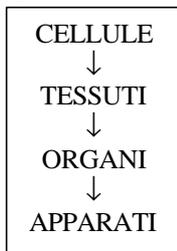


# CORSO DI ISTOLOGIA

Le cellule non sono isolate, ma si aggregano in tessuti per sviluppare le loro funzioni cooperando assieme. Possono, per esempio, unirsi mediante giunzioni per formare dei foglietti, di cui il tessuto epiteliale è un caso classico. Ci sono diversi ordini di grandezza di organizzazione;



Ogni tessuto ha la sua funzione e le cellule, quindi, si **specializzano** in base ad essa:  
Per esempio ci sono:

**Tessuti Nervosi**→specializzati nella trasmissione dei segnali,

**Tessuti Muscolari**→con cellule che utilizzano attivamente ATP per contrarsi e rilassarsi

**Tessuto Epiteliale**→con il compito di rivestire e proteggere

## TESSUTO CONNETTIVO

E' formato da Cellule isolate, immerse all'interno di una **Matrice Extracellulare** con cui sono strettamente interconnesse. Quest'ultima è prodotta dalle cellule stesse e formata a sua volta da:

**Sostanza fondamentale**, costituita da una componente amorfa (non visibile al microscopio) e da **Componente fibrillare** a struttura filamentosa.

In questo tessuto è presente, prima di tutto il **Fibroblasta**, cellula rivestita di una membrana molto sottile con all'interno abbondanti vescicole e canali del RER. I molti Ribosomi sono utili a garantire l'intensa attività di sintesi proteica necessaria, alla costituzione della matrice esterna. In quest'ultima, sono abbondanti due tipi di collagene posti ortogonalmente tra loro e trasversalmente alla cellula, a costituire il corpo fibroso della matrice.

Le cellule possono essere fisse o libere, cioè in grado di staccarsi dalla matrice e di muoversi.

Il Tessuto Connettivo comprende quattro sottotessuti:

- **Tessuto Connettivo Propriamente Detto** (fibroblasti)
- **Cartilagine** (naso, trachea)
- **Osso**
- **Sangue** (componente liquida abbondante, plasma)

A sua volta, il TC può essere:

- **Lasso**: presenta dei "buchi" molto ricco di cellule (TC propriamente detto, sangue)

**Denso**: molto ricco di fibre (cartilagine e osso)

Le funzioni del TC sono:

- Collegamento tra altri tessuti: ghiandole, muscoli, nervi, vasi. Impalcatura, intelaiatura.
- Supporto meccanico perché molto resistente alla pressione ed alla trazione, oltreché funzione protettiva. (cartilagine ed osso)
- Supporto elastico (vasi sanguigni con ampie  $\Delta P$ )
- Regola la diffusione di ioni e molecole nella matrice extracellulare
- Difesa da parte delle cellule mobili attivate ed attivabili. (infiammazione ed immunità)
- Importanza nel differenziamento e sviluppo per la **potenzialità** di alcune cellule di restare allo stato embrionale e differenziarsi all'occorrenza.

Il TC, come tutti i tessuti, ha una derivazione embrionale dal Bottone Embrionale, (fase iniziale, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> settimana di vita del feto) formato da tre foglietti epiteliali (cellule collegate con giunzioni). Il

foglietto più esterno è chiamato Ectoderma, quello sotto è Endoderma e tra i due c'è il Mesoderma. Il TC deriva dal Mesoderma, cioè un foglietto che ha caratteristiche epiteliali e da questo derivano le cellule progenitrici del TC, le cellule Mesenchimali indifferenziate.

Queste sono dotate di capacità di autoreplicazione e proliferazione senza necessariamente specializzarsi, mantenendo caratteristiche **Staminali**. Questo è dovuto all'inibizione della trascrizione di alcuni geni durante la fase di duplicazione. Allorché giunge uno stimolo, l'inibizione può cessare e la duplicazione porta a vie diverse, manifestando il carattere totipotente, cioè in grado di differenziarsi in varie direzioni come cellule con diverse funzioni e specializzazioni. Segno evidente di questa pluripotenzialità genica è la gran quantità di Eterocromatina (cromatina non espressa ≠ Eucromatina) presente nel nucleo della cellula Mesenchimale Indifferenziata (MI).

**CELLULA  
MESENCHIMALE  
INDIFFERENZIATA**

**Cellula Stromale Staminal** → fibroblasta, condroblasta, osteoblasta, angioblasta (forma le cellule endoteliali) e cellula muscolare liscia (nei vasi).

**Cellula Ematopoietica Staminal** → Cellule del sangue

## **TESSUTO CONNETTIVO PROPRIAMENTE DETTO**

La componente cellulare di questo tessuto è formata in gran parte da cellule dette:

**FIBROBLASTI**® Sono ricchi di RE, soprattutto RER con Ribosomi tanto che il citoplasma (ctp) assume caratteristiche Basofile (ama coloranti basici che si legano ai siti acidi ribonucleici dei ribosomi). Presenta inoltre molte vescicole che veicolano all'esterno le proteine ribosomiali per formare la matrice extracellulare fibrillare ed amorfa.

**FRAZIONE FIBRILLARE** ® è costituita da fibre di **collagene** che è la proteina più abbondante del nostro corpo e **fibre elastiche**. Per le prime si tratta di fibre lunghe 200 µm e spesse 20 µm suddivise in 18 tipi diversi. Il più abbondante è quello di I tipo, presente solo nel TC, formato da bastoncelli allineati e sfasati di ¼ della loro lunghezza, ma anche il tipo III e V di dimensione minore. Le fibre sono molto rigide e sono responsabili della rigidità del TC e della resistenza alla trazione e pressione.

Le fibre elastiche sono formate da 2 componenti, una globulare e una di fibrille molto sottili formate da **elastina e microfibrille**. Queste portano una capacità di deformarsi se sottoposte a trazione e di riprendere la lunghezza originaria al cessare dello stimolo, caratteristica utile nelle pareti dei vasi sanguigni.

**SOSTANZA AMORFA** ® o fondamentale costituisce invece la maggior parte della matrice extracellulare. Si tratta di una rete tridimensionale di strutture a rete di acido ialuronico cui si attaccano, per mezzo di una proteina link i **proteoglicani** (PGC) (asse proteico cui si attaccano catene di glicosamminoglicani GAG). Oltre a queste sono presenti in prossimità della membrana del fibroblasta delle **glicoproteine** (GPT) della matrice (composte per il 5% di zucchero mentre nel pgc il 10% è proteico).

### • **IL COLLAGENE**

Molecola molto filamentosa composta da aminoacidi (AA) tipicamente disposti lungo la catena come ...**Y-Gly-X-Y-Gly-X**... cioè la **glicina** è presente ogni 3 aa ed è ricco anche di **prolina**.

Viene sintetizzato nei fibroblasti, ma non subito come tale; nel RER dei fibroblasti viene sintetizzata una pro-catena α avente una struttura ad elica che si presenta come fibrosa. Essa viene ossidrilata a livello degli aa X-Y (in genere Lisina e Prolina per formare idrossiprolina e idrossilisina) e glicosilata con legami O-glicosilici (a livello dell'OH). Tre di queste catene si legano con interazioni H e formano una struttura a tripla elica detta pro-collagene. Questa presenta

delle terminazioni, dette telopeptidi, non in tripla elica ma come filamenti liberi, per la non regolarità di posizione delle glicine.

Questo viene espulso al di fuori della cellula, in prossimità della membrana, vicino alle gpt, dove ci sono delle peptidasi che tagliano (in alcune cellule il processo è così lento da non avvenire) le estremità (telopeptidi), lasciando un'autentica tripla elica e passando da pro-collagene a tropocollagene vero e proprio. In questo sito le molecole sono in grado di aggregarsi in **fibrille**. Le triple eliche, dette **Tropocollagene**, lunghe 300nm, sono assemblate le une, le altre tenendo una sfasatura di 67nm (1/4) tra le diverse unità e una spaziatura (gap) di 35nm. Queste sono legate tra loro mediante **ponti trasversi** (legami covalenti) tra lisine. A catalizzare l'operazione provvede l'enzima **Lisilossidasi** che ossida una lisina per deidrogenazione trasformandola in aldeide-lisina (allisina) che può in seguito andare incontro ad un forte legame covalente tipo base di Schiff.

Ci sono diversi tipi di collagene regolati da geni specifici:

- **Collagene I tipo** è presente nel derma e si trova al di sotto dell'epitelio dove è prodotto da fibroblasti adulti, all'interno di un TC propriamente detto.
- **Collagene di III e V tipo** è presente nel derma più giovane, ha fibre più corte (20nm) e più sottili ed è meno rigido del I tipo.
- **Collagene di VI tipo** è posto tra le fibre creando degli ulteriori legami tra le fibre stesse.
- **Collagene di IV tipo** ha una molecola non sempre filamentosa perché ci sono interruzioni dove non c'è una Gly ogni 3 posizioni; Si creano delle ripiegature che portano ad una struttura globulare. Le terminazioni amino e carbossi-terminale non sono libere perché non avviene l'eliminazione dei peptidi iniziali. Queste fibre si aggregano tra loro mediante legami ionici a formare strutture esagonali che portano ai vertici le strutture globulari. Strati successivi formano una specie di rete, filtro, utile in determinate zone.

	TIPO DI COLLAGENE	FUNZIONE SPECIFICA
FIBRE	I-II-III-V (da 100nm a 20 nm)	Resistenza alla trazione e alla pressione
FIBRILLE	VI-VII	Avvolgimenti e collegamenti
RETI	IV	Filtro (nelle membrane basali)

Il collagene è formato da tre catene ma non sono sempre uguali.

- Tipo II-III-V →  $a_1 \cdot a_1 \cdot a_1$ : le 3 catene sono uguali e quindi vengono da uno stesso gene
- Tipo VI →  $a_1 \cdot a_2 \cdot a_3$ : le 3 catene sono generate contemporaneamente da 3 geni diversi, al limite, di 3 cromosomi diversi e vengono successivamente assemblate
- Tipo I →  $a_1 \cdot a_1 \cdot a_2$ : ci sono 2 catene sono uguali e una diversa così da derivare da 2 geni diversi.

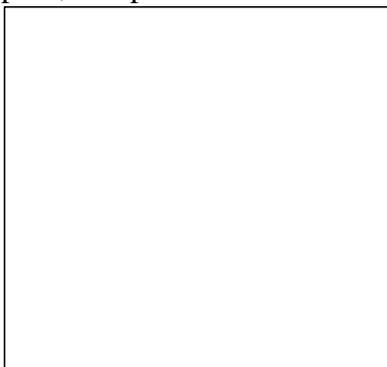
Le fibre del collagene appaiono al microscopio elettronico con delle bandature trasversali chiaro-scure e questo dipende da come sono disposte le stesse. Infatti, la sfasatura tra le fibre di tropocollagene porta alla formazione di zone di sovrapposizione e zone vuote dove il colorante ad alto numero atomico può insinuarsi ed accumularsi intercettando così il fascio elettronico.

Collagene	Cellula	Tessuto	Osservazioni
Tipo I	<b>Fibroblasto</b> <b>Osteoblasto</b> (nel tessuto osseo)	<b>Derma adulto</b> (tendini presenti tre l'osso e il muscolo) <b>Osseo</b> (tessuto molto denso di connessione)	Fibre bandate di circa 100nm (perché sia evidente le fibre devono essere spesse e diversificate)
Tipo II	<b>Condroblasti</b>	<b>Cartilagine</b>	Fibrille da 20-30nm
Tipo III e V	<b>Fibroblasti</b> <b>Cellule muscolari lisce</b> <b>Mioblasti</b>	<b>Derma giovane</b> <b>Vasi</b> <b>Muscolo</b> (deriva dal mesoderma ma non dalla cellula mesenchimale)	Fibrille da 20 nm (maturano lentamente perdono i telopeptidi molto lentamente)
TIPO IV	<b>Cellule epiteliali</b>	<b>Membrana basale</b> (su cui poggia il foglietto)	Forma delle reti poligonali (tanti foglietti uno sopra l'altro) Resta nella forma pro-collagene (non viene tagliato dalle peptidasi)
TIPO VI	<b>Fibroblasti</b>	<b>Filamenti che avvolgono le fibre</b>	Avvolgimenti sottili di fibre

• **LE FIBRE ELASTICHE**

Le fibre elastiche sono costituite da due componenti: Al nucleo si trova **Elastina** a formare una struttura a rete, mentre alla periferia si trovano **microfibrille** a formare una peluria esterna.

L'Elastina è una proteina prodotta dal fibroblasto sotto forma del precursore **tropoelastina** (70 kDa) di forma globulare per proteggersi dall'ambiente acquoso esterno. Infatti, questa proteina è particolarmente ricca di aa idrofobici (valina) che stabilizzano la forma globulare. In alcuni tratti, però, compaiono aa diversi come lisina e alanina che possono avvicinare alcune catene e localizzare



una reazione che porta alla formazione di legami covalenti trasversi, catalizzata dall'enzima lisilossidasi. Precisamente si uniscono 3 residui di allisina con uno di lisina a formare un gruppo con nucleo piridinico, chiamato **desmosina** con perdita di acqua e formazione di legami trasversi molto rigidi e robusti. Viene così a crearsi una struttura tridimensionale a rete che ha ottime caratteristiche elastiche allungandosi e rilassandosi allo stato originario. L'elevata idrofobicità dei residui di aa rende particolarmente stabile la struttura indeformata che espone il minor numero di residui all'acqua e pertanto tende ad essere la

configurazione più stabile. L'elasticità è una proprietà importantissima soprattutto in quelle regioni sottoposte a forti variazioni di pressione come l'aorta, dove è necessario un continuo adattamento alle pulsazioni. E' presente, inoltre, nel derma e ne determina l'elasticità, irrigidendosi comunque con l'età.

L'elastina è prodotta soprattutto da fibroblasti ma anche dalle cellule muscolari lisce dei vasi, cellule endoteliali, e condroblasti. Attorno a questa ci sono le microfibrille formate da una proteina più piccola della tropoelastina, detta **fibrillina** (~350 kDa) che si dispone parallelamente alle catene

delle altre fibrilline formando degli aggregati di microfibrille. Alterazioni genetiche di queste microfibrille sono all'origine di malattie molto gravi.

## • PROTEOGLICANI

Nel derma i fibroblasti producono degli aggregati di **Proteoglicani** (pgc). Il PGC è dato da un asse proteico, e da **glicosamminoglicani** GAG che si legano secondo un legame glicosidico a formare delle strutture arborescenti. Queste ultime sono legate, mediante legame ionico ad una proteina link ad una lunga catena di **acido ialuronico** a formare una complessa struttura "piumata". Nel derma il PGC è il **versicano** che è formato per la maggiore da unità glucidiche (glicano) mentre la parte proteica, formata da ~2000 aa, è meno del 10%. I GAG possono avere un **acido condroitinsolforico** CS oppure un **acido dermatansolforico** DS che si attaccano tramite un legame glicosidico ad una serina della parte proteica tramite un **trisaccaride di giunzione Xil-Gal-Gal**.

La catena di GAG è formata da un disaccaride ripetuto formato rispettivamente da **acido glucuronico** (nel CS) e **acido iduronico** (DS) e da GalNac e GlcNac. L'amminozucchero può portare dei gruppi solforici ( $\text{HSO}_3^-$ ) in C4. Si tratta di dimeri ripetuti per un certo numero di volte, che può variare (non è un carattere ereditario, non è presente in geni) e formati a livello dell'apparato del Golgi da enzimi. Sono strutture acide (gruppi  $\text{HSO}_3^-$ ) che formano la sostanza amorfa. Per neutralizzare la struttura è in grado di assorbire grandi quantità di acqua che crea un alone di solvatazione in cui molti ioni e molecole si sciolgono e possono diffondere nella fase amorfa del TC.

**L'acido ialuronico** non è un proteoglicano, non avendo la parte proteica ma costituisce la rete cui si attaccano gli altri pgc. E' formato da dimeri di molecole di ac.glucuronico e N-acetil glucosammina (GlcNac) con legami di tipo glicosidico tra i due. Non c'è la presenza di  $\text{SO}_3^-$  e quindi sarà meno acido del pgc CS.

L'eparan-solfato è fatto di dimeri simili al pgc CS col C2 della GlcNac solforilata, anche se può essere il C4 e C6, attaccati ad un core (♥) proteico.

## • GLICOPROTEINE DELLA MATRICE

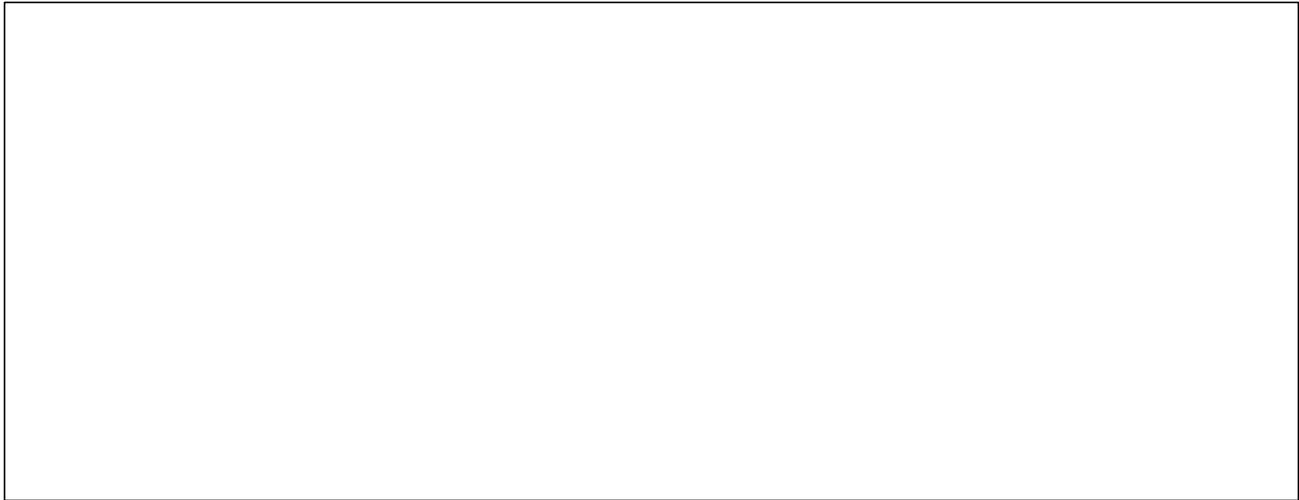
La **Fibronectina** è strettamente collegata alla membrana della cellula con struttura filamentosa intervallata da molte sezioni meno rigide a struttura globulare. Solitamente si trova nella forma di dimero (due molecole uguali). Presso le parti C-terminali ci sono dei legami a ponti disolfuro di cisteina che uniscono le catene, mentre alcuni globuli presso la parte ammino-terminale sono in grado di formare legami ionici col collagene. Presso la zona C-terminale ci sono anche sequenze che legano ES. Altre sequenze sono in grado di farla aderire a sequenze caratteristiche **Arg-Gly-Asp** (RGD) di proteine recettrici transmembrana della cellula.



La **Laminina** al microscopio appare come una croce formata da zone globulari e filamentose, con zone in cui le tre catene si avvolgono e altre dove restano separate. Viene riconosciuta dai recettori di tipo integrinico.

Le glicoproteine della matrice sono legate all'esterno della membrana mediante delle proteine transmembrana, integrine, ancorate al citoscheletro tramite delle proteine adattatrici (Talina).

Le **Integrine** sono una grossa famiglia di proteine formate da due catene  $\alpha$  e  $\beta$  codificate da diversi geni. Legano in modo specifico glicoproteine della matrice (fibronectina e laminina), collagene, (adesione cellula-matrice), oltre alla possibilità di adesione cellula-cellula.



La presenza all'esterno di filamenti di fibronectina, riconosciuta dalle integrine, fa sì che si formi una zona di addensamento di glicoproteine, una placca di adesione, in prossimità della membrana che può influenzare l'interno della cellula. La Laminina è collegata alle cellule epiteliali della membrana basale.

### • MEMBRANA BASALE

La MB si trova al di sotto delle cellule epiteliali ed è composta dall'associazione di diverse componenti:

- 1: **Collagene di IV tipo** che forma una struttura a reti esagonali e foglietti sovrapposti.
- 2: **Laminina** (struttura filamentosa e globulare, come una croce con tre catene ramificate). Il tutto è collegato con le cellule epiteliali tramite integrine specifiche (la più frequente è la  $\alpha_6\beta_4$ ).
- 3: **Perlecano**, si tratta di un pgc formato da 3 catene di ES nella parte terminale di una catena proteica di 2000aa. E' piuttosto lungo e ha le zone globulari che assomigliano alla laminina. Può essere prodotto anche da fibroblasti del derma.
- 4: **Collagene di VII tipo** forma delle strutture chiamate **fibrille ancoranti** che ancorano il TC alla membrana basale.

La MB può essere vista come costituita da una **lamina lucida** e da una **lamina densa** che hanno al di sotto una **lamina reticolare** seguita da un TC piuttosto lasso collegato ad un TC denso con fibre



di collagene I e III. Nelle cellule può trovarsi anche il **Sindecano** (40kDa) è un pgc anomalo, integrato nella membrana cioè con l'asse proteico transmembrana, formato da molecole più piccole rispetto al Perlecano. Ha alcune caratteristiche particolari come la parte N-terminale del core proteico (tradotta per prima) che sporge all'esterno. Durante lo sviluppo regola le interazioni epitelio-mesenchima, lega con catene di ES dei **Fattori di crescita** (piccole molecole che stimolano la crescita). Lega facilmente acqua per la scarsa presenza di catene idrofobiche.

## TESSUTO CARTILAGINEO

Il condroblasto deriva dalla cellula staminale e costituisce la cartilagine. Esiste in tre tipi:

- **Ialina** → Appare bianca ed è presente nell'abbozzo scheletrico embrionale. Dopo la nascita è presente nelle articolazioni delle ossa lunghe, cartilagini costali e negli anelli che formano la trachea.
- **Elastica** → Si forma successivamente alla c. bianca e forma l'epiglottide, padiglioni auricolari.
- **Fibrosa** → Presente nei dischi intervertebrali.

La **Cartilagine Ialina** è formata da gruppetti di 3-4 cellule detti **Isogeni** circondati da una matrice detta **Pericellulare** nella zona adiacente alle cellule (zona capsulare), e **Territoriale**, nella zona più periferica.

La cartilagine è rivestita da un TC fibroso detto **Pericondrio** che contiene nervi e vasi sanguigni che non entrano nella cartilagine. Ha la funzione di nutrire la cartilagine portando per diffusione le sostanze nutritive.

Le cellule sono i Condroblasti che evolvono in Condrociti, una volta maturi, organizzati in Isogeni e ricchi di RER.

- **Matrice Pericellulare MP** (vicina alla membrana) è collegata tramite Integrine e contiene filamenti sottili e rettilinei non bandati di collagene tipo VI, glicoproteine della matrice cartilaginea simili a fibronectina e vescicole. Tra gli Isogeni si trova:
- **Capsula Pericellulare CP** formata da fibrille di 10-20nm di collagene di II tipo con associata **Decorina**. Questo è un piccolo pgc formato da 1 o 2 catene di CS che sembra regolare la fibrillogenesi del collagene.
- **Matrice Territoriale MT** circonda i gruppi isogeni, costituita soprattutto da fibre di collagene di II tipo (20-50nm di spessore) e aggregati di molecole di **Aggrecano** (pgc formato da CS) distribuite tra le fibre e collegate da filamenti di acido ialuronico. La struttura che deriva è molto idratata per la presenza di molti gruppi solforici ed in questa diffondono le sostanze nutritive. La ricchezza di gruppi acidi spiega la fissazione di coloranti basici (ematossilina)
- **Matrice Interritoriale MI** o extracellulare è formata da fasci di collagene del II tipo più addensati e pochi pgc. Si colora con coloranti acidi (eosina) essendo ricca di gruppi polari basici derivati dalle lisine del collagene, già di per sé piuttosto basico.



La cartilagine ha due principali funzioni:

**Supporto meccanico e di ammortizzatore** grazie alla massiccia presenza dei GAG dei pgc che, trattenendo grandi quantità di acqua possono distribuire le pressioni esterne compensandole.

**Allungamento** delle ossa lunghe (cartilagine seriatà e di coniugazione) presente fino alla pubertà.

## TESSUTO OSSEO

L'osso ha funzione meccanica, costituendo l'impalcatura del corpo.

Le ossa possono distinguersi in ossa **lunghe** (tibia, perone) e **piatte** (nel cranio come occipitali, frontali &c).

**Ossa lunghe** sono ricoperte alle estremità da una cartilagine articolare che provvede ai collegamenti con le altre ossa, e da una cavità interna dove è presente il midollo osseo MO che produce il TC sanguigno. Si può riconoscere una

**Zona interna** spugnosa, a contatto col MO.

**Zona esterna** compatta che mostra la presenza di piccole aperture per il passaggio dei vasi.

Alle ossa lunghe si attaccano i tendini e muscoli mentre le ossa piatte proteggono il cervello.

All'interno possono riconoscersi delle strutture longitudinali dette **Osteoni** formate da lamelle ossee concentriche che definiscono un canale centrale dove c'è un vaso sanguigno che talvolta corre lungo tutto l'osso (**canale di Havers**). Sono inoltre presenti dei canali trasversali detti canali di Volkmann.

Alla periferia esterna c'è un TC denso detto **Periostio** (simile al pericondrio), collegato alla matrice compatta dell'osso tramite delle fibre di un collagene molto robusto dette fibre di Sharpey.

- **Osteoprogenitrici** derivano dalle cellule mesenchimali indifferenziate, e sono ancora molto embrionali. Sono presenti nel **Periostio** e nell'**Endostio** (zona interna presso il canale midollare), all'interno di un TC lasso che circonda i vasi, e sono progenitori degli osteoblasti → osteociti.
- **Osteoblasti**: Sono cellule ricche di RER e Golgi (ctp basofilo) che trovano nel TC lasso. Hanno una matrice pericellulare formata da glicoproteine strutturali della matrice tipo osteonectina. All'interno di questa sono presenti numerose vescicole di secrezione ricche di un enzima caratteristico, la **fosfatasi alcalina** (importante per la nucleazione), e di ioni  $\text{Ca}^{2+}$  e  $(\text{PO}_4)^{2-}$ . La membrana cellulare aderisce alla matrice pericellulare per mezzo di integrine specifiche. Producono la matrice ossea precoce, non cristallizzata detta **Osteoide**.
- **Osteociti**: derivano dalla maturazione degli osteoblasti. Perdono le caratteristiche basofile del ctp, nonché le vescicole meno positive per la fosfatasi alcalina rispetto agli osteoblasti. Sono ospitati in lacune tra le lamelle e comunicano tra loro mediante estroflessioni citoplasmatiche che aderiscono tra loro con giunzioni comunicanti. Producono la matrice ossea matura, cristallina al posto di quella fibrosa immatura dell'osteoide.
- **Osteoclasti**: molto grandi, polinucleati e ricchi lisosomi derivano dai monociti, cellule del sangue (nel sangue evolvono come macrofagi). Presenti molte estroflessioni ed increspature della membrana plasmatica in posizione basale chiamate orletto a spazzola. Vanno a contatto con la matrice ossea. e hanno la funzione di distruggere l'osso erodendolo mediante enzimi di esocitosi.
- **Matrice**: è formata da fibre di **collagene del I tipo** avvolte parallelamente l'una all'altra a formare le strutture concentriche degli osteoni. L'avvolgimento procede in ugual modo ma inclinato di  $90^\circ$  nella lamella contigua e ciò conferisce particolare resistenza alla trazione. A contatto con il periostio ci sono le fibre di Sharpey. Tra questi avvolgimenti, dove le fibre lasciano delle cavità, precipitano cristalli di idrossiapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)(\text{OH})_2$  dapprima amorfa poi in forme aciculari di  $30 \times 3 \text{nm}$  con asse parallelo a quello delle fibre di collagene. Il processo della mineralizzazione avviene quando gli ioni  $\text{Ca}^{2+}$  e fosfato che sono in soluzioni sovrassature nelle vescicole, precipitano stimulate dalla fosfatasi alcalina. Si formano così i primi nuclei di precipitato amorfo che poi si organizza in cristalli. Oltre a questi componenti, la matrice è formata da **glicoproteine** strutturali come osteopontina (30kDa), di basso peso molecolare e con P legato a Ser o Thr con cui **lega l'idrossiapatite amorfa**. Ha delle sequenze Arg-Gly-Asp (RGD) che la fa aderire alle integrine degli osteoblasti nella matrice pericellulare Sono inoltre

presenti **proteoglicani** a basso peso molecolare tipo decorina (asse proteico con 1 o 2 catene di CS o DS)

## OSTEOGENESI

<b>Ossa piatte</b>	<b>Ossificazione Intermembranosa</b> (diretta, da cellule mesenchimali che diventano osteogenetiche)	<b>Osso immaturo</b> non lamellare, a fibre intrecciate, distrutto dagli osteoclasti che erodono e sostituito con osso maturo	<b>Osso maturo</b> lamellare
<b>Ossa lunghe e vertebre</b> escluso il colletto periostale	<b>Ossificazione Encondrale</b> (indiretta, da condro→deriva dalla cartilagine)		

### Ossificazione encondrale (indiretta)

L'estremità dell'osso lungo è detta **epifisi**, la zona mediale è la **diafisi** e tra le due c'è la **metafisi**. La prima tappa avviene al 2°-3° mese di vita del feto e ha una dinamica intermembranosa. All'inizio, al posto dell'osso c'è un abbozzo di cartilagine ialina formato da molti gruppi isogeni quiescenti e circondato da sostanza fondamentale e un pericondrio. Nella diafisi c'è un rinforzo più scuro detto colletto della diafisi che è il sito dove inizia l'ossificazione. Qui, i gruppi isogeni iniziano a cambiare forma manifestando una intensa attività (**cellule proliferanti**) e si sviluppano verso l'epifisi che rimane ancora quiescente.

In questa fase diventano molto grandi, **ipertrofiche** e formano pile legando successivamente altre cellule a formare una cartilagine seriata. Nella matrice extracellulare iniziano a precipitare sali di  $Ca^{2+}$ ,  $PO_4^{2-}$  e fosfatasi alcalina in modo da formare una matrice amorfa detta **cartilagine calcificata**.

All'altezza del colletto diafisario entrano i vasi, partendo dal periostio e dall'endostio e rompendo le strutture calcificate insinuandosi nelle colonne. Tramite questi vasi hanno accesso le cellule **osteoprogenitrici** che si situano sulle pareti dei vasi e gli osteoclasti che distruggono la cartilagine ossificata.

A questo punto le cellule osteoprogenitrici si differenziano in **osteoblasti**, cellule con ctp basofilo (RNA e Golgi), ricchi di vescicole piene di enzimi (fosfatasi alcalina) oltre a ioni  $Ca^{2+}$   $PO_4^{2-}$ . La matrice pericellulare aderisce alla membrana mediante integrine specifiche. Le sostanze secrete hanno la funzione di sostituire la cartilagine calcificata con un osteoide a fibre intrecciate. La fosfatasi, infatti, catalizza la nucleazione di una prima matrice ossea formata da cristalli di idrossiapatite ancora amorfi che si depositano negli spazi lasciati liberi dalla struttura tipI-CAMente sfasata del collagene. Ne deriva un tessuto osseo giovane e non ancora lamellare.

Man mano che procede l'ossificazione, gli osteoblasti si differenziano in **osteociti** perdendo le caratteristiche basofile perché non hanno più bisogno di produrre collagene e quindi sono poveri di ribosomi. Gli osteoclasti man mano erodono il tessuto osseo immaturo amorfo lasciando spazio per gli osteociti di precipitare il tessuto maturo lamellare rimanendo murati all'interno, ospitati entro lacune e collegati tra loro per mezzo di estroflessioni citoplasmatiche e giunzioni comunicanti.

Mentre nelle epifisi iniziano ad attivarsi le cellule, nella diafisi all'esterno c'è già un tessuto osseo compatto, più all'interno c'è un tessuto osseo spugnoso e al nucleo il midollo. In seguito avvengono gli stessi processi nell'epifisi fino a completare quasi del tutto l'osso. Tra diafisi ed epifisi resta, infatti, una **cartilagine di coniugazione** così da permettere all'osso di allungarsi. Questa, scompare durante la pubertà, con l'arrivo degli ormoni sessuali nel sangue.

Ma nell'individuo adulto l'osso è coinvolto in un continuo rimodellamento e rimaneggiamento in cui sono fondamentali gli **osteoclasti**. Questi derivano dai monociti del sangue (dove evolvono a macrofagi), sono cellule polinucleate per successive divisioni nucleari senza divisione del ctp. Sono ricchi di lisosomi e hanno delle caratteristiche increspature della membrana ctp dette orletto a spazzola da dove attaccano ed erodono le strutture ossee mediante gli enzimi lisosomiali. Nella

matrice ossea, gli osteoblasti producono fattori di crescita (GF) tra cui **osteocalcina** che sono attivati da stimoli ormonali di tipo somatotropico come paratormone, calcitonina, ormoni sessuali, vitamina D.

I fattori di crescita stimolano la proliferazione degli osteoblasti stessi e la deposizione di matrice, e l'osteocalcina richiama i monociti dal torrente circolatorio che diventano osteoclasti e attaccano l'osso. Gli osteoclasti hanno innanzitutto il ruolo di erodere il tessuto osseo **immaturo**, a fibre intrecciate permettendo agli osteociti di depositare il tessuto osseo **maturo** lamellare. Questo processo di neoformazione e riassorbimento continua durante tutta la vita. Circa 5-10% dell'osso di un individuo adulto viene sostituito ogni anno. A controllare questo continuo rimodellamento lungo linee di tensione entrano in gioco gli stress dovuti al peso corporeo oltre che all'attività funzionale. Quando avviene una degradazione dell'osso, in seguito ad una frattura, si liberano osteocalcina e GF per operare la saldatura. Con l'età alcuni difetti in questi procedimenti di rimodellamento possono divenire incontrollati e portare all'osteoporosi.

## DERIVAZIONE EMBRIOLOGICA DELL'OSSO

Il tessuto osseo deriva dalla cellula Mesenchimale indifferenziata.

### Ectoderma → Epidermide

**Tubo neurale** che si allunga per tutta la lunghezza dell'embrione e da cui origina il midollo spinale. Quest'ultimo nasce da una introflessione dell'ectoderma che si inguaina portando lateralmente, ai bordi del solco, cellule della cresta neurale.

### Mesoderma → Notocorda al di sotto del tubo neurale

**Somite** antero-posteriore. Da queste, ad una certa fase si origineranno diversi tessuti lateralmente al tubo neurale e in posizione parassiale, costituito da domini adiacenti di cellule epiteliali aggregate a globulo distribuite come:

**Sclerotomo** (all'interno) che porterà alle cellule Mesenchimali indifferenziate e quindi al TC e TO(vertebre)

**Miotomo** (nel mezzo) da cui si origina il tessuto muscolare.

**Dermotomo** (all'esterno) derma

Il somite poi si differenzia ulteriormente

**Mesoderma Laterale** che si trova sotto l'ectoderma e che si divide in

**ML Somatico** (all'esterno) somatopleura → cartilagini e ossa degli arti

**ML Splancnico** (all'interno) sangue, cuore

**Mesoderma Intermedio** derivano Rene e organi sessuali

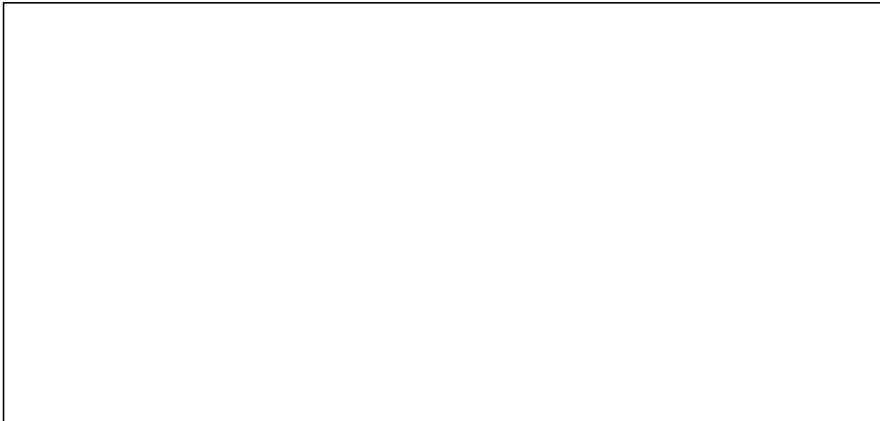
### Endoderma ® Intestino e visceri

Osso	Derivazione	Ossificazione
Colonna vertebrale	Somiti	Encondrale
Ossa piatte del cranio	Somiti craniali (con contributo dalla cresta neurale)	Intramembranosa
Ossa lunghe	Piastra laterale del mesoderma (somatopleura) Mesoderma laterale somatico	Encondrale

--

## *TESSUTO ADIPOSO*

Il tessuto adiposo (TA) è un tipo particolare di tessuto connettivale. Le cellule derivano dalla cellula Mesenchimale indifferenziata. Questa può prendere diverse vie evolutive:

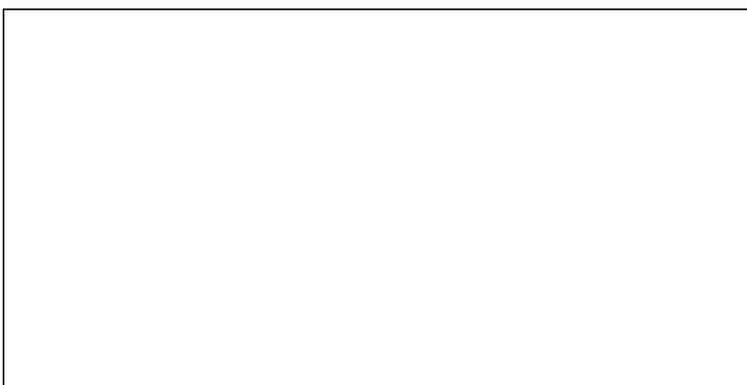


- Fibroblasto
  - Lipoblasti: che daranno origine a due linee evolutive, quella del tessuto adiposo uniloculare (grasso bianco) e multiloculare (grasso bruno)

**Grasso bianco**® Deriva dal lipoblasto, che porta un certo numero di vacuoli di grasso che tendono a fondersi precocemente assieme fino a formare una grossa ed unico loculo (**uniloculare**). Questa occupa la quasi totalità della superficie (80-100µm) e costringe il nucleo a schiacciarsi alla periferia della cellula. La particolare disposizione dei componenti cellulari ricorda un anello e per questo viene chiamato cellula a castone, inoltre, il grasso appare colorato di bianco e da qui il nome. E' molto ricco di vasi sanguigni ed è ricco di REL per la sintesi dei trigliceridi e circondato da una membrana basale che lo isola dal resto del TC.

I chilomicroni sono molto abbondanti dopo i pasti e viaggiano nel circolo assieme alle altre lipoproteine. Sono formati da una parte proteica esterna associata a fosfolipidi e colesterolo mentre all'interno portano trigliceridi ed esteri di colesterolo. In base alla percentuale proteica (con alta densità) si possono suddividere in LDL (low density) e HDL (high density). Queste particelle vengono veicolate ai capillari dei tessuti periferici che sono strettamente a contatto con il grasso bianco. Per mezzo di enzimi come la lipasi, prodotta dalle cellule adipose, le lipoproteine vengono degradate nei loro costituenti: acidi grassi, glicerolo e fosfolipidi che diffondono attraverso le membrane cellulari e vengono ritrasformati in trigliceridi nel REL degli adipociti facendoli crescere (lipogenesi). Ormoni come adrenalina e insulina agiscono sulle cellule adipose mediante recettori specifici e possono attivare delle lipasi che iniziano il processo di lipolisi per cui i grassi accumulati nelle cellule sono idrolizzati rientrando nel circolo sanguigno per diffusione.

**Grasso bruno**® Deriva dal lipoblasto e forma cellule più piccole e più stipate rispetto al grasso bianco, porta loculi separati e per questo è e resta **multiloculato**; portano nel ctp molti mitocondri e quindi citocromi che sono responsabili della particolare colorazione di queste cellule. È presente in animali ibernanti mentre nell'uomo è presente solo nel lattante e nell'embrione trasformandosi poi in grasso bianco, mentre nell'adulto si localizza nelle ascelle e nell'inguine. I mitocondri di queste cellule contengono pochi frammenti F1 che contiene ATP sintetasi che serve per l'accoppiamento



tra ossidazione e fosforilazione, cioè perciò non si accoppia il trasporto di elettroni con la sintesi di ATP, ricavando, quindi, soltanto calore e non ATP (termogenesi). Questa funzione è particolarmente utile a quegli animali che vanno in letargo che accumulano grandi quantità di grasso e lo utilizzano

per ripararsi dal freddo mentre dormono.

## IL SANGUE

Il sangue fa parte del TC, l'uomo ne contiene 5-6 litri di cui un 45% sono cellule e il 55% plasma. Queste percentuali si attengono mediante l'ematocrito che permette di misurare il numero di cellule. Plasma → è una soluzione di acquosa di sostanze nutrienti, gas ( $O_2$ ,  $CO_2$ ), ormoni, ioni, nonché diverse proteine ed enzimi. Tra queste c'è l'albumina (per il trasporto di strutture poco polari o idrofobiche), immunoglobuline (anticorpi), glicoproteine (fibronectina plasmatica, fibrinogeno, plasminogeno, protrombina). Inoltre ci sono lipoproteine, vitamine, fattori di crescita cellulari (citochine, FGF fibroblastal grow factor, EGF epidermal grow factor) che sono molecole proteiche che stimolano la crescita di una cellula portando messaggi nucleari che stimolano la divisione. Il plasma, cui viene precipitato il fibrinogeno si chiama siero

### DERIVAZIONE BIOLOGICA

Il tessuto sanguigno deriva dalla cellula mesenchimale indifferenziata che può dare origine alla cellula staminale stromale oppure alla cellula ematopoietica staminale (Emocitoblasto) che porta caratteristiche embrionali e che si può differenziare nel midollo osseo in:

<b>Linfoide staminale:</b>	→	<b>linfocita</b>
	→	} <b>globulo rosso</b> (eritrocita)
<b>Mieloide staminale:</b>	→	
	→	
	→	} <b>piastrine</b>

### GLOBULI ROSSI

I globuli rossi (GR) sono cellule presenti dai 4,5→5,5 milioni per  $mm^3$  o cc, hanno forma biconcava appiattita ed un diametro di 7  $\mu m$  (più piccolo delle altre cellule  $\varnothing 10\mu m$ ). Contengono essenzialmente emoglobina (Hb), costituita da 4 catene di globina ( $2\alpha$  e  $2\beta$ ). Serve per trasportare  $O_2$  dai polmoni ai tessuti e  $CO_2$  dai tessuti ai polmoni. Non ha nucleo e mancano i mitocondri e gli altri organelli anche se all'inizio della sua vita possiede un po' di ER per produrre le proteine interne, dopodiché lo perde. La struttura più rilevante è la membrana plasmatica, piuttosto robusta e flessibile per permettere al globulo rosso di passare anche attraverso capillari molto sottili. Nella membrana sottocorticale troviamo una rete molto abbondante di una proteina chiamata Spectrina. Questa fa parte di una famiglia di proteine filamentose come la distrofina e la  $\alpha$ -actina del muscolo che sono costituite da regioni flessibili con conformazione ad  $\alpha$ -elica. Questa rete serve ad ancorare la membrana plasmatica al citoscheletro corticale, costituito da microfilamenti di actina. I collegamenti tra la rete di spettina e la membrana avvengono attraverso proteine adattatrici: Anchirina e Banda 4.1. che si legano alla Glicoforina (proteina transmembrana monopasso, che codificano per il sottogruppo dei gruppi sanguigni) o alla Banda 3 (proteina transmembrana con un canale per trasportare anioni  $Cl^-$  e  $HCO_3^-$ ). Questa complessa architettura citoscheletrica di spettina

è responsabile del mantenimento della forma del GR ed eventuali mutazioni portano a malattie emolitiche. La mancanza del nucleo giustifica la breve vita del GR che è di 4 mesi o 120gg, dopo di che viene eliminato nella milza.



## GLOBULI BIANCHI

Esistono tre tipi diversi di Leucociti: Linfocita, il Monocita ed il Granulocita (leucociti PMN) che può suddividersi in Neutrofilo, Eusinofilo, Basofilo. I diversi globuli bianchi si suddividono

### FORMULA LEUCOCITARIA

Globuli bianchi totali 6000→8000 mm <sup>3</sup>	
~ 60-65%	<b>Granulociti Neutrofili</b> (Ø 12-14µm)
~ 25-30%	<b>Linfociti</b> (Ø 7-15µm)
~ 5%	<b>Monociti</b> (Ø →20µm)
~ 2-3%	<b>Granulociti Eusinofilo</b> (Ø 16µm)
~ 0,5%	<b>Granulociti Basofili</b> (Ø 14-16µm)

secondo una determinata formula leucocitaria. Una diminuzione del numero di leucociti è detta **leucopenia** mentre un aumento è detto **leucocitosi**. I granulociti sono le cellule del Pus formato da globuli bianchi morti.

## GRANULOCITI NEUTROFILI

Sono cellule grandi 12-14µm caratterizzate da un ctp neutrofilo cioè si colorano blandamente con coloranti sia basofili che eosinofili. Vivono pochi giorni. Queste cellule hanno il nucleo formato da granuli collegati tra loro a formare una struttura frammentata, polimorfo-nucleata. Sono fagocitarie, cioè possono inglobare sostanze estranee per poi degradarle e mobili, cioè hanno la capacità di uscire dal torrente circolatorio e muoversi nel TC.

Hanno recettori integrinici specifici transmembrana sia per aderire alla matrice extracellulare, sia per aderire alle cellule endoteliali dei vasi. Questi recettori non sono sempre attivi, ma possono essere attivati in condizioni di danno vasale o patologie, altrimenti il neutrofilo rimane nel torrente circolatorio.

Presentano nella membrana cellulare recettori per il Fc (frammento costante) della immunoglobulina γ (come i macrofagi). Nel ctp presentano granuli di 2 tipi:

**Granuli Azzurrofilo:** sono i lisosomi, più densi ed omogenei, grossi e in numero limitato determinano la risposta aspecifica (generale) a pH basso.

**Granuli Specifici:** meno densi, più piccoli, più frequenti. Contengono enzimi come il lisozima e le fagocitine capaci di degradare i lipopolisaccaridi della parete batterica.

## IMMUNOGLOBULINE

Le Ig sono delle molecole a forma di Y formate da 4 catene, 2 leggere (25 kDa) e 2 pesanti (50 kDa) per un totale di 150 kDa. Le 4 catene sono legate da ponti disolfuro SS tra le cisteine (come fibronectina) poste in zone particolari. La struttura forma delle anse legate sempre da legami SS di

due tipi:

**Fc** → frammento costante, presente sempre in tutte le Ig .

**Fab** ® frammento variabile (antigene binding) che lega l'antigene

La regione variabile Fab viene detta **ipervariabile** perché ci sono zone molto variabili così che ogni Ig è diversa da un'altra proprio per questa zona. Sono queste molteplici combinazioni che garantiscono la specificità di riconoscimento tra antigene (pezzo di proteina) ed anticorpo.

Le catene pesanti possono portare un Fc con piccole

variazioni che differenzia le Ig in:

Ig G → con una catena pesante di tipo  $\gamma$

Ig E → con una catena pesante di tipo  $\epsilon$

## GRANULOCITI EOSINOFILI

Sono mobili (si muove mediante degradazione e risintesi del citoscheletro) e fagocitari, aumentano in condizioni allergiche dal 2-3% fino al 10%. Leggermente più grandi dei neutrofili (16 $\mu$ m) e col nucleo sempre lobato ma meno polimorfo. Presentano granuli grossi con cristalloidi interni (contengono proteine basiche). Possono fagocitare parassiti riconoscendo antigeni e formando dei complessi antigene-anticorpo che sono all'origine delle allergie.

## GRANULOCITI BASOFILI

Sono meno dello 0,5% , sono mobili e poco fagocitari (poco difensivi). Hanno nucleo poco lobato (meno dei neutrofili) e granuli più grossi e meno numerosi che nascondono il nucleo. Hanno le stesse sostanze contenute nei mastociti (eparina, istamina, prostaglandine ed interleuchine). Nella membrana cellulare presentano dei recettori per il Fc  $\epsilon$ , importanti nella secrezione dei granuli. Inoltre, hanno dei recettori integrinici utili per legarsi alla membrana endoteliale.

## MASTOCITI

Sono simili ai granulociti basofili per la presenza di ES e ricchi di granuli densi. Sono mobili, e non hanno membrana basale. Sono presenti nel TC sottobasale delle vie respiratorie e gastrointestinali all'interfaccia esterno-interno. Qui hanno funzione di "sentinelle", molto sensibili, in grado di rilevare l'entrata di particelle estranee, polvere, virus, batteri, ecc, dando quindi immediatamente inizio alla risposta immunitaria locale. Sono muniti di recettori integrinici e recettori per il Fc  $\epsilon$  e delle IgE. Una volta che le Ig hanno riconosciuto un antigene citoplasmatico allora si legano ai recettori transmembrana scatenando reazioni intracellulari. Attivano flussi ionici di  $Ca^{2+}$  e fosforilazioni varie che stimolano l'adesione delle vescicole alla membrana e la liberazione immediata del contenuto all'esterno. Questo consiste in

**Eparina**→ possiede una regione di GAG di ES ricco di gruppi solforici; ha funzione anticoagulante

**Istamina**→ deriva dall'aa Istidina e ha azione vasodilatatrice per le cellule muscolari lisce

**Prostaglandina**→ deriva dall'acido arachidonico, ha azione regolatrice sulle giunzioni occludenti aumentando la permeabilità vasale.

**Interleuchine, citochine, GF** (fattori di crescita)→ sono liberate tardivamente e sono capaci di richiamare altre cellule come fibroblasti e cellule endoteliali attive per prevenire irritazioni ed infiammazioni.

## MONOCITI

In 1 mm<sup>3</sup> di sangue ci sono 6-8000 globuli bianchi, di cui 6-8% sono monociti. Sono molto più grandi degli altri globuli bianchi ( $\varnothing=18\mu$ m) e da loro derivano sia i macrofagi del sangue che gli osteoclasti dell'osso. Derivano dal midollo osseo, (vivono mesi ed anni???) e sono capaci di riprodursi nel TC. Contengono lisosomi, vescicole, microfilamenti, granuli e recettori di membrana (presenti anche nei macrofagi). Nucleo reniforme, **non sono fagocitari** a differenza dei macrofagi e vivono di più.

## MACROFAGI

I macrofagi derivano dai monociti e sono molto importanti nel sistema immunitario. A differenza dei granulociti, vivono da mesi ad anni, hanno il nucleo a fagiolo, e sono caratterizzati da un'ampia gamma di vescicole. Ci sono lisosomi primari che contengono enzimi proteolitici e secondari che possono presentare all'interno un residuo scuro di materiale estraneo non completamente digerito e

formato in gran parte da lipidi (per questi non sono efficaci gli enzimi lisosomiali?). La membrana è ondulata con molte estroflessioni, microvilli, pseudopodi, filipodi, membrane ondulate, ma soprattutto un reticolo citoscheletrico molto organizzato. Questo è regolato dalla presenza di  $\alpha$ -actinina, filamina, gelsolina (trasforma reti di actinina dalla forma in gel ad un sol più fluido), miosina che regolano il sistema, mantenendo la struttura flessibile e non rigida tanto da permettere loro di muoversi aderendo alla matrice. Sono privi di membrana basale. Si trovano soprattutto nel TC basale delle vie aeree e gastrointestinali dove, oltre all'attività migrante, hanno anche una elevata attività microbica. Possono infatti fagocitare attivamente materiale estraneo come virus, batteri e altre particelle presenti nel TC, seguendo vie chemiotattiche positive, cioè seguendo i gradienti di materiale estraneo lasciato dagli intrusi e per questo sono anche chiamati "cellule spazzino".

Riassumendo all'interno dei macrofagi possono riconoscersi diversi tipi di vescicole:

**Lisosomi**® contengono enzimi litici per degradare qualunque sostanza organica e la perossidasi che ha azione microbica più specifica.

**Vescicole**® contengono citochine e altri fattori di crescita che stimolano il midollo osseo a produrre altri monociti e granulociti.

**Vescicole**® contengono inoltre fattori angiogenetici (come i mastociti) che stimolano l'arrivo e la proliferazione di angioblasti per sostituire le cellule endoteliali e ricostruire i vasi; arrivano inoltre fibroblasti per la riparazione dei danni del TC circostante (processo infiammatorio).

Sulla membrana portano diversi recettori:

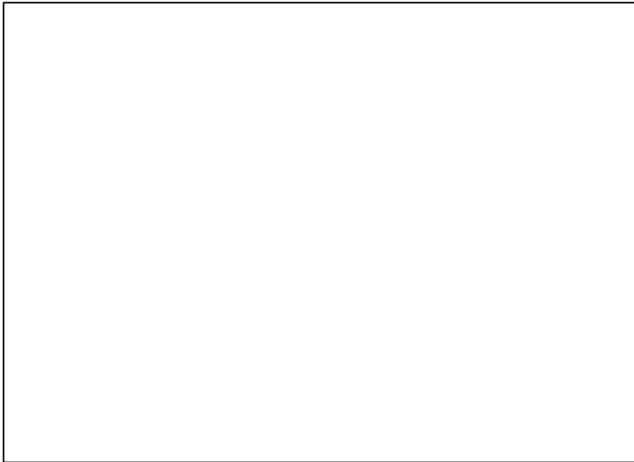
**Recettori Ig** transmembrana per il Fc  $\gamma$  delle IgG. Infatti, le Ig possono riconoscere con la parte variabile Fab delle proteine specifiche presenti nella parete di batteri che sono entrati nel TC sottocutaneo e legarsi a queste per affinità nella sequenza di aa delle anse. Allora possono attaccarsi alla parete ricoprendola in parte e presentando all'esterno il frammento costante Fc, non specifico, che viene riconosciuto dai granulociti e macrofagi.

**Recettori HMC** per il complesso maggiore di istocompatibilità di I e II tipo che servono per presentare gli antigeni ai linfociti T. Molecole transmembrana e appartengono alla famiglia delle Ig.

**Recettori integrinici** servono per aderire alla matrice del TC e grazie a questa possono trascinarsi.



## CELLULA ENDOTELIALE



Deriva dalla cellula mesenchimale indifferenziata che evolve nella cellula embrionale angioblasta, forma vasi sanguigni unendosi ad altre omologhe. L'unione avviene per mezzo di giunzioni di tipo **occludente** (o strette) mediante la proteina occludina e mediante giunzioni di tipo **aderente** con la proteina caderina. Queste giunzioni impediscono il passaggio del sangue dal lume del vaso al TC sottovasale lasso. Presenta delle vescicole importanti per la trascitosi di sostanze nutritizie (passaggio lume→TC oppure lume→ctp).

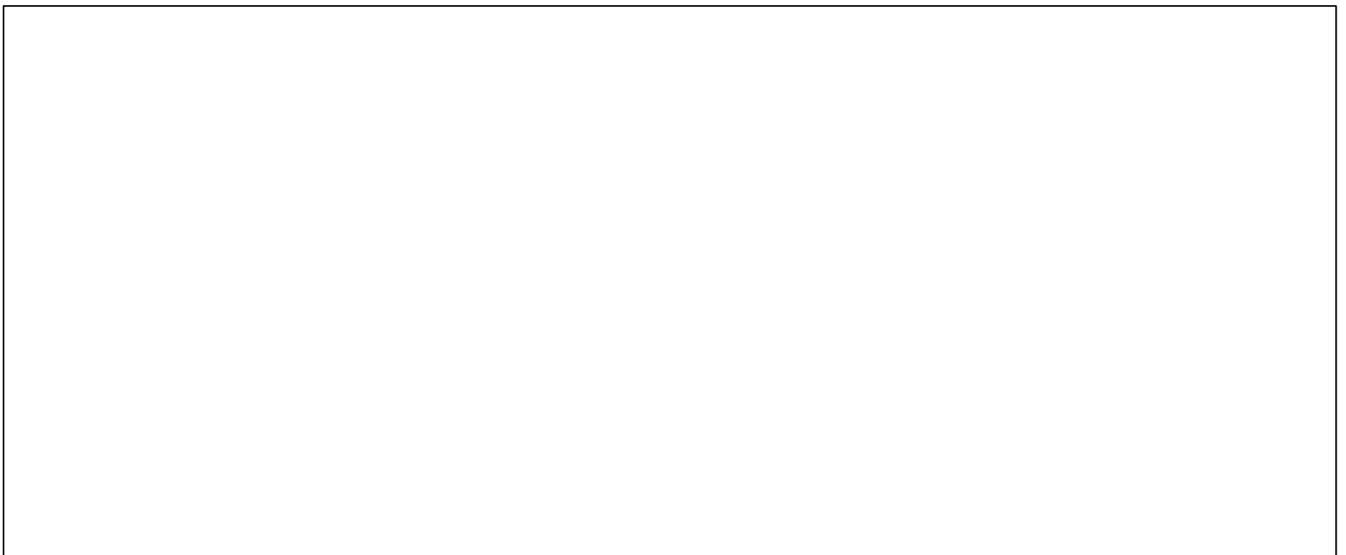
Presenta granuli con fattori di crescita, citochine, glicoproteine della matrice che sono simili a quelle delle piastrine.

La membrana che guarda il lume presenta alcune molecole transmembrana :

**Integrine**® presenti soprattutto nella membrana esterna collegandola con il Tc sottobasale per mezzo della membrana basale (come gli adipociti, cellule muscolari, cellule del derma).

**Selectine**® sono delle glicoproteine ricche di oligosaccaridi Ca-dipendenti. Sporgono nel lato luminare dell'endotelio con l'estenità N-terminale e hanno la porzione citoplasmatica piuttosto corta e non legata a microfilamenti;. Sono e sono capaci di legarsi a oligosaccaridi (piccoli zuccheri di membrana) che fungono da controrecettori in piastrine, linfociti, granulociti. Per questo sono importanti nella parte **iniziale** del processo di adesione cellulare utile alle molecole che devono uscire dal vaso per iniziare una risposta immunitaria. Il vincolo non è sufficiente a bloccare le cellule ma permette un rotolamento aderente alle pareti spinto dal flusso sanguigno.

**I-CAM**® molecole di adesione inter-cellulare dette anche V-CAM (molecole di adesione per cellule vascolari). Appartengono alla superfamiglia delle Ig perché, come queste, hanno anse chiuse da ponti disolfuro. Sono proteine transmembrana e si ancorano nella parte citoplasmatica ai microfilamenti del citoscheletro mediante adattatori. Sono Ca-indipendenti e possono legarsi tra loro o con integrine di altre cellule (del sangue che devono aderire alla parete endoteliale (neutrofili, linfociti, piastrine).

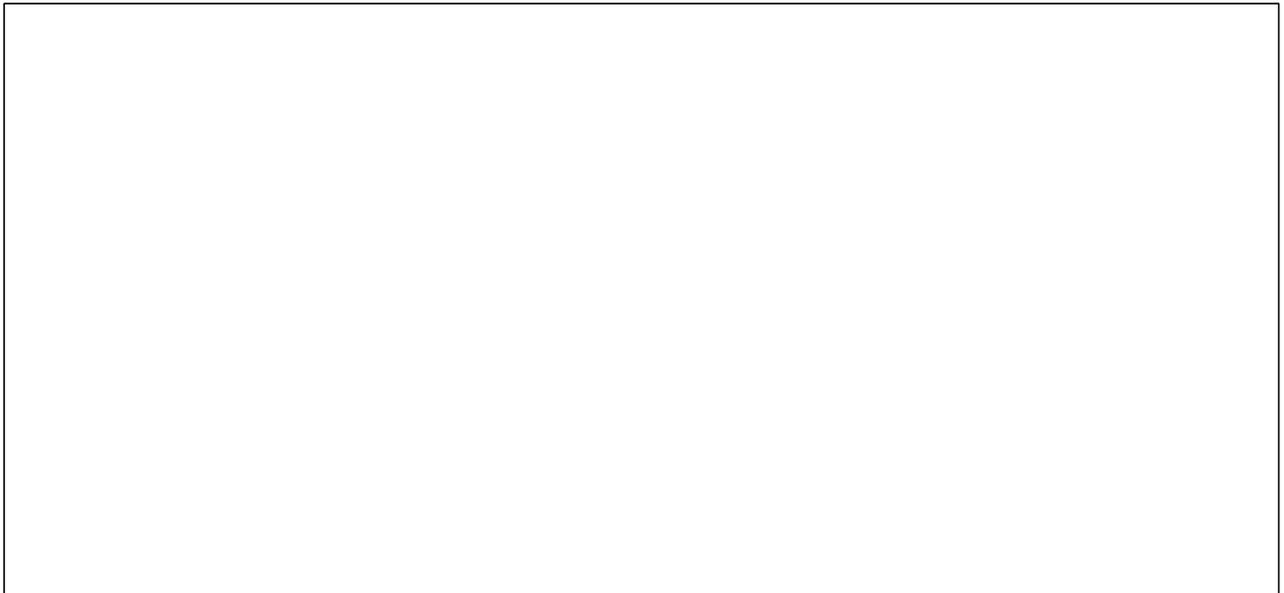


## RISPOSTA IMMUNITARIA ASPECIFICA

Questo tipo di risposta coinvolge mastociti, granulociti macrofagi oltre alle cellule endoteliali.

I linfociti, invece, intervengono nella risposta specifica. Il processo avviene:

1. Un batterio o un'altra particella estranea entra nel TC lasso dove può incontrare delle passate Ig dal sangue al Tc per transitosi. Queste possono riconoscere delle sequenze peptidiche presenti sulla membrana batterica mediante accoppiamento complementare con il Fab.
2. Le Ig attivate sono poi riconosciute dai mastociti e granulociti basofili che sono le cellule sentinella che riconoscono il loro Fc emettendo dai loro granuli sostanze con diverse funzioni:  
**Vasodilatatrice** → istamina per richiamare maggior quantità di cellule ausiliarie  
**Chiarificanti ed anticoagulanti** → come eparina per evitare intasamenti e garantendo la massima efficacia delle vie afferenti gli aiuti.  
**Permeabilizzanti** → (prostaglandine) aumentano la permeabilità dei vasi allentando le giunzioni tra le cellule endoteliali  
**Attivatrice**® per le cellule endoteliali
3. Le cellule del sangue hanno sulla membrana degli oligosaccaridi e integrine cellula-cellula (non cellula-matrice), momentaneamente non attive, cioè non aderiscono. Le cellule endoteliali portano sulla membrana luminale le ICAM non attivate.
4. Grazie alle sostanze liberate dai mastociti, le cellule endoteliali possono sentire il danno o l'irritazione del TC sottostante. Sono quindi stimulate a sintetizzare una maggior quantità di selectine sulla membrana, attivandole. Le selectine sporgono nel lume del vaso e possono rallentare o fermare momentaneamente alcune cellule che portano oligosaccaridi sulla membrana dal torrente circolatorio.
5. Le cellule del sangue si sensibilizzano e attivano le loro integrine (si aprono due molecole a pinzetta) così da poter interagire con le ICAM presenti nell'endotelio. La cellula così viene bloccata e aderisce alle cellule endoteliali, ora mediante legami ionici forti. La cellula bloccata può quindi emettere dei prolungamenti con enzimi capaci di degradare le giunzioni (già rilasciate) tra le cellule endoteliali, così da poter penetrare nella membrana basale. Poi può farsi strada anche tra quest'ultima raggiungendo il TC danneggiato. Entrano così abbondanti macrofagi e neutrofili



6. Neutrofili e macrofagi attivano il riconoscimento non specifico del Fc delle Ig e riconoscono la particella estranea. Attivano la secrezione di fattori di crescita e citochine che incentivano il midollo osseo ad incrementare le difese e richiamano fattori angiogenetici e fibroblasti per riparare il danno.

7. La cellula endoteliale sensibile alla presenza di fattori angiogenetici ha la capacità di proliferare e dividersi verso l'area del danno seguendo vie chemiotattiche. Si creano dei vacuoli che si allargano determinando così una ramificazione del vaso all'interno per portare nutrizione, soccorsi e fibroblasti.



8. I neutrofili tentano di fagocitare il batterio e se non ce la fanno muoiono e si forma il pus. Si attivano anche i macrofagi che degradano pus e batteri mediante enzimi litici dopo averli fagocitati. Se anche questo non basta intervengono i linfociti che si legano ai macrofagi attivando il processo immunitario specifico.

## VASCULOGENESI

Gli **angioblasti** sono delle cellule migranti e proliferanti di forma globosa. Possono essere stimulate a formare vasi da fattori di crescita come **VEGF** (vascular endothelial growth factor) che si legano a recettori specifici. Si attivano così dei geni, nel nucleo, che trasformano le cellule da tonde ad appiattite. Le cellule poi si uniscono tra loro formando un vaso mediante interazioni cellula-cellula. Lo stesso meccanismo, procede oltre che nella fase embrionale, anche durante fasi di riparazione del vaso. A circondare all'esterno la struttura così fatta, si colloca una membrana basale formata da laminina, collagene di IV tipo, ES, e il pgc perlecano. Più all'esterno c'è una parete di cellule muscolari lisce o altre cellule da loro derivate. La cellula muscolare liscia deriva dalla cellula mesenchimale indifferenziata che migra verso le cellule endoteliali dove si differenzia in seguito ad una sequenza di segnali, in pericita. La cellula endoteliale produce **PDGF** che è un GF di derivazione piastrinica, con cui recluta i le cellule mesenchimali indifferenziate. Queste riconoscono questo fattore e producono a loro volta **angiopoietina** che è un altro GF riconosciuto da recettori di membrana dell'angioblasta. Allora aderisce al vaso e si circonda anch'esso con una membrana basale diventando un pericita.

In seguito arrivano altri periciti che si aggregano attorno al vaso fino a circondarlo completamente. Il nuovo sistema di periciti e membrana basale ha l'effetto di bloccare la proliferazione delle cellule endoteliali, bloccando la vasculogenesi (queste sarebbero stimulate a continuare a ramificarsi), e provocando la differenziazione dei periciti in cellule della muscolatura liscia. Inoltre, tra la membrana basale dei periciti e la cellula endoteliale si deposita una matrice di tipo connettivale.

Durante questa fase si passa da capillare ad arteriola dove ci sono più strati di cellule muscolari lisce che hanno la funzione contrattile per stringere il lume.

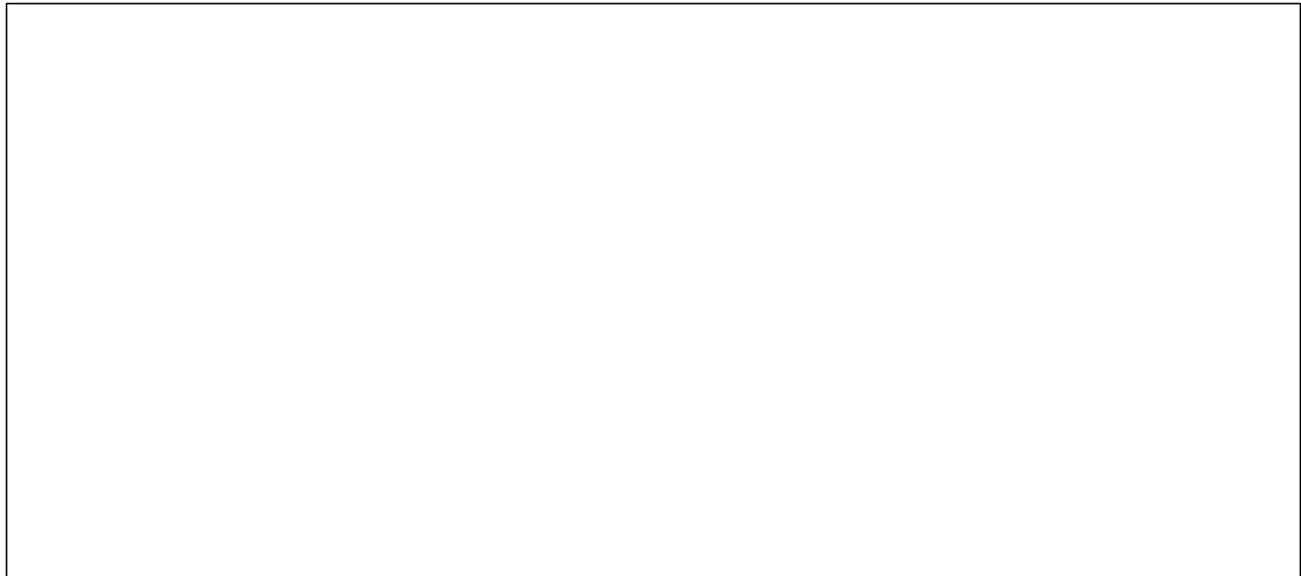
Vasi è un termine generico con cui si intende: capillari, arteriole, arterie, vene, vasi linfatici.

Esistono capillari (arteriole) di due tipi:

**Continui**® non c'è fuoriuscita di plasma perché le giunzioni intracellulari sono molto strette. Si trovano nel cervello (barriera emato-encefalica), nel muscolo e nel TC.

**Fenestrati**® con fuoriuscita di plasma perché le giunzioni sono lasse. Si trovano nel rene e nell'intestino. Un caso estremo è nei dotti linfatici dove le cellule endoteliali variano molto di calibro, sono prive di giunzioni occludenti e quasi prive di membrana basale così che il passaggio è quasi libero.

Le arterie sono dei vasi formati da una membrana endoteliale posta in uno strato detto intimo, circondato da strati di tessuto muscolare liscio che forma una tonaca media e il tutto è immerso nel connettivo. Quest'ultimo, detto anche tonaca avventizia, porta dei capillari detti vasa vasorum che nutrono la parete esterna del vaso. Nelle arterie la parete è spessa se proporzionata al diametro del vaso per sopportare le elevate escursioni di pressione dovute alla



## PIASTRINE

Si tratta di elementi cellulari, con diametro di 2-3 $\mu\text{m}$ , circondati da membrana e presenti all'interno dei vasi in gran quantità (200-100000 per  $\text{mm}^3$  di sangue). Nel citoplasma sono ricchi di granuli, microtubuli ed elementi citoscheletrici, soprattutto nella zona sottocorticale, per dar loro una forma tondeggiante (come la spettrina per i globuli rossi).

Derivano dai megacariociti, cellule molto grandi (80-100 $\mu\text{m}$ ), polinucleate o con nucleo polimorfo dovuto alla fusione di più nuclei o ad una duplicazione cui non è seguita una divisione cellulare. La membrana di queste cellule è ricca di introflessioni che delimitano zone della membrana da cui derivano le piastrine.

Sulla membrana possono riconoscersi due principali recettori integrinici:

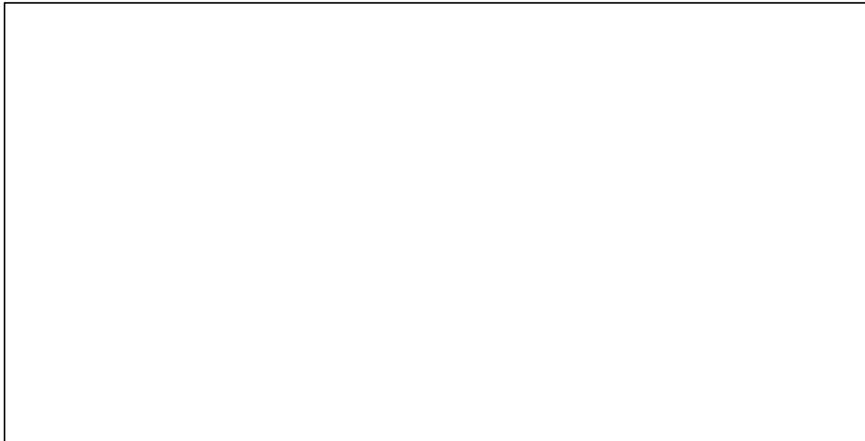
- **cellula-matrice**→ sono specifiche per creare giunzioni tra matrice e cellula e per le sue proteine (fibrinogeno, fibronectina, fattore di Von Willebrandt)
- **cellula-cellula**→ sono recettori integrinici attivabili di tipo piastrina-cellula endoteliale formati da oligosaccaridi di membrana che fungono da controrecettori interagendo con selectine e ICAM presenti nella membrana luminare dell'endotelio ( come per granulociti, monociti e linfociti).

Contengono inoltre diversi tipi di vescicole:

- **Granuli densi** con struttura globulare densa al centro e chiara verso l'esterno, simili a vescicole sinaptiche. Contengono serotonina che deriva dal Triptofano e ha azione vasocostrittrice, agendo sulle cellule muscolari lisce (all'opposto dell'istamina) e l'ormone adrenalina.
- **Lisosomi** con parte interna scura e contenente delle idrolasi acide.
- **Granuli a** contenenti glicoproteine strutturali come fibrinogeno (fbn), fibronectina (fn) e il Von Willerbrandt Factor (VWF), sintetizzate dal megacariocito e utili per l'adesione cellulare interagendo con le integrine della piastrina se riversate all'esterno.
- **Granuli a** contenenti fattori di crescita come PDGF che deriva appunto dalle piastrine e citochine. Questi servono per richiamare altre cellule, stimolandone la produzione o il differenziamento.

## VON WILLERBRANDT FACTOR (VWF)

Può essere secreto dalla piastrina o dalle cellule endoteliali. Si presenta come unità molecolari di 2400 aa, unite mediante legami testa-testa e coda-coda a formare filamenti. Presso l'estremità C-



terminale, la catena prende un aspetto globulare ed in questa zona può interagire con il collagene. Vicino a questa zona, ci sono delle sequenze RGD, riconosciute dalle integrine di membrana e dalle piastrine. Vicino alla estremità N-terminale ci sono zone che interagiscono con ES e con altri VWF.

## FIBRINOGENO

Si presenta come un dimero proteico di 340 kDa formato due unità legate mediante ponti disolfuro SS. Ciascun monomero è formato da tre catene  $\alpha\beta\gamma$  parallele, avvolte assieme presso la zona centrale come una tripla elica ( $\neq$ collagene) con le estremità C-terminali ed N-terminali libere. L'estremità N-terminale porta il legame disolfuro SS che la lega all'estremità N-terminale dell'altro



monomero. Presso l'estremità C-terminale della catena  $\gamma$  sono presenti delle sequenze RGD riconosciute dalle integrine. I telopeptidi finali possono essere degradati da proteasi così che i dimeri possono aggregarsi per dare delle strutture fibrose. Si tratta di un meccanismo che può attivare la polimerizzazione delle fibre.

## FUNZIONE DELLE PIASTRINE

La funzione primaria è quella di bloccare la fuoriuscita del sangue formando un coagulo.

Cioè in presenza di una rottura di un vaso:

1. Vengono attivate le integrine delle piastrine (con meccanismo simile alle cellule endoteliali)
2. Vengono esposte tutte le integrine possibili sulla membrana delle piastrine della zona interessata
3. Vengono liberate le glicoproteine strutturali contenute in granuli  $\alpha$  (f<sub>bn</sub>, f<sub>n</sub>, VWF).
4. Legami cellula-matrice, quando il TC viene in contatto con il plasma e quindi con le piastrine. Le integrine di quest'ultime interagiscono con le fibre di collagene o con i filamenti delle glicoproteine strutturali.
5. A carico del fibrinogeno avvengono delle modificazioni

FIBRINOGENO

|

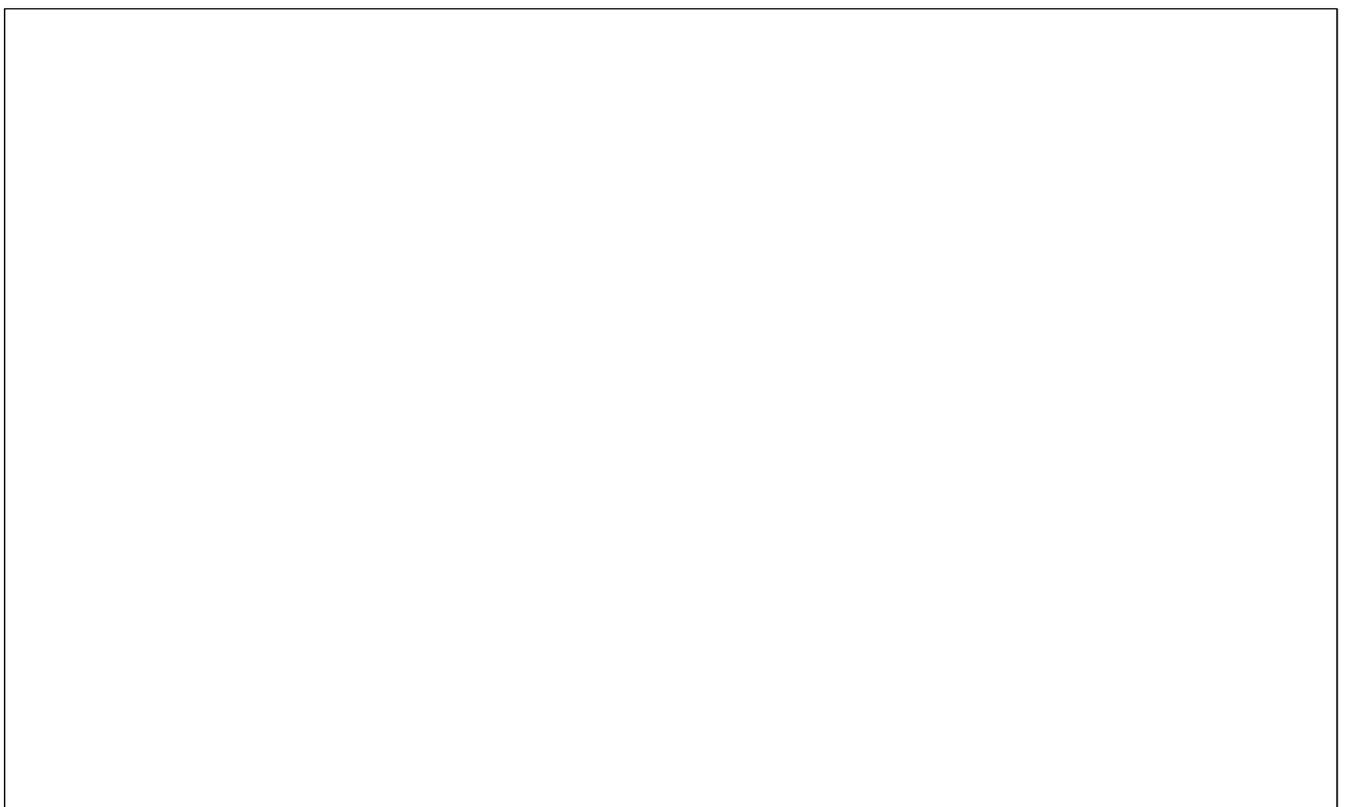
FIBRINA

|

FIBRINA A  
RETE

- I. Grazie a sostanze liberate dalle cellule endoteliali danneggiate si attiva la **protrombina** (proteina del sangue) che diventa trombina.
- II. La **trombina** agisce come una peptidasi che taglia i telopeptidi o fibrinopeptidi dal fibrinogeno trasformandolo in **fibrina**.
- III. La fibrina, una volta innescata tende a polimerizzare formando fibre più lunghe.
- IV. Grazie all'enzima **transglutaminasi** che interviene formando legami tra Lisine e Ac. Glutammico si forma una struttura tridimensionale di **fibrina a rete**.
- V. Questa fibrina a rete forma un coagulo contenente piastrine e dove eritrociti & C restano imbrigliati.

6. Adesione cellula-cellula tra recettori integrinici delle piastrine e selectine e I-CAM delle cellule endoteliali.
7. Si forma un coagulo di cellule adese alle piastrine, alla rete proteica ed ancorata alla matrice mediante glicoproteine della matrice. Questo ostruisce la fuoriuscita di sangue.



Altra funzione è quella di eliminare il coagulo, tagliando le fibrine, tramite enzimi presenti nel sangue come il plasminogeno che si attiva come plasmina. Questa funzione è aiutata dagli enzimi lisosomiali emessi dalle piastrine.

Dai granuli  $\alpha$  sono poi emessi dei fattori di crescita che richiamano fibroblasti e nuove cellule endoteliali, stimolandone la proliferazione per riparare la parte danneggiata.

## EMATOPOIESI

L'origine e la prima maturazione delle cellule ematiche è nel midollo osseo, presente nella zona centrale delle ossa lunghe. Questo è formato da un TC lasso ricco di isolotti di cellule emopoietiche staminali con le loro famiglie, cellule adipose, una sottile rete di collagene fibrillare (che deriva dal collagene tipo III e V) e soprattutto molti vasi sanguigni. Questi sono detti sinusoidi ematici e sono tappezzati da cellule endoteliali fenestrate con piccole quantità di membrana basale. Queste fessure fanno sì che le cellule del midollo osseo possano entrare nel circolo.

Nel TC le cellule mesenchimali indifferenziate possono prendere 3 destini diversi:

- proliferare rimanendo sempre staminali indifferenziate.
- proliferare producendo una cellula staminale ed una progenitrice differenziata. Evolverà quindi nella cellula staminale stromale oppure in una cellula ematopoietica staminale che porterà alle cellule staminali mieloidi e linfoidi.
- dare origine a due cellule diverse differenziate.

Per ematopoiesi si intende il processo di maturazione delle cellule staminali mieloidi che avviene in vari stadi e procedendo durante la crescita embrionale prima nel fegato e poi, dopo il 5-6 mese nel midollo osseo. Quindi negli isolotti midollari le cellule mesenchimali indifferenziate si differenziano in ematopoietiche staminali poi in mieloidi staminali e quindi in globuli rossi e bianchi.

Per ogni serie cellulare ci sono diverse tappe:

### SERIE ERITROCITARIA o ematopoiesi midollare

**Proeritroblasto** → assomiglia alla cellula mesenchimale

**Eritroblasto basofilo** → grande 50-60  $\mu\text{m}$ , ha citoplasma basofilo per la presenza di molti ribosomi e Golgi necessari per l'intensa attività di neosintesi proteica. Negli isolotti mostra un'intensa attività mitotica, proliferante e ha diversi nucleoli.

**Eritroblasto policromatofilo** → è più piccolo e scompaiono i nucleoli e le zone basofile mentre compaiono zone acidofile dovute ad Hb neosintetizzata.

**Eritroblasto ortocromatico acidofilo** → con intensa acidofilia, ha cromatina molto condensata (eucromatina diventa eterocromatina) e ha bloccato l'attività mitotica.

**Eritrocita** → espelle il nucleo e resta un sacco pieno di Hb che può entrare nel torrente circolatorio.

**Reticolocita** → è una forma intermedia presente nel torrente circolatorio con residui di RER e altri organuli presenti nell'acidofilo. Possono essere presenti in alcuni casi, per esempio, se si abbassa la  $\text{pO}_2$  andando in montagna viene richiesto al midollo di rilasciare cellule anche se non del tutto mature.

### SERIE MIELOCITARIA o granulocitopoiesi

**Mieloblasto** → cellula bianca grande 40-50  $\mu\text{m}$ , simile alla mieloide staminale, ha il nucleo tondo, il citoplasma è basofilo per la presenza di ribosomi, assenza di granuli.

**Promielocito** → scompaiono nucleoli e compaiono granuli azzurrofilo (lisosomi), hanno intensa attività proliferante

**Mielocita** → debole acidofilia, lisosomi e granuli specifici (fagocitina e lisozima) debole attività mitotica.

**Metamielocita** → il nucleo si divide, blocco della sintesi dei granuli e della proliferazione

**Granulocita maturo** → nucleo segmentato, non prolifera non elabora granuli ha attività amebeoide per introdursi nel connettivo.

Queste cellule si formano nel MO e non sono abbondanti nel sangue a meno di essere in caso di gravi patologie.

### **SERIE MONOCITARIA**

**Promonocita** → con nucleo sferico

**Monocita** → con nucleo a fagiolo mobili, non fagocitari o poco

**Macrofago**

Queste cellule vivono pochi giorni nel sangue e poi entrano nel TC diventando macrofagi.

### **SERIE MEGACARIOCITICA**

**Megacarioblasto** con nucleo unico polimorfo per plasmodio, estroflessioni, granuli concentrati in certe zone sintetizza granuli specifici in RER e Golgi.

**Megacariocito** presenta inflessioni che marcano zone dove si formano le piastrine, nucleo polimorfo per plasmodio, presenta pseudopodi

### **Linfociti**

Sono prodotti a livello del midollo e non derivano dalla cellula mieloide ma da quella linfoide.

## TESSUTO EPITELIALE

Nel Tessuto epiteliale (TE), a differenza del TC, le cellule sono connesse tra loro con poca matrice extracellulare, sono stipate le une con le altre a formare delle lamine che formano poi dei cordoni che si anastomizzano in maniera particolare. Il TE ha funzione di rivestire parti esterne ed interne del corpo. Possono suddividersi in due famiglie:

- **Epitelio di rivestimento**® epidermide (epitelio che riveste tutto il corpo) altri epiteli all'interno
- **Epitelio ghiandolare**® organizzato in cordoni di cellule che prendono forme particolari e diversificate.

Può derivare da ciascuno dei tre foglietti embrionali; per esempio:

**ectoderma** → epidermide,

**endoderma** → epitelio che riveste il tubo digerente

**mesoderma** → epiteli delle cellule endoteliali (deriva dalle cellule mesenchimali indifferenziate come il TC)

L'epitelio di rivestimento è suddiviso in 2 famiglie:

**Epitelio semplice** → tessuto epiteliale formato da un'unica fila di cellule

**Epitelio composto** → sono più strati di cellule una sopra l'altra (epidermide)

Gli epiteli poggiano sul TC sottostante tramite la membrana basale.

Non è vascolarizzato perché i vasi che lo nutrono scorrono sempre nel sottostante TC che lascia passare per diffusione le diverse sostanze nutritive e di rifiuto.

Il TE può essere innervato oppure le terminazioni nervose possono arrestarsi nel TC sottostante come nella mucosa esofagea.

Le funzioni più specifiche sono:

- **Protezione**® funzione espressa particolarmente dagli epiteli più alti e composti come l'epidermide che ripara il corpo dal mondo esterno. Possono esserci anche funzioni
- **Secrezione**® di sostanze, gas e piccoli metaboliti come nell'epitelio di rivestimento dello stomaco. In questa zona ci sono le cellule della mucosa, cellule mucipare con funzione protettiva per HCl prodotto dalle ghiandole gastriche assieme agli enzimi proteolitici che potrebbero danneggiare i tessuti dello stomaco.
- **Assorbimento** → Nello stomaco c'è assorbimento solo dell'alcool, mentre l'intestino è specializzato per questa funzione con associata sempre delle funzioni secrete.

E' così evidente la presenza anche contemporanea delle diverse funzioni del TE.

Caratterizzante è la presenza di tutti e tre gli elementi del citoscheletro:

**Microtubuli**® particolarmente abbondanti nelle cellule con ciglia vibratili

**Filamenti intermedi**® alcuni detti **tonofilamenti** di cheratina che partecipano alle giunzioni tra le varie cellule.

**Filamenti di actina**® ????

Per le cellule, infatti, non è sufficiente la scarsa matrice extracellulare per restare unite tra loro; partendo dall'alto, ci sono delle

- **giunzioni occludenti** rendono impermeabili ai diversi componenti le zone apicali da quelle baso-laterali

- **giunzioni aderenti** legano le cellule tra loro
- **giunzioni comunicanti** permettono alle cellule di mettere in comune molecole a basso PM come cAMP.

Le cellule sono polarizzate perché i diversi organelli e proteine si organizzano selettivamente in particolari zone. Ci sarà una parte **basale, laterale e apicale**. Il nucleo è in posizione centrobasale, con attorno il RE e sopra, verso l'apice il Golgi. I mitocondri sono sparsi dappertutto e nella zona apicale delle cellule secretorie si concentreranno le vescicole. All'apice ci saranno i **microvilli** con funzione assorbente per aumentare la superficie esterna per il passaggio di molecole e le ciglia vibratili. Le diverse proteine di membrana saranno localizzate in zone particolari grazie alle giunzioni occludenti.

Le cellule del TE semplice poggiano sulla MB e si distinguono per caratteristiche morfologiche. Possono essere molto sottili (TE pavimentoso) isometriche (TE cubico o isodiamtrico) oppure cilindriche, sviluppandosi soprattutto in altezza (TE cilindrico).

**Epitelio pavimentoso semplice** molto sottile e con cellule appiattite a formare dei mosaici che poggiano sulla MB e sopra il TC. Il nucleo sporge sopra come un uovo fritto. Sono connesse tra loro mediante interdigitazioni che le legano strettamente. Hanno scarsa funzione protettiva ma permettono il passaggio di gas e piccoli metaboliti come le cellule endoteliali. Riveste l'interno di vasi, arterie e vene. Può essere di tipo continuo o fenestrato con interruzioni che permettono il passaggio del materiale dal lume al tessuto sottostante. Il tutto è poi rivestito dalla MB. E' presente inoltre negli alveoli polmonari dove lascia passare O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> e dove talvolta è talmente sottile che perde il nucleo. Si trova anche nella Pleura, Peritoneo e pericardio.

**Epitelio cubico semplice** si trova a rivestire i dotti escretori del rene, della tiroide ma comunque non è molto frequente.

**Epitelio cilindrico semplice** è molto frequente e variabile a seconda della funzione che va a svolgere. A livello dello stomaco ha funzione specifica di produrre muco con cellule uguali senza caratteristiche morfologiche particolari ma ricche di vescicole secretorie. A livello dell'intestino ci sono due tipi di cellule: cellule del TE normali con microvilli e cellule caliciformi mucipare che producono il muco. Nei bronchi con cellule cigliate (a differenza dell'intestino dove sono presenti microvilli) e ricco di caliciformi mucipare. A livello delle alte vie respiratorie che è un epitelio detto pseudostratificato o a più file di nuclei. Si tratta di cellule che poggiano sulla MB o con una superficie ampia e stretta verso il lume oppure viceversa. L'effetto che ne deriva al microscopio è di una multipla serie di cellule (visto che si apprezza bene la presenza del nucleo e non del ctp)

All'interno di questo TE si trovano numerose cellule caliciformi mucipare ed anche in queste sono numerose le cellule cigliate.

## PREPARAZIONE SEZIONI SOTTILI

Bisogna innanzitutto fissare il preparato istologico prendendolo da un organo per portarlo a morte rapida. Infatti, possono liberarsi dai lisosomi gli enzimi litici che distruggerebbero il contenuto del ctp. I diversi fissativi sono il tetrossido di osmio, formalina, HgCl<sub>2</sub>, glutaraldeide. Importante è mantenere i tessuti nelle condizioni morfologiche migliori, quindi bisogna indurire il preparato per poterlo affettare col microtomo. Bisogna prima disidratarlo con passaggi successivi di alcol etilico a diverse concentrazioni ed infine in xilolo per avere diafanizzazione. Allora il preparato disidratato può andare in paraffina fusa a 50-60 °C in una stufa per far penetrare all'interno. Dopo un tempo sufficiente alla completa impregnazione il tutto deve essere lasciato raffreddare lentamente per solidificare. Lo spessore voluto è 6-8µm può ora essere messo sul vetrino. Bisogna però estrarre la paraffina con bagni di xilolo che solubilizza la paraffina e ora bisogna colorarlo e idratarlo. Allora si ripetono i bagni in alcol etilico in sequenza inversa per reidratarlo. Ora, per aumentare il contrasto bisogna colorarlo. I coloranti sono di 2 tipi: Acidi, che colorano parti basiche e coloranti Basici che

viceversa colorano parti acide. I coloranti basici sono ematossilina, blu di metilene. Il nucleo contiene acidi DNA e RNA e si colora quindi con coloranti basici. Il ctp in genere è basico e quindi si colora con coloranti acidi come eosina, orange g, blu di anilina. In genere si fanno due passaggi per colorare zone acide e basiche, mediante il sistema ematossilina/eosina. Così il nucleo acido sarà sempre rosso, violaceo mentre il ctp resta rosa pallido. Ci sono cellule come le plasmacellule o le cellule ghiandolari che sono ricche di RER e ribosomi che danno un carattere acido al ctp.

Altra colorazione è la Azan-Mallory con tre tipi di colorante. Nel TC si colora in blu (blu di anilina), il nucleo di azopermio e il ctp in arancio. Con questo metodo il ctp si colora in blu mentre con l'eosina resta chiaro. Il ctp difficilmente si colora e quindi bisogna utilizzare un altro tipo di colorazione che si lega agli zuccheri. Si tratta **dell'acido periodico semplice di Shiff PAS**. Si attacca prima il preparato con questo acido e poi si attacca con una leucobase di Shiff e il ctp risulta rosso scuro.

La MB, nonostante sia prodotta da TE possiede PGC e collagene come un TC.

Nell'alveolo polmonare c'è un epitelio pavimentoso semplice formato da **Pneumociti di I tipo** con nucleo sporgente e ctp molto sottile a circondare l'alveolo. Nonostante queste cellule siano il 10% del nostro corpo, coprono il 90% delle superfici. Sono associati ad una fitta rete di capillari sanguigni separati da uno spazio sottilissimo dove la membrana del pneumocita, MB e endotelio si fondono assieme. Ci sono poi Pneumociti di II tipo che sono di tipo staminale, sferici, che possono differenziarsi in quelli del I tipo occupando la superficie dell'alveolo. Nel lume dell'alveolo secernono un surfactante che ha funzione tensioattiva per evitare il collasso dell'alveolo.

Nell'esofago c'è un epitelio pavimentoso composto mentre nella parte apicale dello stomaco è cilindrico semplice con delle invaginazioni dette fossette gastriche. Sotto ci sono delle ghiandole che producono HCl e pepsinogeno a formare i succhi gastrici che secernono dai microvilli delle cellule epiteliali. L'epitelio che ricopre le fossette gastriche è sempre un TE cilindrico semplice e produce un muco protettivo. Sotto ci sono i vasi, il TC e alla base delle fossette ci sono le ghiandole. A livello dell'intestino c'è un TE cilindrico semplice. Per aumentare la superficie si ricopre di numerose pieghe che aumentano la superficie di contatto fino a 300 m<sup>2</sup> a formare delle espansioni digitiformi dette villi intestinali. Intercalate a queste cellule ci sono cellule caliciformi mucipare e cellule di tipo staminale che continuano ad entrare in mitosi che garantiscono un rI-CAMBIO del tessuto ogni 3-10gg. Sono delle cellule di tipo rigenerativo