

5.1 I virus uccidono le cellule con meccanismi diversi

Benvenuti al primo video di questa sezione. Si tratta sulla rilevazione degli effetti biologici causata tramite l'infezione virale. Il primo effetto di cui parleremo è la morte delle cellule.

La morte cellulare gioca un ruolo cruciale in parecchie malattie. Ma vi siete mai soffermati a pensare che è anche un fenomeno essenziale e normale per mantenere l'equilibrio fisiologico o omeostasi? In generale, le cellule muoiono per **apoptosi** (chiamato anche morte cellulare programmata) o **necrosi**.

L'apoptosi è innescata da normali processi per il corpo ed è normalmente un processo benefico, mentre la necrosi viene attivata da fattori esterni, quali il trauma o malattie infettive, ed è dannoso.

Il processo è diverso in entrambi i tipi di morte cellulare. L'apoptosi s'inizia con l'emersione di alcuni rigonfiamenti nella membrana, chiamato "vescichette". La cella si restringe e non c'è collasso nucleare, con la frammentazione del nucleo e del DNA, e condensazione della cromatina. Successivamente, la cella si decompone nei corpi apoptotici cosiddetto facilmente che fagocitato dalle cellule fagocitiche. Si tratta di un processo "pulito", in cui le cellule non emette "segnali di pericolo" e non c'è nessuna infiammazione. Al contrario, nella necrosi la membrana plasmatica è ripartita, e si verificano cambiamenti metabolici che rendono il rigonfiamento delle cellule e la pausa. Questo attrae cellule fagocitiche e c'è gonfiore. Se non è controllato, e può porre fine alla vita dell'individuo. Questa necrosi cellulare è dannosa.

Come distinguere gli apoptosi e necrosi prodotta dal virus? Ci sono molti modi, ma stiamo andando a parlare di due di loro. Il primo è utilizzare due reagenti fluorescenti. Uno di loro, verde, che si chiama annexina, aderisce a determinate molecole che sono solo sulla superficie del le membrane delle cellule apoptotiche. Altri, giallo-arancio, ioduro di propidio, penetra le membrane delle cellule danneggiate per essere intercalato tra i due filamenti di DNA. Dopo l'aggiunta di entrambi i reagenti alle cellule, essi vengono analizzati con il citometro a flusso che abbiamo già visto, che conta le celle che li distribuisce in quattro quadranti di un grafico a seconda dell'intensità di verde e arancione. In questo modo, i cellule viventi non sono macchiate con uno qualsiasi dei due coloranti e sono posizionati nel quadrante A. All'inizio del apoptosis le cellule sono macchiate con annexina ma essi non lasciate passare l'ioduro di propidio e sono posizionati nel quadrante B. Nelle fasi finali dell'apoptosi questo reagente può penetrare, e le cellule sono macchiate sia arancione e verde, e sono posizionati nel quadrante C. Infine, le cellule necrotiche non sono macchiate di annexina ma sono di ioduro di propidio, e sono classificati nel quadrante D. Il citometro a flusso conta il numero di cellule che esistono in ogni quadrante, e si calcola la percentuale del totale. In questo modo che possiamo determinare quello che predomina: apoptosi o necrosi. Le informazioni aggiuntive ci sono esercizi da risolvere.

L'altro sistema per rilevare apoptosis è attraverso una tecnica chiamata TUNNEL. Abbiamo già detto che, durante l'apoptosi, il DNA viene tagliato, generazione di molti frammenti. Un enzima, chiamato TdT, aggiunge dNTP alla fine dei frammenti del DNA per tentare di ripararlo. Beh, se aggiungiamo dUTP contrassegnato con qualche altra molecola al mezzo dove le cellule sono, questo è incorporato nel nuovo filo del DNA. Successivamente, la reazione viene visualizzata in funzione della marcatura che abbiamo usato per il dUTP. In questo modo, possiamo vedere i frammenti di DNA all'interno dei nuclei delle cellule apoptotiche. Il colore blu che vedete in questa immagine è a causa di un altro reagente che viene aggiunto per visualizzare i nuclei stessi.

Ci auguriamo che è diventato chiaro con questo video, che ci sono due tipi di morte cellulare: una fisiologica, naturale e pianificata, chiamata apoptosi; e uno che può essere dannosa per l'organismo, chiamato necrosi cellulare. È importante differenziare uno da altro per valutare i meccanismi patogeni di virus.

La ringrazio molto per la vostra attenzione. Oh, e ricordate di fare gli esercizi.