

INDICE

PARTE I CELLULA

- 1 Struttura e funzioni della cellula.....2
- 2 Ciclo cellulare e replicazione.....35

PARTE II PRINCIPALI TIPI DI TESSUTO

- 3 Sangue, emopoiesi e midollo osseo.....50
- 4 Tessuti connettivi.....69
- 5 Tessuti epiteliali87
- 6 Tessuti muscolari107
- 7 Tessuto nervoso128

PARTE III ORGANI E SISTEMI

- 8 Sistema cardiovascolare.....152
- 9 Sistema tegumentario167
- 10 Sistema scheletrico.....188
- 11 Sistema immunitario205

- 12 Sistema respiratorio.....232
- 13 Cavità orale.....250
- 14 Sistema alimentare.....263
- 15 Fegato e pancreas288
- 16 Sistema urinario304
- 17 Sistema endocrino333
- 18 Sistema genitale maschile.....352
- 19 Sistema genitale femminile.....366
- 20 Sistema nervoso centrale400
- 21 Organi di senso speciali423

APPENDICI

- 1 Introduzione alla microscopia.....452
- 2 Note sui metodi di colorazione457
- 3 Glossario e abbreviazioni.....466
- Indice analitico469

INTRODUZIONE

L'**Istologia** è lo studio della struttura normale dei tessuti che costituiscono l'organismo, utilizzando il microscopio come strumento principale d'indagine. Benché per molte caratteristiche istologiche l'uomo possa essere paragonato ad altri mammiferi, come anche a organismi non-mammiferi, questo testo tratta della struttura e della funzione delle cellule e dei tessuti umani normali. La struttura istologica determina ed è a sua volta influenzata dalla funzione dei differenti organi e tessuti. La stretta correlazione che intercorre tra struttura e funzione è ben evidenziata da diversi processi patologici, quali neoplasie o processi infiammatori, che, sovvertendo la struttura microscopica, ne compromettono la normale fisiologia. La branca della **patologia medica** che studia, mediante i metodi d'indagine propri dell'Istologia, le alterazioni strutturali provocate da processi patologici nei tessuti di un organismo è l'**Istopatologia**. La conoscenza della struttura microscopica normale di un tessuto e/o di un organo è il prerequisito essenziale per una diagnosi di malattia basata sull'osservazione morfologica.

La **cellula** è l'unità funzionale minima di tutti gli organismi viventi. Gli organismi più semplici come i batteri e le alghe sono costituiti da una singola cellula. Organismi più complessi sono invece formati da numerose cellule e da materiale (matrice) extracellulare (per esempio, la matrice ossea).

Con il termine di **eucarioti** si intende quel gruppo di organismi viventi unicellulari e pluricellulari appartenenti ai regni vegetale, dei funghi e animale. Le cellule eucariotiche sono costituite da un insieme di strutture denominate **organelli cellulari**, immerse in un fluido definito **citoplasma** o **citosa** e da un **nucleo** costituito da un sistema membranoso, detto **involucro nucleare**, che confina il genoma in un compartimento separato dal citoplasma. Ogni organulo, sia esso delimitato da membrana (per esempio, l'apparato di Golgi, il reticolo endoplasmatico ecc.) o meno (ribosomi),

svolge all'interno della cellula una specifica funzione. Il nucleo è, tra gli organelli cellulari, la struttura più complessa, altamente organizzata e di maggiori dimensioni.

Il termine di **procarioti** si riferisce, invece, agli organismi, soprattutto unicellulari, appartenenti al regno degli Archea e dei Batteri. Le cellule procariotiche, seppur provviste di una parete cellulare e di una membrana plasmatica, mancano di un sistema di membrane interno che suddivida il citoplasma in compartimenti e che definisca morfologicamente il nucleo. Tali organismi non verranno trattati in questo testo-atlante.

Le cellule degli organismi multicellulari, come l'uomo, mostrano una grande varietà di specializzazioni morfologiche e funzionali acquisite durante l'evoluzione poiché capaci di fornire vantaggi selettivi. Il processo attraverso il quale, durante lo sviluppo dell'organismo, le cellule e i tessuti assumono struttura e funzioni specializzate prende il nome di **differenziamento cellulare**. Nonostante tale straordinaria varietà di forme e funzioni, tutte le cellule eucariote aderiscono a un modello strutturale di base, il cui studio sarà argomento di questo capitolo.

Il principale strumento per lo studio dell'Istologia è il microscopio ottico. I lettori ne troveranno una breve descrizione nell'Appendice 1 alla fine del libro. Le tecniche di base utilizzate in istologia e anatomia microscopica, inclusa la preparazione dei tessuti, il loro sezionamento, le tecniche di colorazione per la microscopia ottica e la microscopia elettronica, sono descritte nell'Appendice 1. Per rendere visibile la struttura dei vari tessuti e organi al microscopio, si utilizzano molteplici tecniche di colorazione che saranno descritte brevemente nell'Appendice 2. È consigliata la lettura iniziale delle Appendici 1 e 2 e la consultazione dell'Appendice 3, che include un glossario dei termini istologici di uso più comune; ciò renderà più facile la comprensione degli argomenti trattati nel testo.

FIG. 1.1 Cellula [immagini (a) e (b) a fronte] (a) ME $\times 16.500$ (b) Disegno schematico

Le caratteristiche strutturali fondamentali, comuni a tutte le cellule, sono illustrate nella figura al microscopio elettronico di un fibroblasto (a) e nel disegno (b). Tutte le cellule sono circondate da una membrana lipidica esterna, detta **membrana plasmatica** o **plasmalemma** MP che funge da interfaccia con l'ambiente esterno. La maggior parte delle cellule interagisce con due diversi tipi di ambiente esterno: le cellule adiacenti C e la **matrice extracellulare** visibile, in questa figura, sotto forma di fibrille collagene F. Lo spazio che separa le cellule è denominato **spazio intercellulare** SI. Le funzioni della membrana plasmatica includono l'internalizzazione di nutrienti e lo scarto di metaboliti, l'adesione della cellula alle cellule adiacenti e alla matrice extracellulare e la comunicazione con l'ambiente esterno.

Il **nucleo** N è l'organello più grande, separato dal citoplasma da un sistema membranoso denominato **involucro** o **membrana nucleare** MN. All'interno del nucleoplasma è presente l'**acido desossiribonucleico** o **DNA**, contenente le informazioni genetiche della cellula. Il citoplasma contiene diversi organelli, la maggior parte dei quali è circondata da una membrana. Un ampio sistema di tubuli, vescicole e cisterne appiattite, noto come **reticolo endoplasmatico** RE, è diffusamente distribuito per tutto il citoplasma. Un secondo sistema discreto di tubuli e cisterne circondate da membrana, l'**apparato di Golgi** G, è tipicamente localizzato vicino al nucleo (meglio visibile nella cellula adiacente). Sparsi libe-

ramente nel citoplasma vi sono numerosi organelli relativamente grandi e allungati, detti **mitocondri** M, costituiti da una membrana esterna liscia e da un sistema convoluto di membrane interne. Oltre a questi organelli, la cellula contiene una varietà di altre strutture circondate da membrana, comprese **vescicole di trasporto intracellulare** V e **lisosomi** L. Gli organelli citoplasmatici sono sospesi in un mezzo liquido chiamato **citoplasma** o **citosa**, in cui hanno luogo molte reazioni metaboliche. Nel citoplasma è presente una rete tridimensionale di microfilamenti, filamenti intermedi e microtubuli, denominata **citoscheletro**; questa rete fornisce non solo sostegno strutturale alla cellula, ma è indispensabile per la **motilità cellulare** intesa sia come locomozione della cellula stessa nell'ambiente extracellulare, sia come traffico vescicolare, ossia come motilità degli organelli intracellulari nel citoplasma.

Come si può evincere dalla descrizione precedente, la cellula è suddivisa in numerosi compartimenti circondati da membrana; ciò si rende necessario per separare, o meglio, compartimentalizzare processi biochimici e fisiologici differenti, in maniera che possano mantenere la loro identità. Al fine di favorire questo processo, molti sistemi enzimatici sono ancorati a specifiche membrane, cosicché queste ultime diventano la sede di reazioni biochimiche uniche. I compartimenti delimitati da membrana occupano circa la metà del volume della cellula.

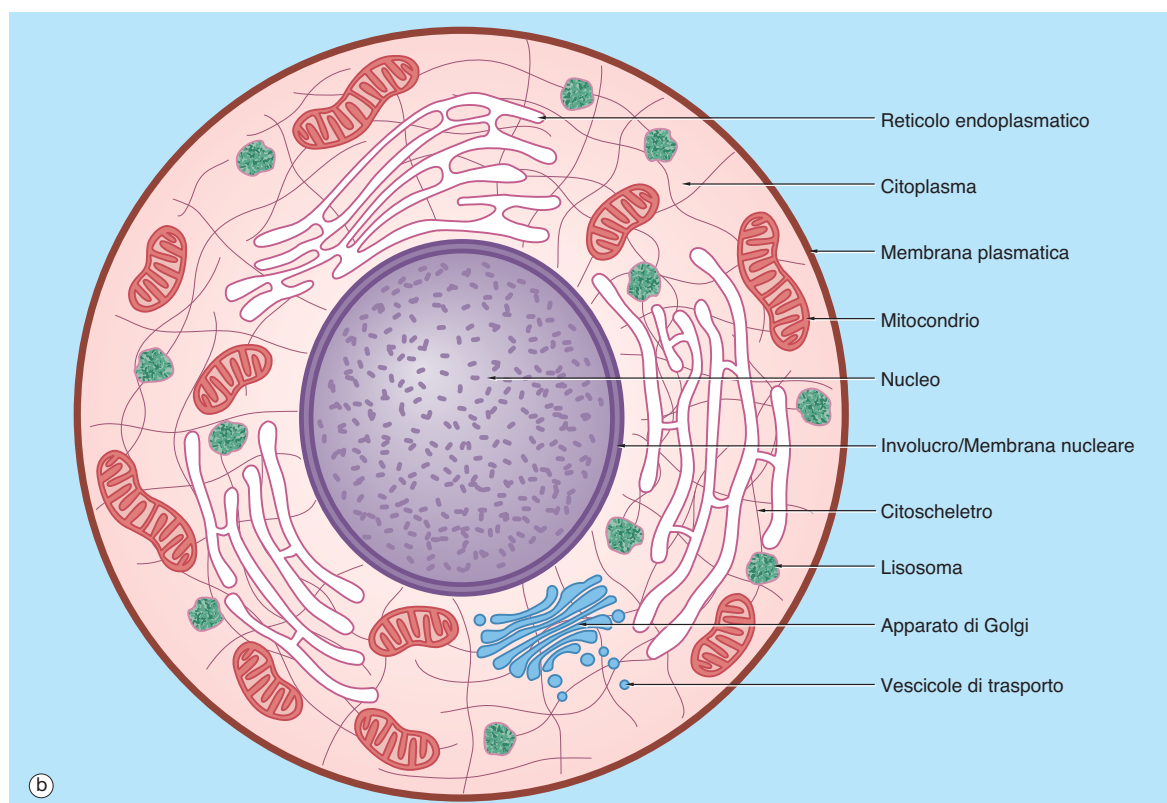
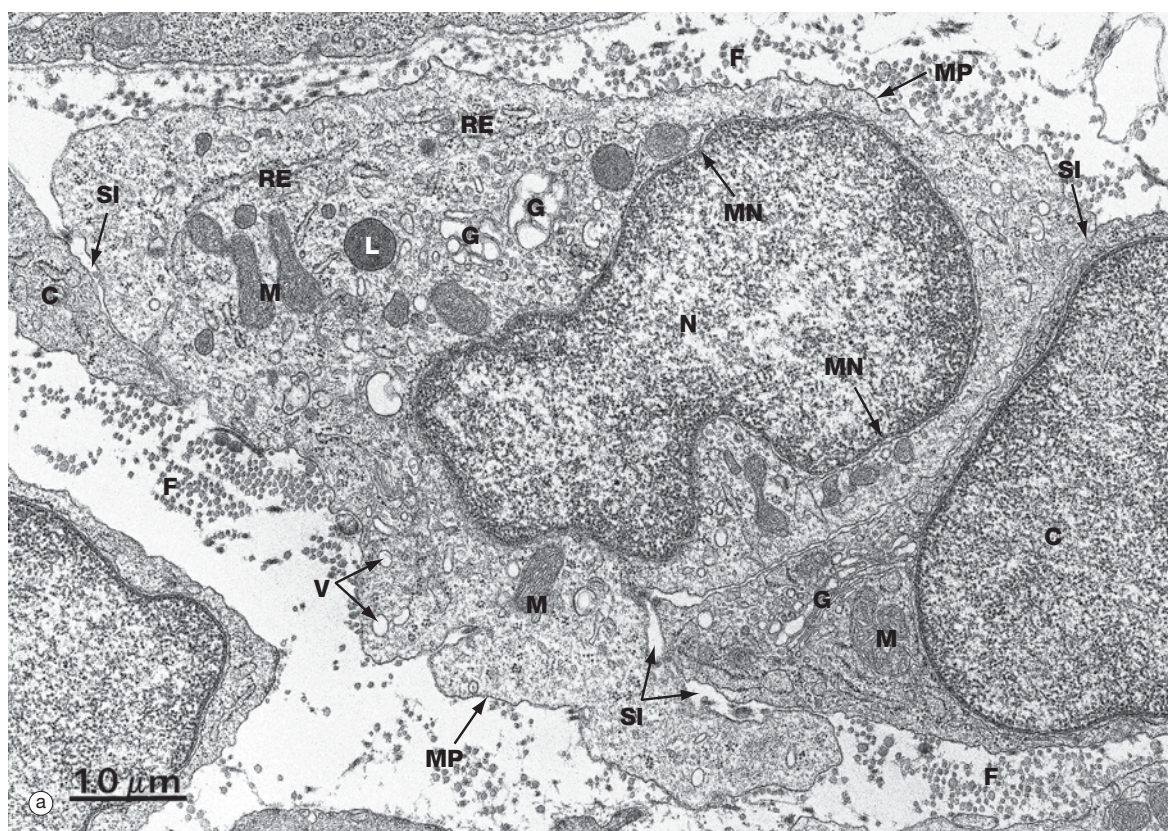


FIG. 1.1 Cellula [testo a fronte] (a) ME $\times 16.500$ (b) Disegno schematico

C cellula adiacente **F** fibre collagene **G** apparato di Golgi **L** lisosoma **M** mitocondrio **MN** membrane nucleare
MP membrana plasmatica **N** nucleo **RE** reticolo endoplasmatico **SI** spazio intercellulare **V** vescicole di trasporto

STRUTTURA DELLE MEMBRANE CELLULARI

Le membrane cellulari comprendono la **membrana plasmatica**, la cui funzione è di separare la cellula dall'ambiente esterno e regolare gli scambi fra il compartimento intracellulare e quello extracellulare, e le **membrane degli organelli intracitoplasmatici** che permettono la compartimentalizzazione di vari processi biologici all'interno della cellula. I costituenti principali delle membrane cellulari sono i lipidi (principalmente fosfolipidi e colesterolo), le proteine e i glucidi. Poiché sia l'ambiente extracellulare sia quello intracellulare sono acquosi, i fosfolipidi che costituiscono le membrane si dispongono a creare una struttura a **doppio strato fosfolipidico** in cui le teste idrofile sono a contatto con l'acqua, mentre le code idrofobe si orientano verso l'interno. Le proteine sono variamente localizzate rispetto alla struttura portante lipidica e sono quindi classificabili in: (i) **intrinseche** o **transmembrana**, quando attraversano una o più volte il doppio strato lipidico; (ii) **estrinseche** o **periferiche**, se interagiscono con la sola superficie esterna o interna della membrana; (iii) **ancorate ai lipidi**, quando legate covalentemente a code lipidiche che si inseriscono nel doppio strato. Secondo il modello a **mosaico fluido** proposto da Singer e

Nicholson all'inizio degli anni Settanta, la membrana è: (i) **fluida**, in quanto la maggior parte delle molecole fosfolipidiche e proteiche può muoversi lateralmente nella membrana; (ii) **discontinua**, poiché la struttura lipidica portante è interrotta dalle proteine intrinseche; (iii) **asimmetrica**, in quanto alcuni lipidi e proteine, ma soprattutto i glucidi legati sia a lipidi (glicolipidi) sia a proteine (glicoproteine) sono distribuiti differenzialmente rispetto ai due monostrati fosfolipidici. Lo strato idrofobico interno svolge la funzione fondamentale di impedire ai composti polari, come ioni e moltissime altre molecole biologiche (nucleotidi, amminoacidi ecc.), di attraversare la membrana contribuendo così alla formazione e al mantenimento dei gradienti di concentrazione di queste molecole. Le proteine transmembrana che attraversano il doppio strato fosfolipidico possono sia agire come canali ionici ed essere quindi deputate al passaggio verso e fuori la cellula di ioni o molecole, sia, grazie alle loro porzioni extra- e intracellulari, fungere da recettori o bersagli per molecole coinvolte nella segnalazione o comunicazione cellulare.

FIG. 1.2 Struttura delle membrane cellulari [immagini (a)-(c) a fronte] (a) ME $\times 210.000$ (b) Disegno schematico della struttura dei fosfolipidi (c) Disegno schematico della struttura della membrana

Le membrane cellulari sono costituite da un doppio strato fosfolipidico. I **fosfolipidi** sono molecole **anfipatiche** o **anfifiliche**, ossia costituite da una testa polare, **idrofilica** (amante dell'acqua), e da una coda apolare, **idrofobica** (che avversa l'acqua). Le teste polari derivano principalmente dal glicerolo coniugato a un composto azotato come la colina, l'etanolamina o la serina mediante un ponte fosfato, come mostrato nella figura (b). Il gruppo fosfato è carico negativamente a pH fisiologico, mentre il gruppo azotato è carico positivamente. La coda apolare delle molecole fosfolipidiche consiste di due lunghe catene di acidi grassi, ognuna legata covalentemente al glicerolo della testa polare. Nella maggior parte delle membrane cellulari dei mammiferi, uno degli acidi grassi è saturo (non ha cioè doppi legami nella sua catena, che è quindi rettilinea), mentre l'altro è un acido grasso insaturo (ha quindi doppi legami che fanno assumere alla sua catena un andamento piegheggiato). La **sfigomielinina** è un altro importante fosfolipide delle membrane cellulari.

I fosfolipidi in soluzione acquosa si dispongono spontaneamente a formare un doppio strato con le teste idrofiliche (polari) rivolte verso l'esterno e le code idrofobiche verso l'interno. Le deboli forze intermolecolari che tengono insieme il doppio strato permettono alle molecole fosfolipidiche di muoversi con relativa libertà all'interno di ciascuno strato. Il doppio strato lipidico non ha una composizione omogenea: sfingolipidi e colesterolo vanno a costituire assieme microdomini lipidici meno fluidi che funzionano da **zattere (lipid rafts)** per il trasporto di specifici componenti di membrana e per la formazione delle **caveole** (Fig. 1.11).

La fluidità e la flessibilità delle varie membrane vengono aumentate dalla presenza di acidi grassi insaturi, che evitano il fitto impaccamento delle code idrofobiche. Nel doppio strato sono anche presenti molecole di **colesterolo** in un rapporto quasi 1:1 coi fosfolipidi. Le molecole di colesterolo sono anch'esse anfipatiche e hanno una conformazione piegheggiata, che previene un eccessivo impaccamento delle code fosfolipidiche degli acidi grassi e nello stesso tempo colma le lacune che si formano tra le code degli acidi grassi insaturi. Le molecole di colesterolo pertanto irrigidiscono le membrane e ne regolano la fluidità.

Le molecole proteiche rappresentano quasi la metà della massa totale della membrana. Come mostrato nello schema (c), alcune molecole proteiche sono inserite nella membrana (**proteine integrali** o **intrinseche**), mentre altre aderiscono all'interno o all'esterno della superficie della membrana plasmatica tramite forze elettrostatiche e altri legami non-covalenti deboli (**proteine periferiche** o **estrinseche**). Alcune proteine intrinseche attraversano l'intero spessore della membrana (**proteine transmembrana**) e pertanto risultano esposte su entrambe le superfici della membrana.

Le proteine transmembrana sono fissate al bilayer fosfolipidico mediante una zona idrofobica centrale, che permette alla proteina di muoversi liberamente nel piano della membrana. Le parti di queste proteine che protrudono fuori dal doppio strato lipidico sono idrofiliche. Alcune proteine integrali di membrana sono ancorate fra loro e al citoscheletro. Le proteine transmembrana mediano diverse funzioni compresa l'adesione cellula-cellula, l'adesione cellula-matrice, la comunicazione intercellulare, la formazione di pori o canali per il trasporto di varie molecole fuori e dentro la cellula. In molti casi le proteine integrali possono creare complessi costituiti da due o più molecole proteiche; le **acquaporine**, per esempio, si organizzano in una struttura tetramerica a costituire il canale proteico specifico dell'acqua.

Sulla superficie esterna delle membrane plasmatiche, molte delle proteine e alcuni dei lipidi di membrana sono coniugati covalentemente a brevi catene di polisaccaridi a formare, rispettivamente, **glicoproteine** (per esempio, le mucine associate alla superficie cellulare) e **glicolipidi**; i residui glicidici si proiettano fuori dalla superficie del doppio strato a formare un rivestimento esterno che può essere considerato l'analogo della parete cellulare di piante, batteri e funghi. Questo strato di polisaccaridi è stato denominato **glicocalice**; esso ha uno spessore variabile nei diversi tipi cellulari. Il glicocalice è coinvolto nei processi di riconoscimento cellulare, nella formazione di complessi di adesione intercellulari e nell'adsorbimento di alcune molecole sulla superficie cellulare; in alcune situazioni, il glicocalice fornisce anche protezione meccanica e chimica alla membrana plasmatica.

L'immagine di microscopia elettronica in Figura (a) rappresenta un elevato ingrandimento della membrana plasmatica **MP** che riveste le piccole proiezioni (**microvilli Mv**) della superficie apicale di una cellula dell'intestino tenue. Il caratteristico aspetto trilaminare è determinato da due strati esterni elettrondensi separati da uno strato intermedio, trasparente agli elettroni. Gli strati elettrondensi esterni corrispondono alle teste idrofiliche dei fosfolipidi, mentre lo strato trasparente rappresenta la zona idrofobica intermedia costituita soprattutto da acidi grassi e colesterolo. Sulla superficie esterna della membrana plasmatica si trova il glicocalice **G**, visibile come un contorno indistinto intorno alla membrana cellulare. Esso rappresenta una caratteristica rilevante delle cellule intestinali di rivestimento e contiene diversi enzimi digestivi.

Le membrane plasmatiche mediano il flusso sia di materiali sia di informazioni dentro e fuori dalla cellula, funzioni di vitale importanza per la cellula stessa. Questo argomento verrà trattato più in dettaglio nella sezione "Import, export e trasporto intracellulare", più avanti in questo capitolo.

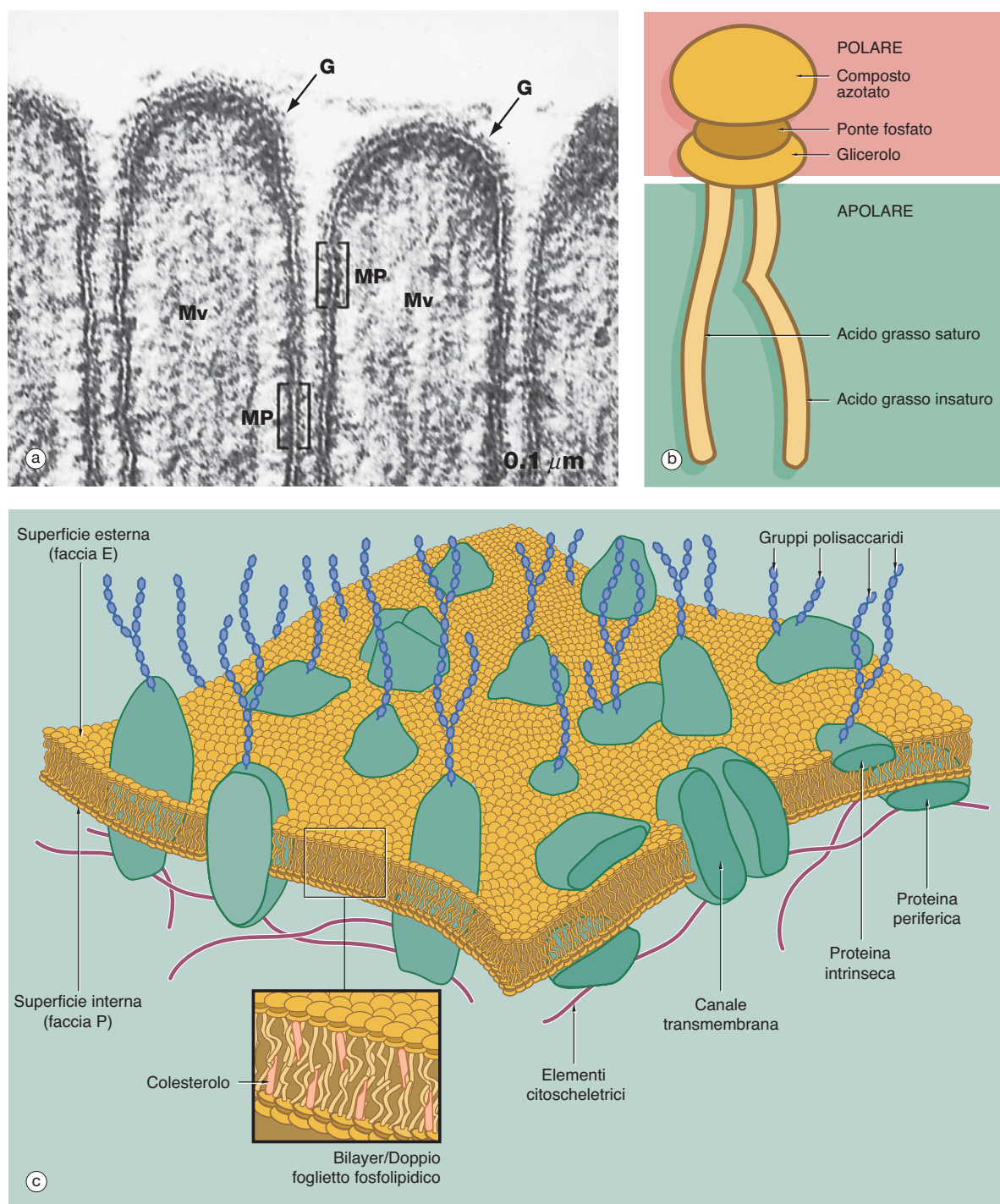


FIG. 1.2 Struttura delle membrane cellulari [testo a fronte] (a) ME $\times 210.000$ (b) Disegno schematico della struttura dei fosfolipidi (c) Disegno schematico della struttura della membrana

NUCLEO

Il nucleo può essere considerato il più grande organello della cellula e ne è solitamente l'elemento più evidente all'osservazione al microscopio ottico. Il nucleo contiene il patrimonio genetico immagazzinato sotto forma di **acido desossiribonucleico (DNA)** organizzato in vari frammenti chiamati cromosomi. In ogni cromosoma sono contenuti i geni; ogni gene consta di una sequenza nucleotidica specifica che codifica una singola proteina (o una serie di sue isoforme se, durante la trascrizione, il gene è soggetto a splicing alternativo) (Fig. 1.6). Fatta eccezione per gli eritrociti che mancano del nucleo (Cap. 3), tutte le cellule costi-

tuenti l'organismo contengono nel proprio nucleo le informazioni necessarie per la produzione della stragrande maggioranza delle proteine di cui è costituita la cellula stessa (un'altra parte dell'informazione genetica è contenuta nei mitocondri). Il nucleo è delimitato da un sistema membranoso che ne separa il contenuto, chiamato **nucleoplasma**, dal resto della cellula. Quando una cellula si divide, per prima cosa replica il suo DNA, così che in ognuna delle cellule figlie ci sia una copia del patrimonio genetico della cellula madre. La divisione cellulare sarà l'argomento del Cap. 2.

FIG. 1.3 Nucleo [immagini (a) e (b) a fronte] (a) ME $\times 15.000$ (b) EE (HP)

La Figura (a) mostra il nucleo di una plasmacellula, un tipo di cellula che secerne una grande quantità di particolari proteine chiamate anticorpi. Come tutte le cellule che secernono proteine, il citoplasma contiene abbondante **reticolo endoplasmatico rugoso RER** rivestito da ribosomi e molti **mitocondri M** che producono l'energia necessaria per una cellula così attiva dal punto di vista metabolico.

Il nucleo contiene DNA (che costituisce meno del 20% della sua massa), proteine dette **nucleoproteine** e un po' di RNA (**acido ribonucleico**). Le nucleoproteine sono di due tipi principali: gli **istoni**, che sono proteine a basso peso molecolare, cariche positivamente, e (ii) le **proteine non istoniche**. Le proteine istoniche sono capaci di legarsi al DNA controllandone l'impaccamento e l'espressione dei geni. Gli istoni H2A, H2B, H3 e H4 formano il **core** o **nucleosoma** attorno al quale si avvolge il DNA; l'istone H1 favorisce la condensazione dei nucleosomi. Le proteine non-istoniche comprendono gli enzimi per la sintesi del DNA e dell'RNA e altre proteine regolatrici della trascrizione. Tutte le nucleoproteine vengono sintetizzate nel citoplasma e quindi importate nel nucleo. L'RNA nucleare comprende **RNA messaggero (mRNA)**, **RNA di trasporto (tRNA)** e **RNA ribosomiale (rRNA)**; questi RNA, dopo essere stati sintetizzati nel nucleo, diffondono nel citoplasma. Il controllo trascrizionale e post-trascrizionale del DNA è mediato da una serie di piccole molecole di RNA che comprendono **microRNA (miRNA)**, **small nuclear RNA (snRNA)** e **small interfering RNA (siRNA)**.

Eccetto durante la divisione cellulare, i cromosomi dispongono il loro DNA in strutture spiralate e superspiralate e non possono essere osservati individualmente. I nuclei sono strutture eterogenee con aree elettrondense (scure; si veda Appendice 1) e elettrontrasparenti (chiare). Le aree dense, formanti la cosiddetta **eterocromatina EC**, sono costituite da cromatina strettamente condensata, presente a grappoli irregolari spesso intorno alla periferia del nucleo. Nelle donne, il cromosoma X inattivato può formare una piccola masserella discreta, chiamata **corpo di Barr**, osservabile al bordo del nucleo in opportune sezioni di taglio. Il materiale nucleare elettrontrasparente, denominato **euromatina E**, rappresenta quella parte di DNA attiva nella sintesi dell'RNA. Il nucleolo **Nu** appare come una regione elettrondensa ed è responsabile della sintesi dell'rRNA (Fig. 1.5). Nel loro insieme, l'eterocromatina e l'euromatina formano la **cromatina**, nome che deriva dall'elevata tingibilità dei nuclei colorati con le comuni tecniche per la microscopia ottica. La cromatina è una struttura altamente organizzata ma dinamica, con i singoli cromosomi che tendono a raggrupparsi in particolari aree del nucleo, note come **territori cromosomali**. Alcune parti dei cromosomi sono decondensate o condensate a seconda che i geni di cui sono composte siano o meno trascritti. La **trascrizione** è il processo attraverso il

quale le RNA polimerasi ricopiano l'informazione contenuta nel DNA dei geni in una molecola complementare di RNA (mRNA). Le proteine istoniche esistono in alcune varianti di splicing o possono essere modificate dopo la traduzione; queste modifiche pre- e post-traduzionali servono a renderle più o meno adatte a promuovere l'espressione di un particolare gene. La permanente attivazione o soppressione della trascrizione di una particolare serie di geni permette l'acquisizione di un fenotipo differenziato da parte di una cellula.

La morfologia e la localizzazione dei nuclei all'interno delle cellule possono risultare utili per l'identificazione del tipo cellulare che si sta osservando. La Figura (b) mostra una sezione longitudinale della parete dell'intestino crasso (Fig. 14.29); questo campione è stato colorato con ematossilina ed eosina (EE), il metodo standard di colorazione istologica (si veda Appendice 2). L'ematossilina è blu e l'eosina è rosa. L'ematossilina, un colorante basico che si lega al DNA e all'RNA in quanto carichi negativamente, viene principalmente impiegata per colorare il nucleo. L'eosina, un colorante acido, ha affinità per le molecole cariche positivamente a pH fisiologico, ossia per molti componenti citoplasmatici e per molte proteine mitocondriali. In questa figura è possibile osservare la morfologia di nuclei appartenenti a diverse tipologie cellulari. Nella parte superiore dell'immagine è visibile l'epitelio della mucosa del colon che si invagina nella **lamina propria LP** per dare origine alle **ghiandole intestinali** o **cripte di Lieberkühn C**; le cellule epiteliali costituenti le cripte presentano una porzione secernente apicale ricca di mucina e un nucleo **N** ovoidale disposto alla loro base. L'asimmetria di composizione e distribuzione dei compartimenti cellulari è indice di una polarità cellulare. La lamina propria che accoglie le ghiandole è formata da connettivo lasso ricco di macrofagi, linfociti, plasmacellule. In questa immagine sono visibili anche granulociti eosinofili riconoscibili per la spiccata affinità tintoriale dei loro granuli citoplasmatici verso i coloranti acidi e la morfologia bilobata del nucleo **NB**. Al di sotto della lamina propria è presente la **muscularis mucosae MM**, costituita da tralci di muscolatura liscia la cui contrazione impedisce l'ostruzione delle ghiandole e favorisce l'espulsione di muco. Le fibrocellule muscolari lisce hanno forma allungata con nuclei **NML** localizzati centralmente, di aspetto **fusiforme** o rotondo, se osservati in sezione trasversale rispetto all'asse maggiore della fibrocellula (Fig. 6.15). La **tonaca sottomucosa SM** si presenta come uno strato di connettivo lasso che accoglie i vasi e i nervi della mucosa intestinale. Nell'immagine è presente, in sezione obliqua, un piccolo vaso sanguigno, ossia un vaso capillare **Cap**, con la parete costituita da cellule endoteliali squamose con nucleo appiattito **NE** e lume ricco di eritrociti. A tale ingrandimento non è possibile apprezzare la componente citoplasmatica endoteliale.

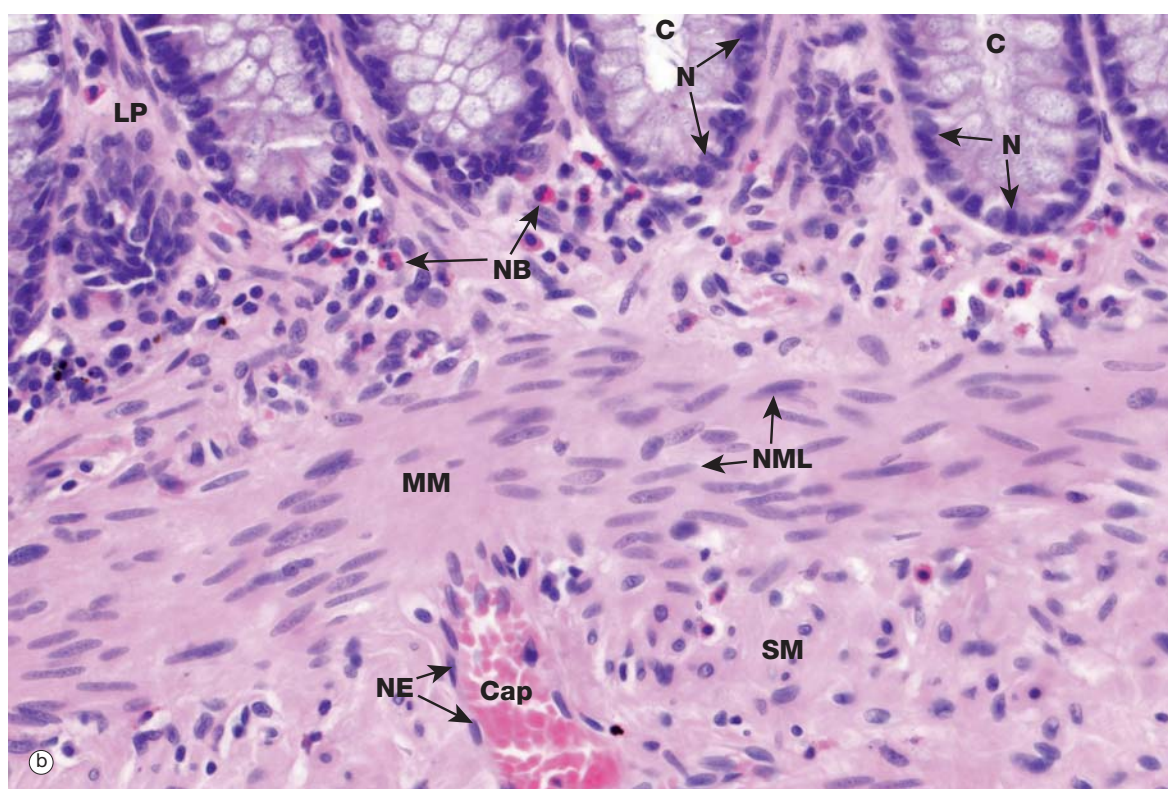
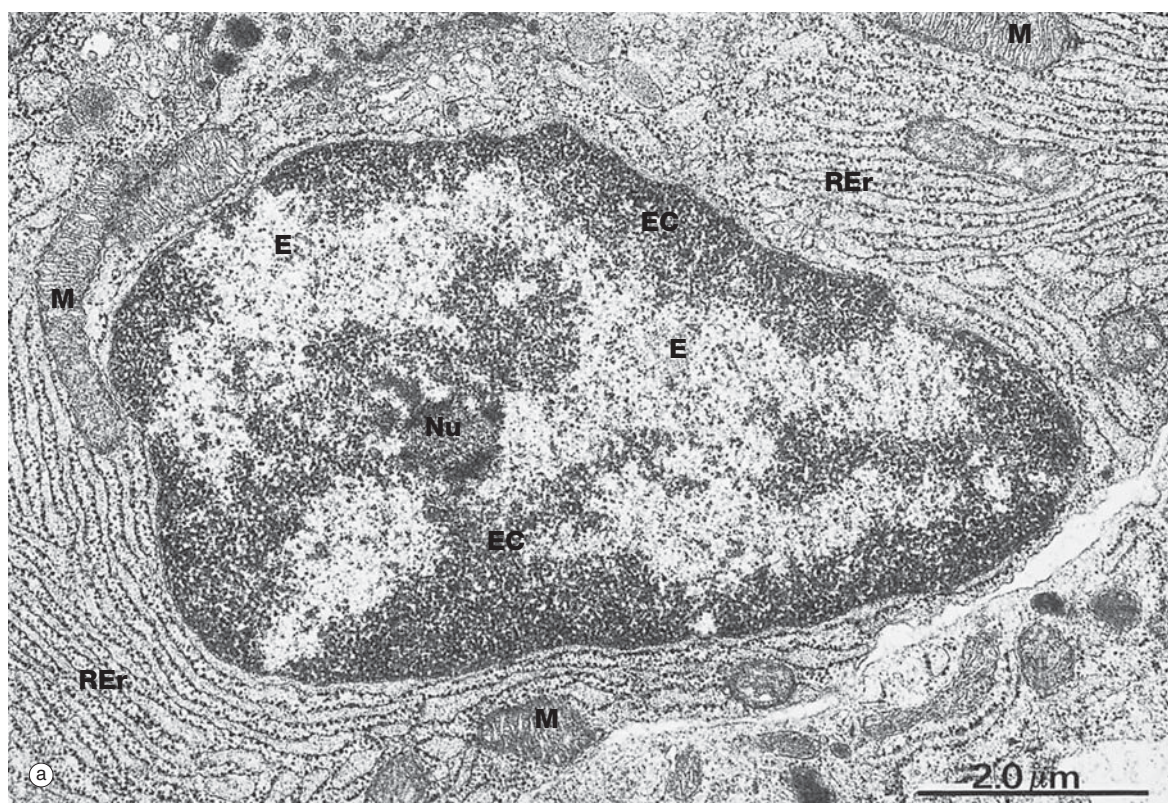


FIG. 1.3 Nucleo [testo a fronte] (a) ME $\times 15.000$ (b) EE (HP)

C cripta di Lieberkühn **Cap** capillare **E** eucromatina **EC** eterocromatina **LP** lamina propria **M** mitocondri **MM** *muscularis mucosae* **N** nucleo dell'enterocita **NB** nucleo bilobato del granulocita eosinofilo **NE** nucleo di una cellula endoteliale **NML** nucleo di una cellula muscolare liscia **Nu** nucleolo **RER** reticolo endoplasmatico rugoso **SM** sottomucosa

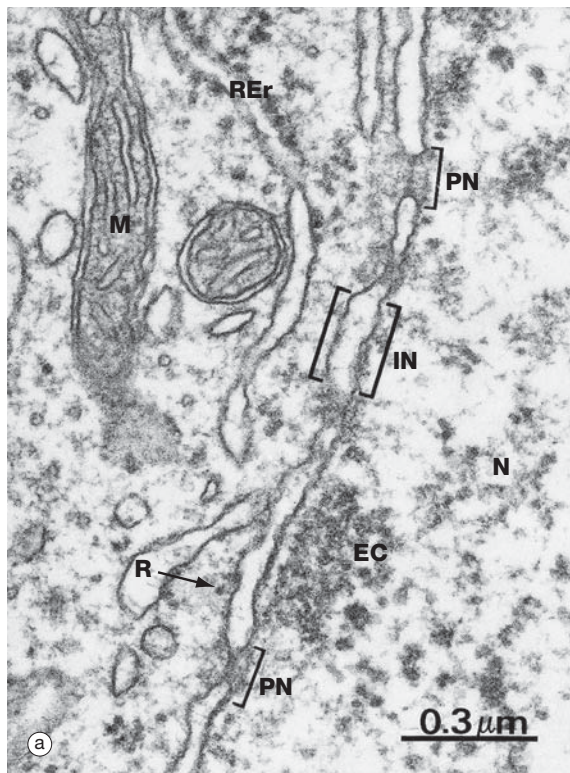


FIG. 1.4 Involucro nucleare (a) ME $\times 59.000$ (b) Preparato per *freeze-etching*, ME a scansione $\times 34.000$

L'**involucro nucleare** IN che avvolge il nucleo N è formato da un doppio strato lipidico separato da uno **spazio perinucleare**. Le membrane nucleari interna ed esterna presentano la tipica struttura a doppio strato fosfolipidico ma contengono proteine integrali differenti. Il doppio strato lipidico esterno è in continuità con il reticolo endoplasmatico rugoso **RER** e, come questo, presenta ribosomi **R** adesi sulla sua faccia citoplasmatica. Lo spazio perinucleare è in continuità con il lume del reticolo endoplasmatico rugoso. Sulla faccia interna della membrana nucleare interna, si trova uno strato elettrondenso di filamenti intermedi, la **lamina nucleare**, costituiti da speciali polipeptidi detti **lamine** che legano le proteine della membrana interna all'**eterocromatina EC**.

L'involucro nucleare possiede numerosi pori (chiamati **pori nucleari PN**) ai margini dei quali le membrane nucleari interna ed esterna sono in continuità. Ogni poro contiene un'elaborata struttura cilindrica formata da più di 50 **nucleoproteine** disposte in modo tale da delimitare un canale centrale del diametro di circa 125 nm; questa struttura prende il nome di **complesso del poro nucleare**. I pori nucleari regolano lo scambio di metaboliti, macromolecole e subunità ribosomali tra il nucleo e il citoplasma. Ioni e piccole molecole diffondono liberamente attraverso il poro nucleare. Molecole più grandi, come l'mRNA che si sposta dal nucleo al citoplasma, e gli istoni, che vanno dal citoplasma al nucleo, si

legano al complesso del poro nucleare grazie a una sequenza target e poi vengono traslocati attraverso il poro mediante un processo dipendente da energia. Si notino i **mitocondri M** nel citoplasma. La Figura (b) mostra un esempio di una tecnica molto usata per lo studio delle membrane cellulari, chiamata "**freeze-etching**". In breve, questo metodo prevede la fissazione del campione per congelamento ultrarapido, in maniera tale che non si formino cristalli di ghiaccio al suo interno. Quindi il campione viene fratturato meccanicamente così da esporre le superfici interne della cellula in punti casuali, secondo linee di frattura che tendono a seguire i piani di minore resistenza del campione. Il dettaglio della superficie di frattura è ottenuto mediante "**etching**", ossia sublimando una parte dell'acqua del campione ancora congelato mediante vuoto spinto. La superficie così scavata viene quindi rivestita da un sottilissimo strato di metallo altamente conduttivo dal punto di vista elettrico, depositato per **sputtering**; la replica così ottenuta della superficie viene quindi recuperata per dissoluzione del campione organico e osservata con il microscopio elettronico a scansione. Il **freeze-etching** fornisce uno strumento per studiare le superfici cellulari interne ad alta risoluzione. In questo preparato, il piano di frattura ha incluso parti dell'involucro nucleare in cui sono chiaramente visibili i pori nucleari **PN**. Si notino anche il contorno della membrana plasmatica **MP** e i mitocondri **M**.

CF centro fibrillare **CFD** componente fibrillare densa **CG** cellula gangliare **E** eucromatina **EC** eterocromatina **G** componente granulare **IN** involucro nucleare **M** mitocondrio **MP** membrana plasmatica **N** nucleo **PN** poro nucleare **R** ribosoma **RER** reticolo endoplasmatico rugoso **SEC** spazio extracellulare **ST** nucleo di una cellula sustentacolare

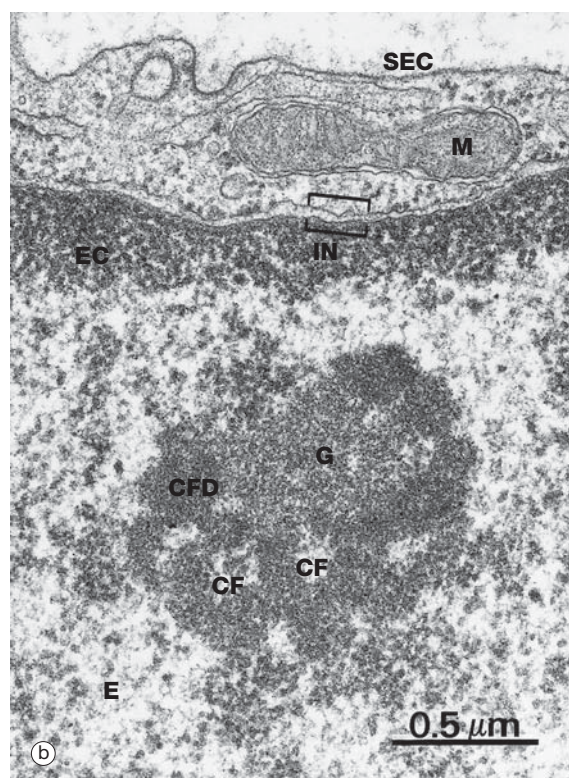
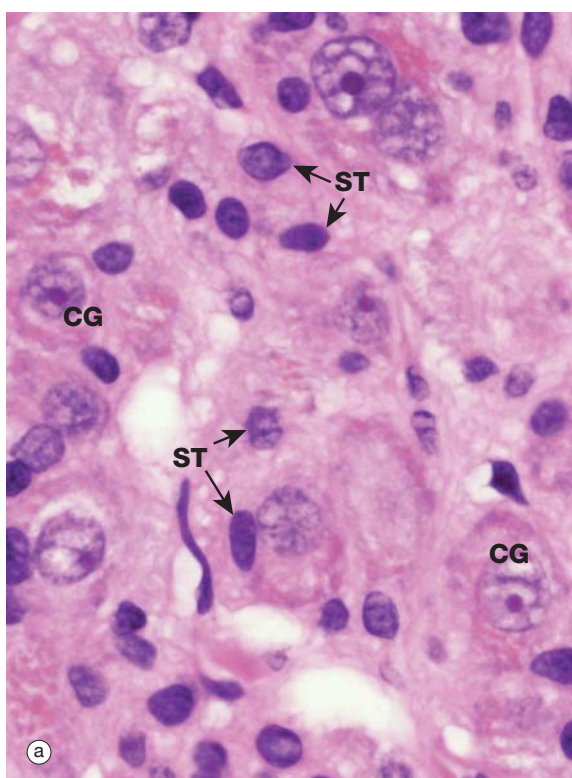


FIG. 1.5 Nucleolo (a) EE (HP) (b) ME $\times 37.000$

Molti nuclei, in particolare quelli delle cellule più attive nella sintesi proteica, contengono una o più strutture dense chiamate **nucleoli**: tali strutture sono i siti di sintesi dell'RNA ribosomale e di assemblaggio dei ribosomi. Più recentemente, il nucleolo è stato visto partecipare al controllo del ciclo cellulare e alla risposta da stress. Il nucleolo può essere molto prominente in alcuni tipi cellulari e molto meno appariscente in altri, come mostrato nella Figura (a), che è un ingrandimento di un ganglio del sistema nervoso autonomo (Figg. 7.21 e 7.22). In questa immagine, i nuclei delle cellule gangliari CG contengono grandi nucleoli, qui colorati dall'ematossilina in un colore violaceo intenso; i nuclei delle cellule sustentacolari ST hanno invece piccoli nuclei con piccoli nucleoli, appena visibili a questo ingrandimento. Inoltre, il nucleolo può cambiare aspetto a seconda dello stato della cellula, cosicché un fibroblasto inattivo ha di solito un nucleolo piccolo, mentre un fibroblasto in fase di attivazione, per esempio nella riparazione di una ferita, ha un nucleolo prominente. Va notato che questa è una fetta sottile di tessuto e che il piano di sezione pertanto non passa attraverso il nucleolo di ogni cellula; è quindi normale osservare alcuni nuclei apparentemente privi di nucleoli.

Il nucleolo non è legato all'involucro nucleare, ma è costituito da un aggregato di geni ribosomali, rRNA appena sintetizzato, proteine ribosomali e ribonucleoproteine. I geni ribosomali si trovano su cinque cromosomi; le regioni cromosomali in cui sono

contenuti questi geni sono chiamate **regioni organizzatrici nucleolari** (o **nucleolar organizer regions, NOR**), in quanto, intorno a esse, si organizza il nucleolo. Le proteine ribosomali vengono sintetizzate nel citoplasma e quindi trasportate nel nucleo dove vengono assemblate assieme all'RNA ribosomale, trascritto nei NOR, a formare le subunità ribosomali. Tali subunità tornano poi nel citoplasma, a costituire i ribosomi completi. La Figura (b) è un'immagine ultrastrutturale ad alto ingrandimento di un tipico nucleolo. I nucleoli hanno un aspetto morfologico abbastanza variabile. In questo esempio, il nucleolo è formato da un reticolo, il **nucleolonema**, costituito da **componenti fibrillari dense CFD** e da **centri fibrillari CF** più pallidi, circondati dalla **componente granulare G**. Le componenti fibrillari rappresentano le sedi di sintesi dell'RNA ribosomale, mentre le componenti granulari costituiscono i siti di assemblaggio dei ribosomi. Nella figura sono da notare, dentro il nucleo, l'eucromatina E e l'eterocromatina EC; quest'ultima si associa strettamente all'involucro nucleare IN. Una sottile rima di citoplasma contenente un mitocondrio M separa il nucleo dallo spazio extracellulare SEC.

[Nel nucleo di alcune cellule in attiva sintesi sono occasionalmente osservabili altre masserelle dense oltre i nucleoli, chiamate **corpi di Cajal** (o **coiled bodies**). Questi organelli subnucleari contengono alte concentrazioni di componenti del complesso di splicing dei geni, per cui si pensa che i corpi di Cajal siano implicati nell'assemblaggio dello spliceosoma. N.d.C.].

SINTESI PROTEICA

Le proteine sono i principali componenti strutturali della cellula; da esse derivano tutte le altre molecole. Il tipo e la quantità di proteine presenti in una cellula determinano la sua attività. Tutte le proteine sono continuamente sostituite in un processo di turnover continuo. Molte cellule sintetizzano anche proteine da secernere fuori dalla cellula; ne sono un esempio gli epitelii ghiandolari e le cellule che sintetizzano le proteine della matrice. La sintesi proteica è, quindi, un'attività continua ed essenziale per tutte le cellule; per alcune di esse è anche la funzione principale.

I principali organelli coinvolti nella sintesi proteica sono il nucleo e i ribosomi. Ogni cellula contiene, all'interno del suo DNA, specifiche sequenze nucleotidiche, chiamate geni, che servono a sintetizzare le varie proteine. L'espressione di una combinazione specifica di proteine è il meccanismo attraverso il quale le cellule del nostro organismo si differenziano. La presenza di una particolare proteina all'interno di una cellula può permettere di distinguere tale cellula da altre simili presenti nello stesso organo (marker cellulare).

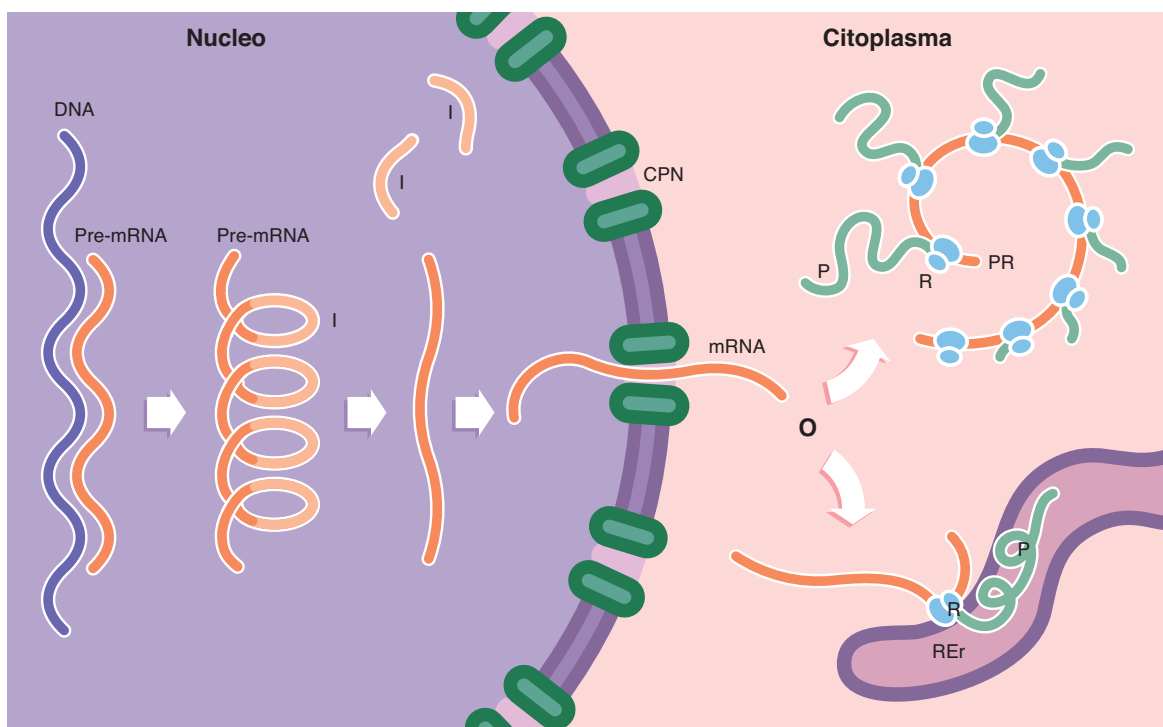


FIG. 1.6 Sintesi e degradazione proteica

La sintesi proteica avviene in diverse fasi. Attraverso un processo noto come *trascrizione*, il DNA di un gene che codifica per una proteina (*DNA stampo* o *templato*) viene copiato interamente (sia le sequenze esoniche sia quelle introniche) in una forma complementare di RNA, il *pre-RNA messaggero* (*pre-mRNA*); esso è un prodotto trascrizionale molto più grande dell'mRNA che deve subire una fase di maturazione che consiste nell'eliminazione o *splicing* delle sequenze non codificanti o *introni I* e nella modificazione delle due estremità 5' e 3'. La fase di splicing avviene a opera di un complesso enzimatico costituito da *piccole molecole di RNA nucleare* (*snRNA*) e proteine; nell'insieme il complesso prende il nome di *spliceosoma*. Lo splicing non è un meccanismo atto alla sola eliminazione degli introni, ma consente anche la produzione di diversi RNA messaggeri (mRNA) a partire da un unico gene, attraverso un processo detto *splicing alternativo*. Tale processo prevede l'eliminazione non solo degli introni, ma anche di alcune sequenze codificanti o esoniche, generando così diverse combinazioni di esoni che producano mRNA differenti e quindi diverse proteine. L'mRNA così ottenuto trasloca nel citoplasma attraverso il poro nucleare. Nel citoplasma, l'mRNA si lega ai *ribosomi R*, organelli che leggono la sequenza dell'mRNA e la convertono in una sequenza specifica di aminoacidi propria di ogni proteina, mediante un processo noto come *traduzione*. I ribosomi sono piccoli organelli citoplasmatici, ognuno dei quali è composto da due subunità di dimensioni e composizione diverse. Ogni subunità è formata da una catena di RNA (*RNA ribosomiale* o *rRNA*) sintetizzata nel nucleolo, a cui si associano proteine specifiche a formare una struttura globulare. I ribosomi si allineano sui filamenti di mRNA così che le molecole di *tRNA* (*transfer RNA*) possano essere portate in posizione e gli aminoacidi da loro trasportati possano essere aggiunti sequenzialmente sulla nascente catena polipeptidica *P*. Alcune proteine ribosomali sono enzimi che promuovono la formazione del legame peptidico tra gli aminoacidi e per questa loro attività catalitica sono dette *ribozimi*. Quindi il codice del DNA viene convertito dapprima in RNA e poi in una specifica proteina. I ribosomi si trovano spesso attaccati alle molecole di mRNA in piccoli aggregati di forma spirale detti *poliribosomi* o *polisomi PR*, formati da

un singolo filamento di mRNA con alcuni ribosomi attaccati lungo tutta la sua lunghezza. Ogni ribosoma in un poliribosoma sintetizza una molecola distinta di proteina. Ribosomi e poliribosomi si possono anche attaccare alla superficie del *reticolo endoplasmatico*. Tale struttura è costituita da una rete interconnessa di tubuli, vescicole e *cisterne* (sacchi appiattiti) che si ramificano in tutto il citoplasma. Gran parte della superficie del reticolo endoplasmatico è punteggiata da ribosomi; da qui il nome di *reticolo endoplasmatico rugoso RER* dato a questa porzione. Le proteine destinate alla secrezione e le proteine lisosomiali sono sintetizzate dai ribosomi sulla superficie del RER e da qui passano, attraverso la membrana, nel lume del RER. Anche le proteine integrali di membrana vengono sintetizzate nel RER e inserite nella membrana in questo compartimento, con la parte extracellulare della proteina che protrude nel lume del RER e la parte intramembranosa tenuta saldamente in posizione da forze di legame idrofobiche. È dentro il RER che le proteine assumono la loro struttura terziaria; qui si formano anche i ponti disolfuro e hanno luogo le prime tappe di glicosilazione. Al contrario, sui ribosomi liberi, vengono sintetizzate le proteine destinate al citoplasma, al nucleo e ai mitocondri attraverso un processo di smistamento proteico definito *via citoplasmatica*. Le proteine che intraprendono la via citoplasmatica possono assumere la loro conformazione tridimensionale prima della traslocazione o nell'organulo bersaglio.

Proteine alterate o non più utili alla cellula vengono riconosciute e degradate attraverso un meccanismo finemente regolato, diverso da quello attuato dalle proteasi presenti nei lisosomi, e attuato da un complesso multiproteico detto *proteosoma*. In questo processo, alla proteina che deve essere degradata viene legata covalentemente una serie di molecole di *ubiquitina*, un piccolo polipeptide di 76 aminoacidi largamente diffuso e conservato in tutte le cellule eucariotiche. L'attacco della catena di ubiquitina richiede la partecipazione di tre enzimi distinti: E1 (enzima attivatore dell'ubiquitina), E2 (enzima coniugatore dell'ubiquitina) ed E3 (enzima ubiquitina-proteina ligasi). La proteina poliubiquitinata viene riconosciuta dal proteosoma che rimuove la catena di ubiquitine e degrada, grazie alla sua attività catalitica, la proteina in piccoli peptidi.

CPN complesso del poro nucleare **DNA** acido desossiribonucleico **I** introne **IN** involucro nucleare **M** mitocondrio **mRNA** RNA messaggero **N** nucleo **Nu** nucleolo **P** catena polipeptidica **PR** poliribosoma **pre-mRNA** pre-RNA messaggero **R** ribosoma **REr** reticolo endoplasmatico rugoso

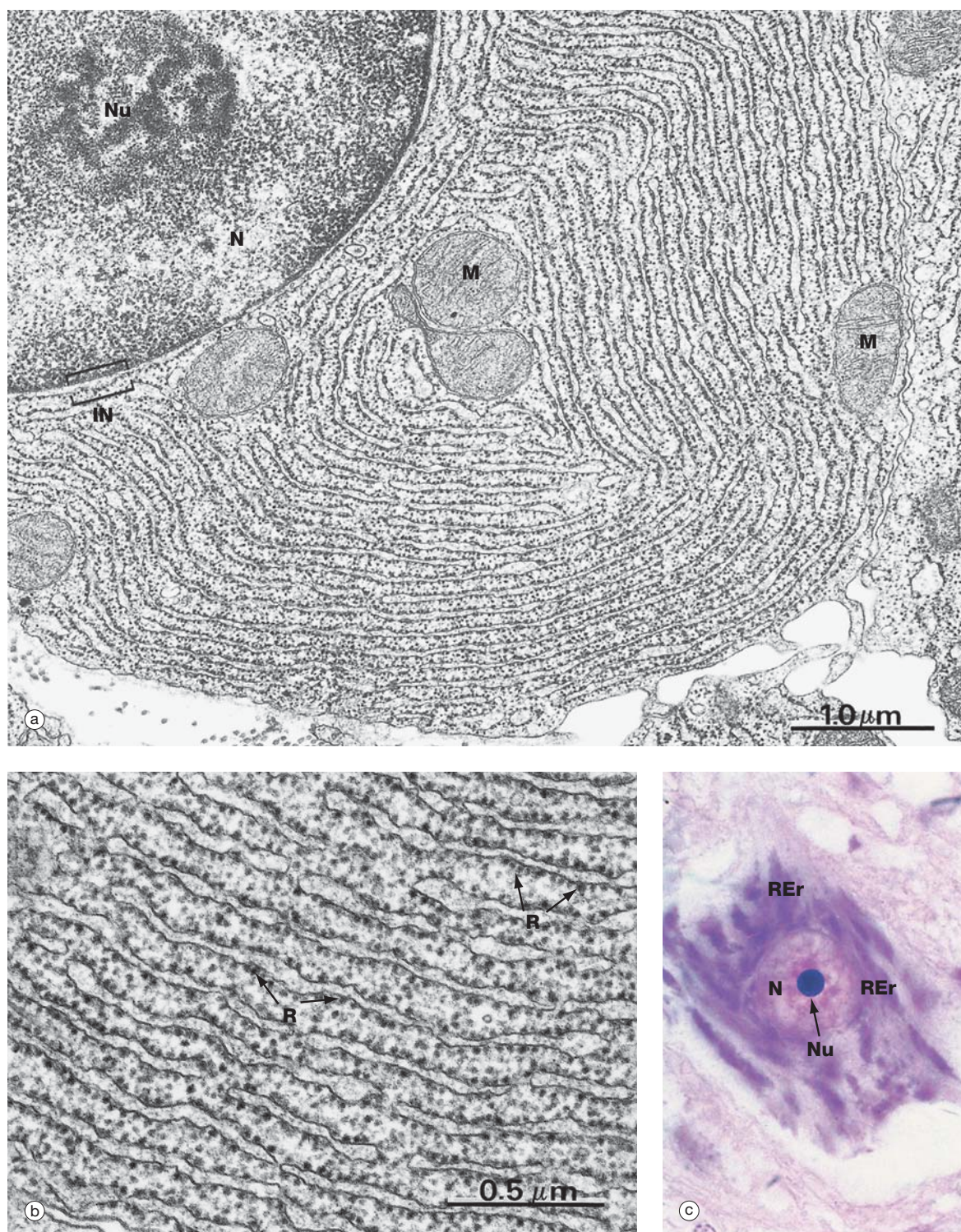


FIG. 1.7 Reticolo endoplasmatico rugoso (a) ME $\times 23.000$ (b) ME $\times 50.000$ (c) Cresil violetto (HP)

Queste immagini mostrano il reticolo endoplasmatico rugoso **RER** in una cellula specializzata per la sintesi e la secrezione proteica; in tali cellule, il RER è abbondante e forma pile di cisterne appiattite e strettamente ammassate.

Nella Figura (a), le dimensioni del RER possono essere confrontate con quelle dei mitocondri **M** e del nucleo **N**. Il nucleo contiene tipicamente un nucleolo **Nu** prominente. Notare anche la stretta associazione tra il RER e la membrana esterna dell'involucro nucleare **IN** con cui è in continuità. La cromatina nel nucleo è prevalentemente dispersa (eucromatina), come accade quando vi è intensa sintesi proteica.

La Figura (b) mostra una parte del RER ad alto ingrandimento. La sua superficie è rivestita da numerosi ribosomi, che sono anche presenti, come ribosomi liberi, nel citoplasma che si interpongono fra le cisterne e i tubuli. La Figura (c) mostra una cellula nervosa ad alto ingrandimento colorata con il cresil violetto, un colorante basofilo. Gli addensamenti fortemente basofili presenti nel citoplasma rappresentano aree di abbondante reticolo endoplasmatico rugoso e ribosomi liberi, chiamate *sostanza tigroide* o *di Nissl*. La forma dell'involucro nucleare è ben definita dalla basofilia dei numerosi ribosomi che punteggiano la sua superficie esterna. Il nucleo contiene un nucleolo prominente **Nu** e cromatina dispersa.

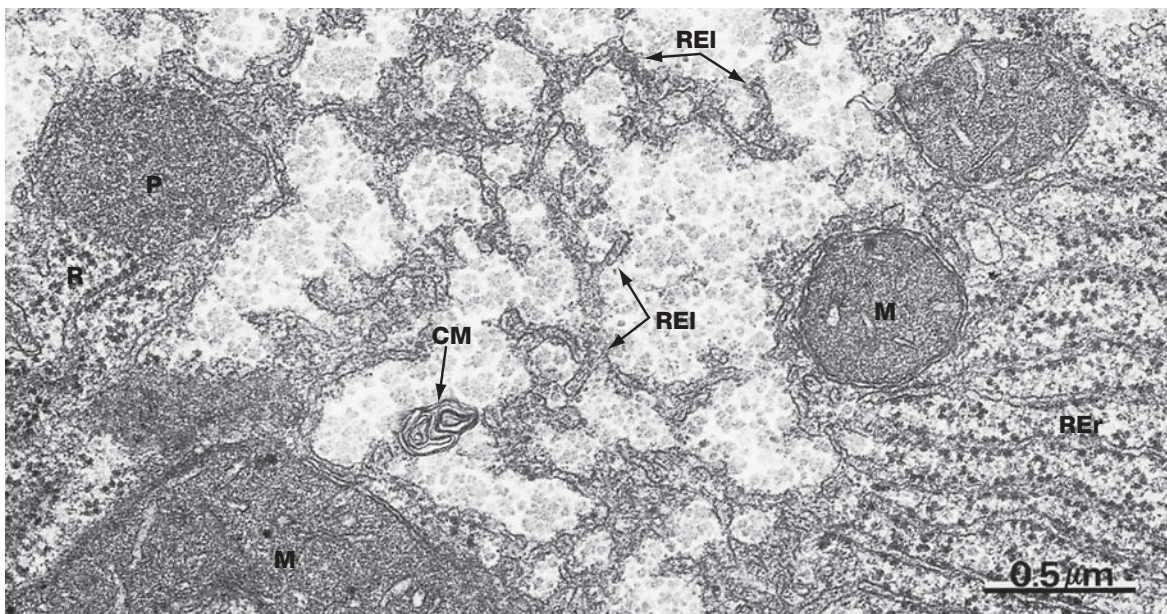


FIG. 1.8 Reticolo endoplasmatico liscio ME $\times 40.000$

Il *reticolo endoplasmatico liscio* REI è in continuità con il RER e ha un aspetto simile a quest'ultimo, tranne che per il fatto che non presenta ribosomi sulla sua superficie. Le funzioni principali del REI sono la biosintesi lipidica e la sintesi/riparazione delle membrane dei vari compartimenti intracellulari. Acidi grassi e trigliceridi sono per la maggior parte sintetizzati nel citoplasma, mentre colesterolo e fosfolipidi vengono sintetizzati nel REI. Nelle cellule epatiche, il REI prende parte attiva nella sintesi e degradazione del glicogeno; in tali cellule esso è ricco di citocromo p450 (CYP), emoproteina che svolge importanti funzioni nella detossificazione di prodotti nocivi del metabolismo, farmaci e alcol. Il REI è anche implicato nell'immagazzinamento e rilascio di ioni calcio, in base alle esigenze della cellula. Il calcio svolge un importante ruolo nella segnalazione intracellulare quale messaggero secondario. In risposta a segnali extracellulari, infatti, gli ioni calcio operano come trasmettitori di segnale coordinando un'ampia gamma di risposte cellulari, tra le quali il movimento cellulare,

l'attivazione di proteinchinasi, la liberazione di neurotrasmettitori nelle sinapsi dei neuroni e la contrazione muscolare. Nelle cellule muscolari, il REI è chiamato *reticolo sarcoplasmatico* ed è implicato nell'accumulo e poi nel rilascio di ioni calcio che attivano il meccanismo della contrazione (si veda Cap. 6).

La maggior parte delle cellule contiene solo pochi elementi del REI, sparsi fra gli altri organelli. In alcune cellule, il REI è invece molto più prominente, come gli epatociti e le cellule specializzate nella sintesi di ormoni steroidei, quali le cellule parenchimali endocrine delle ghiandole surrenali e delle gonadi. In questa immagine di un epatocita si può osservare come la maggior parte degli elementi membranosi appartenga al REI che è in continuità con il reticolo endoplasmatico rugoso RER in basso a destra. Questo campo include anche diversi mitocondri M, un perossisoma P (Fig. 1.24), ribosomi liberi, poliribosomi R e un corpo mielinico CM costituito da residui di membrana (Fig. 1.11).

IMPORT, EXPORT E TRASPORTO INTRACELLULARE

Il trasporto di molecole dentro e fuori la cellula e all'interno della cellula stessa implica l'attraversamento di membrane. La membrana plasmatica controlla l'interazione della cellula con l'ambiente esterno, mediando lo scambio di nutrienti e prodotti di scarto, il rilascio di secrezioni e l'attivazione di meccanismi di segnalazione. Le membrane lipidiche inoltre separano compartimenti diversi all'interno della cellula, molti dei quali contengono funzioni metaboliche incompatibili con quelle degli altri compartimenti cellulari.

Informazioni provenienti dall'ambiente esterno devono attraversare la membrana plasmatica per comunicare alla cellula quando dividersi, rilasciare secrezioni, contrarsi o eseguire altre funzioni. Le tecniche di marcatura con radioisotopi possono essere usate per seguire i processi di trasporto attivo. Il trasporto di un grosso cargo, comunque, è facilmente osservabile al microscopio (Fig. 1.12). I processi di trasporto sia attivo sia passivo possono essere potenziati se la superficie della membrana plasmatica viene aumentata da ripiegamenti o estensioni, come capita per esempio nelle cellule assorbenti che rivestono l'intestino tenue (Fig. 1.2).

I principali meccanismi con cui vengono trasportate molecole e informazioni attraverso le membrane lipidiche sono riassunti qui di seguito. Come sopra menzionato, i meccanismi di trasporto possono anche essere usati per trasferire molecole all'interno della cellula in maniera da attivare recettori intracellulari.

- **Diffusione semplice.** Questo tipo di trasporto dipende dalla presenza di un gradiente di concentrazione tra l'esterno e l'interno della membrana e anche dalle dimensioni e dalla carica elettrica della molecola. Le membrane fosfolipidiche sono permeabili a molecole liposolubili (come gli ormoni steroidei e l'etanolo) e a piccole molecole polari non caricate elettricamente (come l'acqua e alcuni gas, quali l'ossigeno e l'anidride carbonica). La membrana plasmatica è invece impermeabile a piccole molecole polari caricate elettricamente a pH fisiologico e a grandi molecole idrofile; queste molecole possono attraversare la membrana solo attraverso sistemi di trasporto dedicati.
- **Diffusione facilitata.** Anche questo tipo di trasporto è mosso da gradienti di concentrazione; esso coinvolge molecole idrofile, come gli ioni, il glucosio e gli aminoacidi. Data la struttura lipidica della membrana plasmatica, trasportare molecole idrofile richiede la presenza di proteine specializzate che attraversino il bilayer fosfolipidico. Ci sono due tipi di trasportatori: (i) *proteine canali*, che formano canali idrofilici attraverso i quali molecole selezionate o ioni possono passare seguendo un gradiente di concentrazione o di carica elettrica, e (ii) *trasportatori di membrana*, che legano una particolare molecola o ione e vanno quindi incontro a una modificazione conformazionale che muove tale substrato sul lato opposto della mem-

CM corpo mielinico costituito da residui di membrana **M** mitocondri **P** perossisoma **R** ribosomi **REI** reticolo endoplasmatico liscio **RER** reticolo endoplasmatico rugoso

brana. Le acquaporine sono un esempio di proteine canali: esse permettono il trasporto regolato dell'acqua attraverso la membrana plasmatica di alcuni epitelii. Vi sono molte differenti acquaporine, alcune delle quali altamente selettive per le sole molecole d'acqua, mentre altre consentono il passaggio non solo di acqua ma anche di altre piccole molecole, come l'urea o il glicerolo. Alcuni pori per la diffusione facilitata sono ad apertura selettiva, il che significa che il poro è aperto o chiuso a seconda dello stato funzionale della cellula; per esempio è aperto solo a un particolare pH.

- **Trasporto attivo.** Questa modalità di trasporto non solo è indipendente dai gradienti di concentrazione, ma di solito agisce in senso contrario a tali gradienti. Un esempio classico di trasporto attivo è quello del sodio fuori dalla cellula per mezzo della pompa Na^+/K^+ (o $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPasi}$), un complesso proteico transmembrana che scambia ioni sodio (che escono dalla cellula) con ioni potassio (che entrano nella cellula). Durante tale trasporto, l'ATP viene idrolizzato ad ADP per generare l'energia necessaria.
- **Endocitosi.** L'internalizzazione nella cellula di macromolecole, sostanze particolate e, in alcuni casi, di intere cellule o microrganismi è mediato da un meccanismo specializzato chiamato endocitosi. In questo processo, il materiale viene progressivamente racchiuso da una porzione della membrana plasmatica che si invagina nella cellula e quindi si stacca dalla membrana plasmatica per formare una vescicola che diffonde poi nel citoplasma. [Sulla base del materiale internalizzato e della dimensione delle vescicole è possibile distinguere due tipi fondamentali di endocitosi. Il primo tipo viene chiamato *fagocitosi* e implica l'internalizzazione di grandi particelle, come cellule o microrganismi, in vescicole di grosse dimensioni (con diametro >250 nm); questo processo dipende dall'assemblaggio di actina e avviene in cellule specializzate. Il secondo tipo di endocitosi, la *pinocitosi*, riguarda l'internalizzazione di soluti e fluidi attraverso piccole vescicole (<100 nm di diametro); tale processo è la più comune forma di endocitosi e avviene in tutte le cellule. In base al macchinario utilizzato, si possono distinguere due forme principali di pinocitosi: (i) l'*endocitosi mediata da clatrina* (*clathrin-mediated endocytosis*, CME) che rappresenta un 60-85% del turnover della membrana plasmatica e implica la formazione di vescicole tramite il reclutamento di un rivestimento proteico di clatrina; (ii) l'*endocitosi indipendente da clatrina* (*clathrin-independent endocytosis*, CIE) che rappresenta un 15-40% degli eventi di internalizzazione della membrana plasmatica e dipende da un macchinario eterogeneo, ancora non ben caratterizzato, localizzato nei *lipid rafts*. Di tutte queste forme di endocitosi, la più comune e meglio studiata è l'endocitosi mediata da clatrina. Essa inizia con il reclutamento della clatrina stessa alla membrana attraverso speciali proteine adattatrici (o *proteine accessorie dell'endocitosi*) capaci di legare clatrina e di riconoscere contemporaneamente una varietà di segnali sia proteici sia lipidici presenti sulla membrana plasmatica. Il riarrangiamento del rivestimento di clatrina e l'azione di speciali *bending proteins* provocano l'invaginazione della membrana a formare una fossetta ammantata. Tale fossetta viene trasformata in una vescicola dall'azione della GTPasi dinamina, che separa la fossetta dalla membrana plasmatica attraverso un processo chiamato *fissione*. La vescicola ammantata libera viene quindi denudata del suo rivestimento proteico e solitamente si fonde con un compartimento membranoso intracellulare chiamato endosoma. N.d.C.J. Nelle Figure 1.9-1.12 sono riportati importanti esempi di endocitosi, esocitosi e trasporto intracellulare di vescicole.
- **Segnalazione transmembrana.** Le molecole che servono ad attivare un segnale all'interno della cellula solitamente si legano e attivano specifici recettori presenti nella membrana plasmatica, che hanno funzione enzimatica. L'enzima attivato modifica alcune molecole citoplasmatiche, che trasferiscono a loro volta il messaggio a specifici siti all'interno della cellula. I recettori possono anche essere citoplasmatici, come avviene per i recettori degli ormoni steroidei e tiroidei, i cui ligandi attraversano la membrana plasmatica per diffusione, essendo liposolubili. Un altro metodo di trasferimento di informazioni fra cellula e cellula è quello che avviene tra i neuroni, o tra una cellula nervosa e una cellula effettrice non neuronale, come le cellule muscolari. Una sostanza chimica, chiamata neurotrasmettitore, viene rilasciata dalla cellula nervosa e si lega a uno specifico recettore posto su un altro neurone o su una cellula effettrice; tale recettore può essere un canale ionico che in presenza del neurotrasmettitore si apre, facendo fluire ioni mono- o bivalenti che modificano il potenziale di membrana, oppure può essere un recettore metabotropico che fa segnalazione intracellulare. In entrambi i casi, una specifica interazione chimica viene tradotta/convertita in una serie di segnali di vario tipo; tale processo viene chiamato *trasduzione del segnale*.



Recettori anormali possono causare malattie

Farmaci che modificano la funzione dei recettori di membrana sono utilizzati nel trattamento di alcune malattie. Un esempio di questo tipo è l'uso di un anticorpo monoclonale (un tipo di farmaco biologico) chiamato **trastuzumab** (commercializzato con il nome di **herceptin**) nel trattamento di alcuni tipi di tumore del seno. Il normale epitelio mammario esprime, sulla membrana plasmatica, una molecola di segnalazione chiamata **recettore per il fattore di crescita epidermico umano di tipo 2 (Her2)**, noto anche come **Her2/neu** o **ErbB-2**. Her2 (insieme con Her1, Her3 e Her4) regola la crescita e la sopravvivenza delle cellule normali dell'epitelio mammario. Her2 è una proteina transmembrana con tre domini funzionali: una porzione recettoriale extracellulare che non lega un ligando ignoto, una componente transmembrana idrofobica e un dominio enzimatico intracellulare, di tipo tirosino-chinasico, che passa il segnale all'interno della cellula. Quando si verifica il legame del ligando a Her1, Her3 e Her4, questi vengono attivati e possono eterodimerizzare con Her2; questo evento attiva i siti catalitici tirosino-chinasici dei vari Her che transfosforilano gli Her stessi in una serie di tirosine critiche della loro porzione intracitoplasmatica. I residui fosforilati degli Her costituiscono altrettanti siti di attacco per una serie di interattori, che servono non solo a estendere l'attività biologica degli Her ma

anche a regolare il traffico intracellulare. Her2 attiva le seguenti principali vie di segnalazione: (i) *mitogen-activated protein kinase* (MAPK); (ii) *phosphoinositide 3-kinase* (PI3K/Akt); (iii) *phospholipase C γ* ; (iv) *protein kinase C* (PKC); (v) *signal transducer and activator of transcription* (STAT). Il principale effetto biologico dell'attivazione di queste vie di segnalazione è un forte stimolo alla proliferazione e alla sopravvivenza delle cellule in cui la segnalazione di Her2 è attiva.

In circa il 20-30% dei tumori al seno c'è **amplificazione del gene Her2**, cioè è presente più di una coppia del gene stesso nelle cellule neoplastiche. Questa mutazione porta all'espressione di un abnorme numero di molecole di Her2 sulla superficie cellulare, che è uno dei meccanismi che concorre alla crescita incontrollata delle cellule dell'epitelio mammario per formare un tumore. L'eccessiva espressione di Her2 può essere rilevata mediante varie tecniche (Fig. 1.9 e e-Fig. 1.1). Pazienti con tumori che sovraesprimono Her2 sono trattati con farmaci biologici come il trastuzumab, un anticorpo monoclonale che si lega al dominio extracellulare di Her2 e ne blocca l'attivazione. Così l'effetto proliferativo di Her2 nelle cellule tumorali è bloccato e il paziente ha un miglior controllo della neoplasia che si riflette con un aumentato tempo di sopravvivenza.

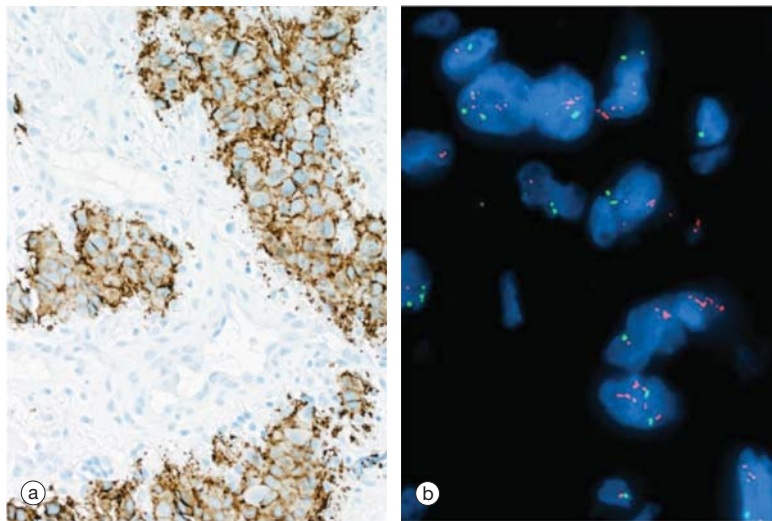


FIG. 1.9 Metodiche per visualizzare l'amplificazione di *HER2* (a) Immunoistochimica per Her2, (B) Ibridazione in situ fluorescente per HER2 (HP)

La Figura 1.9a mostra cellule maligne di un cancro al seno che esprimono Her2 in quanto positive all'analisi **immunoistochimica** contro Her2. I principi di questa tecnica sono delineati nell'Appendice 2. La proteina sovraespressa è presente sulla superficie cellulare e quindi è visibile una forte colorazione marrone della membrana che rivela l'espressione di tale recettore, come si può osservare in questo campione. Si noti che il nucleo non è colorato.

La positività immunoistochimica viene tipicamente validata, nei casi limite, attraverso la **tecnica di ibridazione *in situ***, utilizzata per dimostrare l'amplificazione del gene *HER2* nel nucleo (Fig. 1.9b). I nuclei delle cellule cancerogene sono colorati di blu. Il gene bersaglio mostra normalmente un singolo segnale arancione e verde, ma qui sono visibili segnali multipli in ogni nucleo, indicando l'amplificazione del gene *HER2*.

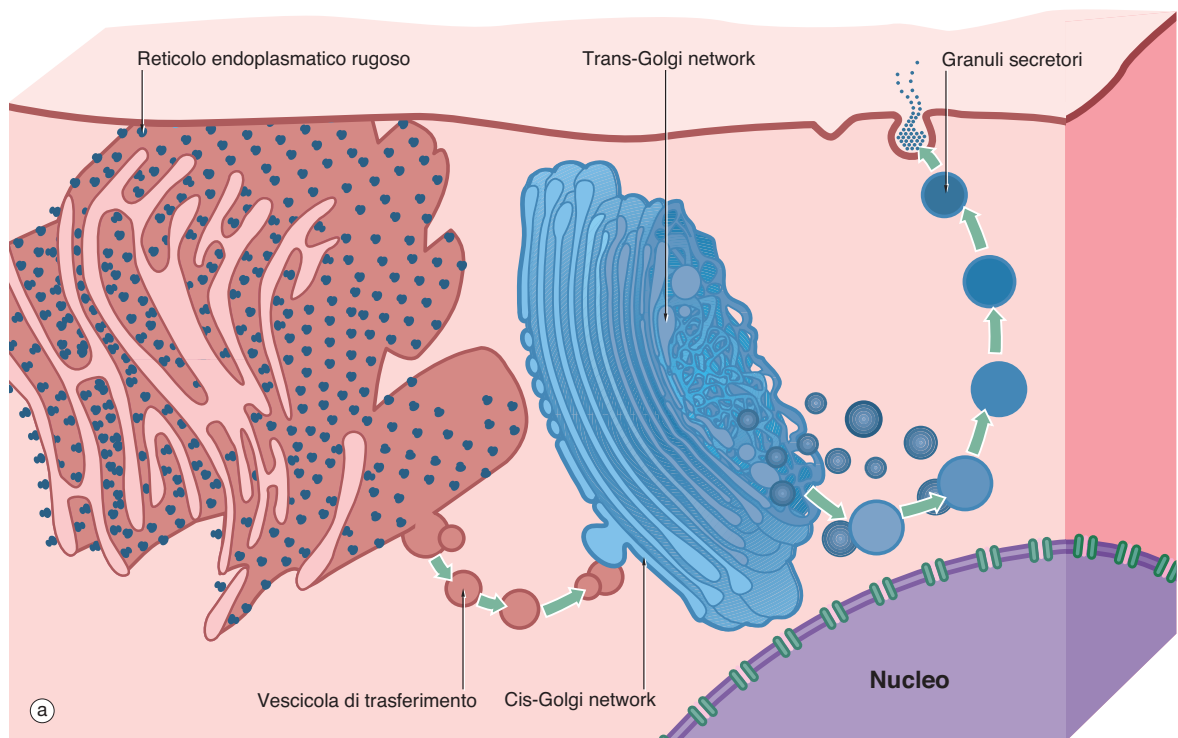


FIG. 1.10 Apparato di Golgi [immagini (b)-(e) a fronte] (a) Disegno schematico (b) ME $\times 30.000$ (c) EE (HP) (d) Ematossilina ferrica (HP) (e) EE (HP)

Nel disegno sono illustrate le principali caratteristiche strutturali dell'**apparato** o **complesso di Golgi**, il principale organello cellulare deputato alla glicosilazione proteica e lipidica così come alla sintesi di glicosaminoglicani per la matrice extracellulare; in tale disegno sono anche riassunti i meccanismi con cui i prodotti di secrezione vengono impacchettati nelle vescicole secretorie. Una cellula può contenere uno o più apparati di Golgi e questi possono disgregarsi e riformarsi durante le diverse fasi del ciclo cellulare o i diversi stati fisiologici della cellula. L'apparato di Golgi è costituito da 4-6 cisterne membranose a forma di piatto concavo, impilate le une sulle altre. Le cisterne più esterne prendono la forma di una rete di

tubuli chiamata **trans-Golgi network (TGN)**. Le proteine sintetizzate nel RER vengono inglobate in vescicole ammantate che gemmano da questo compartimento di membrana (Fig. 1.10); la proteina di rivestimento in questo caso è **COP II (coat protein complex II)**. Appena le vescicole hanno gemmato dal RER, il rivestimento di COP II si disassembla e le proteine che lo compongono vengono riciclate. All'arrivo alla faccia convessa dell'apparato di Golgi (o **cis-Golgi network**), le vescicole provenienti dal RER si fondono con la membrana. Nell'apparato di Golgi, la glicosilazione delle proteine, iniziata nel RER, viene completata dall'aggiunta sequenziale di residui glicidici; terminata questa operazione, le proteine vengono impac-

(segue) ►

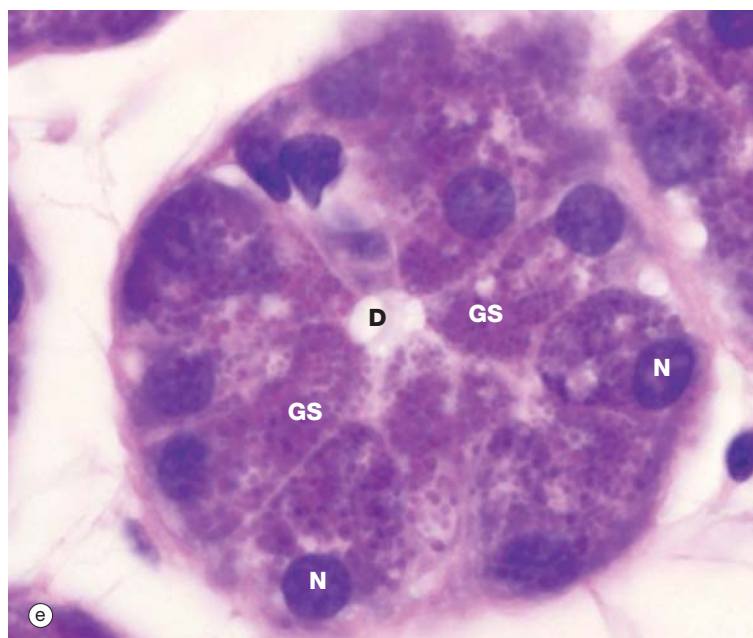
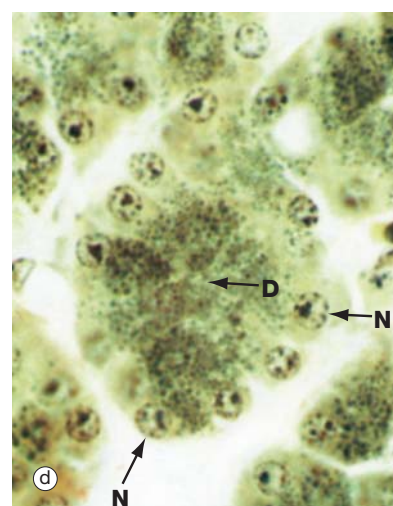
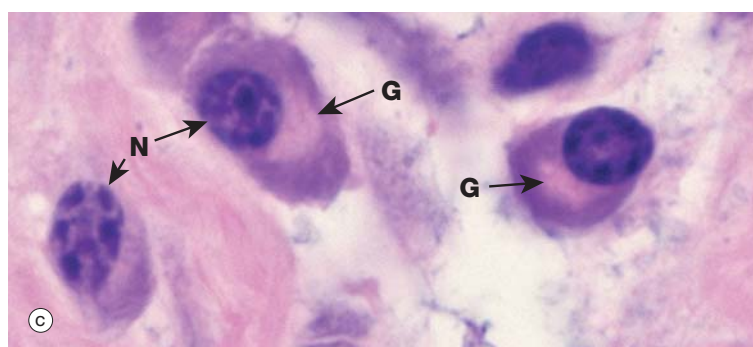
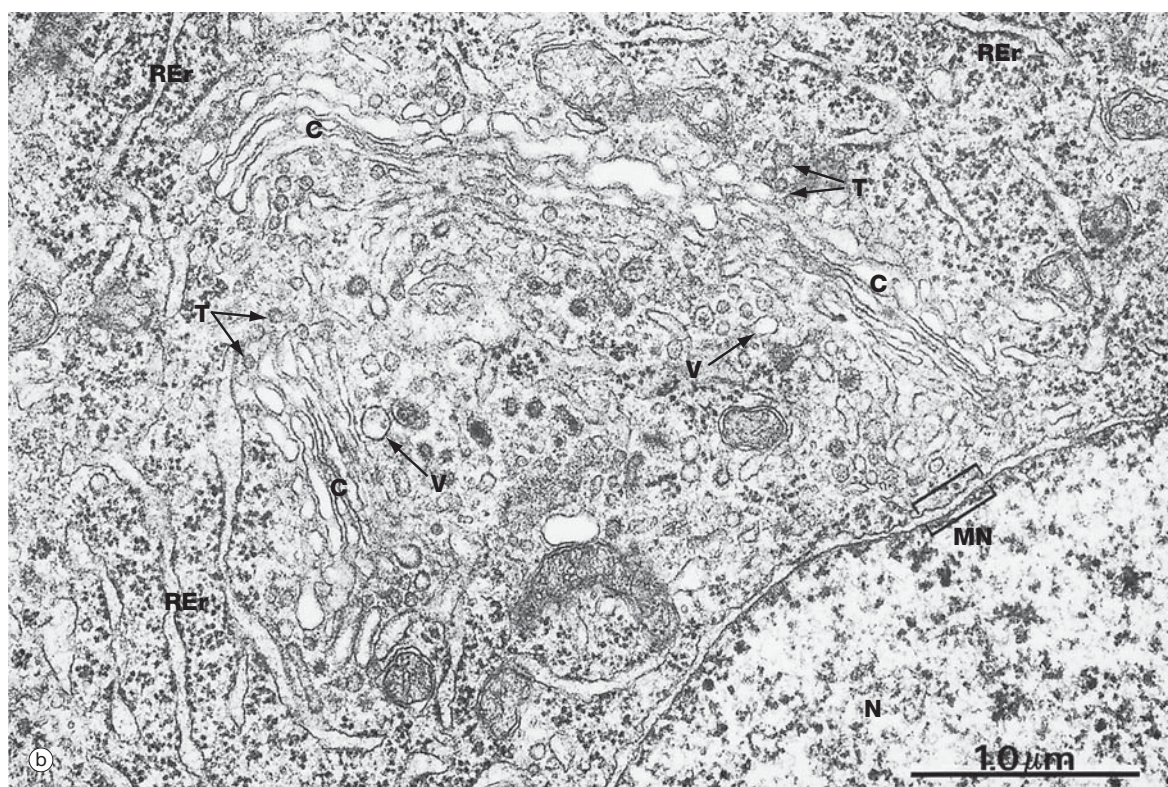


FIG. 1.10 Apparato di Golgi [immagine (a) e testo a fronte] (a) Disegno schematico (b) ME $\times 30.000$ (c) EE (HP) (d) Ematossilina ferrica (HP) (e) EE (HP)

C cisterne dell'apparato di Golgi **D** dotto centrale **G** apparato di Golgi **GS** granuli secretori **MN** membrana nucleare **N** nucleo **REr** reticolo endoplasmatico rugoso **T** vescicole di trasferimento **V** vescicole

(seguito) ▼

chettate per il trasporto nella loro destinazione finale. Le modificazioni maturative delle proteine avvengono in maniera sequenziale nell'apparato di Golgi: gli enzimi responsabili delle prime modificazioni oligosaccaridiche si trovano nella porzione *cis* dell'apparato di Golgi, mentre le glicosilazioni finali avvengono nella sua porzione *trans*. Vi sono due teorie per spiegare come vengono trasportate le proteine attraverso l'apparato di Golgi durante il loro processo maturativo. La teoria classica (*modello del trasporto vescicolare*) postula che l'apparato di Golgi sia una struttura relativamente statica in cui gli enzimi che agiscono sequenzialmente sulle proteine sono immobilizzati in una zona specifica dell'apparato di Golgi; le proteine che devono essere modificate vengono quindi trasportate da una cisterna all'altra (procedendo in senso *cis-trans*) mediante vescicole che gemmano rivestite da COP I (*coat protein complex I*). Un continuo flusso retrogrado di vescicole mantiene l'omeostasi di membrana dell'apparato di Golgi. In alternativa (*modello della maturazione delle cisterne*), l'apparato di Golgi viene visto come una struttura altamente dinamica, in cui sono le cisterne stesse a muoversi continuamente dalla zona *cis* a quella *trans*, maturando progressivamente. La caratteristica distribuzione sequenziale degli enzimi nelle varie cisterne è ottenuta mediante un continuo flusso retrogrado di vescicole ammantate che collezionano gli enzimi (perlopiù molecole transmembrana) di un compartimento per darli al compartimento precedente, che quindi matura; questo processo è ripetuto continuamente cosicché la posizione dei vari enzimi sembra fissa. È possibile che entrambi i meccanismi operino congiuntamente o che prevalga l'uno o l'altro in determinate situazioni. All'arrivo alla superficie concava dell'apparato di Golgi (*trans-Golgi network*), le proteine sono accuratamente selezionate e quindi distribuite nelle vescicole secretorie o in vescicole destinate a specifici compartimenti membranosi intracellulari, come i lisosomi. La distribuzione del *cargo* in specifiche vescicole dipende dal fatto che esso interagisce con specifiche *molecole adattatrici*, che a loro volta si legano a specifiche proteine del rivestimento, a formare un complesso che segrega in vescicole differenti, cargo differenti. Le vescicole secretorie si addensano sempre di più man mano che migrano nel citoplasma a formare granuli secretori maturi, il cui contenuto viene

poi liberato nello spazio extracellulare per esocitosi. Un gruppo di proteine di membrana dette *SNARE* regola l'attracco e la fusione delle vescicole alle loro membrane bersaglio.

La Figura (b) illustra un tipico apparato di Golgi particolarmente ben sviluppato; vescicole di trasferimento *T* ed elementi del reticolo endoplasmatico rugoso *REr* sono visibili vicino alla faccia di formazione (o faccia *cis*) dell'apparato di Golgi. Si possono osservare vescicole più grandi *V* nella concavità della faccia di maturazione (o faccia *trans*), alcune delle quali sembrano gemmare dalle cisterne di Golgi *C*; tali vescicole possono essere granuli secretori o lisosomi. Notare la vicinanza dell'apparato di Golgi al nucleo *N*; la membrana nucleare *MN* è ben visibile in questa figura.

La Figura (c) mostra un gruppo di plasmacellule presenti in un tessuto colpito da un processo infiammatorio; queste cellule sono responsabili della produzione di anticorpi e fanno parte del sistema immunitario (si veda Cap. 11). L'abbondante *REr* è fortemente basofilo, mentre il prodotto di secrezione (ossia, l'anticorpo) è acidofilo; la colorazione del citoplasma è quindi violacea, in quanto dovuta sia all'eosina sia all'ematossilina. L'apparato di Golgi *G* appare come un'area pallida (immagine in negativo) adiacente al nucleo *N*, in quanto le membrane lipidiche che lo compongono vengono estratte dai solventi organici usati per l'allestimento del campione. Il metodo di colorazione nella Figura (d) (ematossilina ferrica) viene utilizzato per evidenziare i granuli secretori presenti nelle cellule del pancreas, che contengono enzimi digestivi. Le cellule secretorie sono raggruppate attorno a un piccolo dotto centrale *D* e i granuli secretori, che sono colorati in nero, si concentrano nella porzione luminale della cellula. I nuclei *N* delle cellule secretorie hanno cromatina dispersa, grossi nucleoli e sono disposti alla periferia dell'unità secernente.

La Figura (e) mostra un'unità secretoria simile a quella pancreatica, presente in una ghiandola salivare. I granuli secretori *GS*, contenenti enzimi (chiamati anche *granuli di zimogeno*), sono fortemente tingibili in colore violaceo e sono localizzati nella porzione citoplasmatica apicale, in prossimità del dotto centrale. Al contrario, i nuclei *N* sono spinti verso la porzione basale della cellula da questi granuli secretori.

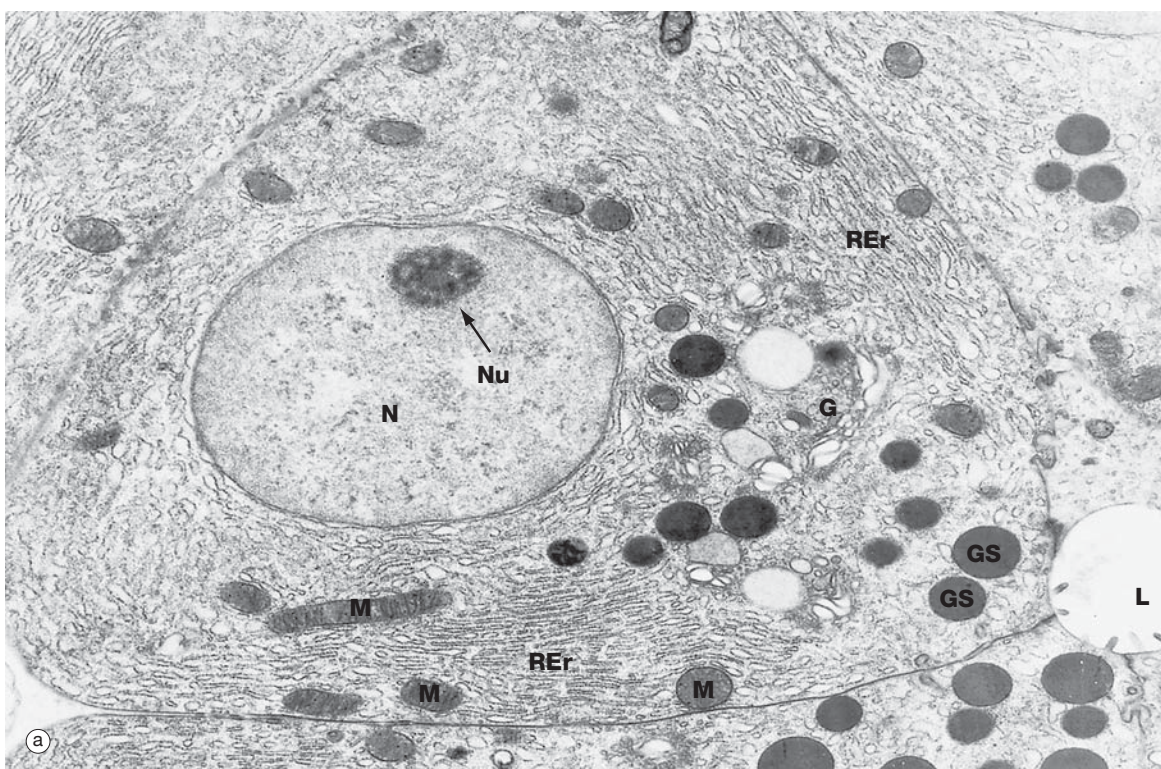


FIG. 1.11 Esocitosi [immagine (b) e testo a fronte] (a) ME $\times 14.000$ (b) ME $\times 41.500$

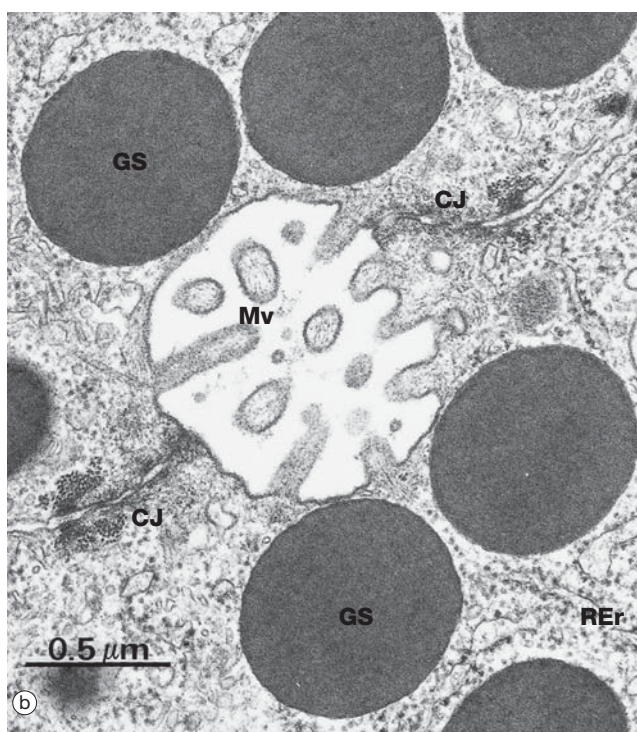


FIG. 1.11 Esocitosi [immagine (a) a fronte]
(a) ME $\times 14.000$ (b) ME $\times 41.500$

Le Figure (a) e (b) mostrano tipiche cellule secernenti del pancreas; tali cellule sintetizzano enzimi digestivi. L'esocitosi può essere continua (*esocitosi* o *secrezione costitutiva*) o dipendente da segnale (*esocitosi* o *secrezione regolata*), come in questo caso, dove gli enzimi digestivi vengono secreti in risposta all'arrivo di cibo nel duodeno. Nella Figura (a), il nucleo N ha cromatina dispersa e un nucleolo prominente Nu. Il reticolo endoplasmatico rugoso REr e l'apparato di Golgi G sono prominenti. I mitocondri M forniscono energia. Piccole vescicole secretorie possono lasciare l'apparato di Golgi come vescicole rivestite da clatrina (come in questo caso); questo rivestimento proteico viene rapidamente perduto per permettere la fusione e la formazione di vescicole di dimensioni maggiori. Il movimento delle vescicole all'interno della cellula o verso la membrana plasmatica dipende dai microtubuli e dalle proteine a essi associate (*microtubule associated proteins*, MAP). I granuli secretori GS diventano sempre più elettron-densi man mano che si avvicinano alla porzione apicale della cellula secernente, in questo caso alla porzione di membrana rivolta verso il lume ghiandolare L. All'apice della cellula, alcuni granuli secretori si attaccano alla membrana plasmatica; in seguito ad attivazione degli SNARE; questi granuli adesi alla membrana plasmatica si fondono con essa e riversano il loro contenuto nel lume dei dotti escretori attraverso un processo chiamato *esocitosi*. La vescicola secretoria vuota viene quindi riciclata per endocitosi, solitamente mediata da clatrina. La Figura (b) mostra i granuli secretori GS che si avvicinano agli apici di due cellule secretorie pancreatiche e che convergono su un piccolo dotto escretore la cui parete è formata dalle membrane plasmatiche di cellule adiacenti attaccate assieme da *complessi giunzionali* CJ (Fig. 5.9). Corti microvilli Mv protrudono nel dotto escretore.

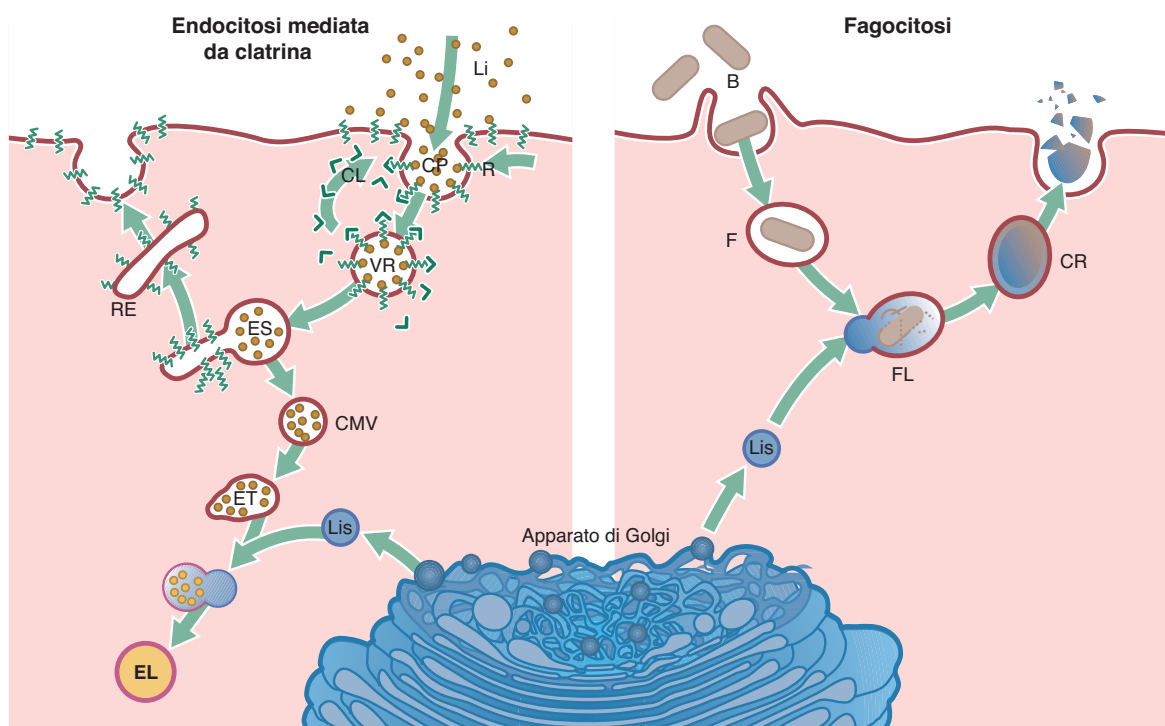


FIG. 1.12 Endocitosi

Le cellule internalizzano materiale particolato e grosse macromolecole attraverso diversi processi, complessivamente noti come *endocitosi*. Il primo meccanismo di endocitosi scoperto è stato la *fagocitosi*, che viene utilizzata dalle cellule del sistema immunitario per ingerire e distruggere organismi patogeni. L'endocitosi mediata da clatrina è sicuramente il tipo di endocitosi più diffusa e

studiata. Gli altri tipi di endocitosi non dipendenti da clatrina, inclusa la macropinocitosi, che cattura in modo non specifico materiale extracellulare, e l'endocitosi mediata da caveolina, sono stati finora poco studiati e non se ne conosce in dettaglio né il macchinario né l'importanza per la cellula. Lo schema riassume le principali tappe dell'endocitosi mediata da clatrina e della fagocitosi.

(segue) ►

B batterio **CJ** complesso giunzionale **CL** clatrina **CMV** corpi multivescicolari **CP** coated pit **CR** corpo residuo **EL** endolisosoma **ES** endosomi di smistamento **ET** endosoma tardivo **F** fagosoma **FL** fagolisosoma **G** apparato di Golgi **GS** granuli secretori **L** lume ghiandolare **Li** ligando **Lis** lisosoma **M** mitocondrio **Mv** microvilli **N** nucleo **Nu** nucleolo **R** recettore **RE** endosoma di riciclo **REr** reticolo endoplasmatico rugoso **VR** vescicola rivestita o ammantata

(seguito) ▼

Endocitosi mediata da clatrina

Questo tipo di endocitosi coincide in gran parte con l'endocitosi mediata da recettore, che viene ampiamente utilizzata per la captazione di molecole specifiche, chiamate ligandi **Li**, che si legano a recettori **R** della superficie cellulare. Un esempio ben noto è il recettore per le lipoproteine a bassa densità (*low-density lipoprotein*, LDL). I recettori sono proteine intrinseche di membrana con domini extracellulari e intracitoplasmatici. Il processo di endocitosi mediata da recettore inizia con il reclutamento di specifici complessi adattatori (più comunemente il complesso tetrameroico AP-2) alla membrana; ciò dipende principalmente dalle modificazioni post-traduzionali del recettore in seguito all'interazione con il ligando (essenzialmente fosforilazione e ubiquitinazione). I complessi adattatori reclutano a loro volta clatrina **CL** a formare un lattice piatto. Un riarrangiamento del lattice di clatrina e dei lipidi di membrana, coadiuvato da specifiche proteine contenenti domini BAR che piegano la membrana, provoca un progressivo incurvamento della membrana plasmatica a formare un'invaginazione rivestita da clatrina con uno stretto collo (chiamata *coated pit* CP). La fissione di questa invaginazione a formare una vescicola rivestita da clatrina (VR) richiede l'azione di dinamina, una GTPasi ad alto peso molecolare. Le vescicole libere sono infine denudate del rivestimento di clatrina per permetterne il riciclo e/o la fusione con altri compartimenti di membrana, principalmente l'endosoma. Gli **endosomi di smistamento** (*sorting endosomes*) **ES** sono strutture tubulo-vescicolari dinamiche, generalmente presenti vicino alla membrana plasmatica. Il pH acido nel lume degli endosomi di smistamento stimola la dissociazione del recettore dal ligando; la maggior parte delle membrane e dei recettori viene quindi trasportata agli endosomi di riciclaggio **ER** e da qui ritorna alla superficie cellulare.

Alcuni recettori di membrana possono passare attraverso questo intero ciclo per 300 volte e l'espressione di recettori sulla superficie cellulare può essere regolata da questo meccanismo. La parte rimanente dell'endosoma di smistamento, che contiene molecole destinate alla degradazione, internalizza tali molecole in vescicole, tramite un complesso macchinario molecolare (chiamato complesso ESCRT) a formare i corpi multivescicolari **CMV**. I CMV vengono spostati dal citoscheletro microtubulare verso l'apparato di

Golgi dove diventano **endosomi tardivi** **ET** che si fondono quindi con i lisosomi **L** a formare gli **endolisosomi** **EL**. Gli enzimi degradativi nei lisosomi digeriscono la componente proteica, liberando eventuali lipidi che diffondono attraverso la membrana di questo organello.

Le vescicole che lasciano l'endosoma di smistamento possono anche migrare verso altri domini di membrana, come per esempio la porzione basale della membrana plasmatica di una cellula epiteliale. Lì, la vescicola si fonde con la membrana plasmatica, rilasciando il suo contenuto nello spazio extracellulare; questo processo è chiamato **transcitosi** ed è importante, per esempio, nel tratto gastrointestinale per l'assorbimento di alcuni nutrienti dal cibo.

Fagocitosi

I **batteri B** sono catturati da fagociti professionisti, come i granulociti neutrofili e i monociti, attraverso il processo della fagocitosi. Questo processo inizia con il legame del batterio a specifici recettori della superficie cellulare, che induce la polimerizzazione del citoscheletro di actina e la conseguente formazione di pseudopodi che avvolgono tutto il microorganismo; quando gli pseudopodi si fondono fra loro, lasciano il batterio inglobato in una grande vescicola, chiamata **fagosoma F**, circondata da membrana, dentro il citoplasma.

A questo punto ha luogo il riciclo di parte della membrana del fagosoma e dei recettori verso la membrana plasmatica. Il fagosoma residuo quindi si fonde a un lisosoma **Lis** per diventare un **fagolisosoma FL** (talvolta chiamato **lisosoma secondario**) e il batterio è soggetto all'attività tossica degli enzimi lisosomiali. Questi enzimi degradano anche le componenti dei batteri morti, che possono essere liberate nel citoplasma, espulse dalla cellula per esocitosi o rimanere nel citoplasma come **corpo residuo CR**.

I lisosomi sono anche coinvolti nella degradazione degli organelli citoplasmatici, molti dei quali presentano una vita media breve e quindi vengono continuamente sostituiti; questa funzione lisosomale è definita **autofagia**. La maggior parte dei prodotti di degradazione dell'autofagocitosi si accumula e diventa indistinguibile dai corpi residui dell'endocitosi. Con l'avanzare dell'età, i corpi residui si accumulano nelle cellule di alcuni tessuti e appaiono come granuli marroni di **lipofusina** (Fig. 1.25).

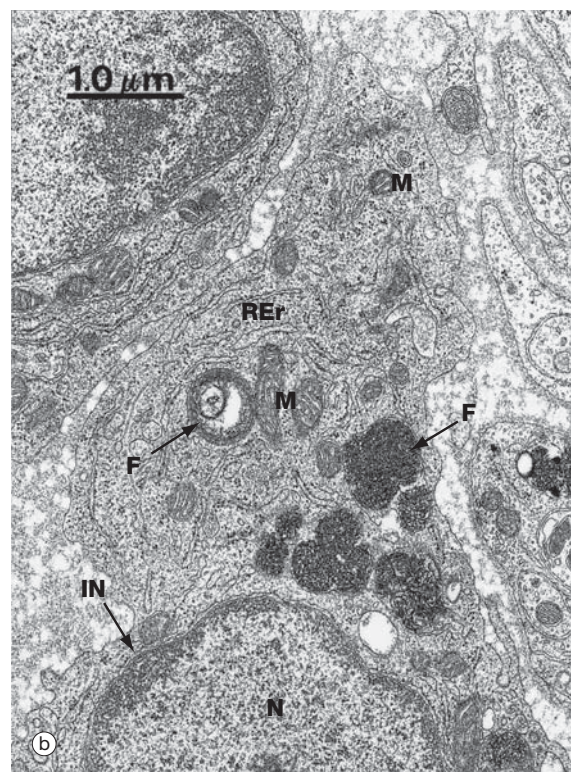
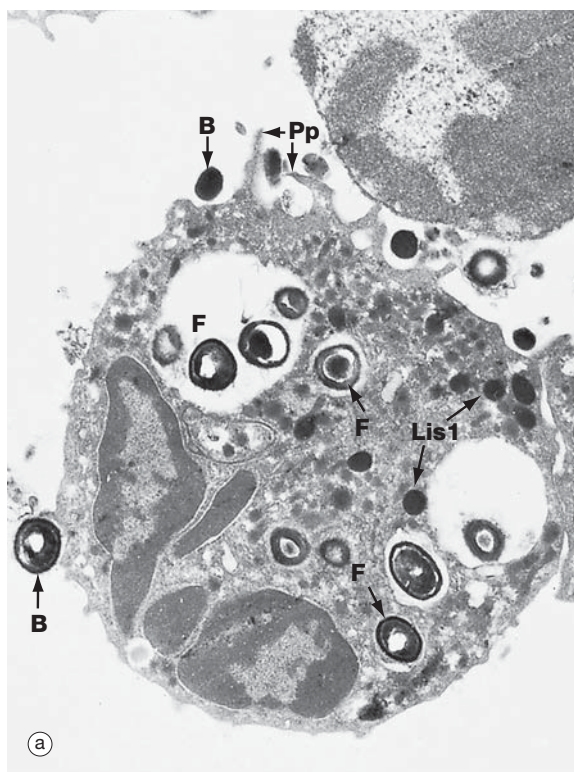


FIG. 1.13 Fagocitosi [immagine (c) e testo a fronte] (a) ME $\times 11.750$ (b) ME $\times 14.000$ (c) EE (HP)

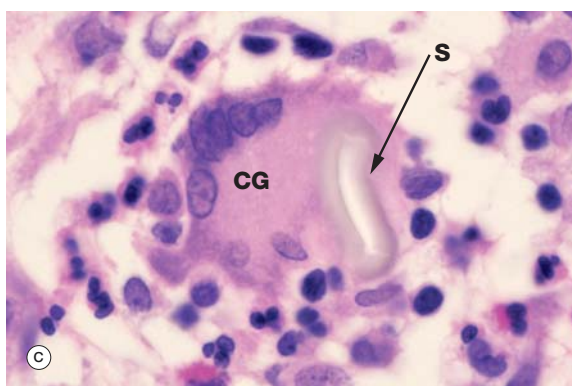


FIG. 1.13 Fagocitosi [immagine (a) a fronte]
(a) ME $\times 11.750$ (b) ME $\times 14.000$ (c) EE (HP)

La Figura (a) mostra un globulo bianco specializzato nella fagocitosi; più precisamente, si tratta di un granulocita neutrofilo (si veda Cap. 3) impegnato nel processo di cattura e distruzione di alcuni batteri **B**. Si noti il modo in cui gli pseudopodi **Pp** cir-

dano i batteri prima di inglobarli. Si osservino anche i fagosomi **F**, contenenti i batteri in vari stadi di degradazione. Sono anche visibili parecchi lisosomi primari **Lis1**.

La Figura (b) è un'immagine ad alto ingrandimento dei fagosomi **F** presenti nel citoplasma di un macrofago, un altro fagocita professionista presente nella maggior parte dei tessuti del nostro organismo. I grossi fagosomi dalla forma irregolare contengono frammenti di membrana plasmatica e altri componenti cellulari derivanti da cellule danneggiate. Questo macrofago sta compiendo la sua funzione di "cellula spazzino", fagocitando le cellule morte e danneggiate e riciclando i loro componenti. Si notino anche il nucleo **N** con il suo involucro **IN** ben visibile, i mitocondri **M** e il reticolo endoplasmatico rugoso **REr**.

Nella Figura (c) sono mostrati macrofagi in un sito infiammatorio, in questo caso una cicatrice in fase di guarigione. In particolare, è possibile osservare al centro del campo di osservazione una **cellula multinucleata gigante CG**, avente origine dalla fusione di più macrofagi, che è stata colta nell'atto di fagocitare un frammento di materiale di sutura usato per chiudere la ferita. Il frammento di materiale di sutura **S** è facilmente visibile come una struttura di forma allungata, non colorata, all'interno della cellula gigante. È comune riscontrare larghi aggregati di cellule giganti multinucleate in caso di granulomi da corpo estraneo.

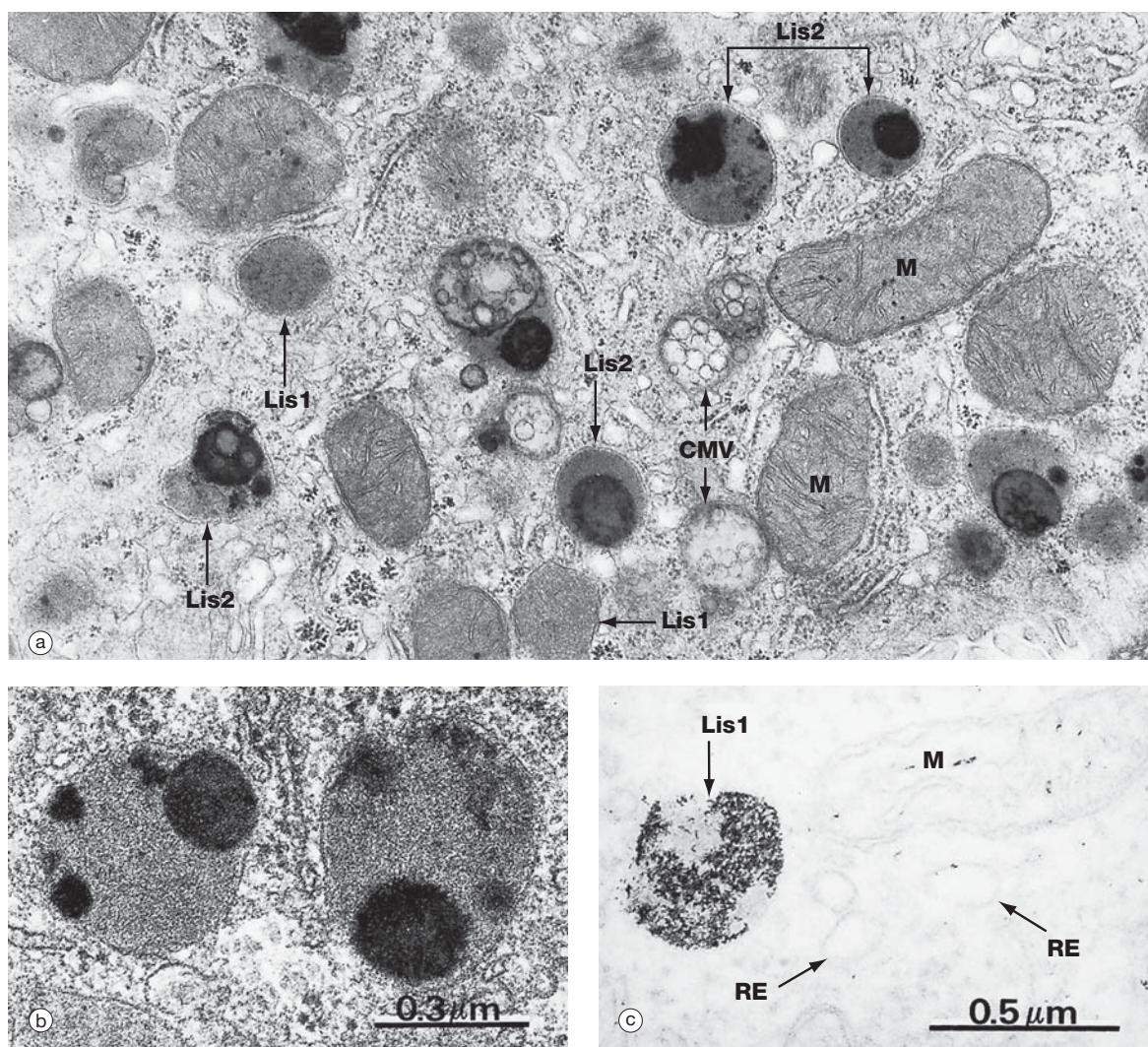


FIG. 1.14 Lisosomi (a) ME $\times 27.000$ (b) ME $\times 60.000$ (c) Istochimica per la fosfatasi acida, ME $\times 50.000$

I lisosomi sono organelli citoplasmatici deputati alla degradazione di materiale esogeno o endogeno. Il materiale che deve essere degradato dagli enzimi litici lisosomali può giungere ai lisosomi at-

traverso fagosomi, vescicole pinocitotiche, endocitotiche o autofagosomi. Questi ultimi sono vacuoli che si originano durante l'**autofagia**, un processo catabolico che prevede la degradazione, da

(segue) ►

B batterio **CG** cellula gigante multinucleata **CMV** corpo multivesicolare **F** fagosoma **IN** involucro nucleare **Lis1** lisosoma primario **Lis2** lisosoma secondario **M** mitocondrio **N** nucleo **Pp** pseudopodio **RE** reticolo endoplasmatico **REr** reticolo endoplasmatico rugoso **S** materiale di sutura

(seguito) ▼

parte della cellula, di costituenti appartenenti al suo stesso citoplasma. Queste immagini al microscopio elettronico mostrano le caratteristiche morfologiche tipiche dei lisosomi e dei corpi residui. L'immagine (a) mostra parte del citoplasma di una cellula del parenchima epatico (epatocita). I **lisosomi primari Lis1** variano notevolmente in dimensione e aspetto ma sono facilmente riconosciuti come organelli circondati da membrana e contenenti materiale granulare amorfo, non particolarmente elettrondenso. I **lisosomi secondari Lis2** sono ancora più variabili nell'aspetto, ma sono riconoscibili per il loro contenuto particolare, parte del quale è estremamente elettrondenso. La distinzione tra corpi residui e lisosomi secondari è spesso difficile. Sono anche visibili in questa figura endosomi tardivi o corpi multivescicolari **CMV**. Si notino le dimensioni dei lisosomi rispetto a quelle dei mitocondri **M**.

La Figura (b) mostra due lisosomi secondari a maggior ingrandimento, in modo tale da mettere in evidenza la membrana che li delimita. Entrambi contengono materiale particolare elettrondenso e materiale granulare amorfo. Dal punto di vista biochimico, gli enzimi contenuti nei lisosomi sono da considerarsi

delle idrolasi acide, in quanto attivi a $\text{pH} < 5$; essi comprendono più di 40 enzimi degradativi diversi, tra cui proteasi, lipasi e nucleasi. Il basso pH di attivazione di questi enzimi è da considerarsi come un meccanismo protettivo in quanto, se tali enzimi fuoriescono dai lisosomi nel citoplasma, il pH prossimo alla neutralità di questo compartimento cellulare ne impedisce o riduce enormemente l'attività catalitica.

I metodi istochimici possono essere usati per mostrare specifiche attività enzimatiche all'interno delle cellule e, pertanto, possono essere usati per localizzare gli organelli che contengono questi enzimi.

Tale metodica è stata utilizzata nella Figura (c) per dimostrare la presenza della fosfatasi acida, un tipico enzima lisosomale; l'attività enzimatica è rappresentata dal precipitato elettrondenso all'interno del lisosoma. Con questa tecnica, gli altri organelli non sono contrastati sufficientemente da essere ben visibili; si possono tuttavia identificare il contorno di un mitocondrio **M** e alcune strutture tubulo-vescicolari appartenenti al reticolo endoplasmatico **RE**.

Espedienti usati dai microrganismi per penetrare nella cellula

La fagocitosi è un processo fondamentale della **risposta immunitaria innata** (si veda Cap. 11). La fagocitosi dei batteri porta, nella maggior parte dei casi, alla loro lisi a opera degli enzimi presenti nel **fagolisosoma**. Tuttavia, alcuni microrganismi patogeni hanno imparato a usare il meccanismo della fagocitosi a loro vantaggio per riuscire a entrare nella cellula e crescere in un ambiente protetto e isolato dagli altri elementi del sistema immunitario. Questi patogeni hanno sviluppato ingegnosi meccanismi per evitare la morte e la distruzione nei fagolisosomi. La *Listeria monocytogenes*, una rara causa di tossinfezione alimentare, è capace di dissolvere la membrana dei fagosomi e penetrare così nel citoplasma del macrofago. Il *Mycobacterium tuberculosis* può

prevenire la fusione del fagosoma con un lisosoma e quindi vivere e crescere tranquillamente nel fagosoma. I fagosomi dei macrofagi contenenti la *Legionella pneumophila*, principale agente patogeno della legionellosi, non si fondono con i lisosomi, ma vengono circondati da vescicole provenienti dal reticolo endoplasmatico generando così la loro nicchia replicativa. Molti virus sfruttano il meccanismo dell'endocitosi mediata da recettore per infettare le cellule. Ne sono un esempio i poliovirus e gli adenovirus: una volta entrati per endocitosi e raggiunto il compartimento endosomale, questi virus utilizzano le proteine del loro rivestimento (capside) in maniera da forare l'endosoma e permettere così al loro genoma di penetrare nel citoplasma.

CITOSCHELETRO E MOTILITÀ CELLULARE

Ogni cellula ha una struttura di supporto interna formata da filamenti proteici disposti in varie direzioni a costituire il cosiddetto **citoscheletro**, che mantiene la forma e la polarità della cellula. Tuttavia, la membrana cellulare e gli organelli intracellulari non sono strutture statiche ma sono in costante movimento per consentire i processi metabolici, di trasporto e di segnalazione, che avvengono incessantemente nella cellula. Alcune cellule (globuli bianchi) possono spostarsi con un movimento ameboide; altre cellule hanno particolari specializzazioni della loro membrana plasmatica dotate di mobilità propria, quali le cilia e i flagelli (si veda Cap. 5); altre cellule (cellule muscolari) sono altamente specializzate per la contrazione. Inoltre, la divisione cellulare è un processo che presuppone la ridistribuzione dei componenti cellulari.

Il citoscheletro ha le caratteristiche necessarie affinché la cellula possa operare tutti questi processi dinamici. Il citoscheletro di ogni cellula contiene tre tipi differenti di filamenti citoscheletrici: **microfilamenti** costituiti da polimeri di actina, **microtubuli** formati da polimeri di un eterodimero di α - e β -tubulina, **filamenti intermedi** composti da polimeri di proteine fibrose. Una moltitudine di proteine accessorie lega fra sé i vari elementi del citoscheletro e ne coordina la funzione con altri processi fondamentali della cellula, quali la divisione cellulare, il traffico di membrana e la segnalazione intracellulare. Tra queste abbiamo le **proteine motrici**: **miosina**, **dineina** e **kinesina**. Le miosine sono responsabili del movimento lungo i filamenti di actina e sono quindi coinvolte in tutti i fenomeni di contrattilità cellulare. Le dineine si dividono in dineine assonemiche e dineine citoplasmatiche e sono coinvolte nel trasporto retrogrado (ossia verso l'interno della cellula); le prime determinano lo scivolamento dei microtubuli di cilia e flagelli, le seconde sono coinvolte nel trasporto lungo i microtubuli

degli organuli citoplasmatici, supportando così il traffico vescicolare intracellulare e la localizzazione dell'apparato di Golgi. Le kinesine, come le dineine, promuovono il trasporto degli organelli lungo i microtubuli ma in senso prevalentemente anterogrado (cioè verso la periferia cellulare).

- **Microfilamenti.** I microfilamenti sono costituiti da actina; il loro nome deriva dal fatto che sono i filamenti più sottili nel citoplasma, con un diametro di circa 6-9 nm. Ogni microfilamento (chiamato **F-actina** o **actina filamentosa**) consiste di due (sub)filamenti (o **protofilamenti**) formati da monomeri globulari di actina (o **G-actina**) intrecciati fra loro come una fune. Il processo di polimerizzazione dell'actina è un fenomeno reversibile in cui i monomeri di G-actina possono sia associarsi sia dissociarsi dalle estremità dei filamenti di actina. L'aggiunta delle unità monomeriche avviene con maggiore efficienza all'estremità del protofilamento denominata "a barbigli" o "positiva" ("**barbed end**" o "+"); l'estremità opposta è denominata "appuntita" o "negativa" ("**pointed end**" o "-"). Questa polarità è importante sia per la direzione di crescita del microfilamento sia per il movimento della miosina, che avviene sempre verso l'estremità positiva del filamento di actina. Ogni monomero di actina porta legata a sé una molecola di ATP, che viene idrolizzata dopo l'incorporazione di G-actina nel protofilamento in crescita. Il processo di polimerizzazione dell'actina prevede una prima fase di **nucleazione** che porta alla formazione di un trimero di G-actina; a questa fase segue poi l'**allungamento** del filamento di actina per addizione di monomeri all'estremità positiva. Il processo di allungamento all'estremità a barbigli avviene inizialmente con una velocità circa dieci volte maggiore rispetto all'estremità appuntita fino al raggiungimento di un

equilibrio *dinamico (steady state)* tra il numero di monomeri dissociati all'estremità negativa e il numero di monomeri associati all'estremità positiva. Durante questa fase di equilibrio dinamico tra i processi di polimerizzazione e di depolimerizzazione la lunghezza del filamento resta costante e si assiste al fenomeno del "treadmilling", processo mediante il quale il monomero associato all'estremità positiva sembra scorrere lungo il filamento fino a raggiungere l'estremità negativa dalla quale si dissocia. I filamenti di actina sono meglio evidenziabili nelle cellule del muscolo scheletrico, in quanto essi si dispongono stabilmente in fasci assieme alla miosina. Si ha contrazione quando i filamenti di actina e i filamenti di miosina scivolano gli uni sugli altri a causa del riarrangiamento dei legami intermolecolari, favorito dal rilascio di energia da parte di molecole di ATP idrolizzate dalla miosina (si veda Cap. 6). Anche le cellule non muscolari contengono filamenti di actina nel citoplasma e sono in grado di polimerizzare rapidamente G-actina a formare microfilamenti, che altrettanto rapidamente poi si dissociano, fornendo così un'impalcatura strutturale dinamica alla cellula per una varietà di funzioni che non sono solo la contrazione e la motilità cellulare. Alcune specializzazioni della membrana plasmatica, quali i *microvilli* (Fig. 5.14), contengono un asse di filamenti di actina. Subito al di sotto della membrana plasmatica, vi è un'intricata rete di filamenti di actina che interagisce con alcune proteine transmembrana ed è stabilizzata da proteine adattatrici specifiche (tra cui la filamina) in maniera tale da formare un'impalcatura di sostegno detta *citomatrice di actina*; tale impalcatura protegge la cellula dal deformarsi a seguito dell'applicazione di forze esterne e può essere riarrangiata per permettere specifici cambiamenti di forma della cellula. L'actina gioca un ruolo centrale nella motilità cellulare, nella pinocitosi e nella fagocitosi. L'actina può anche legarsi a proteine intrinseche della membrana plasmatica, immobilizzandole in un determinato dominio della superficie cellulare.

- **Filamenti intermedi.** I filamenti intermedi sono, come dice il nome stesso, di dimensioni intermedie tra i microfilamenti e i microtubuli, avendo un diametro di circa 10 nm al microscopio elettronico, indipendentemente dalla loro composizione proteica. Questi filamenti hanno una funzione prevalentemente strutturale e consistono di polimeri proteici che si autoassemblano in direzione parallela a formare dimeri; questi si associano in direzione antiparallela e lievemente sfasata a costituire tetrameri. Più tetrameri si associano infine fra loro a formare l'elica di 10 nm del filamento intermedio maturo. I filamenti intermedi sono strutture dinamiche che si assemblano e disassemblano continuamente; essi sono stabilizzati da proteine che si associano a loro transitoriamente e che servono anche a connetterli ad altri filamenti o strutture cellulari, quali i microfilamenti e specifiche giunzioni adesive (desmosomi ed emidesmosomi), rispettivamente. Nei vertebrati, i filamenti intermedi possono essere classificati in cinque famiglie di geni che codificano, nell'uomo, per più di 65 differenti proteine. Questa grande varietà riflette il fatto che i filamenti intermedi sono espressi in maniera specifica nei vari tipi cellulari. Per questa ragione, i filamenti intermedi vengono comunemente utilizzati nella diagnostica anatomico-patologica come marcatori di differenzia-

mento cellulare; in particolare, il loro studio permette di identificarne l'origine e il grado di differenziamento (e quindi di aggressività) delle varie neoplasie. Ai *filamenti intermedi di tipo I e di tipo II* appartengono rispettivamente le *cheratine acide* e le *cheratine basiche*; tali proteine sono espresse specificatamente negli epiteli di rivestimento e ghiandolari. I filamenti intermedi di *tipo III* sono costituiti da un'ampia famiglia di geni, espressi in differenti tipi cellulari; a tale gruppo appartengono la *vimentina* (espressa nei fibroblasti, nelle cellule endoteliali e nei leucociti), la *desmina* (espressa nelle cellule muscolari), la *proteina gliale fibrillare acida* (espressa negli astrociti) e la *periferina* (espressa da alcuni neuroni del sistema nervoso periferico). Il *tipo IV* comprende essenzialmente tre proteine espresse da tutti i neuroni, chiamate rispettivamente *neurofilamento H, M e L* in ordine decrescente di peso molecolare. Al *tipo V* appartengono le *lamine*, ossia le proteine che formano il citoscheletro del nucleo.

- **Microtubuli.** I microtubuli hanno un diametro di circa 25 nm al microscopio elettronico e sono pertanto i filamenti del citoscheletro con diametro più grande [(condividono però lo stesso diametro con i filamenti di miosina del muscolo striato); N.d.C.]. Come i microfilamenti, i microtubuli sono costituiti da subunità proteiche globulari che possono essere prontamente assemblate e disassemblate in risposta alle necessità della cellula. I microtubuli si formano per la polimerizzazione spontanea di due subunità proteiche, α - e β -*tubulina*, che inizialmente si aggregano a formare un eterodimero. Quest'ultimo si unisce quindi ad altri eterodimeri a formare una lunga elica di 13 subunità di tubulina per giro che contorna una cavità centrale apparentemente vuota; tale elica costituisce il microtubulo maturo. I microtubuli si formano a partire da un *centro organizzatore dei microtubuli (microtubule organizing center, MTOC)*, posto vicino al nucleo e formato da due centrioli e dalla matrice che li circonda (chiamata *centromatrice*); a questo complesso (ossia all'insieme di centrioli e centromatrice) viene anche dato il nome di *centrosoma*. I centrioli sono organelli intracellulari non membranosi che fanno parte del citoscheletro microtubulare e sono responsabili della formazione del fuso mitotico durante il processo di divisione cellulare (Figg. 1.17 e 1.18). Ogni centriolo è costituito da 9 triplette di microtubuli, più una serie di proteine specifiche; tale struttura si osserva anche nei corpi basali delle ciglia oltre che nell'MTOC (Fig. 5.13). Ai microtubuli si associano alcune proteine, chiamate collettivamente *proteine associate ai microtubuli (microtubule-associated proteins, MAP)*, che sono espresse in maniera tessuto-specifica. Queste proteine servono ad accelerare il processo di polimerizzazione dei filamenti, a facilitarne l'assemblaggio in una rete tridimensionale e a stabilizzarne la struttura. Ai microtubuli si associano anche due classi di proteine con funzione motoria, le *kinesine* e le *dineine*, che si muovono lungo i microtubuli, rispettivamente verso la periferia o verso il centro della cellula. Questi motori molecolari servono a trasportare organelli intracellulari (quali mitocondri, vescicole secretorie, corpi multivescicolari, lisosomi) e proteine a loro associate, utilizzando i microtubuli come fossero i binari di una ferrovia. La funzione del fuso durante la divisione cellulare è un esempio tipico di questo processo, ma in larga scala (Fig. 2.3).



Anomalie del citoscheletro che causano patologie potenzialmente letali

Diverse malattie bollose della pelle sono causate da alterazioni del citoscheletro. Nel raro disturbo congenito chiamato **epidermolisi bollosa semplice** (EBS) sono state trovate mutazioni nei geni che codificano per le citocheratine 5 e 14. Questi filamenti intermedi conferiscono alle cellule epidermiche basali della cute le loro proprietà di resistenza meccanica all'abrasione, permettendo così alla cute di sopportare lo sfregamento e i traumi; in questa condizione patologica si possono osservare aggregati anomali di filamenti intermedi nelle cellule basali della cute. Il risultato è una perdita di coesione tra le cellule epiteliali basali e la sottostante lamina basale, con la formazione di bolle e la perdita di liquidi. Mutazioni a carico del gene che codifica per la plectina, una proteina associata ai filamenti intermedi, sono riscontrabili non solo nelle forme più comuni di EBS, ma anche in casi di epidermolisi bollosa associata

a distrofia muscolare (EBS-MD) (**e-Fig. 1.2**) ed epidermolisi bollosa associata ad atresia del piloro (EBS-AP). Nel **pemfigoide bolloso** vi è la produzione di autoanticorpi (IgG) diretti contro proteine degli emidesmosomi che collegano i filamenti intermedi alla membrana plasmatica (si veda Cap. 5); le principali proteine colpite sono BPAG1 e 2 (*bullous pemphigoid antigen 1 e 2*). La presenza di questi anticorpi scatena una reazione immunitaria, con attivazione del complemento e della risposta cellulare; a ciò seguono danno del complesso di ancoraggio ed edema che, estendendosi, porta alla formazione di bolle. Questo è un esempio relativamente comune di malattia autoimmune, dove, di solito per motivi sconosciuti, i componenti del sistema immunitario dell'organismo attaccano i normali costituenti del corpo e causano una gravissima risposta infiammatoria (si veda Cap. 11).

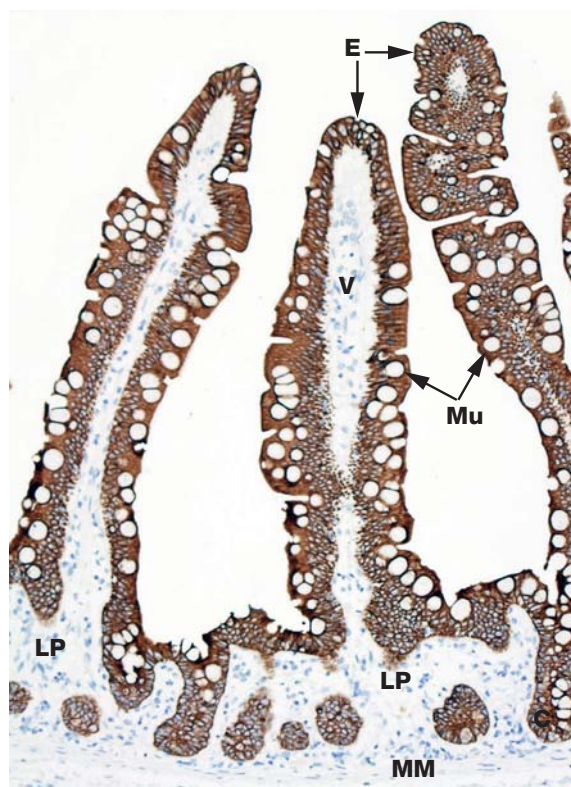


FIG. 1.15 Citoscheletro Immunoistochimica per la cheratina (MP)

I singoli elementi del citoscheletro non sono facilmente visualizzabili al microscopio ottico; pertanto si ricorre all'utilizzo di tecniche di immunoistochimica per localizzare in modo estremamente preciso specifici costituenti di un tessuto o di una cellula. Tali tecniche sono di largo impiego sia in campo diagnostico sia in quello di ricerca e lo studente troverà una descrizione dei principi di base di queste procedure nell'Appendice 2.

In breve, questa sezione di intestino tenue (Fig. 14.19) è stata incubata con un anticorpo specifico contro le citocheratine (per la precisione un anticorpo antipancitocheratina). L'anticorpo che si lega alle citocheratine viene quindi rilevato con un anticorpo secondario specie-specifico coniugato con la perossidasi del rafano (HRP); l'attività dell'HRP viene rilevata incubando la fetina con un substrato privo di colore (in questo caso diaminobenzidi-

na, DAB), che viene convertito in un cromogeno dall'azione dell'enzima.

In questo campione, i filamenti intermedi di cheratina sono evidenziati come precipitati brunastrici nel citoplasma delle cellule epiteliali E che delimitano la superficie dei villi V e delle cripte ghiandolari C della mucosa dell'intestino tenue. Si noti che i vacuoli ripieni di muco delle cellule caliciformi Mu sono anisti (non colorati), in quanto non contengono cheratina, mentre i nuclei sono colorati in bluastro dall'ematoxilina, usata per fornire la colorazione di contrasto a quella immunoistochimica. Le cellule stromali della lamina propria LP e le cellule muscolari lisce della *muscularis mucosae* MM sono evidenziate solo dall'ematoxilina che ne colora i nuclei.

Localizzazione immunoistochimica delle proteine del citoscheletro

La localizzazione immunoistochimica delle proteine del citoscheletro rappresenta un strumento fondamentale nella diagnosi dei tumori in campo anatomo-patologico. Questo metodo si basa sulla capacità di identificare specifiche proteine all'interno delle cellule di un tessuto, grazie all'utilizzo di anticorpi (coniugati a un cromoforo) che si legano a queste proteine.

Le citocheratine sono i principali filamenti intermedi presenti nei tessuti epiteliali. Esistono più di 20 diverse molecole di citocheratina, divisi in due gruppi principali in base al loro peso molecolare e alla loro punto isoelettrico: le citocheratine di tipo I (acide) e di tipo II (basiche o neutre). Le citocheratine di tipo I sono numerate da 9 a 23 (con l'aumentare del peso molecolare), mentre quelle di tipo II sono numerate da 1 a 8, con l'aggiunta di CK71; le varie citocheratine sono espresse in tessuti specifici. Nella diagnostica anatomo-patologica, una colorazione che permette l'identificazione delle citocheratine in generale (anticorpo anti-pancitocheratina) può essere utilizzata per confermare che

un tumore scarsamente differenziato sia di origine epiteliale e che possa quindi essere identificato come un carcinoma. Colorazioni per citocheratine specifiche possono aiutare invece a identificare il tessuto epiteliale di origine di tale carcinoma. Per esempio, la citocheratina 20 (CK20) si trova principalmente nell'epitelio ghiandolare dell'intestino, mentre CK5 è associata alle cellule epiteliali squamose.

Oltre alle citocheratine, altri tipi di filamenti intermedi sono associati a diversi tipi di tessuto. Per esempio, la desmina è specifica delle cellule muscolari e fa parte della struttura del sarcomero (si veda Cap. 6), mentre i neurofilamenti si trovano nei neuroni (si veda Cap. 7). L'identificazione di queste proteine mediante colorazione immunoistochimica aiuta a determinare l'origine tissutale di un tumore, fornendo indicazioni preziose per una diagnosi accurata e per la scelta della strategia terapeutica più adeguata.

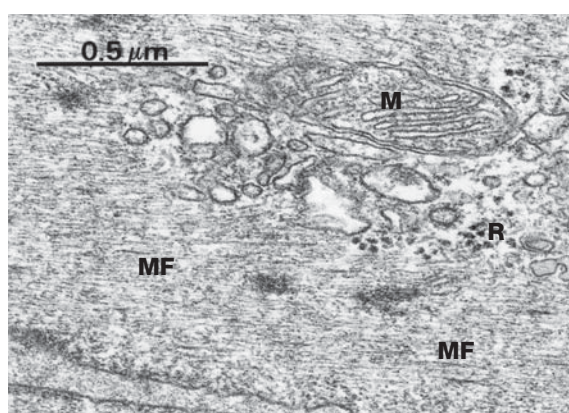


FIG. 1.16 Microfilamenti ME $\times 76.500$

In genere, i singoli microfilamenti sono difficili da evidenziare a causa del loro piccolo diametro (circa 7 nm) e della loro dispersione tra le altre componenti del citoplasma. In questo campione di cellula muscolare liscia, un tipo cellulare in cui i microfilamen-

ti citoplasmatici sono una componente predominante, si possono facilmente osservare strie parallele di microfilamenti **MF**. Il diametro dei microfilamenti può essere confrontato con il diametro di un mitocondrio **M** e dei ribosomi **R**.

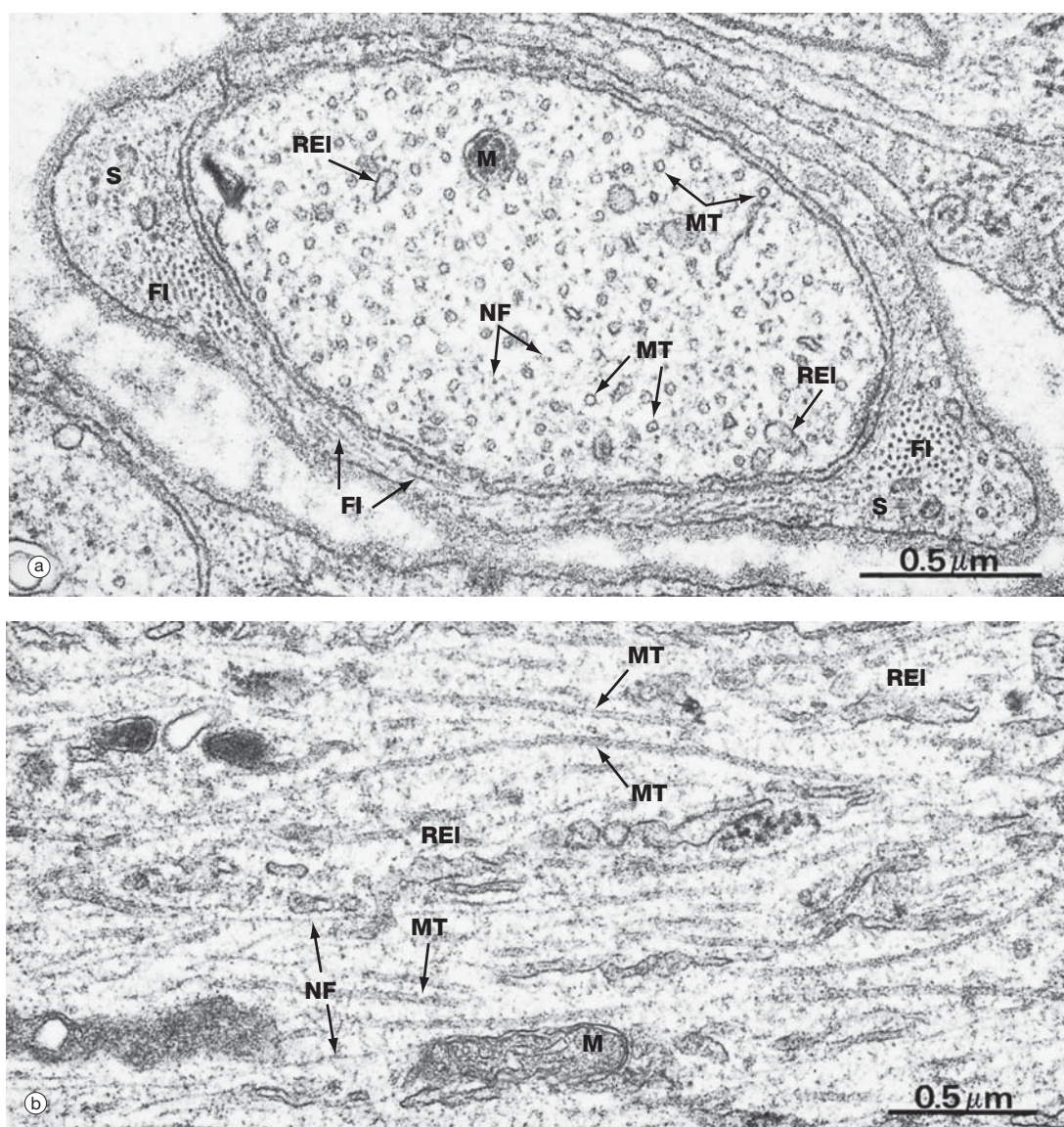


FIG. 1.17 Filamenti intermedi e microtubuli (a) Sezione trasversale, ME $\times 53.000$ (b) Sezione longitudinale, ME $\times 40.000$

Queste immagini al microscopio elettronico sono derivate da campioni di tessuto nervoso. I neuroni contengono nel loro citoplasma numerosi filamenti intermedi e microtubuli; sono pertanto le cellule migliori per comparare tra loro le dimensioni e la morfologia di questi elementi citoscheletrici. Ciascuna cellula nervosa ha di solito un prolungamento citoplasmatico più lungo, chiamato assone (si veda Cap. 7); nel sistema nervoso periferico esso è avvolto da cellule di sostegno specializzate, chiamate cellule di Schwann. La Figura (a) mostra un assone in sezione trasversale avvolto da una cellula di Schwann S. La Figura (b) mostra parte di un assone in sezione longitudinale. I microtubuli e i neurofilamenti svolgono funzioni differenti: mentre i neurofilamenti hanno eminentemente funzione strutturale, i microtubuli svolgono compiti sia di trasporto sia strutturali.

In sezione longitudinale, i microtubuli MT appaiono come strutture rettilinee, non ramificate; in sezione trasversale mostrano invece il tipico aspetto a tubo cavo. Le loro dimensioni possono essere messe a confronto con un piccolo mitocondrio M e con il reticolo endoplasmatico liscio REI.

I neurofilamenti (che costituiscono la gran parte dei filamenti intermedi del neurone) forniscono un importante supporto strutturale alla cellula nervosa grazie al loro legame con i microtubuli e agli altri organelli. I neurofilamenti NF sono dispersi tra i microtubuli e decorrono parallelamente a essi; sono tuttavia più piccoli di diametro e non sono cavi in sezione trasversale. Nella Figura (a) si possono osservare filamenti intermedi FI anche nel citoplasma della cellula di Schwann, in sezione sia trasversale sia longitudinale.

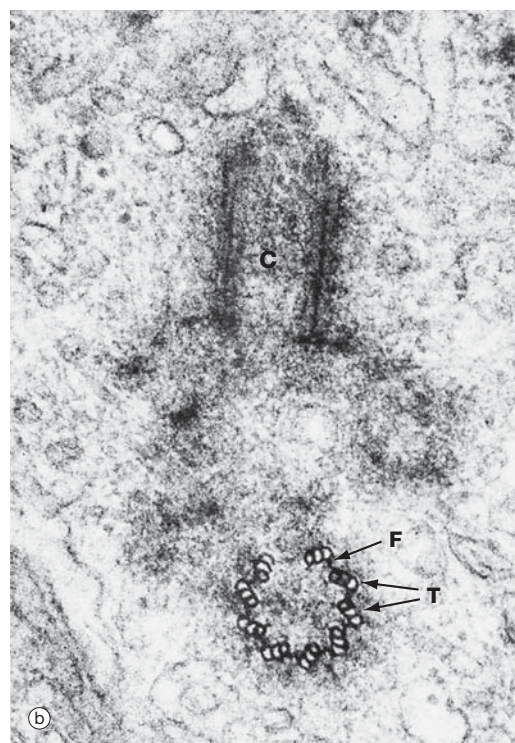
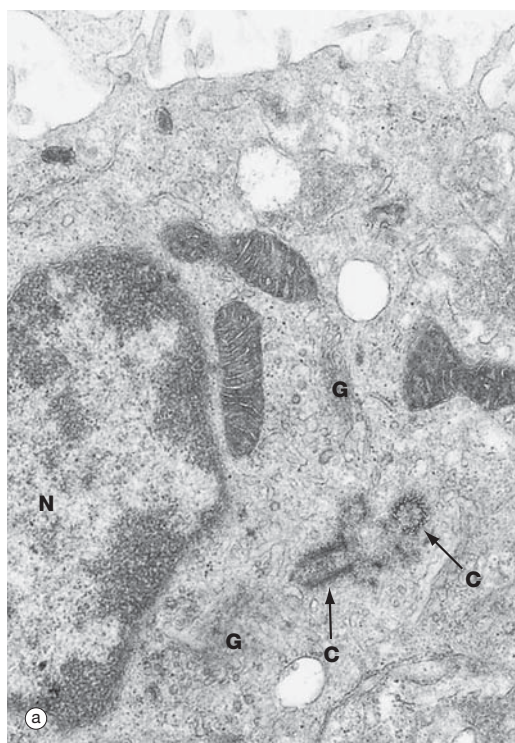
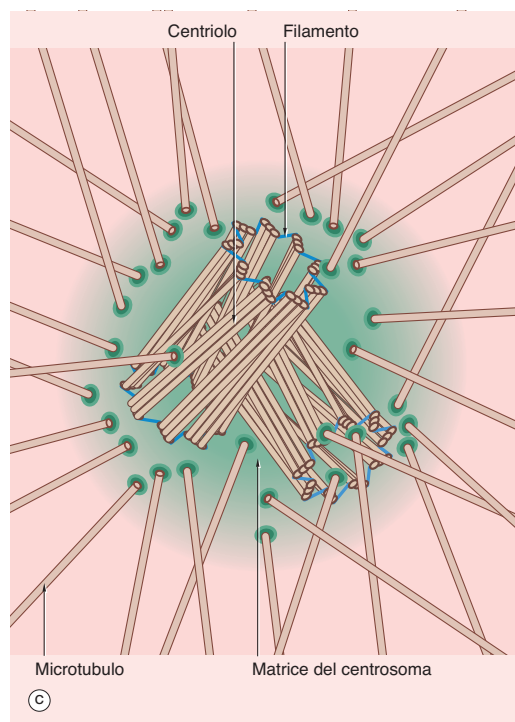


FIG. 1.18 Centrosoma (a) ME $\times 9200$ (b) ME $\times 48.000$ (c) Disegno schematico

Il **centrosoma** comprende una coppia di **centrioli C** e la **matrice del centrosoma** o **centromatrice**. Quest'ultima è una zona di citoplasma distinguibile per la sua maggiore opacità agli elettroni dovuta alla presenza di materiale granulare. Il centrosoma è generalmente localizzato al centro della cellula vicino al nucleo N e spesso è circondato dall'apparato di Golgi G. La coppia di centrioli è anche chiamata **diplosoma**. All'interno della citomatrice vi sono numerosi complessi di γ -tubulina ad anello, che formano altrettanti centri di nucleazione per la polimerizzazione dei microtubuli. Così il centrosoma agisce come **centro organizzatore microtubulare (MTOC)** e i microtubuli si irradiano dal centrosoma verso l'esterno in una disposizione a stella denominata **aster**.

Ogni centriolo ha una forma cilindrica ed è costituito da 9 triplette di microtubuli paralleli. In sezione trasversale, come si può vedere nella metà inferiore della Figura (b) e nella Figura (c), ogni tripletta T è costituita da un microtubulo interno, che appare di forma circolare in sezione trasversale, e da due microtubuli più esterni, che sono a forma di C in sezione trasversale. Ciascun microtubulo interno è poi connesso al microtubulo più esterno della tripletta adiacente attraverso sottili filamenti F, a definire così una forma cilindrica. I due centrioli di ogni diplosoma sono disposti con i loro assi maggiori ad angolo retto, come si può vedere in queste figure.

Strutture apparentemente identiche ai centrioli formano i **corpi basali** di **cilia** e **flagelli** (Figg. 5.13, 18.6 e 18.7), entrambi costituiti da microtubuli e capaci di movimento [tuttavia, solo il cilio primario e i flagelli hanno due centrioli che formano il corpo basale, mentre tutti gli altri tipi di cilia hanno solo il centriolo prossimale. N.d.C.]. Ogni cilio è costituito da una piccola estroflessione citoplasmatica contenente microtubuli. A parte il cilio primario che è immobile, le altre forme di cilia si muovono in modo ondulatorio allo scopo di spostare le secrezioni sulla superficie tissutale. I flagelli sono responsabili della motilità degli spermatozoi, di cui formano l'asse della lunga coda.



C centriolo **F** filamento **FI** filamento intermedio **G** apparato di Golgi **M** mitocondrio **MT** microtubulo **N** nucleo **NF** neurofilamento **REI** reticolo endoplasmatico liscio **S** cellula di Schwann **T** tripletta di microtubuli

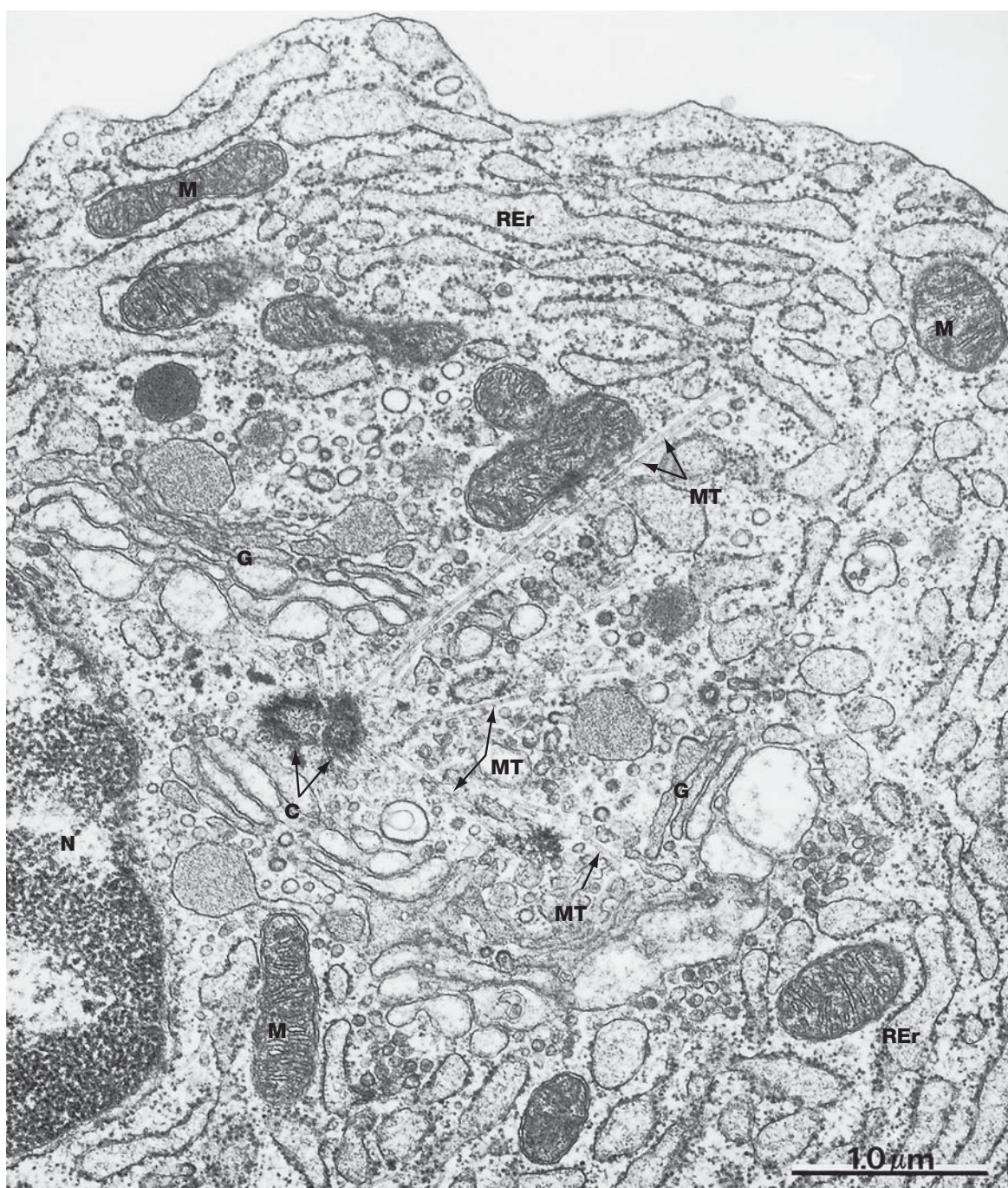


FIG. 1.19 Centrosoma e microtubuli ME $\times 30.000$

Questa figura mostra un centrosoma; esso rappresenta il *centro organizzatore microtubulare (MTOC)*. Il centrosoma è costituito da due centrioli C (entrambi tagliati più o meno obliquamente in questo campione), tipicamente localizzati al centro della cellula vicino al nucleo N.

Sono visibili diversi microtubuli MT che si irradiano dal centrosoma verso la periferia della cellula a costituire l'aster. I centrioli sono necessari per la formazione dei microtubuli.

Prima della divisione cellulare la coppia di centrioli viene duplicata e le due paia migrano alle estremità opposte della cellula.

Qui agiscono come centri organizzatori dei microtubuli del fuso che controlla la distribuzione dei cromosomi nelle cellule figlie (si veda Cap. 2). Analogamente, un solo centriolo, noto come *corpo basale*, è attaccato ai microtubuli alla base delle ciglia mobili [mentre le ciglia primarie hanno due centrioli, ortogonali fra di loro, che formano il loro corpo basale. N.d.C.].

Oltre ai microtubuli, nella plasmacellula rappresentata in quest'immagine, si possono osservare un reticolo endoplasmatico rugoso REr disteso dalla presenza di prodotti di secrezione, diverse cisterne di un ampio apparato di Golgi G e mitocondri sparsi M, a indicare una cellula molto attiva nella sintesi proteica.

PRODUZIONE E ACCUMULO DI ENERGIA

Tutte le funzioni cellulari dipendono da un continuo apporto di energia, che proviene dal catabolismo sequenziale di molecole organiche durante il processo della **respirazione cellulare**. L'energia rilasciata durante questo processo è immagazzinata sotto forma di molecole di **ATP (adenosina trifosfato)**. In tutte le cellule, l'ATP forma una riserva di energia facilmente disponibile per tutte le funzioni metaboliche della cellula.

I principali substrati per la respirazione cellulare sono glucidi semplici (glucosio in particolare) e lipidi (principalmente acidi grassi). La respirazione cellulare dipendente da glucosio (**glicolisi aerobica**) inizia nel citoplasma dove il glucosio è parzialmente degradato ad acido piruvico, attraverso un processo catabolico dal quale deriva una piccola quantità di ATP. L'acido piruvico quindi diffonde in organelli membranosi specializzati, chiamati **mitocondri**, dove, in presenza di ossigeno, viene degradato in anidride carbonica e acqua; questo processo fornisce una grande quantità di ATP. Al contrario, gli acidi grassi diffondono direttamente nei mitocondri dove vengono anch'essi degradati ad ani-

dride carbonica e acqua, generando però una quantità ancora maggiore di ATP. La glicolisi può verificarsi in assenza di ossigeno e allora viene detta **glicolisi anaerobica**; la glicolisi invece che supporta la respirazione mitocondriale dipende da un continuo apporto di ossigeno ed è quindi chiamata glicolisi aerobica.

I mitocondri sono i principali organelli coinvolti nella respirazione cellulare e si riscontrano in grandi quantità nelle cellule metabolicamente attive, come per esempio quelle del fegato e del muscolo scheletrico.

Quando vi è un eccesso di energia, la maggior parte delle cellule converte il glucosio e gli acidi grassi rispettivamente in glicogeno e trigliceridi, che vengono poi accumulati in quantità differenti a seconda dei vari tipi di cellule. Per esempio, le cellule nervose contengono una minima quantità di entrambi; la maggior parte del glicogeno è invece accumulato nelle cellule muscolari e in quelle del parenchima epatico. I trigliceridi sono invece depositati nelle **cellule adipose**, dove possono essere accumulati in quantità praticamente illimitata.

FIG. 1.20 Mitocondri

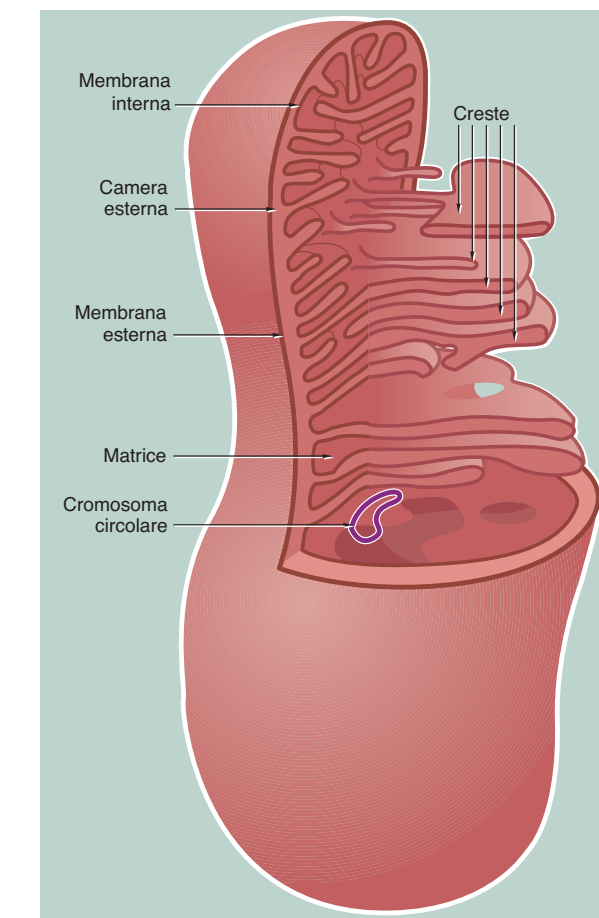
I mitocondri variano considerevolmente in grandezza e forma, ma in genere sono organelli allungati, a forma di sigaro. I mitocondri sono organelli molto mobili, che si spostano per tutta la cellula per mezzo dei microtubuli, tendendo a localizzarsi dove maggiore è la richiesta energetica. Il numero di mitocondri nelle cellule è molto variabile; le cellule epatiche contengono fino a 2000 mitocondri, mentre le cellule metabolicamente inattive ne contengono molto pochi. Il numero di mitocondri nella cellula si modifica per divisione e fusione mitocondriale. In alcune cellule, i mitocondri fusi fra loro vanno a formare una rete interconnessa, dispersa in tutto il citoplasma.

Ciascun mitocondrio consiste di quattro compartimenti:

- La **membrana esterna** è relativamente permeabile poiché contiene una proteina canale, chiamata **porina**, che permette il libero passaggio di piccole molecole. La membrana esterna contiene enzimi che convertono alcuni substrati lipidici in composti intermedi che possono poi essere metabolizzati nel mitocondrio.
- La **membrana interna**, che è più sottile di quella esterna, è ripiegata in una serie di **creste mitocondriali** che si proiettano nella cavità interna dell'organello. Nelle cellule secernenti ormoni steroidei, le creste mitocondriali hanno aspetto tubulare, mentre in tutte le altre cellule hanno aspetto lamellare (Fig. 17.18).
- La **camera interna** è riempita dalla **matrice mitocondriale**, contenente DNA mitocondriale e ribosomi. Inoltre nella matrice mitocondriale sono presenti numerosi granuli elettron-densi, chiamati **granuli di matrice**, che si ritiene che siano artefatti di processamento del campione che inducono la precipitazione di calcio all'interno dei mitocondri.
- La **camera esterna** o **spazio intermembranoso** (posto tra la membrana esterna e interna del mitocondrio) contiene diversi enzimi.

La respirazione aerobica ha luogo nella camera interna e sulla membrana interna; l'efficienza di tale processo è notevolmente incrementata dall'ampia superficie formata dalle creste. La matrice contiene la maggior parte degli enzimi coinvolti nell'ossidazione degli acidi grassi e nel ciclo di Krebs. La membrana interna contiene i citocromi, le molecole della catena di trasporto degli elettroni e gli enzimi coinvolti nella produzione di ATP.

Come organelli, i mitocondri hanno molte caratteristiche insolite. La matrice mitocondriale contiene uno o più filamenti circolari di DNA che assomigliano ai cromosomi dei batteri. La matrice contiene anche ribosomi con una composizione simile ai ribosomi batterici. I mitocondri sintetizzano 37 delle loro proteine costituenti, mentre le altre sono sintetizzate a partire da geni contenuti nel nucleo, attraverso i consueti meccanismi cellulari di sintesi proteica, e importate nel mitocondrio. Il DNA mitocon-



driale codifica per una proteina che trasloca nel citoplasma, chiamata humanin che appartiene a una famiglia di microproteine mitocondriali codificate da *small open reading frames* nel genoma circolare mitocondriale; appartengono a questa famiglia anche MOTS-c e SHLPs 1-6.

Nel loro insieme, queste proteine sono state implicate nella protezione cellulare dall'invecchiamento; la comprensione del meccanismo di azione di queste proteine potrebbe aiutarci a comprendere le malattie correlate all'età, inclusi il diabete di tipo 2, il cancro e le malattie neurodegenerative. Inoltre, i mitocondri si duplicano in modo simile ai batteri. A partire da queste osservazioni, si è ipotizzato che i mitocondri siano derivati da batteri che, durante l'evoluzione, sono stati capaci di instaurare un rapporto simbiotico con le cellule eucariote.

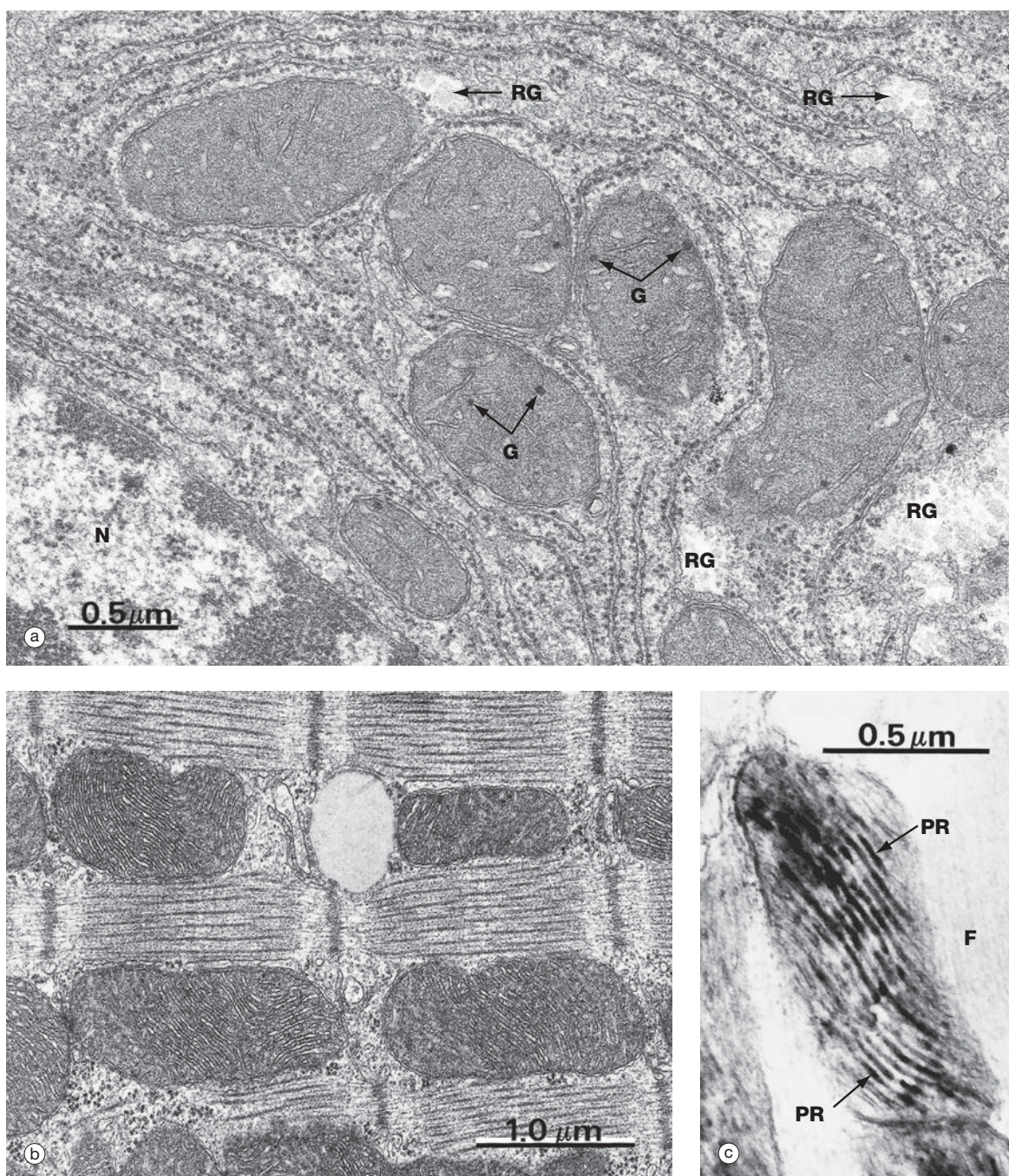


FIG. 1.21 Mitochondri (a) ME $\times 34.000$ (b) ME $\times 25.000$ (c) Istochimica per la citocromo ossidasi, ME $\times 50.000$

Tutti i mitocondri hanno la stessa struttura generale ma variano notevolmente in dimensione, forma e disposizione delle creste; queste variazioni sono spesso caratteristiche del tipo cellulare. I mitocondri si muovono liberamente nel citoplasma ma tendono ad aggregarsi in siti intracellulari con alte richieste energetiche, dove spesso la loro forma è conforme allo spazio disponibile.

La Figura (a) mostra il tipico aspetto dei mitocondri di una cellula epatica, tagliati secondo diversi piani di sezione; si noti la loro matrice relativamente densa che contiene pochi granuli di matrice **G**. In questa immagine, sono anche visibili rosette di glicogeno **RG** (Fig. 1.22). Parte del nucleo **N** è visibile nell'angolo in basso a sinistra.

Nelle Figure (b) e (c) sono visibili mitocondri di cellule muscolari cardiache. Essi hanno numerosissime creste fittamente impaccate a riflettere l'elevata attività metabolica del cardiomiocita. In alcuni tipi cellulari, le creste hanno forme caratteristiche; quelle delle cellule di Leydig, per esempio, sono tubulari. Nella Figura (c) viene usata una specifica tecnica istochimica ultrastrutturale per localizzare l'enzima mitocondriale citocromo ossidasi.

Il prodotto elettrondenso della reazione **PR** è localizzato nello spazio intermembranoso o camera mitocondriale esterna. I filamenti **F** di actina e miosina non vengono decorati con questa tecnica di colorazione.

F filamenti di actina e miosina **G** granuli della matrice **L** lume **M** mitocondrio **MP** membrana plasmatica **N** nucleo **PR** prodotto della reazione catalizzata dalla citocromo ossidasi **RG** rosette di glicogeno **S** striature

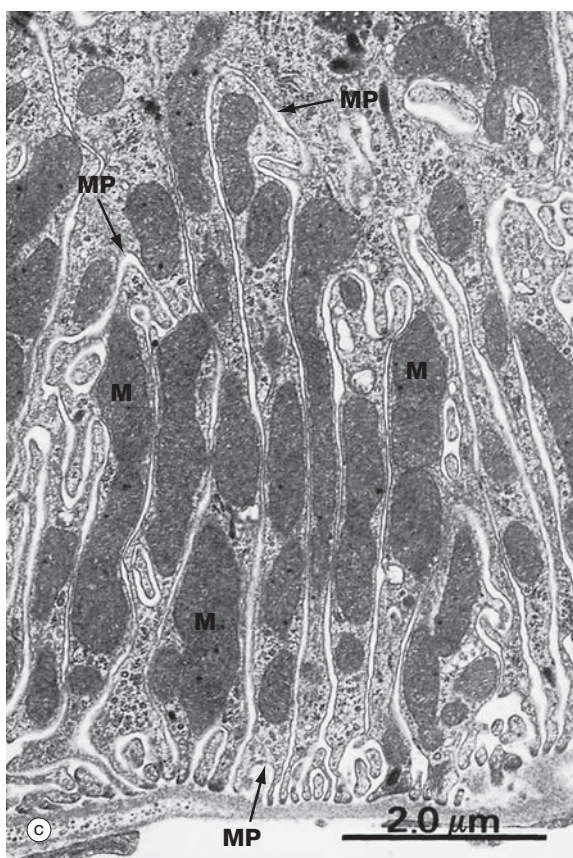
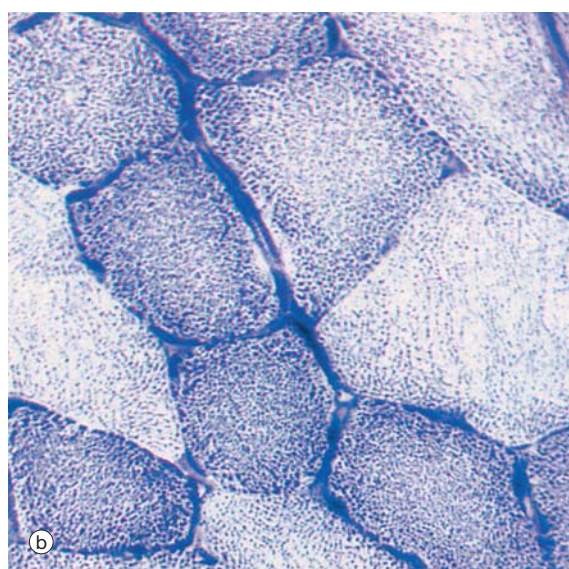
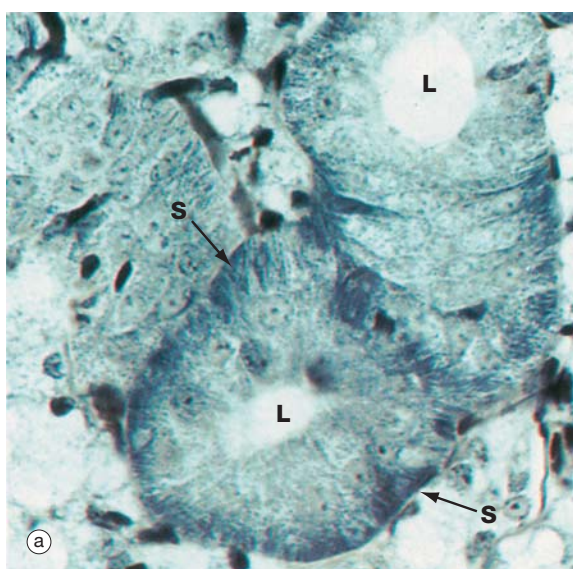


FIG. 1.22 Mitochondri (a) Ematossilina ferrica (HP) (b) Istochimica per la succinato deidrogenasi (HP) (c) ME $\times 13.000$

I mitocondri, in genere, non sono visibili individualmente al microscopio ottico, in quanto le loro dimensioni sono al di sotto del potere di risoluzione di questo strumento. Tuttavia, essi sono acidofili e con la colorazione standard EE sono responsabili di molta dell'eosinofilia (colorazione rosa) del citoplasma. In alcune cellule, i mitocondri sono numerosi e possono essere concentrati in una regione della cellula dove sono evidenziabili direttamente o indirettamente da vari metodi di colorazione.

La Figura (a) mostra un dotto salivare costituito da cellule estremamente attive nella secrezione e nel riassorbimento di diversi ioni inorganici. Questi processi avvengono nella porzione basale della cellula (cioè a livello della membrana plasmatica opposta al lume L) e dipendono dall'ATP prodotto dai mitocondri associati alle numerose interdigitazioni basolaterali fra cellule adiacenti; queste interdigitazioni aumentano notevolmente la superficie della membrana plasmatica. Le cellule sono state colorate con una variazione del metodo dell'ematossilina, che permette di colorare non solo le strutture basofile (DNA e RNA) ma anche quelle acidofile, come i mitocondri che sono visibili come striature S nella porzione basale delle cellule.

Il campione (b) mostra cellule muscolari scheletriche in sezione trasversale; in questo preparato è stato utilizzato un metodo istochimico per evidenziare l'attività catalitica della succinato deidrogenasi. Questo enzima è parte del ciclo di Krebs, esclusivo dei mitocondri, e rappresenta quindi un loro specifico marcatore. Nel muscolo scheletrico vi sono tre tipi di cellule muscolari, che differiscono l'uno dall'altro per la concentrazione di mitocondri. Tale metodo di colorazione può essere usato per dimostrare le proporzioni relative di queste cellule (Fig. 6.14), come mostrato qui dalla diversa intensità di colorazione dei mitocondri nelle varie cellule.

La Figura (c) mostra l'immagine ultrastrutturale della porzione basale di una cellula di assorbimento del tubulo renale, dove si verifica un intenso trasporto attivo di ioni. Le membrane plasmatiche basali MP di cellule adiacenti formano interdigitazioni che aumentano notevolmente la superficie libera; mitocondri allungati M sono concentrati negli spazi che si interpongono fra le interdigitazioni. Le Figure (a) e (c) mostrano esempi della stessa struttura, ossia delle interdigitazioni basolaterali, usate da cellule differenti per lo stesso scopo e cioè per massimizzare il trasporto ionico attraverso la membrana plasmatica.

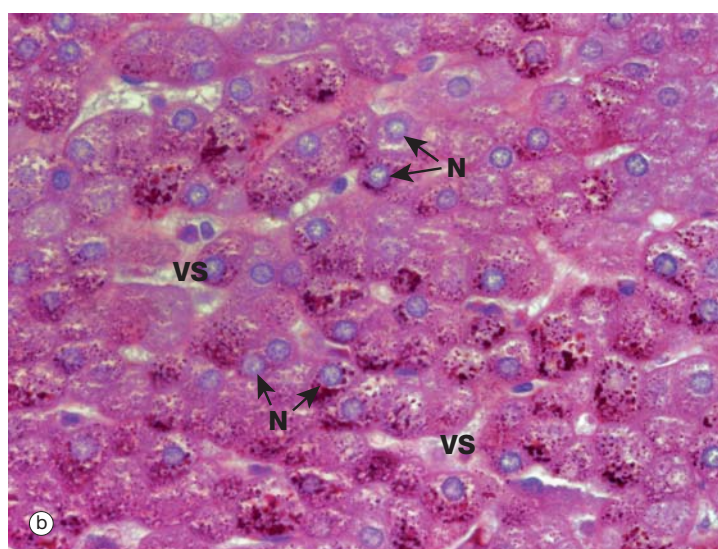
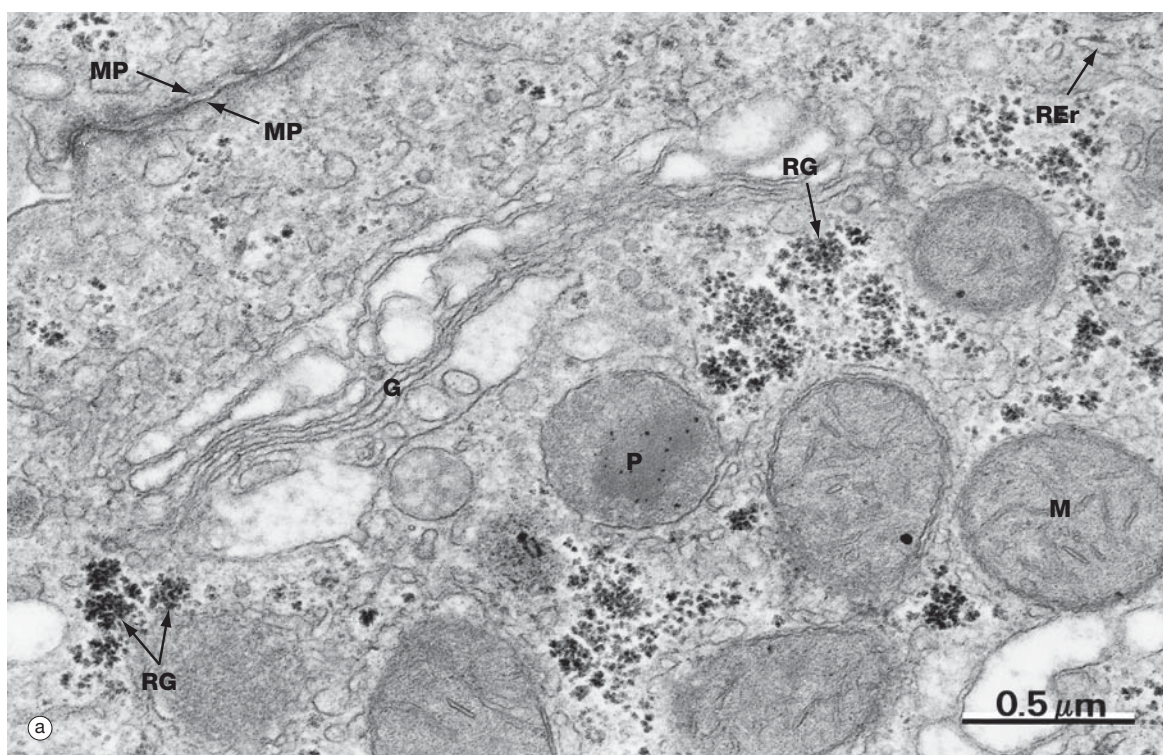


FIG. 1.23 Glicogeno (a) ME $\times 47.000$ (b) PAS/Ematossilina (MP)

Il glicogeno è presente nel citoplasma di molte cellule, ma soprattutto nelle cellule muscolari ed epatiche (*epatociti*). Nella Figura (a) sono visibili abbondanti granuli di glicogeno, sia come singoli granuli irregolari (detti *particelle β*) o come aggregati di più particelle, chiamati *rosette di glicogeno RG* (dette anche *particelle α*). Si confrontino le dimensioni dei ribosomi sul reticolo endoplasmatico rugoso **RER** con quelle dei granuli di glicogeno, che in media sono lievemente più grandi. Si può osservare un abbondante apparato di Golgi **G** vicino alla membrana plasmatica **MP**. Si noti che, nonostante l'apparato di Golgi sia presente normalmente vicino al nucleo, non è affatto insolito trovarlo in altre regioni del citoplasma, in particolare in cellule come gli epatociti

che contengono apparati di Golgi multipli. In questo campo, si possono anche osservare diversi mitocondri **M** e un perossisoma **P**.

La Figura (b) è stata colorata con un metodo istochimico per dimostrare la presenza di glicogeno, che è colorato in magenta (si veda Appendice 2 per dettagli su questa tecnica). Il campione è di fegato e ogni epatocita è pieno di granuli glicogeno. La sezione è stata contrastata con ematossilina (cioè colorata con un secondo colorante) per dimostrare i nuclei **N** della cellula epatica (blu). L'ematossilina colora anche i nuclei delle cellule che rivestono i vasi sanguigni **VS** posti tra le file degli epatociti; questi ultimi nuclei sono più piccoli e addensati e quindi si colorano più intensamente.

BIOSINTESI DEI LIPIDI

I lipidi sono sintetizzati da ogni cellula allo scopo di rinnovare costantemente le proprie membrane. Le cellule possono anche sintetizzare lipidi per immagazzinare energia derivata dal loro catabolismo, per inviare tali lipidi ad altre cellule (come avviene per le cellule luminali dell'intestino tenue che sintetizzano chilomicroni da mandare al fegato) e per produrre ormoni steroidei. I precursori molecolari (acidi grassi, trigliceridi e colesterolo) possono arrivare alla

cellula dalla dieta, dalla mobilizzazione dei lipidi immagazzinati in altre cellule o possono essere sintetizzati dalle cellule stesse usando semplici fonti di carbonio quali l'acetil-CoA e altri prodotti intermedi del catabolismo del glucosio. Acidi grassi e trigliceridi sono sintetizzati soprattutto nel citoplasma, mentre colesterolo e fosfolipidi sono sintetizzati in aree specializzate del reticolo endoplasmatico liscio (Fig. 1.8).

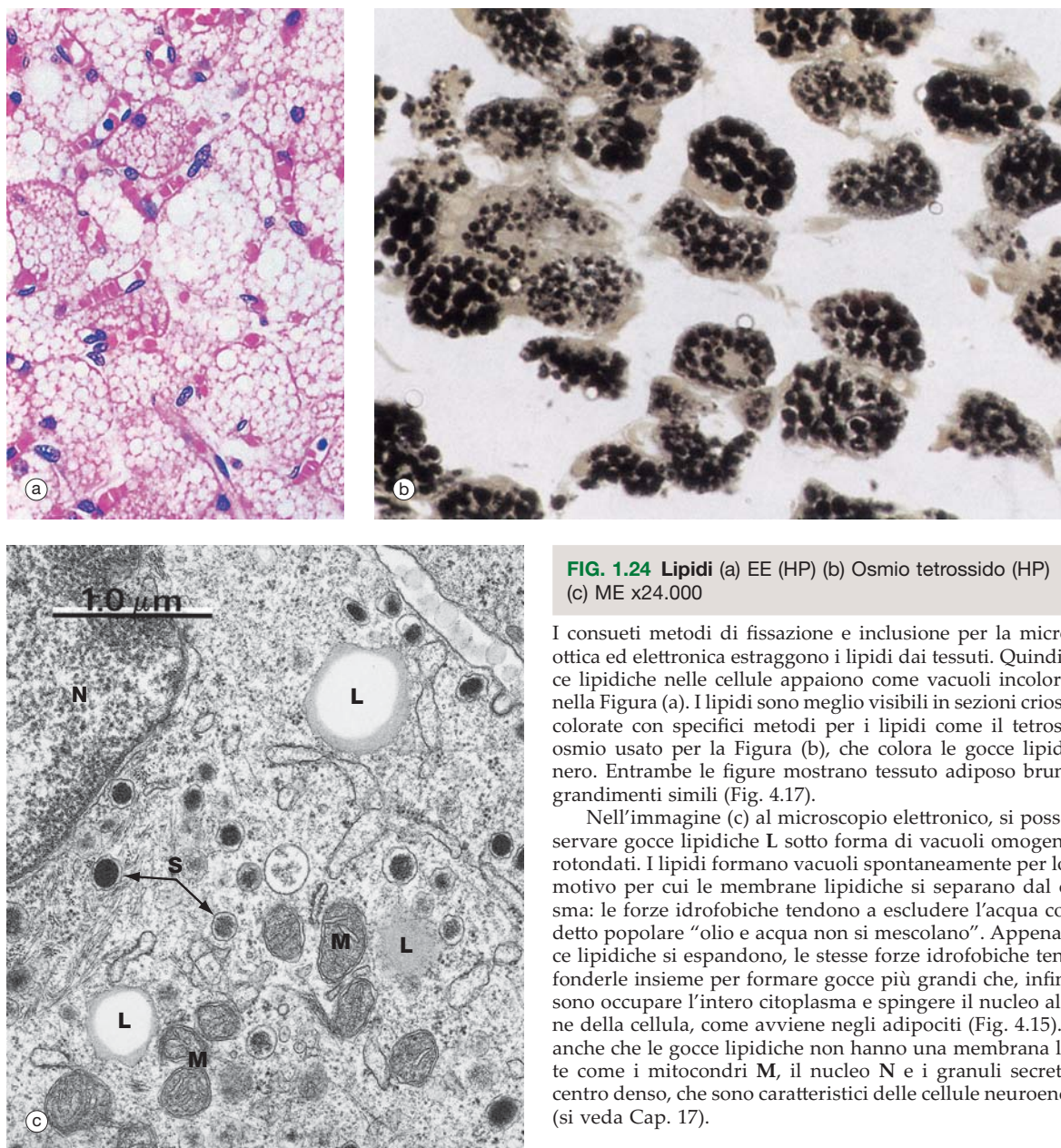


FIG. 1.24 Lipidi (a) EE (HP) (b) Osmio tetrossido (HP) (c) ME x24.000

I consueti metodi di fissazione e inclusione per la microscopia ottica ed elettronica estraggono i lipidi dai tessuti. Quindi le gocce lipidiche nelle cellule appaiono come vacuoli incolori, come nella Figura (a). I lipidi sono meglio visibili in sezioni criostatiche, colorate con specifici metodi per i lipidi come il tetrossido di osmio usato per la Figura (b), che colora le gocce lipidiche in nero. Entrambe le figure mostrano tessuto adiposo bruno a ingrandimenti simili (Fig. 4.17).

Nell'immagine (c) al microscopio elettronico, si possono osservare gocce lipidiche **L** sotto forma di vacuoli omogenei e arrotondati. I lipidi formano vacuoli spontaneamente per lo stesso motivo per cui le membrane lipidiche si separano dal citoplasma: le forze idrofobiche tendono a escludere l'acqua come nel detto popolare "olio e acqua non si mescolano". Appena le gocce lipidiche si espandono, le stesse forze idrofobiche tendono a fonderle insieme per formare gocce più grandi che, infine, possono occupare l'intero citoplasma e spingere il nucleo al margine della cellula, come avviene negli adipociti (Fig. 4.15). Si noti anche che le gocce lipidiche non hanno una membrana limitante come i mitocondri **M**, il nucleo **N** e i granuli secretori **S** a centro denso, che sono caratteristici delle cellule neuroendocrine (si veda Cap. 17).

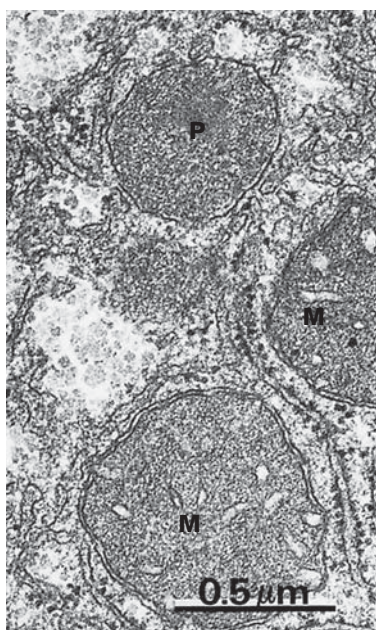


FIG. 1.25 Peroxisomi ME $\times 40.000$

I **perossisomi** sono piccoli organelli sferici, rivestiti da membrana, che hanno dimensioni e aspetto morfologico ultrastrutturale simile ai lisosomi. Tuttavia, essi contengono una serie di enzimi completamente diversi che possono essere evidenziati mediante tecniche istochimiche opportune. I perossisomi contengono ossidasi coinvolte in particolari vie cataboliche (per esempio, β -ossidazione degli acidi grassi a catena lunga e reazioni di detossificazione) che portano alla formazione di perossido di idrogeno, un prodotto di degradazione potenzialmente citotossico. Ciononostante, il perossido di idrogeno viene usato dai fagociti del sistema immunitario per uccidere i microrganismi ingeriti. I perossisomi contengono anche la catalasi che regola la concentrazione di perossido di idrogeno nel citoplasma, utilizzando questa molecola reattiva per l'ossidazione di alcune sostanze potenzialmente tossiche, quali fenoli e alcoli.

I perossisomi di molte specie contengono una struttura centrale a forma di cristallo irregolare, chiamata nucleotide, formata dall'enzima urato ossidasi. Questo enzima non è presente nell'uomo, che pertanto non ha la capacità di metabolizzare gli urati. I perossisomi del fegato e del rene sono particolarmente grandi e abbondanti; ciò riflette in parte le funzioni svolte da questi organelli nel metabolismo lipidico e nelle reazioni di detossificazione. In questa immagine, si noti il contenuto elettrondenso, finemente granulare, di un perossisoma P; le dimensioni di questo organello possono essere confrontate con quella dei mitocondri M adiacenti. I perossisomi si originano o dal reticolo endoplasmatico rugoso, per gemmazione, o, più frequentemente, da altri perossisomi, per divisione; la quantità di perossisomi varia a seconda del momento funzionale della cellula.

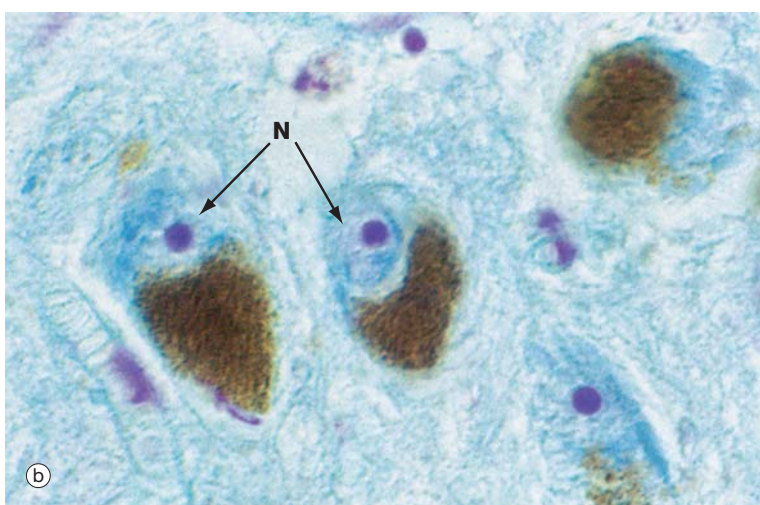
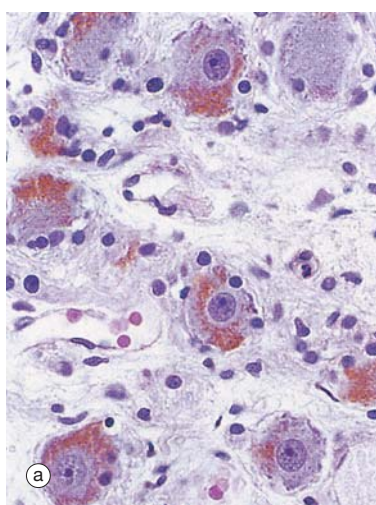


FIG. 1.26 Pigmenti cellulari: lipofuscina e melanina (a) EE (HP) (b) Azan, modificato (HP)

La maggior parte dei tessuti dei mammiferi ha una colorazione intrinseca molto scarsa: da ciò la necessità di colorarli artificialmente, in maniera da aumentare il contrasto fra le varie strutture cellulari e tissutali, così da poterle identificare in microscopia ottica. Alcuni tessuti, tuttavia, contengono pigmenti intracellulari quali la **lipofuscina**, che rappresenta un prodotto insolubile derivato dalla degradazione degli organelli intracitoplasmatici. Con l'avanzare dell'età, la lipofuscina si accumula nel citoplasma di alcune cellule, in particolare neuroni e cardiomiociti, sotto forma di materiale granulare marrone; nella Figura (a) sono visibili, in

particolare, neuroni di un ganglio simpatico. Per questa sua proprietà di accumularsi durante l'invecchiamento, la lipofuscina è a volte chiamata **pigmento della vecchiaia**.

Un altro pigmento naturale è la **melanina**, che è responsabile della colorazione della cute (si veda Cap. 9). Questo pigmento marrone è anche presente nelle cellule nervose di specifiche regioni del neurasse come la **substantia nigra**, mostrata nella Figura (b), dove il citoplasma dei neuroni è quasi del tutto oscurato dalla presenza di questo pigmento. Questo campione è stato colorato con il metodo Azan che colora in azzurro i nuclei N e in magenta i nucleoli.

La mutazione in un singolo gene può colpire più sistemi d'organo

Le malattie da accumulo lisosomale sono gravi processi patologici congeniti dovuti a una mutazione nel gene codificante per uno o più enzimi lisosomiali. Questo può portare o alla produzione di un enzima con ridotta attività catalitica o alla totale mancanza di tale attività. A causa di ciò, si ha accumulo del substrato dell'enzima in alcune cellule; la malattia può essere diagnosti-

cata con precisione proprio grazie all'identificazione, in apposite biopsie, del substrato che si accumula, come avviene per la malattia di Tay-Sachs o quella di Gaucher.

Alcune di queste condizioni patologiche sono associate a un tipico fenotipo o aspetto del soggetto affetto, come nella sindrome di Hurler.

FUNZIONE DELLE CELLULE IN TESSUTI, ORGANI E SISTEMI D'ORGANO

Come abbiamo visto all'inizio di questo capitolo, le cellule sono le unità funzionali di tutti gli organismi viventi. Negli organismi multicellulari, le singole cellule si **differenziano** e si raggruppano a compiere funzioni specializzate. Gli organismi multicellulari ovviamente si disgregherebbero se le cellule non fossero organizzate in strutture specifiche, chiamate **tessuti**, tenute assieme dalle **giunzioni intercellulari** (si veda Cap. 5) e dalla **matrice extracellulare** (si veda Cap. 4). Cellule con morfologia e funzione simili formano, assieme alla matrice extracellulare, i **tessuti**; esempi di tessuti sono la cartilagine, l'osso e il muscolo. La matrice extracellulare, come la matrice ossea e la matrice fibrosa dello strato profondo della cute (derma), può conferire grande consistenza e compattezza ai tessuti. Vi sono alcuni tipi cellulari, come le cellule del sangue e i macrofagi, che circolano per tutto l'organismo trasportati dal sangue e da altri liquidi corporei oppure si muovono attraverso i tessuti e la loro matrice. Gli **organi** sono insiemi anatomicamente discreti di tessuti che svolgono specifiche funzioni. Tessuti e organi possono formare sistemi funzionali integrati, chiamati **sistemi d'organo**. I sistemi possono formare unità anatomiche continue (ne sono degli esempi il sistema nervoso centrale, il sistema riproduttivo, il sistema gastrointestinale e quello urinario) o essere invece ampiamente diffusi (come il sistema immunitario e il sistema endocrino diffuso).

La seconda parte di questo libro descrive i cinque tessuti principali del nostro corpo: il tessuto epiteliale, il tessuto

connettivo o di supporto, il sangue, il tessuto muscolare e il tessuto nervoso. Tali tessuti vanno a costituire, in varie combinazioni, tutti i nostri organi. Viene dato il nome di **parenchima** all'insieme dei tessuti e delle cellule da cui dipende primariamente la funzione specializzata di un organo; il tessuto di sostegno, meno specializzato, costituisce invece il cosiddetto **stroma**.

Durante lo sviluppo embrionale, le cellule interagiscono tra loro in vari modi, in maniera da promuovere la crescita e il differenziamento dei tessuti e degli organi che vanno a formare; nell'adulto, le cellule servono invece a mantenere l'**omeostasi** strutturale e funzionale dei tessuti e degli organi a cui appartengono. I vari tipi di giunzioni intercellulari servono anche come importanti meccanismi per lo scambio di informazioni cellula-cellula, sotto forma di impulsi elettrici o messaggeri chimici.

Nei tessuti, le funzioni cellulari sono integrate fra loro da una grande varietà di molecole mediatrici rilasciate localmente (o, come si suol dire, in maniera paracrina), che vanno a interagire con specifici recettori posti sulla superficie cellulare. A livello dell'intero organismo, le funzioni sono coordinate da messaggeri chimici circolanti (gli **ormoni**) e/o attraverso i **segnali sinaptici** del sistema nervoso. Il piacere che si trae dallo studio dell'Istologia e dell'Anatomia microscopica è che tutte le strutture, da quelle subcellulari ai sistemi d'organo, riflettono precisi requisiti e interrelazioni funzionali. Tutto appare organizzato con un'intelligenza sublime.

RIEPILOGO

TABELLA 1.1 Struttura e funzioni della cellula

Organello	Breve descrizione	Funzioni principali	Figure
Nucleo	Grande organello avvolto da una doppia membrana e contenente cromatina	I cromosomi contengono il materiale genetico per la sintesi di ogni proteina dell'organismo	1.3
Membrana/Involucro nucleare	Doppia membrana contenente numerosi pori nucleari	Separa il nucleo dal citoplasma e ne media il trasporto di molecole	1.4
Nucleolo	Struttura densa situata nel nucleo e non circondata da membrana	Sintesi di RNA ribosomale e assemblaggio dei ribosomi	1.5
Ribosomi	Piccole strutture libere nel citoplasma o legate al reticolo endoplasmatico. Consistono di due subunità di RNA ribosomale complessate a proteine	Sintesi proteica: formazione dei legami peptidici tra gli aminoacidi per formare catene polipeptidiche usando RNA messaggero come stampo (templato)	1.7
Reticolo endoplasmatico	Ampio sistema membranoso, esteso all'interno della cellula: può essere rugoso con ribosomi associati (REr) o liscio (REl)	Modificazione delle proteine sintetizzate sui ribosomi e assunzione della loro forma tridimensionale (REr); sintesi di alcuni lipidi e reazioni di detossificazione (REl)	1.8
Apparato di Golgi	Pile di cisterne appiattite e rivestite da membrana	Glicosilazione di proteine e lipidi e loro indirizzamento alla destinazione finale	1.10
Mitocondri	Organelli avvolti da una doppia membrana, con la membrana interna ripiegata in numerose creste	Produzione di energia e suo immagazzinamento sotto forma di ATP	1.20, 1.21
Membrana plasmatica	Doppio strato lipidico contenente proteine intrinseche, con un rivestimento esterno di carboidrati	Separa la cellula dall'ambiente esterno e ne media le interazioni con esso	1.2
Citoscheletro	Microfilamenti, filamenti intermedi e microtubuli	Mantiene la forma della cellula e la sua polarità; promuove la motilità cellulare, il movimento degli organelli intracellulari e il movimento dei cromosomi durante la divisione cellulare	1.15-1.17
Vescicole di trasporto	Vescicole avvolte da membrana, spesso con un rivestimento proteico, per esempio COP I, clatrina o caveolina	Trasporto di varie molecole tra differenti compartimenti intracellulari e verso la membrana plasmatica	1.11, 1.12
Fagosomi ed endosomi	Vescicole avvolte da membrana contenenti materiale internalizzato nella cellula	Trasporto di materiale verso una destinazione intracellulare, in particolare l'endosoma e il lisosoma	1.12, 1.13
Lisosomi	Vescicole avvolte da membrana, contenenti enzimi idrolitici intracellulari e prodotti di endocitosi	Distruggere organismi patogeni (nei fagociti professionisti) e degradare organelli (autofagocitosi in tutte le cellule)	1.14
Perossisomi	Vescicole avvolte da membrana, contenenti ossidasi e catalasi	Produzione di acqua ossigenata per sopprimere patogeni, detossificazione mediante degradazione di alcune sostanze nocive, ossidazione degli acidi grassi a catena lunga, sintesi degli acidi biliari nelle cellule epatiche, sintesi del glicerolo, catabolismo delle purine, metabolismo dei retinoidi	1.25
Gocce lipidiche	Aggregati lipidici intracellulari di dimensioni variabili e non avvolti da membrana	Accumulo di energia	1.24
Granuli di glicogeno	Granuli e aggregati di granuli (rosette) non avvolti da membrana	Accumulo di energia	1.23
Lipofuscina	Pigmento bruno nel citoplasma	Prodotto di scarto	1.26
Melanina	Pigmento bruno nel citoplasma	Pigmentazione cutanea e prodotto di scarto della sintesi della dopamina in particolari tipi di neuroni	1.26