

CENNI DI BIOLOGIA CELLULARE

La **biologia cellulare** o **citologia** è la branca della biologia che studia la cellula dal punto di vista morfologico e funzionale. Gli approcci della citologia sono sia a livello microscopico che molecolare, sia in organismi unicellulari che in organismi più complessi come l'uomo. La conoscenza della struttura della cellula e dei processi che vi avvengono è molto importante per tutte le scienze biologiche. In particolare, riconoscendo le somiglianze e le differenze tra cellule di diversi organismi o di diversi tessuti, la citologia cerca di fornire una chiave di osservazione il più possibile generalizzata del *sistema-cellula*.

La citologia rappresenta uno dei perni biologici di grande interesse per studiare i meccanismi cellulari e molecolari della patogenesi e per diagnosticare malattie attraverso le analisi citologiche (citopatologia). L'origine della citologia è strettamente legata allo sviluppo delle tecniche di osservazione ed indagine. Esse permettono di osservare la cellula e, in particolare, con la microscopia con lenti sempre più perfezionate e potenti dagli inizi del XX secolo.

Dal 1939 in poi iniziano ad apparire apparecchi elettronici, che usano per evidenziare l'oggetto da osservare un fascio di elettroni anziché la luce. Il microscopio elettronico ha subito numerosi perfezionamenti e oggi permette enormi ingrandimenti.

- Nel 1665 Robert Hooke indica con il termine *cellula* (termine latino che significa *piccola camera*), le sezioni discrete che individua in un campione di sughero osservato attraverso uno dei primi microscopi. Dieci anni più tardi pubblica *Micrographia*, riconoscendo di aver visto nel sughero non le cellule, ormai morte, ma le loro pareti cellulari.
- 1674 Antoni van Leeuwenhoek individua i protozoi, che chiama *animalcules*. Nel 1683 individua anche i batteri. Le sue scoperte, frammentarie e poco ascoltate per via delle pubblicazioni in lingua olandese e non inglese, furono possibili grazie alla sua perizia nel costruire sistemi di ingrandimento.
- 1833 Robert Brown descrive il nucleo delle cellule di una pianta di orchidea.
- 1838 Matthias Schleiden e Theodor Schwann propongono la teoria cellulare, sostenendo che le unità di base dei viventi siano le cellule, contenenti un nucleo.
- È la nascita formale della citologia.
- 1852 Albert von Kölliker descrive i mitocondri nelle cellule muscolari.
- 1858 Rudolf Virchow sostiene che ogni vivente multicellulare sia la somma di una gran quantità di singole unità pienamente vitali, le cellule, provenienti da altre cellule preesistenti (coniando la celebre frase *omnis cellula e cellula*, dal latino *ogni cellula da una cellula*).

Partendo dallo stesso presupposto, in *Zellpatologie* sostiene che le patologie dell'organismo hanno origine da patologie cellulari.

- 1879 Walther Flemming descrive con ampi dettagli il comportamento dei cromosomi durante la mitosi delle cellule animali.
- 1881 Anders Retzius descrive dettagliatamente numerosi tessuti animali. Nei due decenni successivi, insieme a Santiago, Cajal e ad altri istologi, sviluppa numerose tecniche di colorazione, gettando le basi della moderna anatomia microscopica.
- 1882 Robert Koch utilizza coloranti contenenti anilina per evidenziare le cellule dei microrganismi, identificando quelli responsabili di colera e tubercolosi.

- Altri batteriologi (come Edwin Klebs e Louis Pasteur) identificarono successivamente gli organismi responsabili di molte altre patologie.
- 1898 Camillo Golgi individua e descrive il sistema intercellulare, oggi noto come apparato di Golgi, colorando le cellule con nitrato d'argento.
- 1912 Jacques Loeb preleva delle cellule uovo di riccio di mare, inducendone l'embriogenesi chimicamente.

La moderna biologia cellulare

Nel corso del Novecento, con il crescere delle possibilità di indagine molecolare, la semplice osservazione microscopica della cellula è stata via via affiancata da tecnologie di analisi più raffinate, a livello di molecole e macromolecole. La biologia cellulare, dunque, è stata affiancata (e secondo alcuni in parte superata) da biologia molecolare e biochimica, in grado di fornire interpretazioni più fedeli sia della microstruttura della cellula che dei processi che vi avvengono.

Negli ultimi anni, così come nei prossimi, sono due gli eventi che hanno definitivamente ridisegnato il volto della biologia cellulare: la genomica, che consiste nel sequenziamento completo dei genomi di numerosi organismi, e la proteomica, la conoscenza di tutte le possibili forme che le proteine possono assumere. Anche se la varietà delle forme viventi potrebbe scoraggiare qualsiasi tentativo di generalizzazione, è possibile individuare numerosi punti di convergenza nella struttura delle cellule.

Cellule procariotiche ed eucariotiche

Innanzitutto, è comune il fatto stesso che l'unità base di ogni organismo sia una cellula. Esistono due tipi di cellule: eucariotiche e procariotiche. Le cellule eucariotiche hanno una struttura interna complessa, con un nucleo racchiuso in una membrana.

Le cellule procariotiche, che non contengono un nucleo definito ed hanno una composizione interna più semplificata, sono state ulteriormente sottoposte a dettagliate analisi al DNA e suddivise in due domini diversi, chiamati *Eubacteria* (i batteri propriamente detti) e *Archaea* (detti anche archeobatteri). Sotto numerosi punti di vista, nonostante il loro nome, gli *Archaea* sono molto più simili agli eucarioti piuttosto che ai batteri.

Attraverso recenti studi di genomica comparata, è stata ricostruita la filogenesi dei tre domini, secondo la quale *Archaea* ed eucarioti avrebbero iniziato a divergere solo in seguito al differenziamento tra *Eubacteria* ed *Archaea*. In ogni caso, sebbene le differenze tra procarioti ed eucarioti non siano affatto irrilevanti, tutte le cellule presentano numerose caratteristiche comuni. Si riporta un elenco dei fenomeni più conservati e studiati in biologia cellulare:

- struttura e funzioni del nucleo cellulare:
 - morfologia dei cromosomi;
 - morfologia e funzione del nucleolo;
 - movimento attraverso i pori nucleari;
 - trascrizione e traduzione del materiale genetico;
- trasporto e distribuzione di molecole nei compartimenti cellulari:
 - ruolo dell'apparato di Golgi;
 - produzione dei lisosomi;
 - barriere in entrata e trasportatori nei vari compartimenti, come reticolo endoplasmatico rugoso, nucleo o mitocondri o perossisomi;

- processi di endocitosi:
 - processo di internalizzazione;
 - tipi di ligando riconosciuti;
 - eventi rilevanti nel corso del processo, come il *patching*, il *capping*;
 - ruolo della clatrina e dell'adattina;
 - effetto della temperatura sul processo;
 - ingresso del colesterolo;
 - dinamiche dei microtubuli;
- struttura e ruolo dei mitocondri:
 - organizzazione;
 - struttura membrana interna;
 - ciclo vitale;
- architettura della membrana cellulare:
 - ruolo dei fosfolipidi;
 - ruolo del colesterolo;
 - ruolo dei glicolipidi;
 - ruolo delle proteine;
 - giunzioni intercellulari;
 - microvilli;
 - molecole di adesione
- struttura e dinamiche delle ciglia;
- struttura del citoscheletro.

Cellula procariote

Le **cellule procarioti** (latino *pro*: prima), Si definiscono, piuttosto che per le caratterizzazioni specifiche a livello biochimico e biomolecolare, principalmente per le loro mancanze a fronte del paragone con le cellule eucariote. Le cellule procariote hanno una struttura interna molto semplice e rispetto a quelle eucariote possiedono solamente strutture come gli acidocalcisomi che sono implicati nella osmoregolazione e ribosomi che sintetizzano le proteine. I ribosomi dei procarioti sono caratterizzati da un coefficiente di sedimentazione di 70S, minore rispetto a quello eucariote di 80S. Presentano, inoltre, marcate differenze a livello sub-unitario (la sub-unità 16S).

Le loro dimensioni sono dell'ordine di pochi micron quindi risultanti visibili ad occhio nudo. L'interno cellulare non è generalmente suddiviso da membrane (anche se in passato alcune funzioni metaboliche, come la respirazione e la fotosintesi, venivano associate ad invaginazioni e ripiegamenti della membrana cellulare, chiamati mesosomi, poi rivelatisi artefatti).

Gli organismi procarioti sono unicellulari, ma ad esempio nella famiglia delle *Pyrodictiaceae*, *archea* ipertermofili a struttura coloniale si produce una rete di cellule discoidali piatte e cannulari, e i mixobatteri si possono aggregare per formare corpi fruttiferi pluricellulari. Si riproducono per scissione o gemmazione e possono presentare fenomeni di trasformazione come la coniugazione dimostrando un sensibile trasferimento genico orizzontale.

Il genoma cellulare è più semplice di quello delle cellule eucariote ed è spesso costituito da una sola molecola circolare di DNA, a cui si aggiungono eventuali repliconi autonomi, ma cromosomi o altre strutture lineari possono essere presenti. E' generalmente assente la membrana nucleare. La parete cellulare, se presente, può essere composta in parte da peptidoglicano o pseudomureine. Esternamente alla parete cellulare ci può essere uno strato più spesso e meno rigido, detto capsula e possono essere presenti pili proteici. Esempi di organismi, unicellulari o

coloniali, formati da cellule procariote sono: i batteri, comprensivi dei cianobatteri (le cianofitiche o alghe azzurre), e gli archaea.

CELLULA EUKARYOTA

Gli **eucarioti** (*Eukaryota*), sono uno dei due domini della classificazione tassonomica degli esseri viventi. Costituiscono il dominio più complesso e includono cinque regni: piante, funghi, animali, protisti e cromisti. Il criterio per la distinzione dall'altro dominio, i procarioti, è la presenza di un nucleo cellulare ben definito, isolato dal resto della cellula tramite una membrana e contenente la maggior parte del materiale genetico rappresentato dal DNA (una parte minore è contenuta nei mitocondri).

La teoria più accreditata sull'origine eucariota ipotizza la fusione biologica tra almeno due organismi procarioti: un archaea e un batterio. La transizione dai procarioti agli eucarioti ha rappresentato per molti studiosi uno dei passaggi evolutivi più importanti, secondo solo a quello dell'evoluzione delle cellule fotosintetiche. Il problema di come possa essere avvenuto questo passaggio è stato argomento di accese discussioni. Secondo l'ipotesi più diffusa, per circa 2 miliardi di anni, quindi per un tempo maggiore alla metà di quello trascorso dall'inizio della vita, sono esistite solo cellule *prokaryota*. L'origine della cellula eucariota risalirebbe all'incirca a 1,5 miliardi di anni fa in pieno precambriano, quando alcuni procarioti si stabilirono all'interno di altri organismi in una sorta di "simbiosi interna permanente". Esistono sufficienti prove che gli eucarioti derivano dai procarioti attraverso tale meccanismo di endosimbiosi (*Serial Endosymbiosis Theory*), ipotizzato in forma completa da Lynn Margulis negli anni sessanta del XX secolo.

Questa origine può essere distinta in due tappe:

- la prima comporta la formazione del fagocita primario
- la seconda la non-digestione degli organelli (mitocondri, cloroplasti).

Nucleo cellulare

Il **nucleo cellulare** è un compartimento cellulare dotato di membrana contenente la maggior parte del patrimonio genetico. La presenza o meno del nucleo è alla base della classica distinzione degli organismi in procarioti, con cellule prive di nucleo ed evolutivamente più antichi, ed eucarioti, con cellule nella quasi totalità provviste di nucleo.

La posizione nella cellula dipende dal contenuto e funzione della stessa: ad esempio cellule polarizzate, con una zona apicale deputata alla secrezione (cellule mucipare, cellule a secrezione apocrina), o all'assorbimento (enterociti), hanno il nucleo in posizione basale, mentre cellule molto "piene", come gli adipociti univacuolari (grasso bianco) o i miociti dei muscoli scheletrici, hanno il nucleo in posizione sublemmare (cioè addossato alla membrana cellulare). Anche la forma del nucleo cambia notevolmente, generalmente seguendo la geometria della cellula; dunque cellule cilindriche avranno nuclei oblungi, mentre cellule sferiche avranno nuclei della stessa forma.

Struttura del nucleo

Il nucleo è una struttura che si trova all'interno della cellula ed è sede di importanti reazioni. Il suo scopo è quello di contenere gli acidi nucleici, provvedere alla duplicazione del DNA, alla trascrizione e alla maturazione dell'RNA. Il nucleo è presente solo negli eucarioti ed è delimitato da una doppia membrana fosfolipoproteica in continuità con il reticolo endoplasmatico rugoso RER. Nel nucleo possono essere distinti:

- una doppia membrana, che lo separa dal citoplasma della cellula e che è attraversata da pori, (ossia delle aree in cui le due membrane vengono a contatto e si crea un complesso macromolecolare di proteine che funge da sistema di controllo per l'entrata e l'uscita di materiale dal nucleo).
- un materiale filamentoso, la cromatina, costituita da proteine ed acidi nucleici
- i nucleoli, immersi nella sostanza nucleare.

L'involucro nucleare è composto da due membrane fosfolipoproteiche concentriche, che delimitano il lume della *cisterna perinucleare*. Tale cisterna è in continuità con il RER. La cisterna è interrotta a livello dei pori dove le due membrane si fondono. La membrana esterna e quella interna, sebbene non contravvengano al principio di membrana unitaria hanno composizione differente sia in fosfolipidi che in proteine. La membrana interna è rivestita sul lato interno da una fitta maglia di proteine per il *nucleoscheletro*, il cui scopo è di fornire un sostegno per il nucleo e un ancoraggio per la cromatina.

La membrana nucleare non è continua, ma presenta dei fori, detti pori nucleari, il cui scopo è quello di permettere il passaggio delle molecole dal citosol al nucleoplasma. I pori nucleari sono composti da 8 proteine canale disposte ad ottamero e da centinaia di altre proteine che formano le diverse subunità. Abbiamo le subunità ad anello, subunità a colonna, subunità laminare, subunità anulare, fibrille e canestro nucleare. Le molecole più piccole passano per diffusione, molecole più grandi passano con velocità inversamente proporzionale alla loro massa. Dalle osservazioni del microscopio elettronico si ritiene che il poro sia formato da quattro anelli. I due ottameri sono collegati tra loro grazie a una struttura a raggiera, formata da proteine che delimitano il canale centrale che attraversa l'involucro.

All'interno del canale sono state riscontrate altre proteine e trasportatori responsabili del movimento delle macromolecole attraverso la membrana nucleare. Le molecole più piccole non passano attraverso il canale centrale, ma attraverso canali più piccoli ricavati tra i "raggi". Mentre quelle più grandi necessitano di un segnale che permetta loro di allargare il canale. Il nucleo cellulare ha una funzione essenziale nella trasmissione dei caratteri ereditari (meiosi, mitosi) e nel controllo del metabolismo cellulare. Il DNA che si trova nel nucleo non è sparso ma ben organizzato in un superavvolgimento dato dall'associazione del DNA stesso con 5 proteine istoniche. La *cromatina*, si suddivide in eucromatina ed eterocromatina (a seconda che si colori o meno), a sua volta suddivisibile in eterocromatina costitutiva (centromero e telomero) e facoltativa, ovvero quelle regioni di DNA silenziato in ragione della specificità cellulare dovuta al differenziamento, oppure ad una temporanea inattività di quei particolari geni.

Normalmente le cellule eucariote sono mononucleate. Nei Ciliati sono presenti più nuclei ma uno solo (il *micronucleo*) garantisce l'ininterrotta continuità del genoma, mentre i *macronuclei* sono delle "copie di lavoro" il cui genoma non si replica con accuratezza.

I *sincizi* sono cellule polinucleate derivanti dalla fusione di cellule normali: un tipico esempio sono le fibre muscolari scheletriche degli animali. Altri sincizi che si possono citare nell'organismo umano sono: il sinciziotrofoblasto (necessario all'impianto della blastocisti nella decidua uterina), gli osteoclasti, le cellule giganti da corpo estraneo (non sono altro che numerosi macrofagi fusi, in grado di fagocitare corpi molto grandi estranei o di tessuti necrotici).

I *plasmodi* sono cellule in cui le divisioni nucleari non sono state seguite dalla divisione cellulare. Nelle ife filamentose dei Funghi in genere la separazione tra le cellule è assente o incompleta. Nell'uomo si hanno plasmodi in alcuni epatociti e in alcune cellule degli epitelii di transizione (vescica), nonché durante la maturazione degli spermatozoi.

Gli eritrociti umani, come quelli degli altri mammiferi, sono sprovvisti di nucleo. Questo rientra nel normale sviluppo della cellula. Vi sono cellule che non hanno nucleo, come nel caso dei globuli rossi dei mammiferi che perdono il nucleo in seguito al loro differenziamento, infatti il loro unico scopo è quello di trasportare i gas coinvolti nella respirazione. Si discute, comunque, se sia giusto chiamare l'eritrocita cellula o piuttosto derivato cellulare. I globuli rossi degli uccelli, degli anfibi, dei rettili e dei pesci sono invece provvisti del nucleo. Tra le altre cellule prive di nucleo si annoverano anche le piastrine e le squame cornee della pelle.