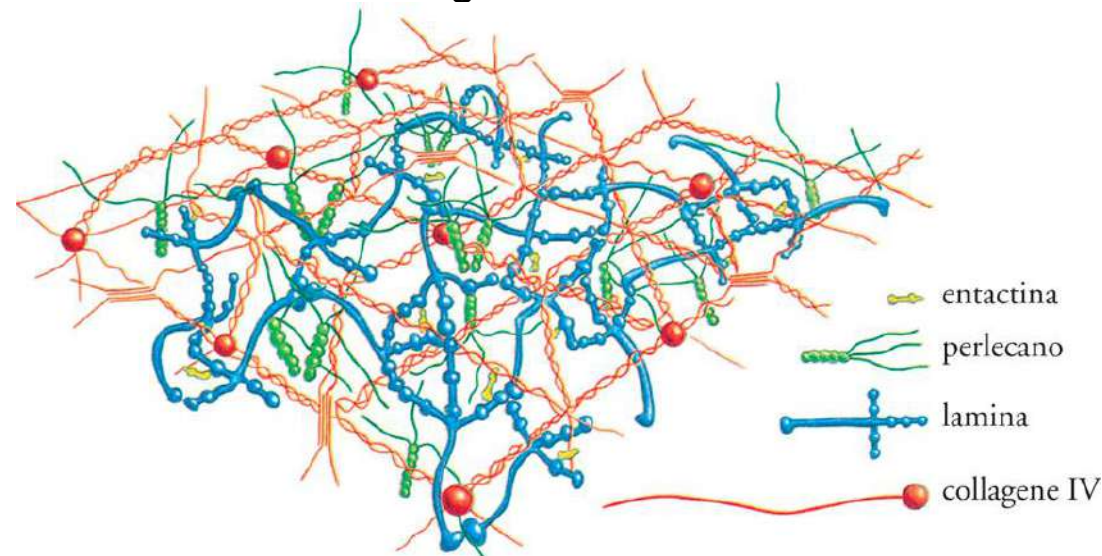


La matrice extracellulare

Tutte queste macromolecole sono caratterizzate da grande varietà di forme e di dimensioni, oltre che di funzioni. Infatti, le molecole dei glicosaminoglicani e dei proteoglicani formano, nei tessuti connettivi, una sostanza fondamentale gelatinosa e fortemente idratata, in cui sono immerse le proteine fibrose; questo gel di polisaccaridi consente la diffusione di sostanze nutritive, metaboliti e ormoni tra il sangue e le cellule dei tessuti e resiste alle forze di compressione e trazione esercitate sulla matrice. D'altra parte, le proteine d'adesione agevolano la connessione tra le cellule tessutali e la matrice extracellulare e ne influenzano la polarizzazione.

Nella matrice sono presenti anche le cosiddette proteine matricellulari, che hanno il ruolo di adattatori molecolari in quanto interagiscono con le proteine fibrose e adesive della matrice, con recettori cellulari o con altre molecole come fattori di crescita, citochine e proteasi, modulando le interazioni cellula-matrice.

Le macromolecole che costituiscono la matrice sono per lo più secrete localmente dalle cellule presenti nella matrice stessa, che ne controllano anche l'organizzazione e l'orientamento



Modelli Cellulari

- **modello continuo:** vede la cellula come una pallina morbida con un unico modulo elastico dentro un mare di matrice extracellulare (ECM) con un unico paio di parametri viscoelastici. Tutte le interazione sono mediate dalla cinetica di diffusione e reazioni chimici (tipo Michelis-Menten). Il modello implica che la microstruttura della cellula e la ECM sono trascurabili, e tutte le forze e deformazioni (quindi anche il trasporto) sono trasmesse in maniera isotropica e in maniera continua.

(perchè non va bene?)

- **modello di tensegrity:** vede la cellula e quindi il tessuto come una struttura composta da elementi meccanici discreti

Come fanno gli organismi a sentire segnali meccanici e tradurli in risposte biologiche?

Sappiamo che le forze meccaniche giocano un ruolo importante nella crescita e formazione dei tessuti.

Basta pensare alla crescita ossea, e gli effetti di zero gravità sui tessuti. Inoltre, in cellule in vitro, crescita, differenziazione, secrezione, movimento, espressione genica e “signal transduction” sono tutti influenzati dall’applicazione di forze meccaniche. (Ad esempio esistono dei canali ionici che sono meccano-sensibili).

Se le cellule sono blob di gel viscosi, non è possibile che sentono e rispondono a sforzi.



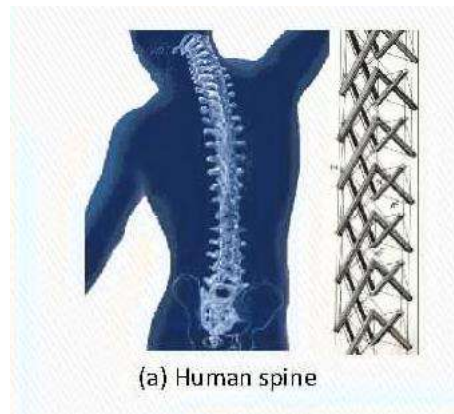
Tensegrity

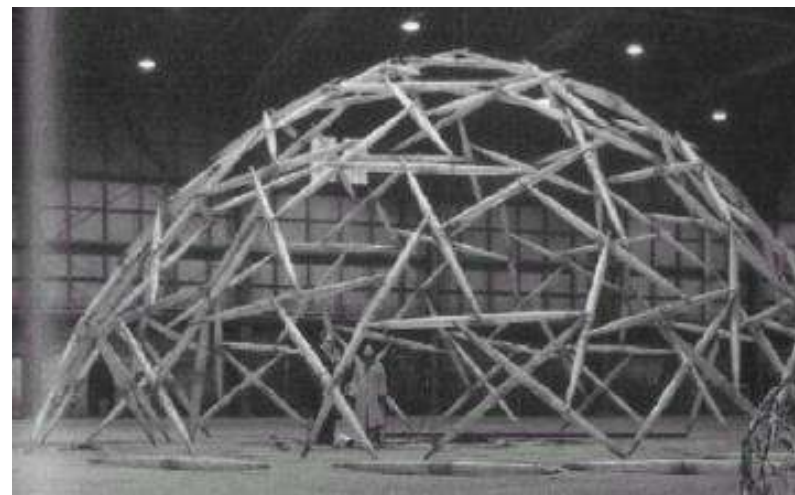
La parola TENSEGRITY è un insieme di due parole: integrità e tensione. La tensegrity descrive delle strutture che hanno una forma che è garantita da un sistema di tensioni continue che formano un anello chiuso, anzichè elementi che abbiano una compressione localizzata e discontinua.

Sistemi in cui le strutture si stabilizzano bilanciando le forze opposte di tensione e compressione danno forma e forza meccanica appartiene a forme sia naturali che artificiali.

Se ci pensiamo, una grande varietà di sistemi naturali - atomi di carbonio, ragnatele, molecole di acqua, proteine, virus anche il sistema scheletro-muscolare, sono costruite secondo i principi di tensegrity.

La cosa forse più importante della tensegrity è che permette a una struttura di cedere continuamente senza rompersi e di mantenere una certa forma anche quando elementi della struttura sono rotti. Inoltre, sotto sforzo, l'intera struttura risponde (segnali locali producono una risposta globale)





L'elemento base delle strutture e il
triangolo



Un ricercatore Americano, D. Ingber, ha suggerito il modello di Tensegrity cellulare. Secondo questo modello anche il citoscheletro (CSK) è una struttura tensegrity, e i microfilamenti e filamenti intermedi sono i componenti elastici mentre i microtubuli sono in grado di resistere a forze di compressione. Il modello è basato su una serie di osservazioni.

- Le cellule sono ancorate alla matrice extracellulare attraverso recettori di adesione, chiamate *integrine*. Laddove ci sono integrine, la cellula forma punti di adesione focali (focal adhesions), dove i filamenti del CSK si concentrano. Oramai è accettato che i recettori di adesione sono anche meccanorecettori.
- Le cellule sono capaci di esercitare forze su matrici esterne (ad esempio quando vengono messe su un substrato elastico lo deformano). Implica che le cellule hanno un stress interno (prestress).



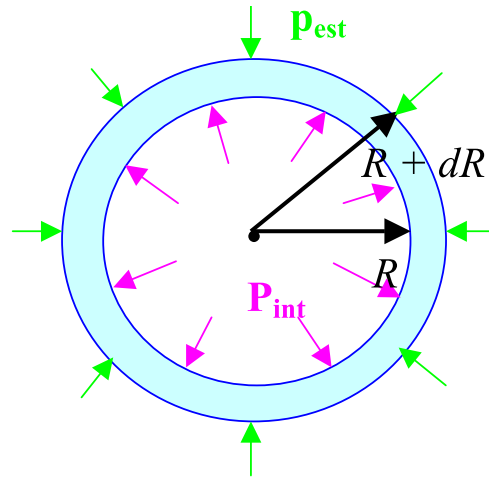
- In pratica, il modello suggerisce che l'espansione cellulare è il risultato di un trasferimento di stress del CSK alla matrice esterna (anzichè un aumento della lunghezza o numero dei filamenti).

Altri modelli vedono la cellula come:

- una goccia di acqua dove dominano le forze di tensione superficiale

$$\tau = \frac{F}{L}$$

- una pallina morbida dove domina l'equazione di Laplace.



$$p_{int} - p_{est} = \frac{4\tau}{R} \quad (sfera cava di fluido)$$

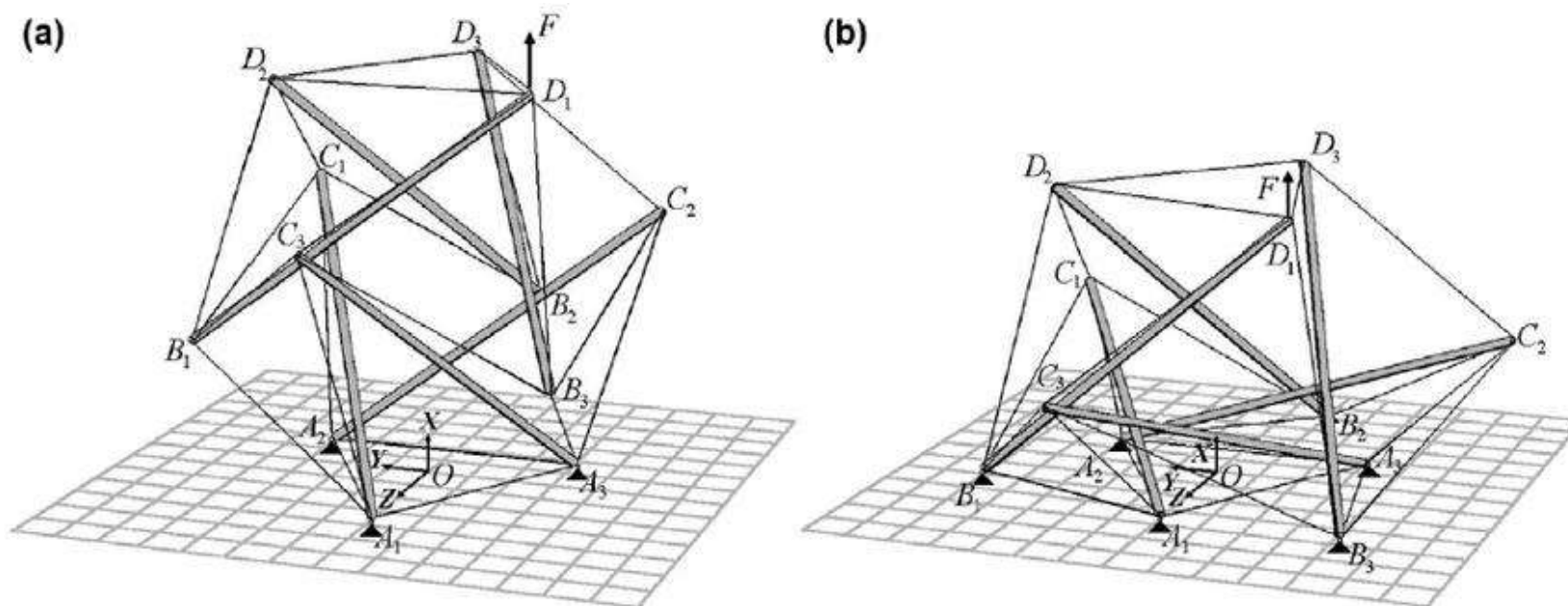
$$p_c - p_{est} = \frac{2\tau}{R} \quad (sfera piena di fluido)$$

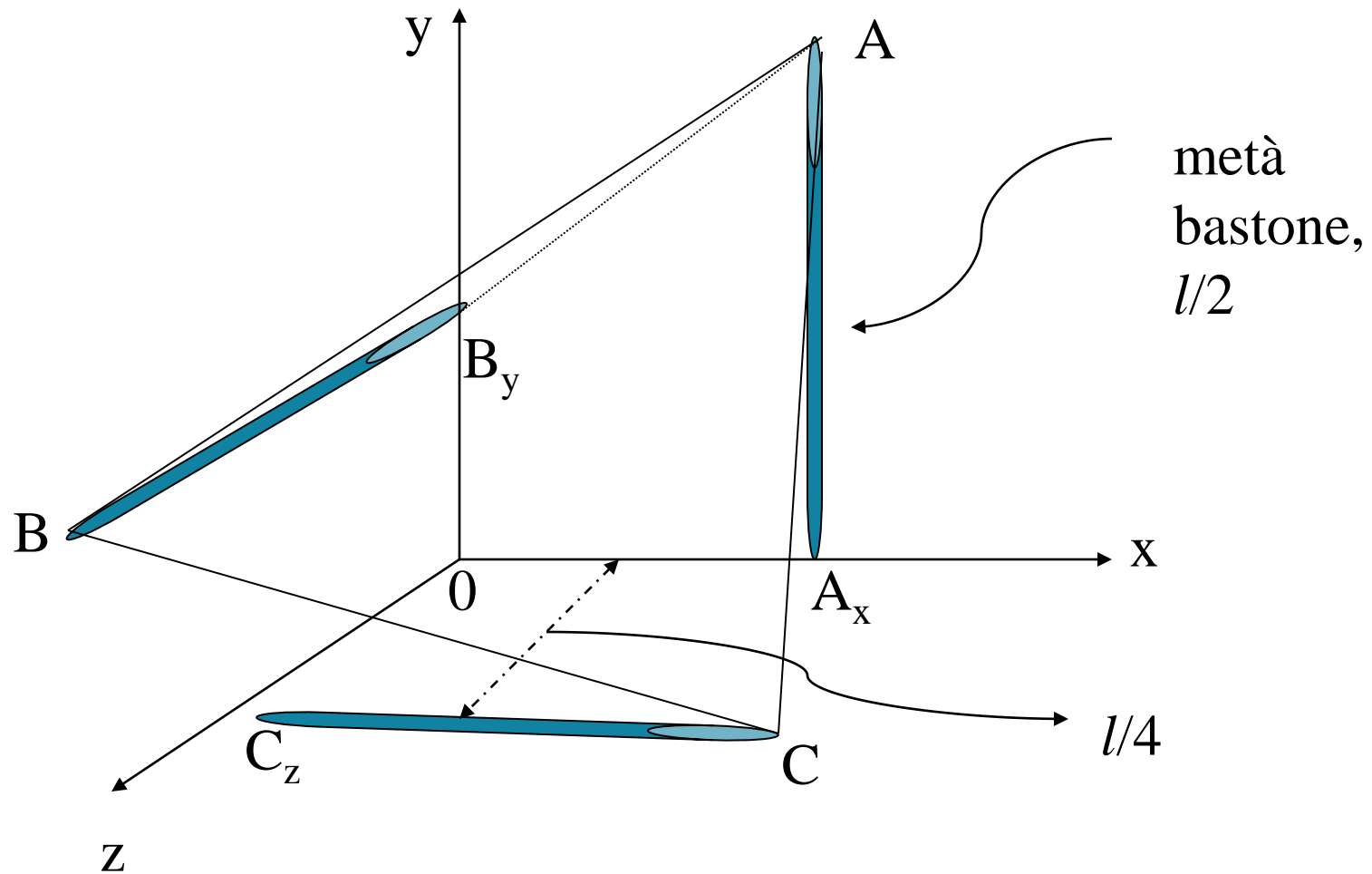
- un gel viscoso che subisce transizioni di fase in condizioni fisiologiche portando alcune proteine, ad esempio l'actina in forme rigide

Modello semplificato di Tensegrity

Consideriamo, come modello di una cellula, una struttura con 6 bastoni rigidi e 24 molle elastiche. Le molle possono sopportare forze in tensione mentre i bastoni sono in grado di resistere a forze di compressione.

Allo stato iniziale, le forze compressive nei bastoni sono in equilibrio con le forze di tensione nelle molle. La tensione iniziale è il “prestress”. Nella figura, l'origine $(0,0,0)$ è al centro della struttura, con l'asse X parallelo a bastoni CC e C'C', asse Y parallelo a AA e A'A', e l'asse z parallelo a BB e B'B.





Una parte della struttura. Nello stato iniziale, i bastoni hanno una lunghezza di $l=1$, e la lunghezza di ogni molla e' quindi $l_0 = \sqrt{0.375}$ mentre la distanza tra 2 bastoni paralleli e' 0.5

Se la struttura viene tirata lungo x, tirando con un forza $T/2$ ai lati di AA e A'A', la forza (di tiro) risultante e' T. Questo causa una deformazione, e le distanze tra i bastoni paralleli cambia.

$$s_x = s_o + ds_x \quad \text{per AA e A'A'}$$

$$s_y = s_o + ds_y \quad \text{per BB e BB}$$

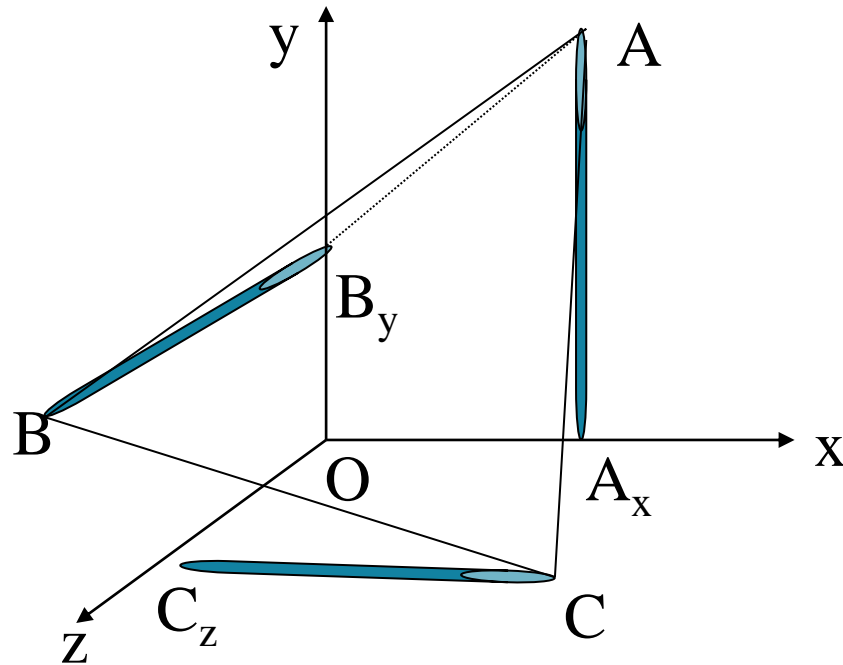
$$s_z = s_o + ds_z \quad \text{per CC e C'C'}$$

Cambia anche la lunghezza di ogni molla

$$l_1 = l_0 + dl_1 \quad \text{Per AB=A'B=AB'=A'B'}$$

$$l_2 = l_0 + dl_2 \quad \text{per BC=B'C=BC'=B'C'}$$

$$l_3 = l_0 + dl_3 \quad \text{per AC=A'C=AC'=A'C'}$$



$$AB=l_1$$

$$OA_x = s_x/2$$

$$\text{OB}_y = s_y/2$$

$$AA_x=1/2$$

$$\text{BB}_y=1/2$$

$$\begin{aligned} l_1 &= \sqrt{AB_y^2 + BB_y^2} \\ &= \sqrt{OA_x^2 + (AA_x - OB_y)^2 + BB_y^2} \\ &= 0.5\sqrt{s_x^2 + s_y^2 - 2s_y + 2} \end{aligned}$$

Così, il rapporto tra le distanze s tra i bastoni e lunghezze l delle molle è:

$$l_1 = 0.5\sqrt{s_x^2 + s_y^2 - 2s_y + 2}$$

$$l_2 = 0.5\sqrt{s_y^2 + s_z^2 - 2s_z + 2}$$

$$l_1 = 0.5\sqrt{s_z^2 + s_x^2 - 2s_x + 2}$$

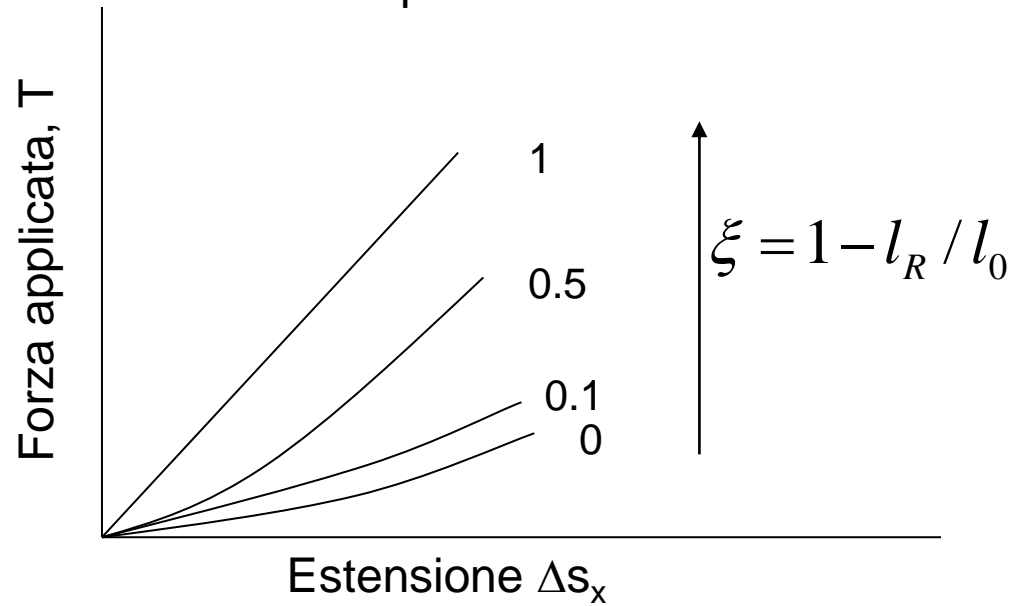
Ora, consideriamo due casi:

- 1) Gli elementi sono interconnessi attraverso dei perni senza frizione. In questo caso, la forza alle estremità dei bastoni dipende dalla lunghezza delle molle che vi sono connesse e possono essere ridotte ad una singola forza tensile o compressiva (non si creano coppia e torsioni). Al livello molecolare possono corrispondere a filamenti dello CSK reticolati o legati attraverso legami intermolecolari.
- 2) Gli elementi elastici scorrono dentro i bastoni (senza frizione). Quindi, la tensione nelle molle dipende dalla lunghezza totale del “filo” elastico e le giunzioni trasmettono forze tensili e compressive - (non si creano coppie e torsioni). Possono essere filamenti non reticolati che possono scivolare uno lungo l'altra (actina-miosina o fibre di actina-filamenti intermedi)

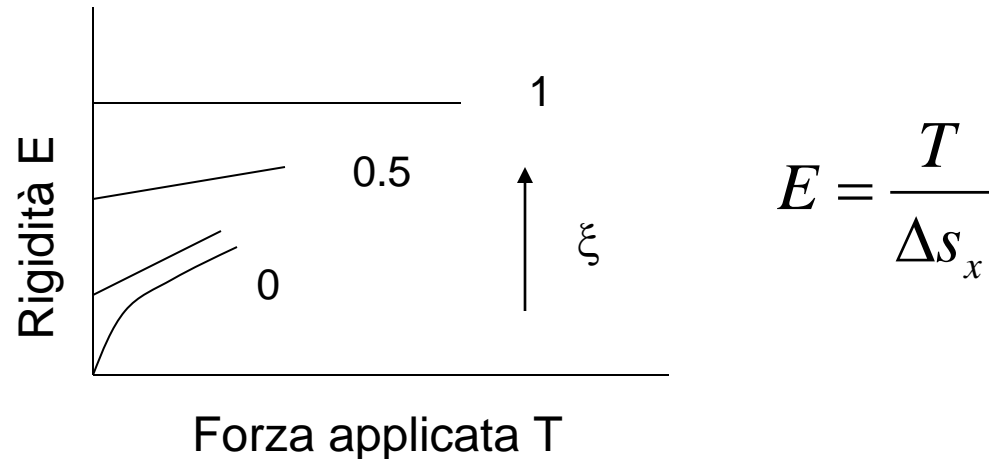
In entrambi i casi, le forze trasmesse da un elemento ad altro NON producono coppie (torsioni) perché la forza risultante ad ogni nodo è zero. Inoltre le molle elastiche sono di tipo Hooke ($F=kx$), che riescono a supportare solo forze tensili.

l_R è la lunghezza della molla quando la tensione=0


$\xi = 1 - l_R / l_0$ è il prestress. Quando $\xi=0$, il sistema non è in prestress. Quando $\xi=1$ il sistema è altamente prestressato.



- Il sistema diventa più non lineare a bassi valori di prestress
- La rigidità del sistema aumenta con aumento della forza applicata



- Prestress e architettura contribuiscono alla proprietà meccaniche della struttura
- Senza prestress, la struttura non ha nessun rigidità.
- Il prestress della cellula sta tra 1 e 0, e dipende da quanto la cellula è estesa.
- E' noto che le cellule diventano più rigide quando si stendono e che questo è mediato dall'organizzazione del citoscheletro
- E' anche noto che i filamenti di actina reticolati sono più resistenti a deformazioni e che il citoscheletro diventa più rigido quando manca ATP e actina e miosina non possono scivolare (il muscolo si irrigidisce come nella morte).




Diversi fenomeni di crescita cellulare come crescita delle ossa, dei nervi, dei microcapillari avvengono per stimoli meccanici. Questo avviene perché anche se i filamenti individuali non sono molto distendibili, una deformazione uniassiale causa un allungamento notevole. Quindi, è la struttura insieme, anziché i componenti individuali che determinano le proprietà meccaniche dei tessuti (pensiamo ai vasi).

Limiti di questo modello:

- Questa struttura è troppo semplice
- Probabilmente i componenti del citoscheletro non seguono la legge di Hooke, ma sono viscoelastici.
- Non si tiene conto del tempo
- Il modello si deforma anche volumetricamente, invece le deformazioni cellulari sono isovolumetriche

Conclusione: Questo modello non può spiegare tutti i meccanismi biochimici delle cellule, ma in termini meccanici semplici può descrivere l'organizzazione e la funzione degli elementi contrattile e tensivi nel citoplasma.

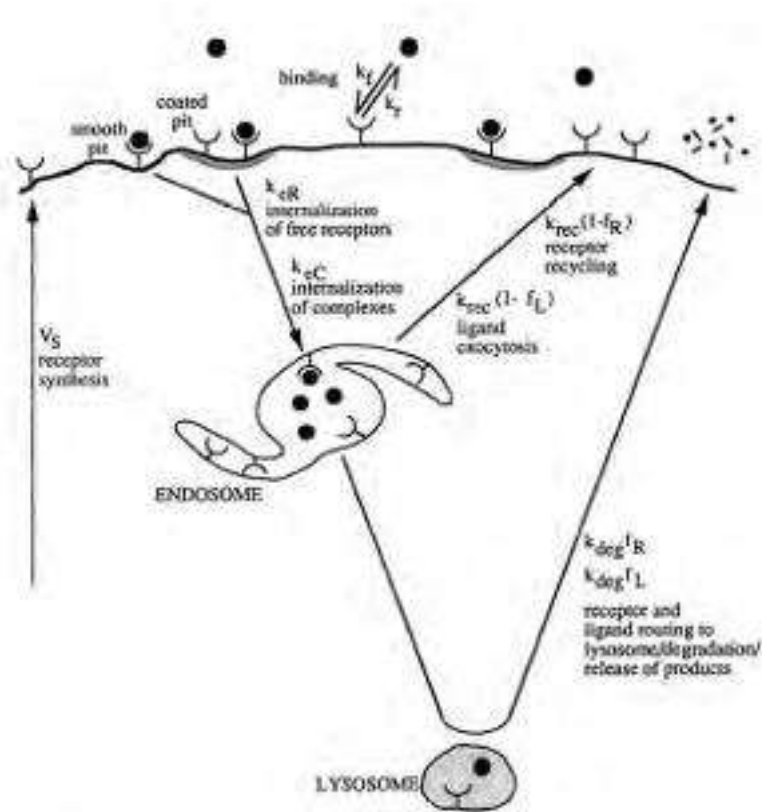


È possibile verificare un
esperimento cellulare senza fare
l'esperimento cellulare ?

Si, con i modelli cellulari in-silico

Il modello

Biologi e farmacologi usano comunemente il termine "modello" per descrizioni verbali o grafiche di un meccanismo alla base di un processo cellulare.



$$\frac{dR_s}{dt} = -k_f L R_s + k_r C_s - k_{eR} R_s + k_{rec}(1 - f_R) R_{TI} + V_S$$

$$\frac{dC_s}{dt} = k_f L R_s - k_r C_s - k_{eC} C_s$$

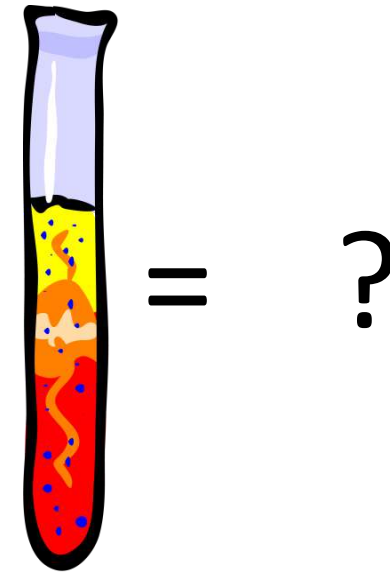
$$\frac{dR_{TI}}{dt} = k_{eR} R_s + k_{eC} C_s - [k_{rec}(1 - f_R) + k_{deg} f_R] R_{TI}$$

$$\frac{dL_s^p}{dt} = k_{eC} C_s - [k_{rec}(1 - f_L) + k_{deg} f_L] L_s^p + k_{rp} N_{As} L$$

Meno spesso lo usano per riferirsi a un insieme di equazioni che esprimono in modo formale ed esatto le relazioni tra variabili che caratterizzano lo stato di un sistema biologico.

Il modello

L'approccio di biologi e farmacologi alla costruzione della conoscenza è stato per lo più empirico, ma i fatti sperimentali rimangono «blind» senza leggi o principi che ne derivano.



ed allora?

Al contrario, gli approcci teorici utilizzati dai modellisti spesso non sono riusciti a relazionarsi ai sistemi reali, in modo tale che i concetti teorici incapsulati in questi studi sono ugualmente "vuoti"

$f(x)$ = ?

Il modello

Invece, teoria ed esperimenti devono essere visti in stretta interazione.

$f(x)$

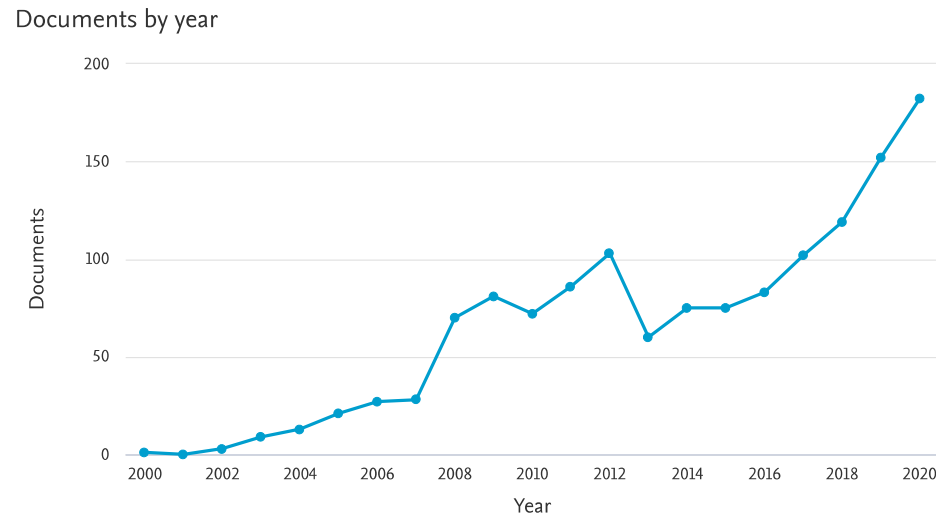
=



Modelli In-silico

In-silico è un'espressione usata per significare "**eseguita su computer o tramite simulazione al computer**".

Negli ultimi anni sono stati compiuti notevoli sforzi per stabilire modelli informatici di comportamento cellulare. In letteratura, infatti, ci sono numerosi software e tecniche sviluppati per simulare i processi biochimici delle cellule:

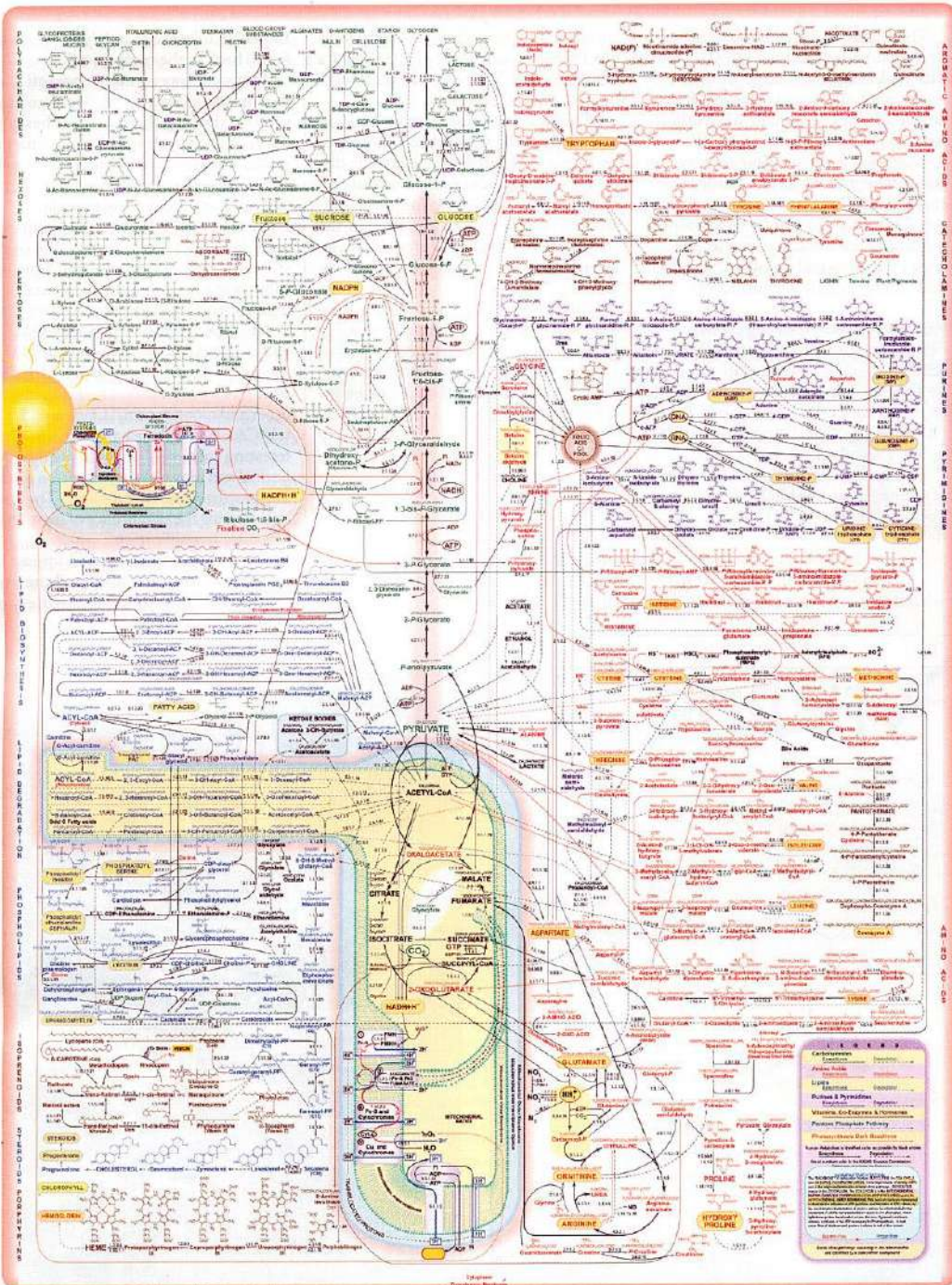


ma il problema non è ancora risolto

In-silico cell model

Il successo nello sviluppo di una cella virtuale in silico darà molti vantaggi, come ad esempio:

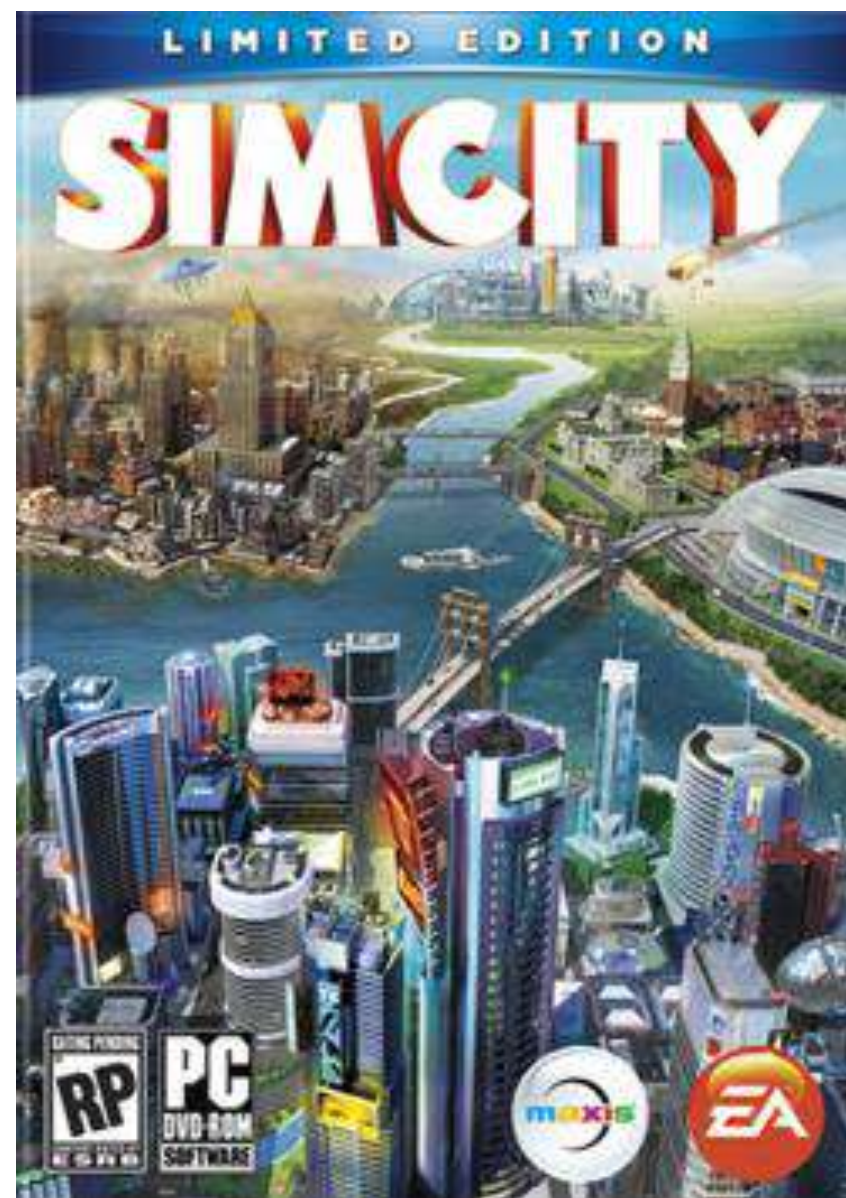
- Un test farmacologico veloce ed economico, grazie a:
 - La riduzione del numero o prove preliminari;
 - Lo sviluppo di esperimenti ad hoc migliorati;
 - Il fatto che per fare una simulazione ti serve solo una piattaforma informatica, non un intero laboratorio!!
- Una conoscenza dettagliata dei processi a basso livello delle cellule, che consente una migliore e profonda comprensione di come funziona la rete biochimica nota come METABOLISMO e di come potrebbe essere influenzata.



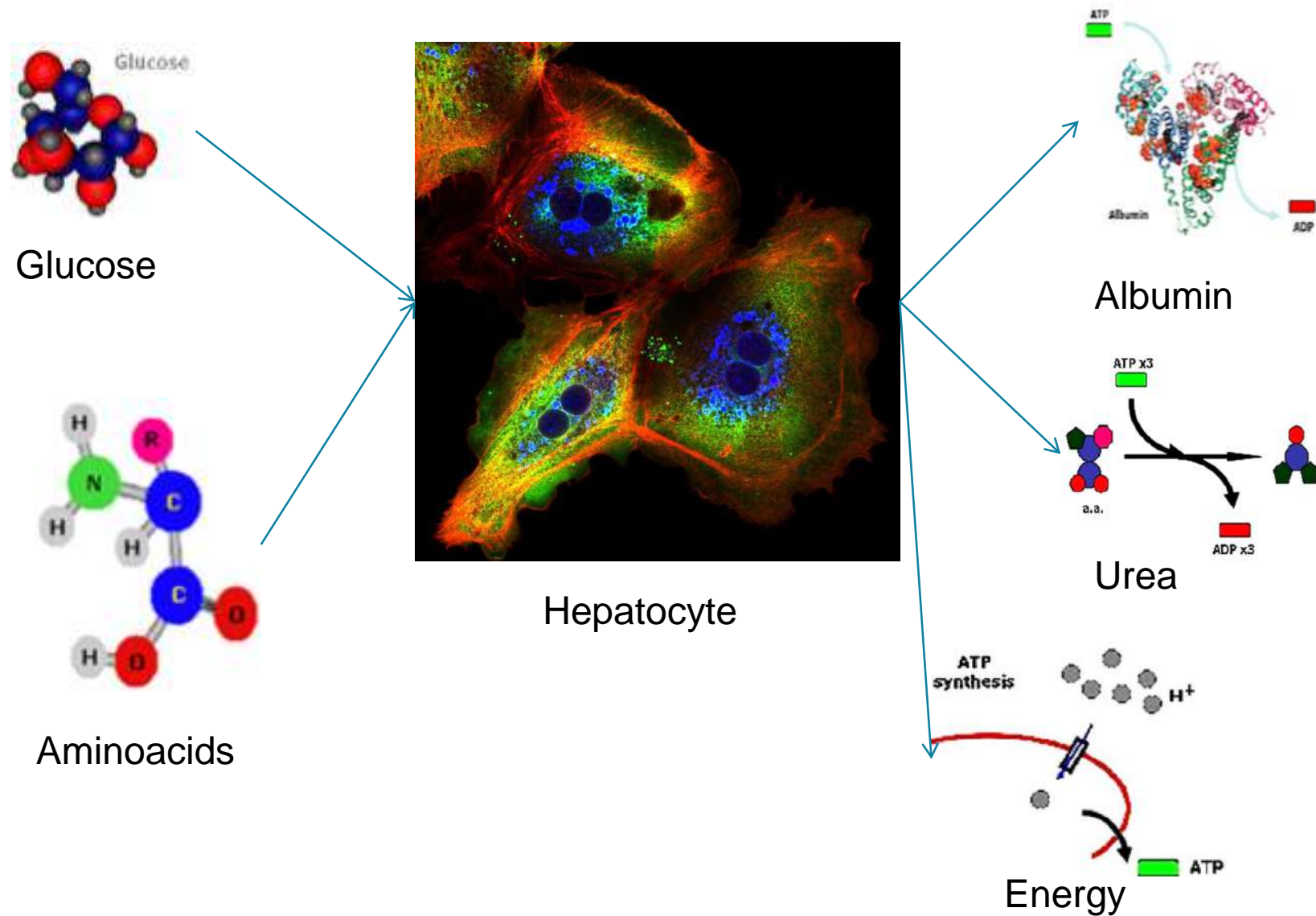
LIPIDS	
Carbohydrates	Glucose
Protein	Amino Acids
Nucleic Acids	Nucleotides
Phospholipids	Phospholipids
Cholesterol	Cholesterol
Triglycerides	Triglycerides
Phosphatidylcholine	Phosphatidylcholine
Phosphatidylethanolamine	Phosphatidylethanolamine
Phosphatidylserine	Phosphatidylserine
Phosphatidylinositol	Phosphatidylinositol
Phosphatidylglycerol	Phosphatidylglycerol
Phosphatidylcholine	Phosphatidylcholine
Phosphatidylethanolamine	Phosphatidylethanolamine
Phosphatidylserine	Phosphatidylserine
Phosphatidylinositol	Phosphatidylinositol
Phosphatidylglycerol	Phosphatidylglycerol

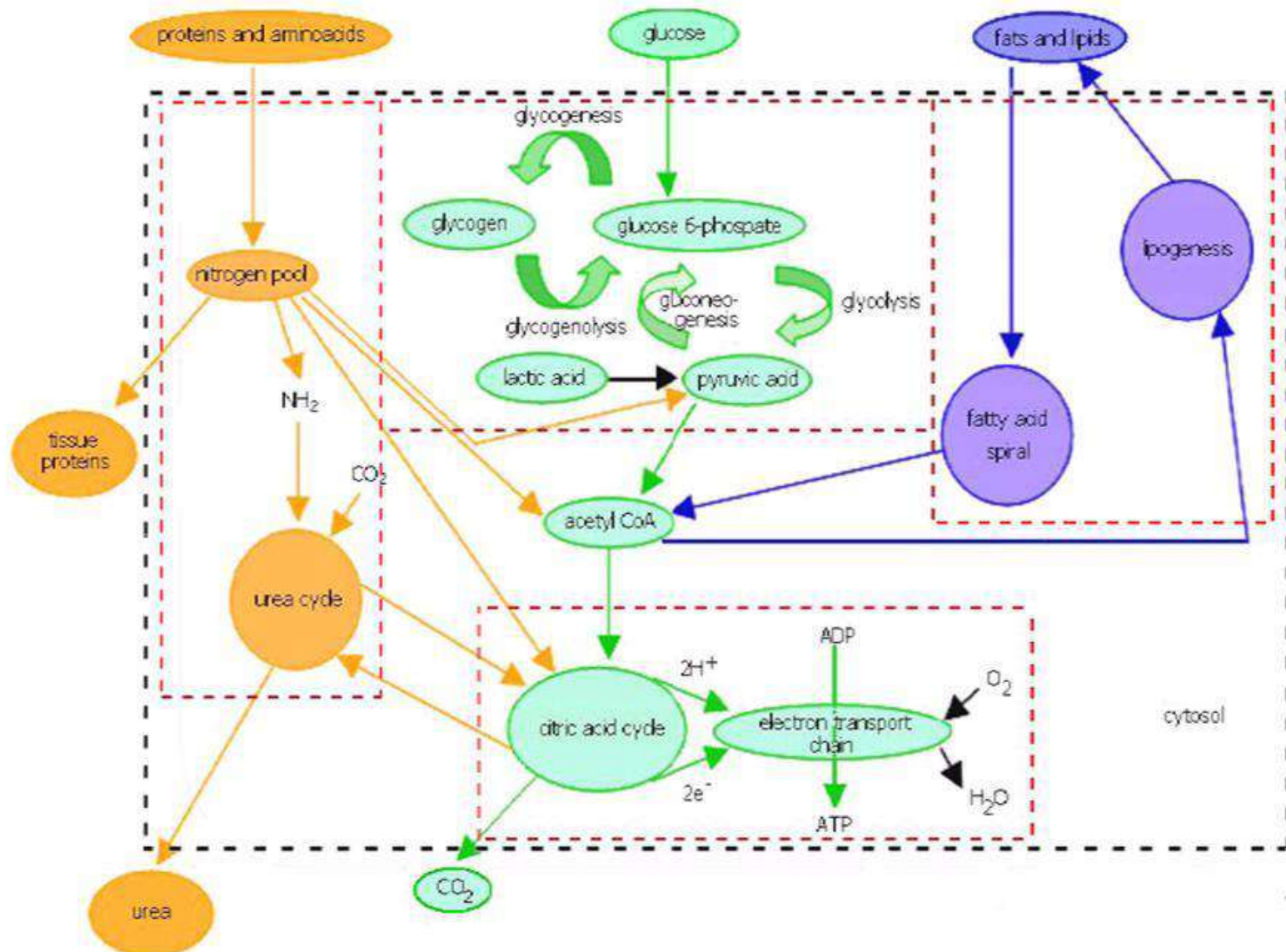
Metabolic pathways and biochemical reactions. This diagram illustrates the complex network of biochemical processes within a cell, including glycolysis, the citric acid cycle, and various biosynthetic pathways. The pathways are color-coded to show different stages and components of metabolism.

Metabolic pathways and biochemical reactions. This diagram illustrates the complex network of biochemical processes within a cell, including glycolysis, the citric acid cycle, and various biosynthetic pathways. The pathways are color-coded to show different stages and components of metabolism.

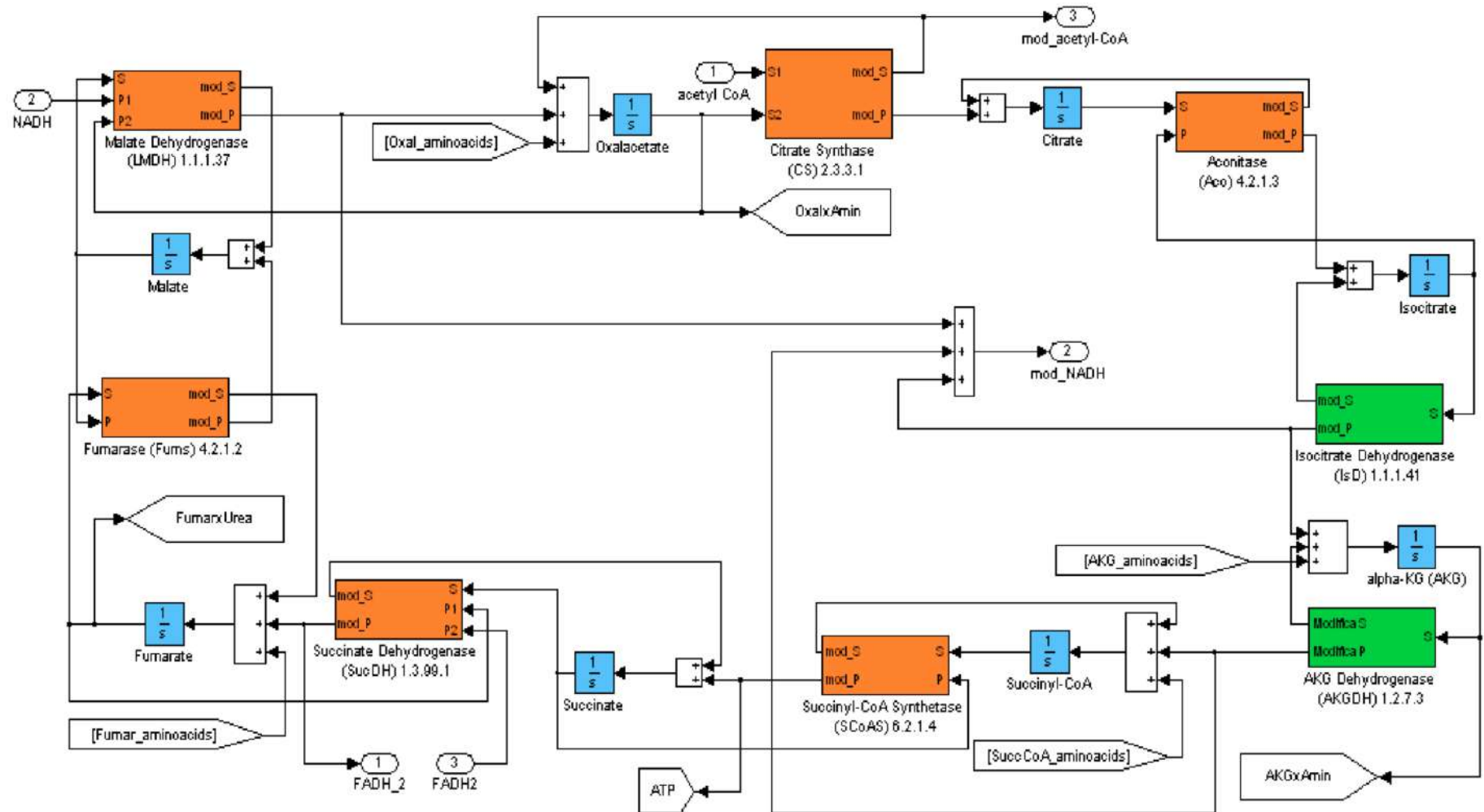


HEMET: Mathematical model of biochemical pathways for simulation and prediction of HEpatocyte METabolism

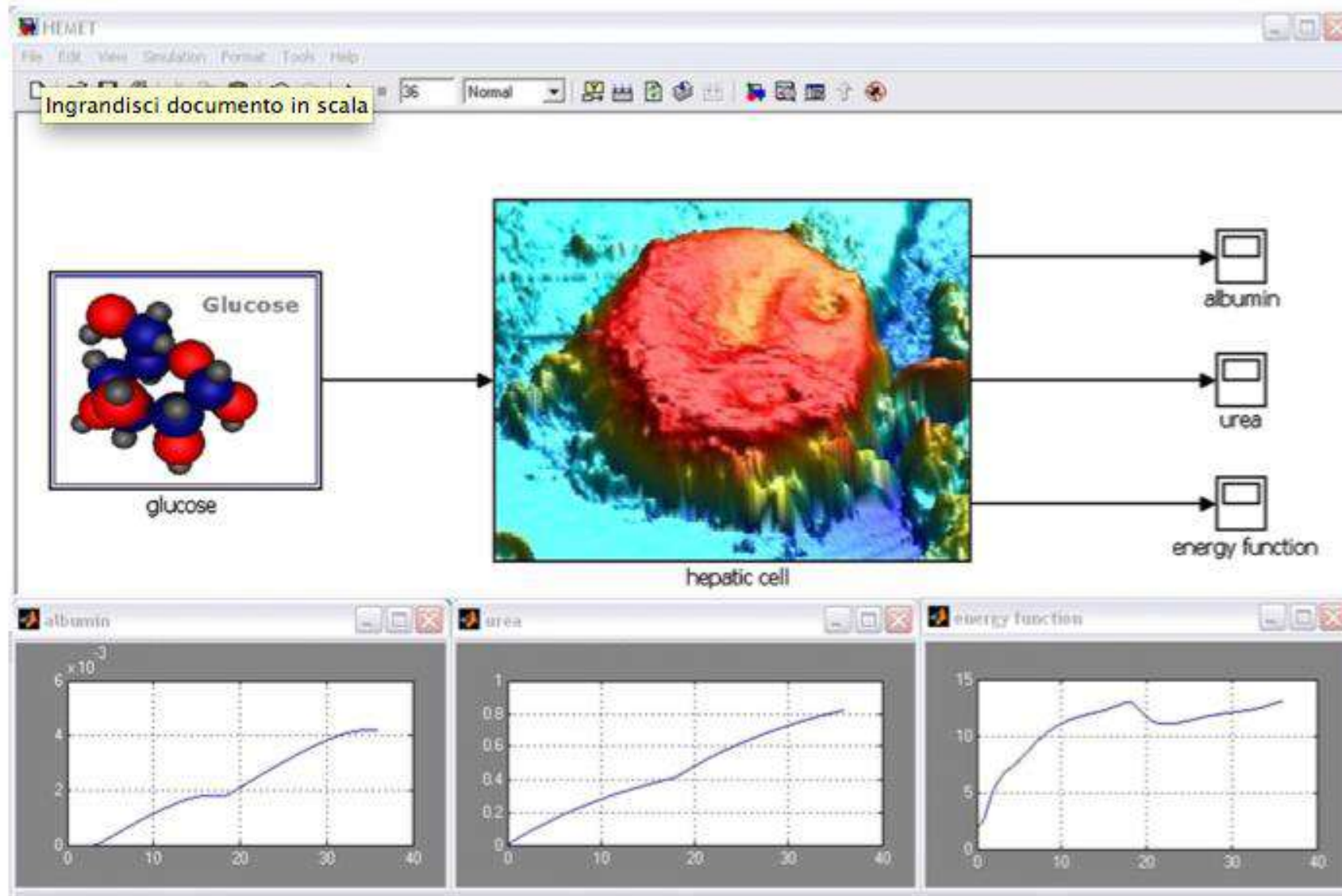




the Krebs Cycle



HEMET: Mathematical model of biochemical pathways for simulation and prediction of HEpatocyte METabolism



HEMET's graphical interface



Cellule staminali

Introduzione

- La ricerca sulle cellule staminali si espanse negli anni '60 grazie agli scienziati canadesi Ernest A. McCulloch e James E. Till
- Le cellule staminali sono cellule caratterizzate dalla loro capacità di differenziarsi in più tipi di cellule
- Diverse classi di cellule staminali hanno diversi livelli di potenziale
- Le cellule staminali si trovano in quasi tutti gli organismi multicellulari, anche in noi!

Requisiti di una cellula staminale

Per essere considerata una cellula staminale, devono essere soddisfatti 2 requisiti:

- Self-renewal: le cellule staminali devono essere in grado di attraversare più cicli di divisione cellulare pur rimanendo indifferenziate.
- Potency: le cellule staminali devono avere la capacità di differenziarsi in tipi di cellule specializzate. Questo si riferisce molto spesso alla capacità di differenziarsi in tutti o nella maggior parte dei tipi di cellule del corpo, ma possono avere anche livelli inferiori di potency.

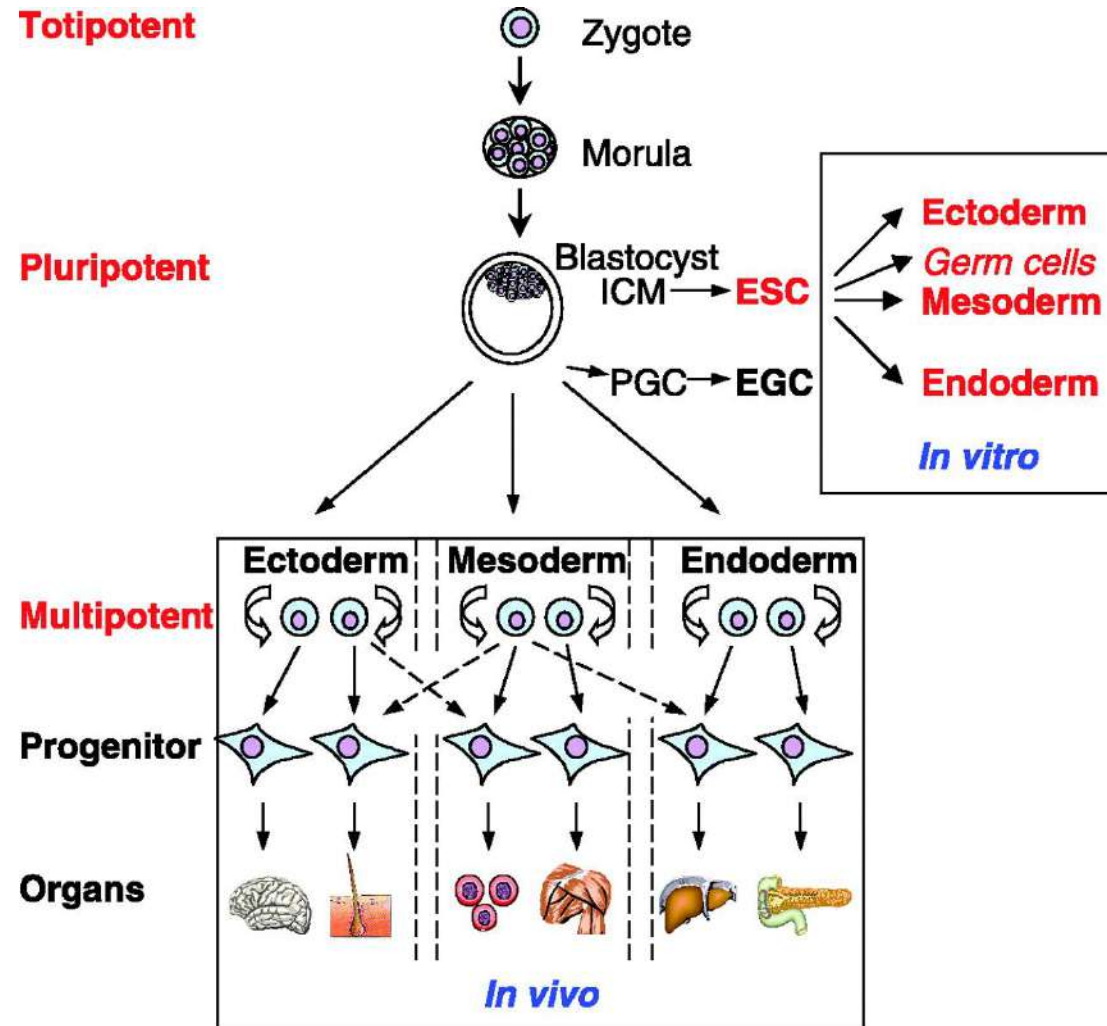
Definizioni di Potenza o potency

- **Totipotenti (Omnipotenti):** Cellule staminali che possono differenziarsi in un intero organismo. Risultati dalla fusione di ovulo e spermatozoo.
- **Pluripotenti:** cellule staminali che possono differenziarsi in qualsiasi tipo di tessuto ad eccezione del tessuto placentare.
- **Multipotenti:** cellule staminali che possono differenziarsi in più cellule di una famiglia di cellule strettamente correlate.
- **Oligopotenti:** cellule staminali che possono differenziarsi solo in pochi tipi di cellule (esempio: cellule staminali linfoidi).
- **Unipotenti:** cellule staminali che possono differenziarsi in un solo tipo di cellula ma possiedono comunque un auto-rinnovamento (esempio: cellule staminali muscolari).

Altre definizioni

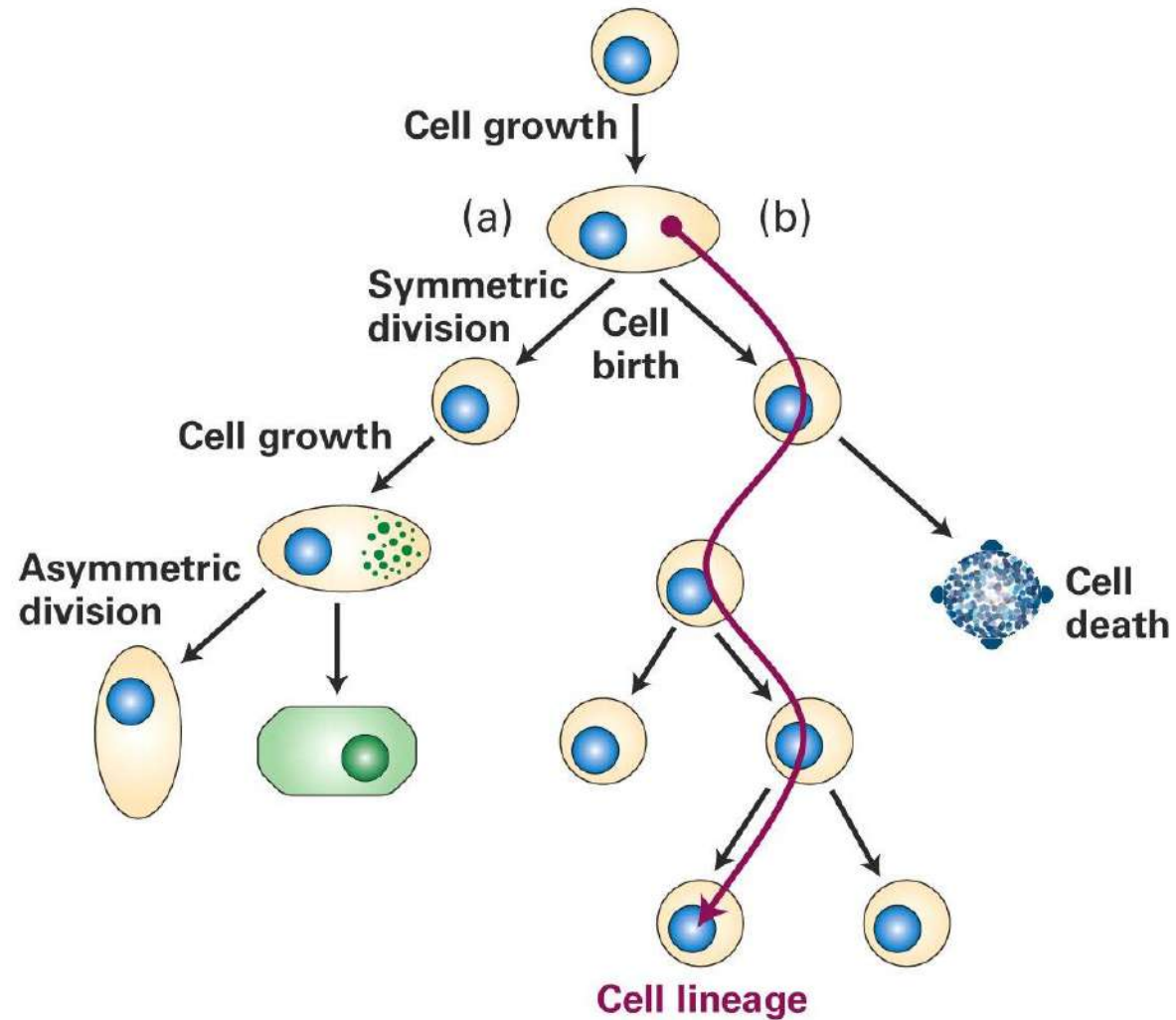
- **Cellula progenitrice:** Cellula multipotente o unipotente il cui autorinnovamento può essere limitato. Differenzia in una cellula specializzata.
- **Cellula Differenziata:** Una cellula alla fine di una linea cellulare che si è specializzata per una particolare funzione. Derivato da cellule progenitrici.
- **Cellula di linea:** Una serie di divisioni cellulari che portano a cellule specializzate e differenziate. Simile a un albero genealogico per le cellule.

Gerarchia della potency

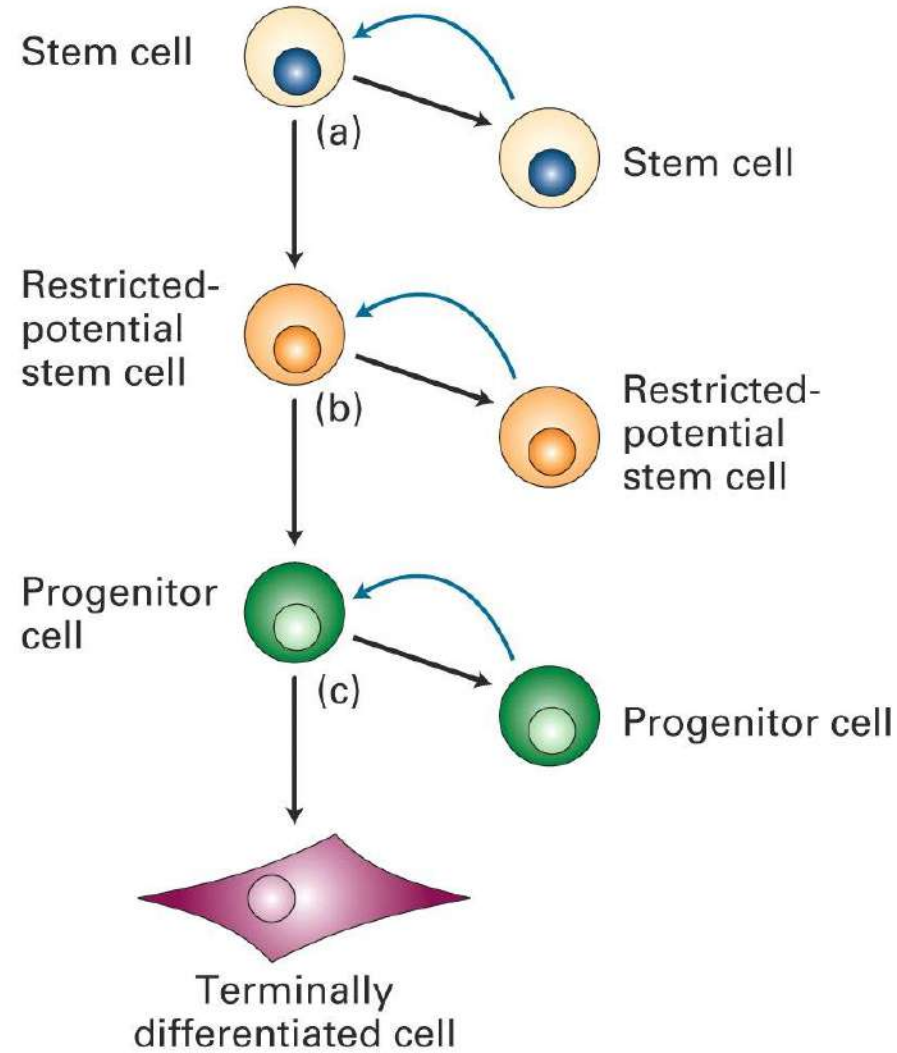


Wobus, A.M. et al. (2005)

Cellula di linea



Stem Cell Lineage



Wang, N. (2010)

Tipologie di cellule staminali

- **Embrionale:** cellule staminali derivate dalla massa cellulare interna di una blastocisti
- **Fetale:** cellule staminali primitive trovate negli organi dei feti
- **Adulto:** cellule staminali presenti negli organismi sviluppati che possono dividersi per formare cellule più differenziate
- **Amniotica:** cellule staminali multipotenti presenti nel liquido amniotico
- **Pluripotente indotto:** cellule riprogrammate attraverso l'ingegneria genetica per diventare cellule staminali

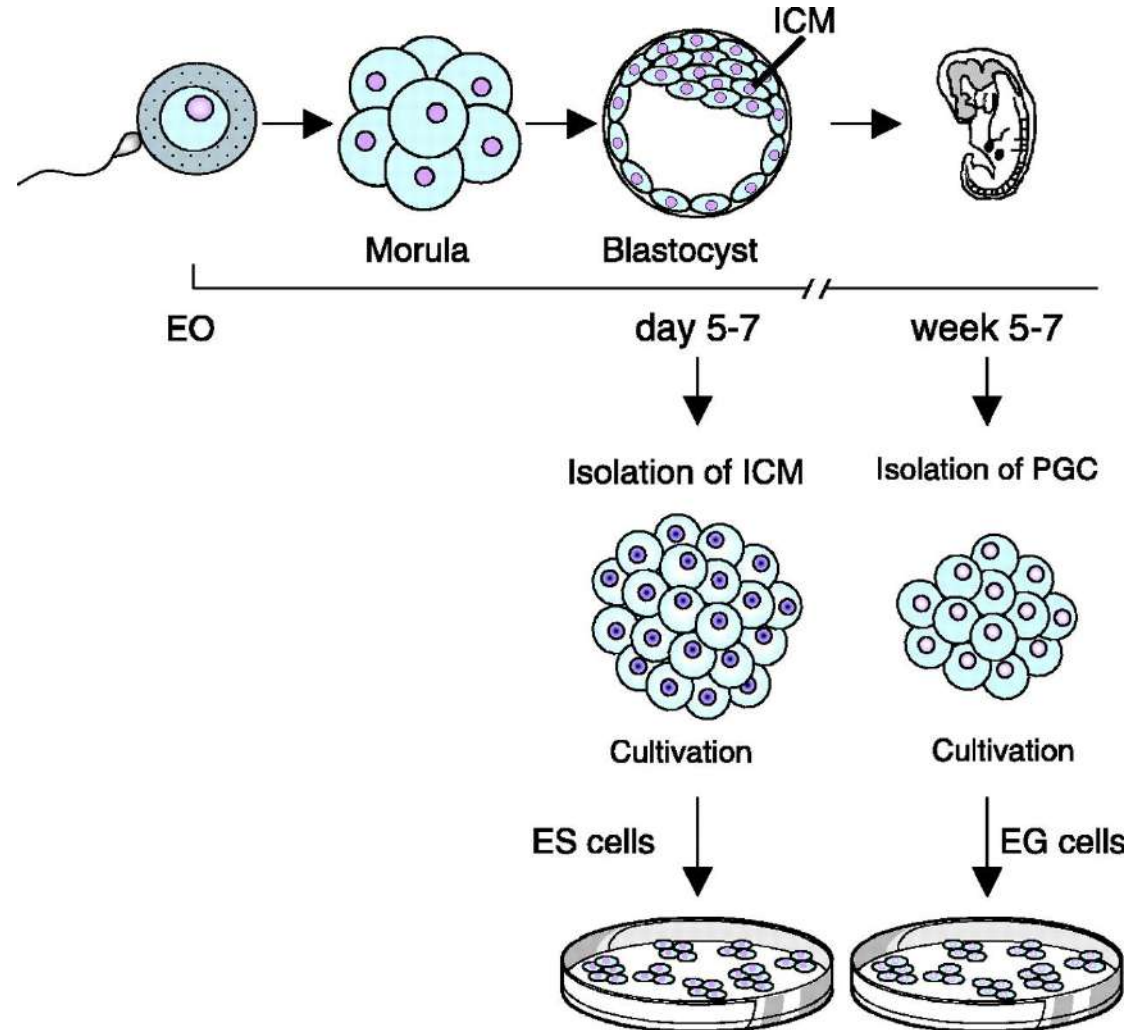
Cellule staminali adulte

- Cellule staminali presenti in alcuni tessuti che hanno la capacità di dividersi in specifici tipi di cellule
- Trovato anche nei bambini e nel sangue del cordone ombelicale
- Non c'è bisogno di distruggere un embrione; evita polemiche
- Tipicamente multipotente e limitato a determinate linee cellulari
- Sono stati utilizzati con successo per i trattamenti per lungo tempo tramite trapianti di midollo osseo
- Esempi: mesenchimale, endoteliale

Cellule staminali embrionali

- Derivato dal tessuto epiblasto della massa cellulare interna o da embrioni allo stadio iniziale di morula
- Cellule pluripotenti che possono dare origine a qualsiasi tipo di cellula dei tre strati germinali primari
- Quindi, qualsiasi tipo di cellula nel corpo
- Richiedono l'interruzione di un embrione in crescita ... polemica!
- La maggior parte delle ricerche finora ha coinvolto topi o cellule staminali embrionali umane

Embryonic Stem Cell Collection



Differenziamento delle cellule staminali

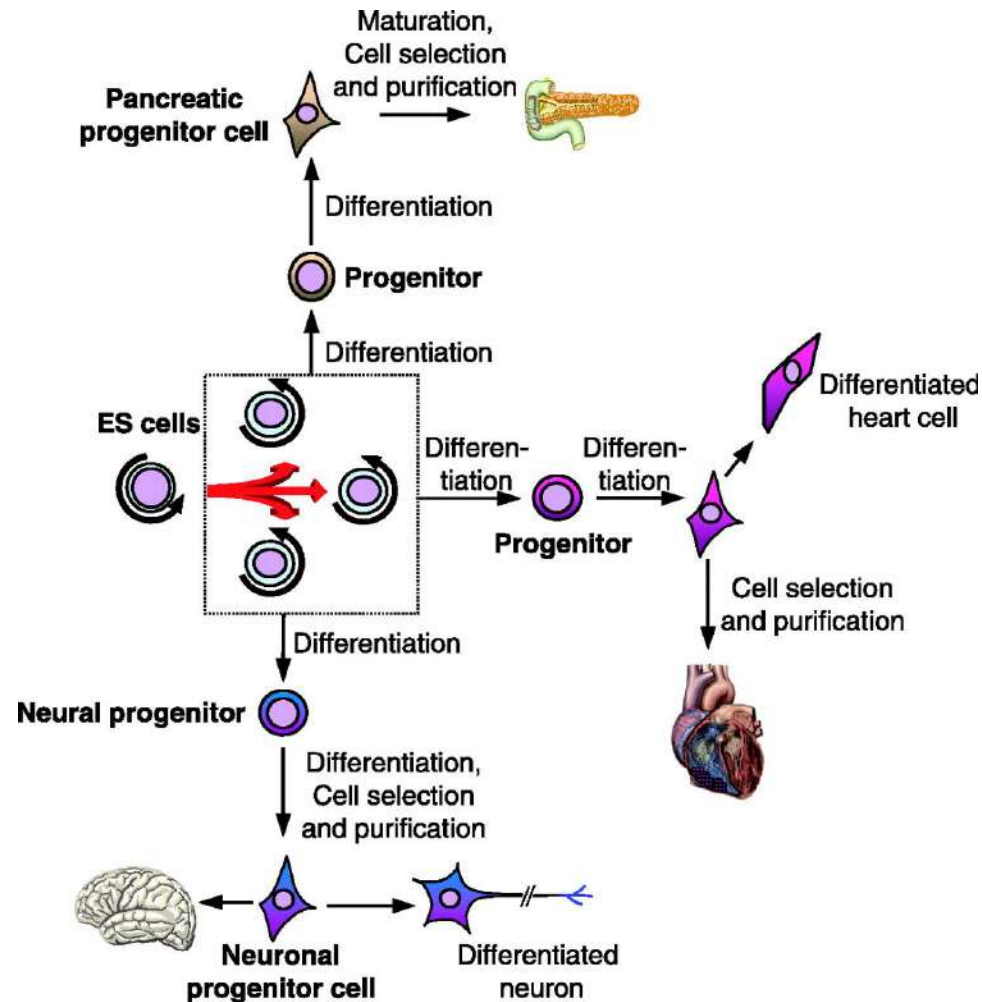
- Diversi fattori influenzano la differenziazione delle cellule staminali, molti dei quali non sono ancora ben compresi
- Fattori chimici: presenza di alcune proteine e altre macromolecole
- Fattori fisiologici: temperatura, pH, livelli di ossigeno, ecc ...
- Fattori meccanici: rigidità della matrice extracellulare

Terapia con le cellule staminali embrionali

Vantaggi delle cellule staminali embrionali rispetto alle cellule staminali adulte a scopo terapeutico:

- Possono essere coltivate indefinitamente nella cultura
- Possono essere manipolate geneticamente
- Sono stati stabiliti numerosi protocolli di differenziazione
- Numerosi modelli animali mostrano il potenziale della terapia con cellule staminali embrionali
- Riparazione cardiaca, formazione della struttura vascolare, riparazione del sistema nervoso, trattamento del diabete

Embryonic Stem Cell Therapy

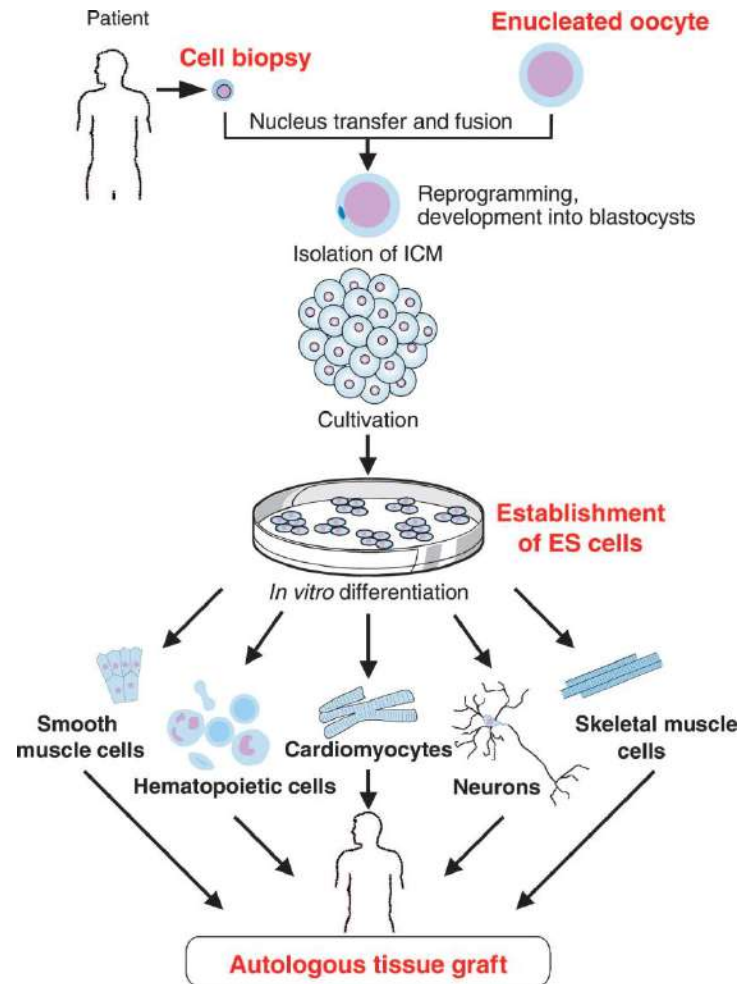


Wobus, A.M. et al. (2005)

Clonazione terapeutica

- Utilizza tecniche di trasferimento nucleare per produrre cellule staminali embrionali pluripotenti con lo stesso genoma del nucleo di origine
- Se queste cellule vengono trasferite in un utero femminile, si verifica la clonazione riproduttiva: la pecora Dolly!
- Se queste cellule vengono lasciate in coltura, si sviluppano in una blastocisti
- Le cellule staminali embrionali possono quindi essere derivate dalla massa cellulare interna come da processo usuale
- Queste cellule evitano qualsiasi rischio di immunità o incompatibilità con l'ospite

Therapeutic Cloning



Wobus, A.M. et al. (2005)

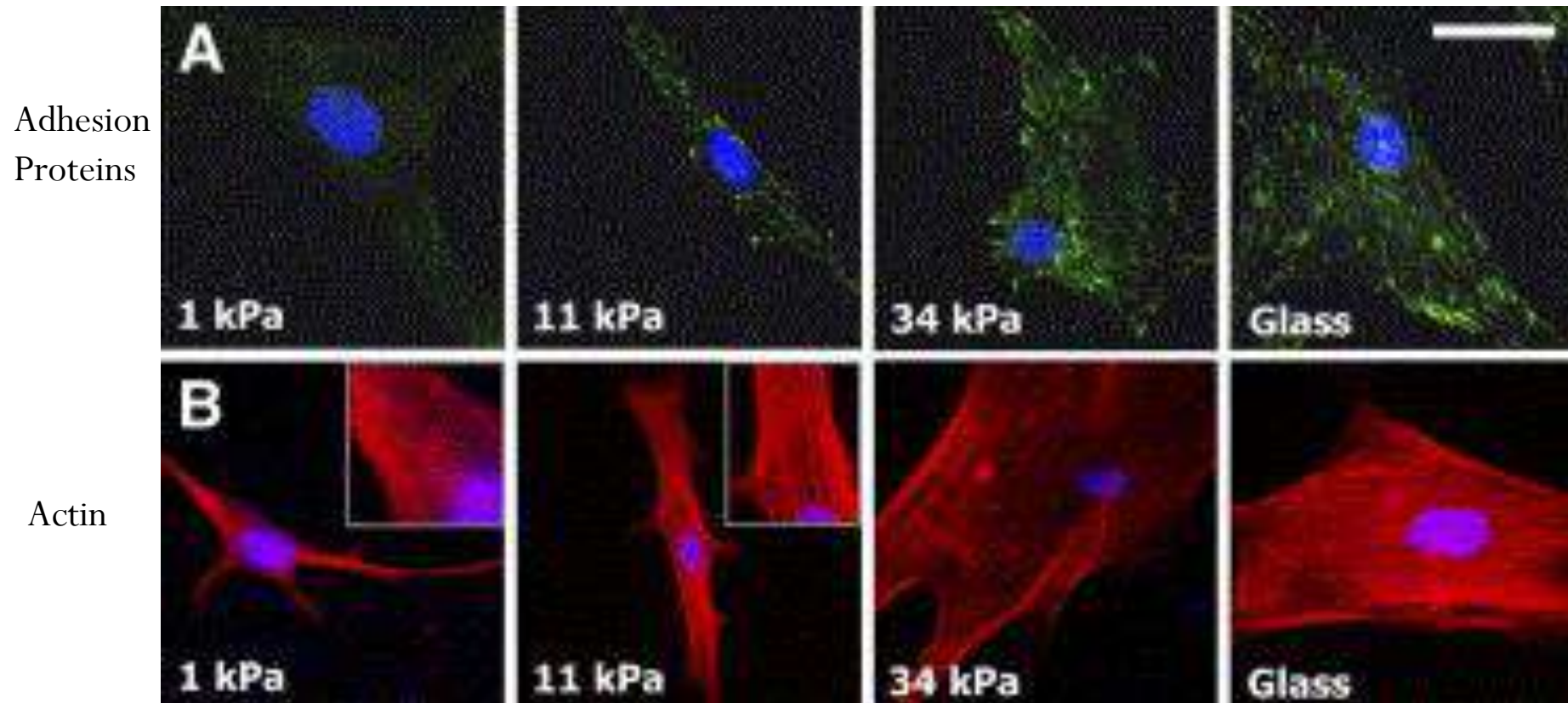
Fattori per la sopravvivenza delle cellule staminali

- La sopravvivenza e la differenziazione delle cellule staminali è influenzata da una serie di fattori che devono essere controllati per garantire la proliferazione delle cellule staminali
- Le cellule staminali richiedono un'interazione coordinata con fattori solubili, altre cellule e matrici extracellulari
- Fattori di crescita solubili specifici e recettori cellulari sono necessari per la sopravvivenza
- Alcuni ambienti extracellulari importanti anche per la sopravvivenza e la specializzazione

Effetti della rigidità del substrato

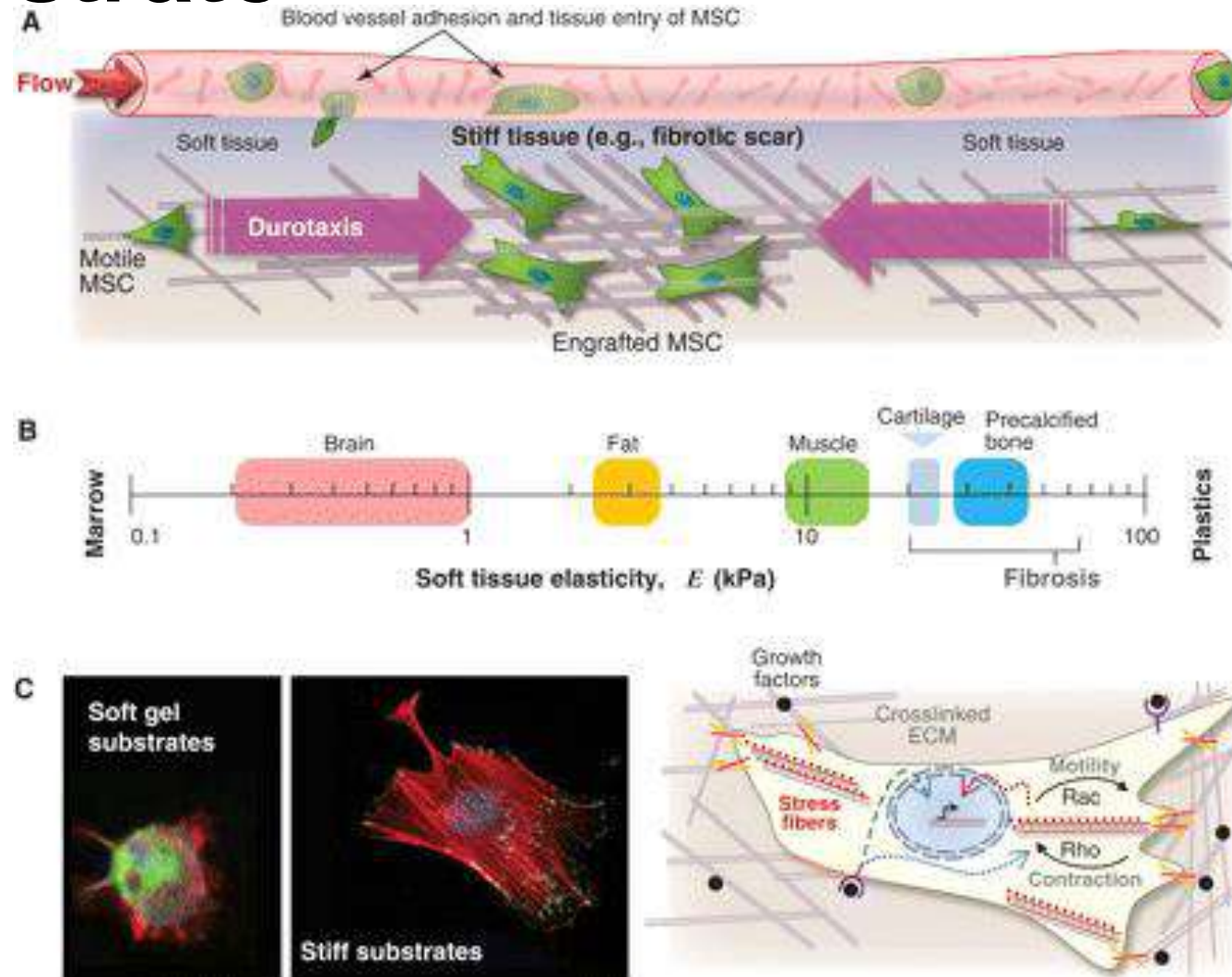
- Le cellule staminali sono fortemente influenzate dalla rigidità del substrato extracellulare
- Man mano che le cellule staminali si differenziano, la loro rigidità ed elasticità è proporzionale alla rigidità del substrato
- Le cellule reagiscono per operare nel loro ambiente specifico
- Il substrato extracellulare influenza in ultima analisi le proprietà cellulari specifiche
- Presenza di proteine di adesione sulla superficie cellulare
- Presenza di proteine strutturali all'interno della cellula

Effetti della rigidezza del substrato



Engler, A.J. et al. (2006)

Effetti della rigidità del substrato



Discher, D.E. et al. (2009)

Cellule staminali e comprensione del cancro

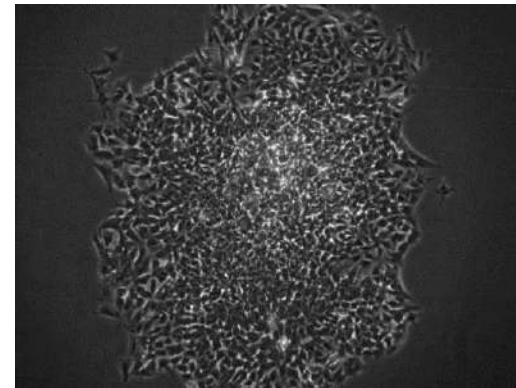
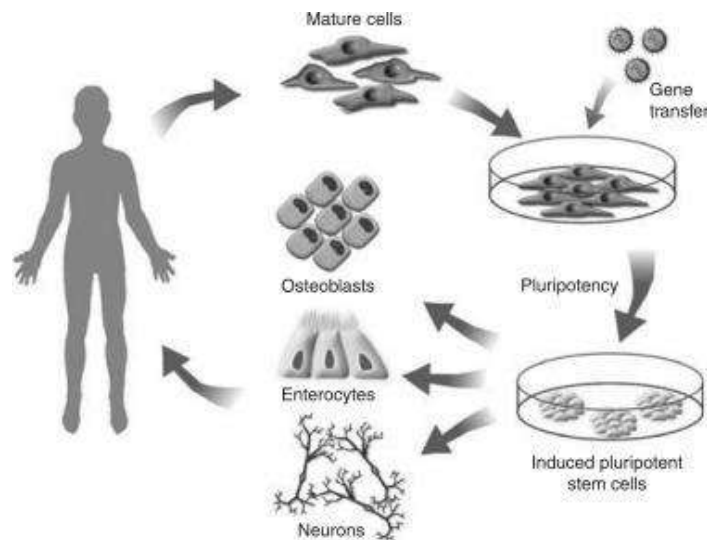
- Le cellule staminali embrionali condividono molte caratteristiche che possiedono le cellule tumorali
- Capacità proliferativa illimitata
- Propagazione clonale
- Mancanza sia di inibizione del contatto che di dipendenza dall'ancoraggio
- Le cellule staminali embrionali comunemente portano a teratomi o teratocarcinomi quando trapiantate in siti extrauterini
- Una migliore comprensione delle cellule staminali può portare a una migliore comprensione del cancro

INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS (IPS)

- 1962 → **CELLULAR REPROGRAMMING**

Un nucleo di una cellula somatica trapiantata all'interno di un embrione ha indotto la riprogrammazione del DNA in uno stato embrionale

- 2006 → Il dottor Yamanaka ha dimostrato che è possibile riprogrammare una cellula somatica in modo che si comporti come una cellula staminale manipolando anche alcuni fattori di trascrizione



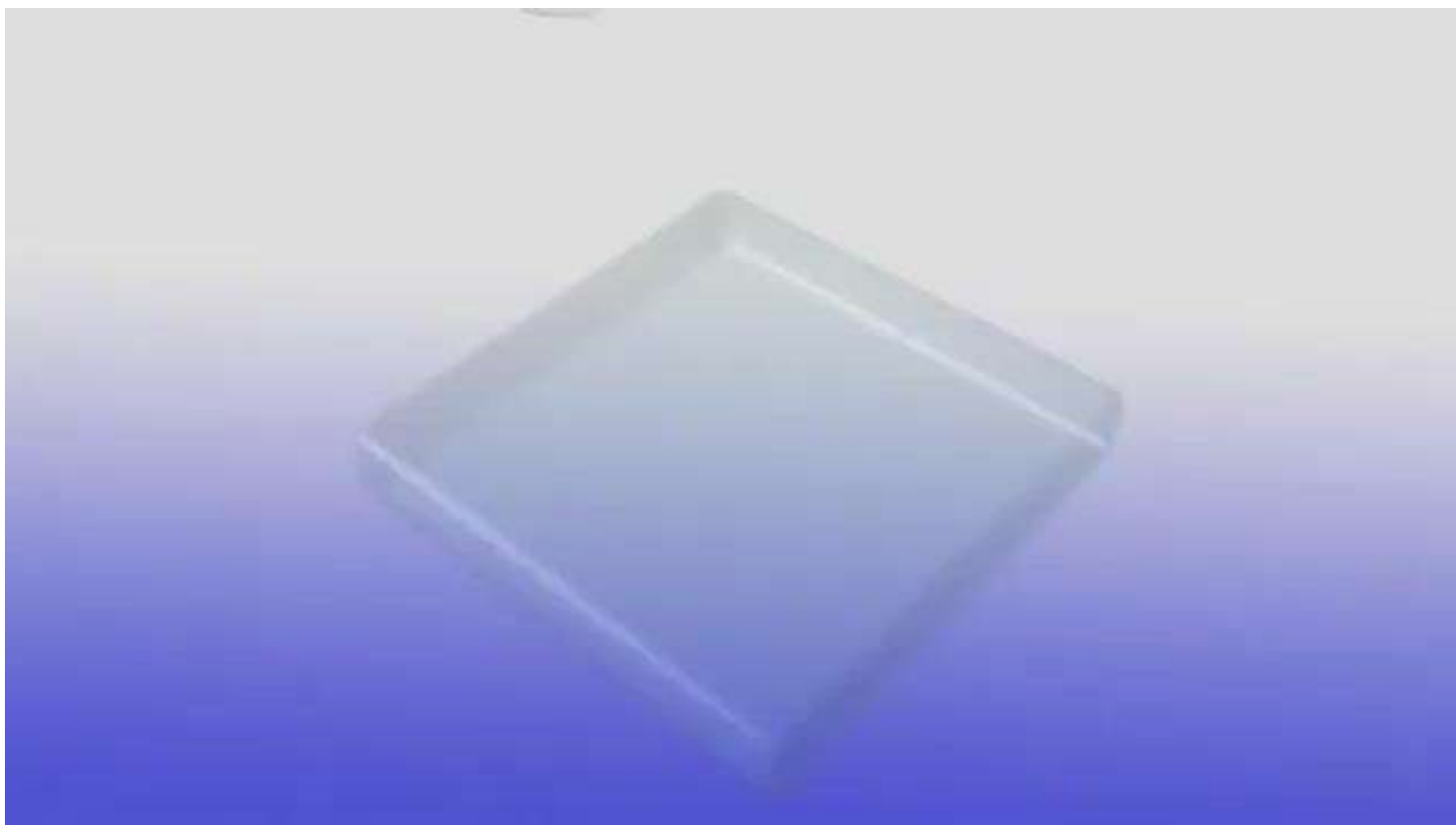
Applicazioni delle IPS

- **PRO**

- POSSIAMO GENERARE CELLULE STAMINALI PLURIPOTENTI SENZA DISTRUGGERE GLI EMBRIONI
- POSSONO ESSERE PRODOTTI DIRETTAMENTE DA CELLULE SOMATICHE DI UN PAZIENTE SPECIFICO
- NESSUN BISOGNO DI IMMUNOSOPPRESSIONE POST-TRAPIANTO
- STUDIARE LA PROGRESSIONE DELLA MALATTIA IN PAZIENTI CON MALATTIE NEURODEGENERATIVE

- **CONTRO**

- FORMAZIONE DEL TUMORE (?)
- BASSA EFFICACIA DI RIPROGRAMMAZIONE



**Cosa ci serve per ricreare un tessuto naturale?
Quali sono gli stimoli necessari?**

