

6. Citopatologia

I edizione



(vedi singoli sottocapitoli)

6. Citopatologia.....	1	6.7. DANNO INDOTTO DA VIRUS CITOPATICI	24
6.1. IL DANNO STRUTTURALE	3	6.8. ACCUMULI INTRA-CELLULARI	25
6.1.1. Dinamica del danno cellulare.....	3	6.8.1. Acqua	26
6.2. DANNO CELLULARE MEDIATO DA RADICALI LIBERI	4	6.8.2. Modificazione grassa dovuta ad accumulo di trigliceridi	27
6.2.1. Fisico-chimica dei radicali.....	4	6.8.3. Modificazione grassa del fegato.....	28
6.2.2. Radicali dell'ossigeno.....	5	6.8.4. Glicogeno	31
6.2.3. Ione superossido.....	6	6.8.5. Lipidi (diversi dai trigliceridi)	32
6.2.4. Perossido di idrogeno.....	6	6.8.6. Proteine	33
6.2.5. Radicale idrossile.....	7	6.8.7. Lipidi e carboidrati complessi	34
6.2.6. Altri radicali liberi importanti in patologia.....	8	6.8.8. Sostanze non metabolizzabili endogene o esogene.....	36
6.3. RADICALI OSSIDANTI E MACROMOLECOLE	9	6.8.9. Pneumoconiosi: silicosi.....	38
6.3.1. Radicali liberi e lipidi.....	9	6.9. ALTERAZIONI EXTRA-CELLULARI	39
6.3.2. Radicali liberi e proteine.....	10	6.9.1. Calcificazione.....	39
6.3.3. Radicali liberi ed acidi nucleici.....	10	6.9.2. Modificazione ialina.....	40
6.3.4. Tossicità da ossigeno.....	11	6.9.3. Patologia da misfolding proteico.....	41
6.3.5. Radicali e senescenza cellulare e dell'organismo.....	11	6.9.4. Formazione di aggregati proteici indigeribili.....	42
6.3.6. Difese contro i radicali liberi	12	6.10. ALTERAZIONI SUB-CELLULARI	43
6.4. IL RUOLO DEL CALCIO	14	6.10.1. Membrana e citoscheletro associato	43
6.5. RUOLO CRITICO DELL'OSSIGENO	15	6.10.2. Induzione (ipertrofia) del reticolo endoplasmatico liscio.....	44
6.5.1. Danno ischemico ed ipossico.....	16	6.10.3. Mitocondri	45
6.5.2. Lisosomi e morte cellulare.....	21	6.10.4. Citoscheletro	46
6.5.3. Danno da ri-perfusione.....	22	6.10.5. Amiloidosi	47
6.6. ENZIMI INDICATORI	23	6.11. PRINCIPALI FONTI UTILIZZATE.....	50



6.1. Il danno strutturale

6.1.1. DINAMICA DEL DANNO CELLULARE

-  Il danno cellulare, pur essendo conseguenza di molti eventi diversi tra loro, segue tuttavia alcune vie comuni
-  I sistemi molecolari e gli organuli intra-cellulari sono talmente correlati tra loro che è difficile differenziare il bersaglio primario del danno dagli effetti secondari
-  In alcuni casi il meccanismo di attacco di determinati agenti lesivi è invece chiaro.
Es.:
 - il cianuro (CN⁻) determina asfissia intra-cellulare perché inattiva le citocromo-ossidasi
 - certi batteri anaerobi, come il *Clostridium perfringens*, elaborano fosfolipasi, con attacco ai fosfolipidi della membrana cellulare
-  La cellula tende a riparare i danni minori, ma quando il danno supera una certa soglia (punto di danno irreversibile o punto di non ritorno) la cellula è destinata a morire

6.2. Danno cellulare mediato da radicali liberi

-  È un meccanismo di danno terminale iniziato da molti eventi diversi: la produzione del danno avviene solo quando viene superata la capacità di riparazione della cellula
La formazione di radicali liberi entro la cellula è innescata da:
 - assorbimento di energia radiante (luce ultravioletta, raggi X)
 - reazioni endogene, solitamente ossido-riduttive, tipiche di qualsiasi normale metabolismo
 - metabolismo secondario di composti chimici esogeni

6.2.1. FISICO-CHIMICA DEI RADICALI

-  Nella gran parte degli atomi gli orbitali sono saturati da coppie di elettroni, ciascuno dei quali ruota in senso opposto all'altro (*spin* opposti), annullando la reattività fisico-chimica
Un radicale libero è caratterizzato dalla presenza, nell'orbitale più esterno, di un solo elettrone spaiato
-  Il radicale risulta essere instabile e reattivo tendendo a reagire con proteine, lipidi, carboidrati
-  I radicali liberi innescano reazioni auto-catalitiche mediante le quali le stesse molecole che reagiscono con loro vengono convertite in radicali liberi amplificando così il danno
-  Le specie più pericolose e dannose sono i radicali ossidanti
I radicali riducenti infatti vengono prontamente ossidati dall'ossigeno di cui sono permeate tutte le cellule

6.2.2. RADICALI DELL'OSSIGENO

☞ L'ossigeno normalmente va incontro ad una riduzione ad H₂O catalizzata dalla citocromo-ossidasi

☞ Questo processo porta alla produzione, come composti intermedi, di specie tossiche (radicali dell'ossigeno) parzialmente ridotte

Le tre più importanti sono:

- ione superossido $O_2^{\bullet-}$
- perossido di idrogeno o acqua ossigenata. Non è un vero radicale ma è molto reattivo ed è implicato in reazioni come ossidante H_2O_2
- radicale idrossile $OH^{\bullet}$

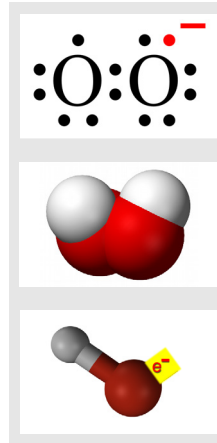
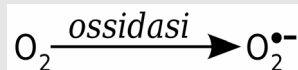


Figura 6.1. Composti reattivi dell'ossigeno: ione superossido (in alto), perossido di idrogeno (al centro), radicale idrossile (in basso)

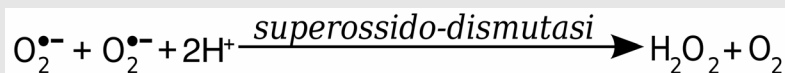
☞ Questi radicali possono essere prodotti dall'attività di numerosi enzimi in differenti compartimenti cellulari: tra cui: citosol, mitocondri, lisosomi, perossisomi e membrane plasmatiche

6.2.3. IONE SUPEROSSIDO

☞ Lo ione superossido viene generato o direttamente durante la auto-ossidazione nei mitocondri o enzimaticamente dagli enzimi citoplasmatici, come la xantina-ossidasi, citocromo P⁴⁵⁰, ed altre ossidasi



☞ Una volta prodotto, $O_2^{\bullet-}$ può essere inattivato sia spontaneamente sia, più velocemente, dall'enzima superossido dismutasi (SOD), formando H₂O₂



6.2.4. PEROSSIDO DI IDROGENO

☞ Il perossido di idrogeno viene prodotto o per dismutazione di $O_2^{\bullet-}$ o direttamente dalle perossidasi presenti nei perossisomi (organuli contenenti catalasi presenti in molti tipi cellulari)

6.2.5. RADICALE IDROSSILE

- Il radicale idrossile viene generato da
- idrolisi dell'acqua dovuta a radiazioni ionizzanti



- per interazione con metalli di transizione quali Fe e Cu che sono in grado di cambiare stato di valenza accettando o donando elettroni liberi durante la transizione



- attraverso la reazione di Haber-Weiss



6.2.6. ALTRI RADICALI LIBERI IMPORTANTI IN PATOLOGIA

- Il ferro è particolarmente importante nel danno da ossigeno insieme all'acqua ossigenata. Nei compartimenti organici è per lo più bloccato in tasche idrofobiche di proteine che lo legano e lo tengono lontano dall'acqua

La maggior parte del ferro libero si trova sotto la forma ferrica (Fe^{3+}) e deve essere ridotto alla forma ferrosa (Fe^{2+}) per poter essere attivo nella **reazione di Fenton**

Questa reazione può essere favorita dal superossido, e quindi per un danno cellulare ossidativo massimale sono necessarie sorgenti sia di ferro che di superossido

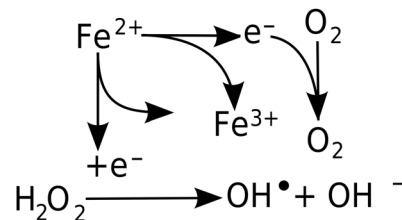
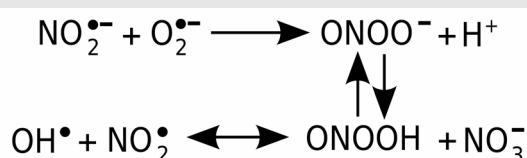


Figura 6.2. Reazione di Fenton

- Un esempio di reazione radicalica incentrata sul carbonio è rappresentato dalla conversione enzimatica del tetracloruro di carbonio



- L'ossido di azoto (NO), un importante mediatore chimico, può agire come un radicale libero e può anche essere convertito nell'anione perossinitrito (ONOO^-) od in $\text{NO}_2^\bullet$ e NO_3^-



6.3. Radicali ossidanti e macromolecole

-  Tra i bersagli dei radicali ossidanti quelli che, se danneggiati, provocano le conseguenze più gravi sono le macromolecole: lipidi, proteine, acidi nucleici

6.3.1. RADICALI LIBERI E LIPIDI

-  I radicali liberi, in presenza di ossigeno, possono causare la perossidazione della componente lipidica delle membrane che delimitano gli organuli citoplasmatici con conseguente alterazione strutturale e funzionale del reticolo endoplasmatico, dei mitocondri e degli altri componenti microsomiali (il termine microsomi si riferisce all'insieme delle strutture vescicolari e reticolari intra-cellulari)
-  La perossidazione lipidica è il processo mediante il quale i grassi esposti all'aria ed inadeguatamente refrigerati divengono rancidi. Tale processo si può riscontrare anche all'interno di cellule viventi
- Infatti:
- i lipidi poli-insaturi, quali quelli situati entro le strutture di membrana, sono caratterizzati dalla presenza di alcuni doppi legami fra gli atomi di carbonio costituenti l'ossatura della molecola: tali legami rendono più debole la forza con cui detti atomi legano a sé l'idrogeno
 - questa riduzione nella forza del legame rende le molecole particolarmente sensibili all'attacco di radicali liberi
 - l'interazione lipide-radicalica porta alla formazione di perossidi a loro volta instabili, innescando una reazione a catena auto-alimentantesi che ha come risultato finale un esteso danno a livello di membrane e organuli cellulari

6.3.2. RADICALI LIBERI E PROTEINE

-  Inducono la formazione di legami fra molecole proteiche normalmente separate
- gli amminoacidi più sensibili alla formazione di tali legami sono metionina, istidina, cisteina e lisina
-  I radicali inducono l'inattivazione di alcuni enzimi, in particolare di quelli contenenti gruppi sulfidrilici

6.3.3. RADICALI LIBERI ED ACIDI NUCLEICI

-  Possono provocare mutazioni genetiche che, se non riparate, portano all'insorgenza di alterazioni cellulari
-  Gli effetti variano a seconda che la cellula colpita sia
- di una linea somatica
 - di una linea germinale
-  Gli effetti si possono tradurre nelle linee germinali in
- non fertilità
 - mutazioni nella prole
- nelle linee somatiche in
- danno cellulare con conseguente perdita di funzione
 - trasformazione neoplastica
 - teratogenesi (embrione e feto, specie nei primi 3 mesi di gravidanza)

6.3.4. TOSSICITÀ DA OSSIGENO

-  La tossicità da ossigeno è dovuta ad un meccanismo basato sulla formazione di radicali liberi in quantità superiori alla capacità dei tessuti di disporne in modo sicuro
- i polmoni possono subire danno se esposti ad alte concentrazioni di ossigeno, come nella ossigeno-terapia iperbarica
 - si può avere induzione di alcuni danni oculari (fibroplasia retrolentale) in neonati che abbiano trascorso periodi più o meno lunghi in incubatrici in cui sia introdotto ossigeno ad elevata pressione parziale (neonati con funzione polmonare insufficiente)

6.3.5. RADICALI E SENESCENZA CELLULARE E DELL'ORGANISMO

-  Il progressivo accumulo dei danni causati dall'azione dei radicali liberi può essere il responsabile ultimo di alcuni aspetti peculiari dell'invecchiamento sia cellulare che dell'individuo
-  La lipofuscina (risultato di una complessa azione fra lipidi e proteine indotta dalla perossidazione dei lipidi polinsaturi presenti entro la struttura delle membrane sub-cellulari) si accumula in funzione dell'età in una ampia varietà di tessuti, in particolare nel cuore, nel fegato e nel cervello, essendo essa resistente alla degradazione enzimatica
-  I radicali liberi, formatisi durante il trascorrere degli anni sia da reazioni di ossido-riduzione fisiologiche che dalla lunga esposizione ad agenti ambientali esogeni, sono causa della perossidazione cumulativa dei lipidi di membrana e dell'accumulo di lipofuscina

6.3.6. DIFESE CONTRO I RADICALI LIBERI

Decadimento

-  Il superossido, decade spontaneamente in ossigeno e perossido d'idrogeno. Il livello di tale decadimento viene incrementato dall'azione catalitica della superossido-dismutasi

Enzimi

-  Molti enzimi forniscono una naturale difesa contro l'azione dei radicali liberi:
- | | |
|--------------------------|----------------|
| ● glutatione-sintetasi | ● deidrogenasi |
| ● glutatione-perossidasi | ● dismutasi |
| ● glucoso-6 fosfatasi | ● catalasi |
-  Le dismutasi catalizzano la scissione dei superossidi ad acqua ossigenata che viene decomposta in acqua e ossigeno dalle catalasi

Anti-ossidanti

☞ L'azione degli anti-ossidanti esogeni o endogeni (es.: vitamina E, cisteina e glutazione) svolge un ruolo importante nell'inibire la formazione di radicali liberi oppure nell'inattivare gli stessi

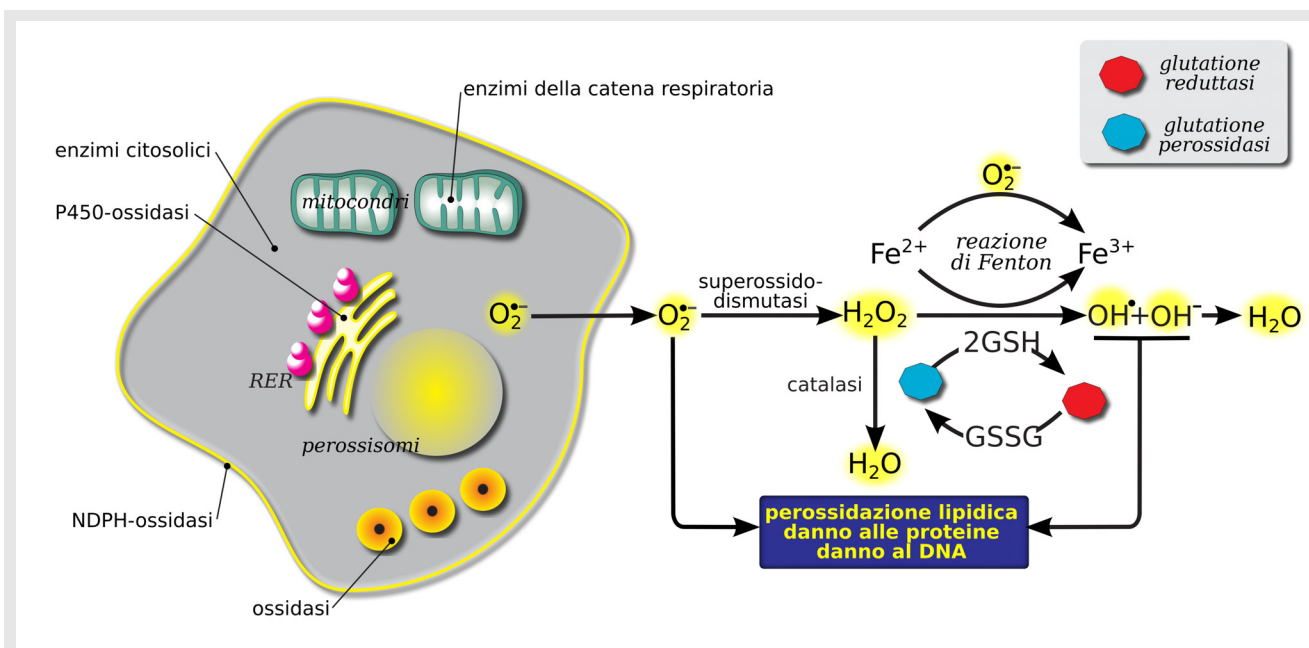
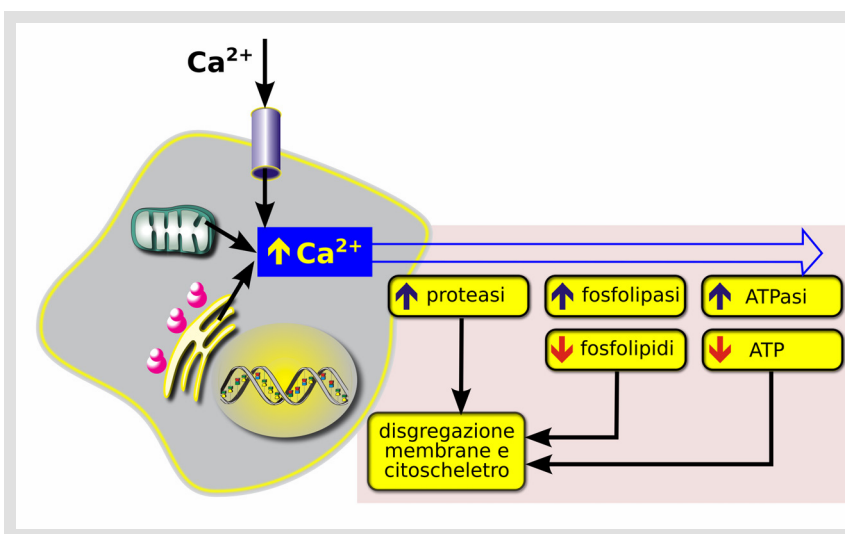


Figura 6.3. Meccanismi anti-ossidanti. Le reazioni indicate non sono descritte stechiometricamente, ma solo qualitativamente. RER: reticolo endoplasmico rugoso

6.4. Il ruolo del calcio

☞ Al danno non riparato seguono alterazioni della distribuzione del calcio che sono fatali:

- una modificazione nella sua distribuzione entro la cellula
- un aumento nella concentrazione intra-cellulare del calcio che attiva molteplici attività enzimatiche



In presenza di un danno prolungato i mitocondri tendono ad accumulare calcio, subendo un disaccoppiamento dei meccanismi respiratori

Figura 6.4. Ruolo del calcio

Il calcio è un cofattore per l'attività di molti enzimi, tra cui le proteasi.

Per non far coagulare il sangue in provetta è sufficiente rendere indisponibile il calcio con l'aggiunta di un chelante. Il processo della coagulazione infatti è mediato da fattori della coagulazione proteasi calcio-dipendenti

L'attivazione da parte del calcio degli enzimi litici intra-citoplasmatici è una delle azioni più devastanti che una cellula possa subire

6.5. Ruolo critico dell'ossigeno

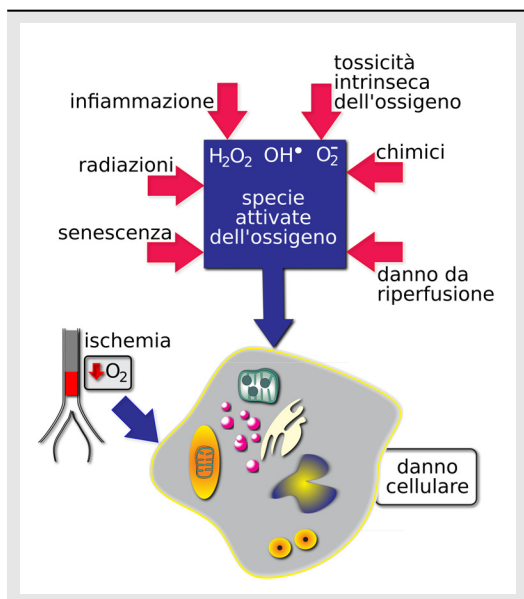


Figura 6.5. Ruolo critico dell'ossigeno

L'ischemia provoca danno riducendo l'apporto di ossigeno, mentre altri stimoli, come le radiazioni, provocano il danno attraverso i radicali tossici attivati dell'ossigeno

In conclusione l'ossigeno è dannoso

- sia quando manca
- sia quando è presente in eccesso rispetto alle capacità dell'organismo di far fronte alle ossidazioni che esso stesso produce

6.5.1. DANNO ISCHEMICO ED IPOSSICO

 Il primo effetto dell'ipossia è sulla respirazione aerobica delle cellule, cioè la fosforilazione ossidativa da parte dei mitocondri

- diminuisce l'ATP e la sua perdita ha effetti sui sistemi interni delle cellule
- non c'è più ATP per la pompa sodio/potassio: accumulo di sodio intra-cellulare e diffusione del potassio fuori delle cellule

 Entrata dell'acqua nella cellula con conseguente rigonfiamento acuto

 Modificazione nella glicolisi

- la diminuzione dell'ATP cellulare e l'aumento associato dell'AMP stimolano l'enzima fosfofruttosochinasi, che provoca un aumento della glicolisi anaerobica per mantenere le fonti di energia cellulare producendo ATP dal glicogeno che si consuma
- la glicolisi anaerobica provoca un accumulo di acido lattico: riduzione del pH intra-cellulare

 Distacco dei ribosomi dal reticolo endoplasmico e dissociazione dei polisomi in monosomi

 Il danno è ancora reversibile se si ripristina l'ossigenazione normale: se persiste l'ischemia, si verificano danni irreversibili

- es.: nel miocardio indici del danno irreversibile si apprezzano dopo 30-40 min dall'inizio dell'ischemia

Oltre il punto di non ritorno nel danno ischemico

- ☞ Le alterazioni morfologiche che caratterizzano il punto di non ritorno sono:
 - alterazioni mitocondriali
 - esteso danno alla membrana plasmatica
 - rigonfiamento dei lisosomi (entra calcio nella cellula)
- ☞ Continua perdita di proteine e di acidi ribonucleici dalla membrana, divenuta permeabile
- ☞ La diminuzione del pH danneggia le membrane lisosomiali con conseguente:
 - passaggio dei loro enzimi nel citoplasma ed attivazione delle idrolasi acide
 - perdita delle ribonucleoproteine, delle desossiribonucleoproteine e del glicogeno
- ☞ Dopo la morte cellulare, le componenti della cellula vengono degradate progressivamente
- ☞ Rottura della membrana cellulare
 - passaggio degli enzimi cellulari nello spazio extra-cellulare
 - entrata di macromolecole extra-cellulari nelle cellule morte

Le vie al danno ischemico irreversibile

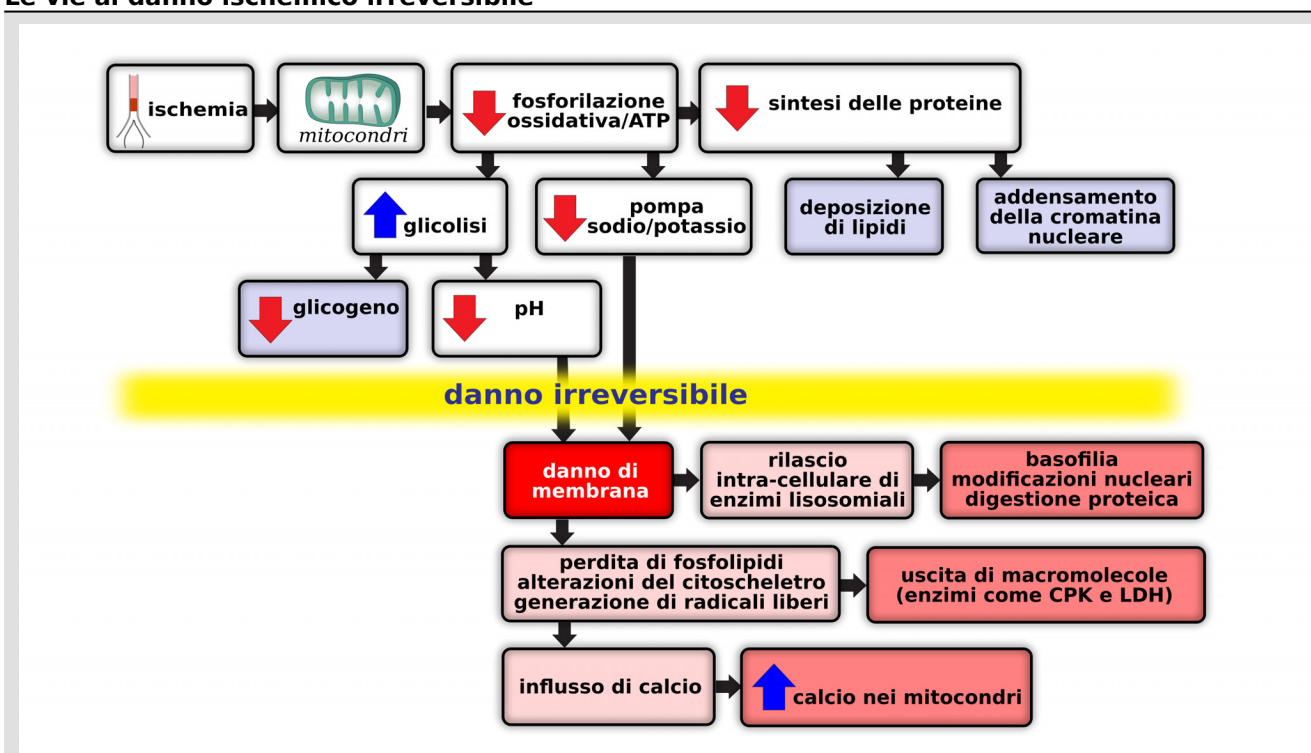


Figura 6.6. Danno irreversibile. CPK: creatin fosfochinasi; LDH: lattico deidrogenasi

Irreversibilità nel danno ipossico

Due fenomeni caratterizzano l'irreversibilità:

- mancato ripristino della funzione mitocondriale
- perdita della funzione di membrana

Incapacità al ripristino della funzione mitocondriale con riperfusione o riossigenazione

- la progressiva deplezione di ATP costituisce di per sé un evento potenzialmente letale, tuttavia, la deplezione di ATP non porta inevitabilmente alla morte cellulare

Il realizzarsi di gravi disturbi della funzione della membrana

- la lesione della membrana cellulare è un fattore centrale nella patogenesi del danno irreversibile
- una membrana cellulare plasmatica intatta è essenziale per il mantenimento della permeabilità e del volume della cellula normale
- il primo aspetto morfologico di danno irreversibile è dimostrabile al microscopio elettronico a livello della membrana

Indipendentemente dal meccanismo di danno irreversibile:

- il danno di membrana causa un forte ulteriore ingresso di calcio dallo spazio intra-cellulare
- Il massiccio ingresso del calcio da il colpo di grazia determinando l'irreversibilità del danno non soltanto da ischemia ma anche da agenti tossici

Da ischemia a danno alla membrana

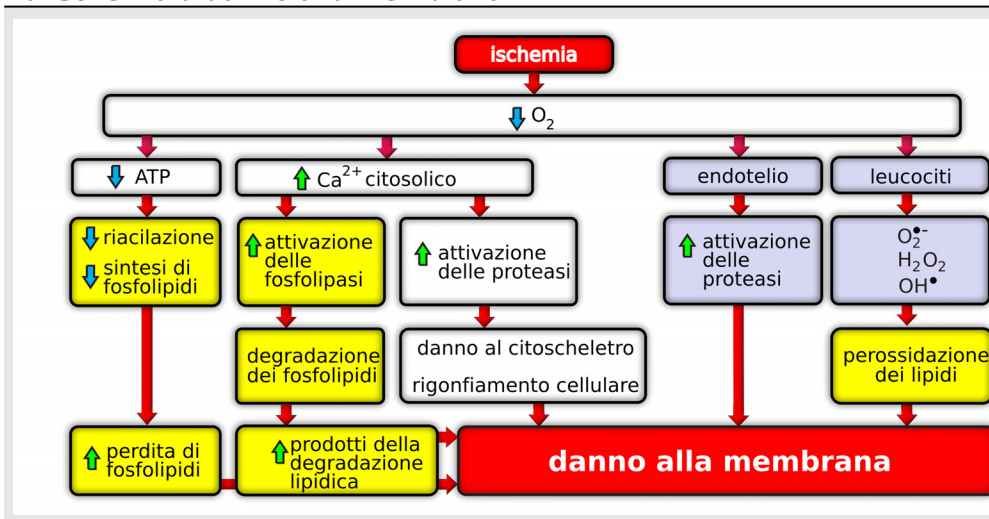


Figura 6.7. Danno alla membrana

In azzurro i danni indiretti dovuti ad un danno primario nei confronti delle cellule dei tessuti di supporto e delle cellule infiammatorie/immunitarie e in loco: in giallo i fenomeni coinvolgenti i lipidi

6.5.2. LISOSOMI E MORTE CELLULARE

-  I lisosomi contengono una vasta gamma di enzimi idrolitici: RNasi, DNasi, proteasi, fosfatasi, glicosidasi e tanti altri
-  Gli enzimi lisosomiali hanno un *optimum* di azione a pH acido
-  Con l'insorgenza del danno cellulare si ha sempre una progressiva acidosi intra-cellulare, qualunque sia il meccanismo provocante,
-  La liberazione degli enzimi lisosomiali o la rottura dei lisosomi permette l'attivazione degli enzimi stessi nel citoplasma acidificato
-  I lisosomi solo raramente sono causa di morte cellulare: la loro azione distruttiva sulle strutture cellulari segue la morte cellulare e non la precede
Ora invece è ben chiaro che tali eventi compaiano generalmente solo in seguito a morte cellulare
-  I lisosomi ed i loro enzimi sono coinvolti nelle alterazioni enzimatiche tipiche della necrosi e nella digestione e rimozione della cellula morta (autolisi)

6.5.3. DANNO DA RIPERFUSIONE

-  Durante la riperfusione di organi ischemici si ha un brusco aumento di fenomeni necrotici che coincide con un'esplosiva produzione di metaboliti intermedi reattivi dell'ossigeno
-  Questo processo è attribuibile a:
 - accumulo di xantina proveniente dalla precedente degradazione dell'ATP in condizioni di ipossia (si consuma ATP producendo ADP che non viene rifosforilato a causa dell'assenza di fosforilazione ossidativa e si avvia alla trasformazione in xantina)
 - scissione proteolitica della xantina-deidrogenasi che si trasforma in xantina-ossidasi
-  Quando l'ossigenazione del tessuto viene ripristinata, si ha l'ossidazione massiccia della xantina da parte della xantina ossidasi con produzione di prodotti reattivi dell'ossigeno
-  L'estensione della necrosi da riperfusione può essere bloccata o ridotta da:
 - superossido-dismutasi (diminuzione dei radicali tossici dell'ossigeno)
 - allopurinolo (inibitore della xantina-ossidasi)
 - inibitori delle proteasi (inibizione della trasformazione xantina-deidrogenasi/xantina-ossidasi)

6.6. Enzimi indicatori

 Dall'aumentata permeabilità di membrana, in conseguenza di gravi danni insorti nella cellula oppure della sua morte, scaturisce uno dei più utili test clinici comunemente utilizzati nella diagnosi di molte malattie

-  La liberazione di enzimi citoplasmatici
- glutammico-ossalacetico transamminasi (GOT)
 - glutammico-piruvico transamminasi (GPT)
 - lattico deidrogenasi (LDH)
 - creatin-fosfochinasi (CPK)

nel liquido interstiziale ed in seguito nel sangue, fornisce un test sierologico valido per poter verificare l'insorgenza di un danno cellulare

-  Questi enzimi possono esistere in diverse forme iso-enzimatiche con espressione selettiva in diversi tessuti permettendo così la localizzazione del danno
- es.: la determinazione nel sangue dell'iso-enzima CPK-MB, essendo esso presente in quantità significativa solo nel cuore, fornisce una ben precisa indicazione sulla insorgenza di un danno miocardio

6.7. Danno indotto da virus citopatici

 La risposta cellulare alla replicazione virale dipende dal tipo di virus e dal tipo di cellula ospite

Tabella 6.1: Effetti citopatici indotti da virus

Effetti citopatici	Esempi
effetto citopatico diretto: i virus che si riproducono rapidamente interferiscono in qualche modo con il metabolismo cellulare e causano lesioni cellulari	● i virus citolitici usano ATP, ribosomi, tRNA, enzimi ed altri processi della cellula per riprodursi, sovvertendo il metabolismo cellulare ed alterando delle sintesi macromolecolari della cellula ospite ● il poliovirus inibisce la formazione di complessi attivi che iniziano la sintesi proteica
induzione di una risposta immunitaria verso gli antigeni del virus o verso la cellula i cui costituenti antigenici sono stati alterati dal virus; comporta la distruzione della cellula attraverso reazioni immunitarie	● il danno agli epatociti causato dal virus dell'epatite B, per esempio, è mediato dalla citolisi indotta dai linfociti T
alterazioni del citoscheletro	● alcuni virus (poxvirus, reovirus) causano alterazioni del citoscheletro ● comuni virus respiratori causano aggiunte o delezioni del numero dei microtubuli nelle ciglia delle cellule epiteliali, interferendo così con la motilità ciliare
gli epiteli talora rispondono alle infezioni da virus con la formazione di cellule giganti sinciziali plurinucleate	● i virus del morbillo ed erpetico provocano la formazione di cellule giganti sinciziali plurinucleate, inducendo la fusione fra cellule ● la fusione richiede l'inserimento di glicoproteine virali nella membrana della cellula ospite e un effetto del virus sul citoscheletro

6.8. Accumuli intra-cellulari

 L'accumulo intra-cellulare può in qualche caso avere come conseguenza una menomazione della funzionalità cellulare

 Tale manifestazione implica:

● **il verificarsi dell'accumulo eccessivo entro la cellula di un qualche normale metabolita**

● es.: glicogeno in pazienti diabetici da lungo tempo con livelli elevati di glucosio ematico

● **l'accumulo di un qualsiasi componente anormale non metabolizzabile**

● accumulo intra-cellulare di un metabolita alterato in seguito ad un disturbo metabolico congenito (es.: glicogenosi e tesarismosi)

● **l'eccessiva sintesi di un qualsiasi prodotto metabolico**

● sintesi eccessiva di melanina, come nel caso di alcune malattie tipo l'insufficienza surrenalica

6.8.1. Acqua

 I due tipi principali di modificazioni dovute ad eccesso di volume intra-cellulare sono:

- rigonfiamento cellulare o rigonfiamento torbido
- degenerazione vacuolare

 Il rigonfiamento cellulare, è una forma lieve e reversibile di danno della cellula e per questo si ritrova solo raramente associata ad un significativo deterioramento funzionale

Cause tipiche di rigonfiamento cellulare con modificazione idropica

- alcune infezioni
- stati febbrili elevati
- ipo-kaliemia

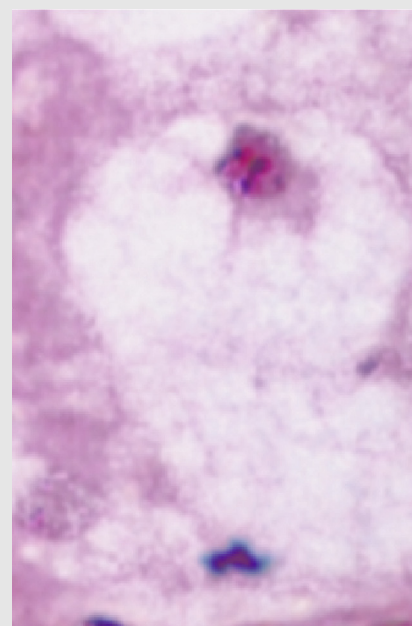
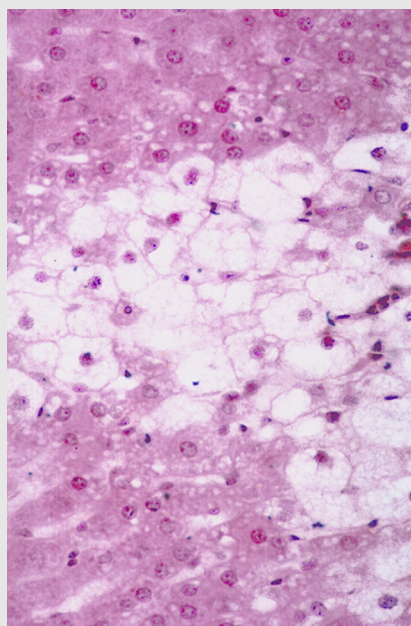


Figura 6.8. Degenerazione vacuolare, fegato. Dalla collezione Eugenio Bonetti, Istituto di Patologia generale dell'Università di Bologna. A dx.: piccolo ingrandimento; a sn.: particolare di una cellula in degenerazione a forte ingrandimento. Il citoplasma degli epatociti appare vacuolizzato. Le membrane cellulari ed i nuclei sono ben conservati

6.8.2. MODIFICAZIONE GRASSA DOVUTA AD ACCUMULO DI TRIGLICERIDI

👉 La modificazione grassa o steatosi rappresenta un fenomeno dannoso, anche se:

- raramente induce alterazioni funzionali significative per la cellula
- è generalmente reversibile

È dovuta a squilibrio nel metabolismo dei lipidi e non a una trasformazione in lipidi di altri componenti cellulari

👉 Poiché i trigliceridi sono scarsamente solubili in ambiente acquoso, tendono a riunirsi in goccioline (allo stato semi-solido alla temperatura corporea di 37°C) che non interferiscono con le reazioni metaboliche che avvengono per lo più in ambiente acquoso

 Organi interessati comunemente

- fegato. Si trova più facilmente nelle cellule epatiche, poiché le stesse rappresentano il sito principale del metabolismo dei grassi
- cuore
- rene
- muscoli scheletrici

6.8.3. MODIFICAZIONE GRASSA DEL FEGATO

Metabolismo normale dei grassi nel fegato

I lipidi arrivano al fegato come:

- **acidi grassi liberi**, mobilizzati dai depositi grassi periferici mediante l'enzima lipoproteinlipasi
- **chilomicroni** (particelle lipidiche composte di trigliceridi, fosfolipidi e proteine) provenienti dal tratto intestinale in seguito all'assorbimento dei grassi alimentari

Nella cellula epatica i chilomicroni subiscono una idrolisi liberando così acidi grassi e glicerolo

Gli acidi grassi possono essere sintetizzati dalle cellule epatiche partendo da acetato ed utilizzando il ciclo di Krebs

Gli acidi grassi vengono poi

- esterificati per la maggior parte a trigliceridi
- trasformati in colesterolo
- incorporati in fosfolipidi
- direttamente degradati con la β -ossidazione

I trigliceridi sono secreti dalla cellula epatica complessati con apo-proteine, formando lipoproteine

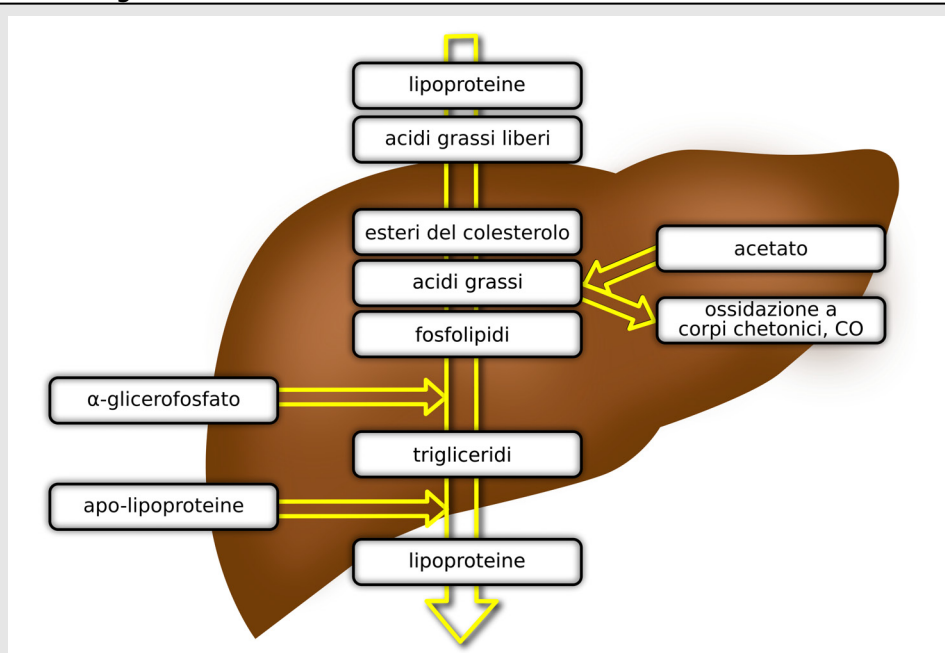


Figura 6.9. Schema sintetico del metabolismo degli acidi grassi nel fegato

Alterazioni del metabolismo epatico dei lipidi



● *arrivo di una quantità eccessiva di acidi grassi al fegato*

● l'inedia e l'azione dei corticosteroidi hanno come azione comune l'aumento della mobilizzazione dai depositi grassi periferici

● *interferenza nella conversione degli acidi grassi in fosfolipidi, che provoca la loro massiccia trasformazione in trigliceridi*

● *aumento nella esterificazione degli acidi grassi a trigliceridi*

● fenomeno che si manifesta in casi di alcolismo cronico

● *deterioramento del meccanismo di sintesi delle apo-proteine richieste nella sintesi di lipoproteine di secrezione*

● questo è il tipo di alterazione cui fanno capo tutte le modificazioni grasse che si verificano nel fegato in seguito ad avvelenamento da tetracloruro di carbonio, da cloroformio, da fosforo e da tetracicline

● *interferenze nel meccanismo di accoppiamento dei lipidi con le proteine accettrici*

Condizioni cliniche con alterazione del metabolismo dei lipidi



● l'alcolismo cronico

● il diabete mellito

● l'inedia e il *kwashiorkor* (letteralmente: la malattia del penultimo quando nasce l'ultimo), dovuto al passaggio dall'allattamento al seno ad una dieta essenzialmente costituita da carboidrati e priva di proteine)

Morfologia della steatosi



Un accumulo lipidico più marcato ha come conseguenza immediata il manifestarsi di una fusione progressiva dei piccoli numerosi vacuoli in uno solo o alcuni di grandi dimensioni, in grado frequentemente di dilatare la cellula e dislocare il nucleo comprimendolo a volte contro la membrana plasmatica

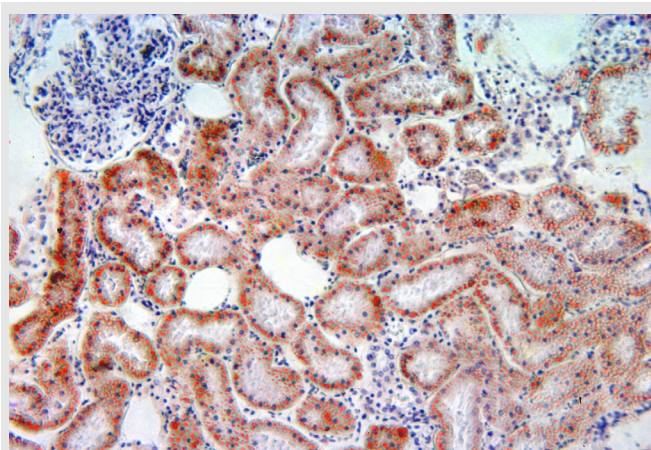


Figura 6.10. Modificazione grassa, rene. Colorazione con Sudan. Dalla collezione Eugenio Bonetti, Istituto di Patologia generale dell'Università di Bologna.

Piccolo ingrandimento. Le goccioline di lipidi intra-cellulari sono colorate in rosso. Si noti che le strutture istologiche sono ben preservate

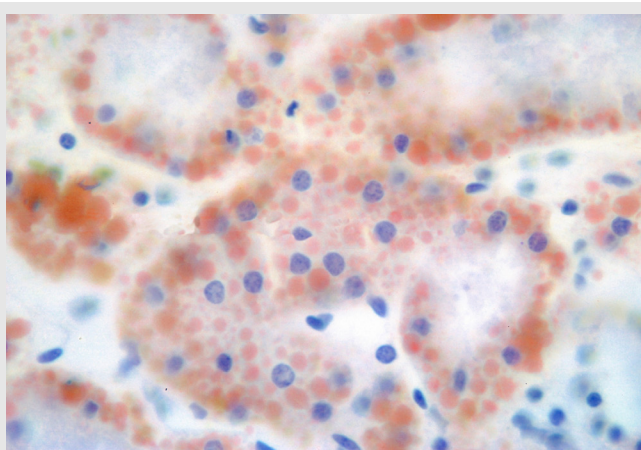


Figura 6.11. Modificazione grassa, rene. Colorazione con Sudan. Dalla collezione Eugenio Bonetti, Istituto di Patologia generale dell'Università di Bologna.

Forte ingrandimento. Le goccioline di lipidi intra-cellulari sono colorate in rosso. Si noti che le strutture cellulari sono ben preservate

6.8.4. GLICOGENO



☞ L'accumulo di glicogeno è tipico dei pazienti in cui sia presente una alterazione del metabolismo del glicogeno o dei carboidrati

- diabete mellito
- glicogenosi (malattie da accumulo di glicogeno, complesso di disturbi metabolici congeniti)

Diabete mellito

- ☞ I diabetici presentano livelli elevati di glucosio ematico con glicosuria
- ne consegue un aumento del livello di riassorbimento di glucosio da parte delle cellule epiteliali del tubulo renale
 - il riassorbimento interessa la porzione terminale rettilinea dei tubuli contorti prossimali e l'ansa di Henle
 - il glucosio così riassorbito viene immagazzinato sotto forma di glicogeno in quantità tale da causare una netta vacuolizzazione del citoplasma di tali cellule

L'accumulo di glicogeno dovuto a diabete si manifesta nelle cellule β delle isole del pancreas e negli epatociti

Glicogenosi

- ☞ Alla base delle malattie dovute ad alterazioni del metabolismo del glicogeno vi è la perdita di uno o più enzimi che presiedono o alla mobilizzazione del glicogeno o alla sua sintesi. Si tratta di malattie genetiche ad ereditarietà generalmente autosomica recessiva
- ☞ Quando viene sintetizzata una forma anomala di glicogeno, essa non può venire mobilizzata e quindi tende ad accumularsi in diverse sedi quali le cellule cardiache, epatiche, renali o in altri organi
- Il glicogeno viene tesaurizzato in quantità talmente grandi da provocare aumento del volume sia cellulare sia dell'intero organo interessato, provocando disfunzioni anche letali

6.8.5. LIPIDI (DIVERSI DAI TRIGLICERIDI)



Aterosclerosi

- ☞ Le cellule muscolari lisce, presenti entro l'intima delle arterie, si caricano di lipidi, soprattutto colesterolo e suoi esteri, provenienti dalla frazione lipidica plasmatica
- Una frazione di questi lipidi possono essere ossidati o perossidati, e quando vengono riversati nell'interstizio danno luogo a fenomeni infiammatori cronici che, anche se deboli, hanno durata indefinita e conducono alla lesione elementare dell'aterosclerosi: l'ateroma

Accumuli a seguito di iper-colesterolemia

- ☞ Accumuli intra-cellulari di colesterolo possono localizzarsi in istiociti sub-epidermici e in posizione para-tendinea, ove essi producono masse pseudo-tumorali meglio note come **xantomi**

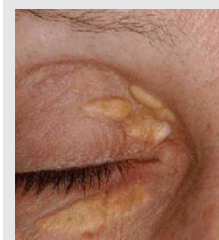


Figura 6.12. Xantomi palpebrali.
Modificato da lennekeverdouw.info

6.8.6. PROTEINE

-  La formazione di accumuli proteici si manifesta a carico di cellule
- quando giunga una eccessiva quantità di proteine rispetto a quelle normalmente metabolizzate
 - quando siano le cellule stesse a sintetizzarne una abnorme quantità
 - per accumulo di proteine non idrolizzabili
 - per accumulo di proteine virus-indotte

Questi accumuli vengono spesso descritti come **ialini**

Rene

- in condizioni normali, lievissime quantità di albumina filtrate attraverso il glomerulo vengono riassorbite nei tubuli contorti prossimali
- un qualsiasi tipo di malattia in grado di indurre una grave proteinuria ha come diretta conseguenza il riassorbimento della componente proteica tramite pinocitosi
- se la proteinuria cessa, la cellula è in grado di metabolizzare e quindi eliminare tali depositi proteici

Plasmacellule

- l'accumulo di immunoglobuline nelle cisterne del reticolo endoplasmatico rugoso di plasmacellule provoca la formazione di inclusioni rotondegianti, omogenee e acidofile, dette corpi di Russell

6.8.7. LIPIDI E CARBOIDRATI COMPLESSI

-  La formazione di accumuli intra-cellulari costituiti da metaboliti non usualmente presenti, per quantità o qualità, entro il citoplasma, contraddistingue un numero di alterazioni metaboliche congenite meglio note col termine di malattie da accumulo o **tesaurismi**
- Si tratta spesso di geni mutati disvitali, cioè tali da rendere possibile alcuni anni di vita ma non la riproduzione
-  I prodotti metabolici anomali vengono raccolti entro determinate cellule dell'organismo, in particolare quelle del sistema reticolo-endoteliale
-  La natura di tali sostanze varia dai lipidi complessi (nelle malattie di Gaucher, Tay-Sachs e Niemann-Pick) ai carboidrati complessi (tipici delle sindromi di Hurler e Hunter) sino a comprendere composti estremamente insoliti quali glicolipidi e mucolipidi

Figura 6.13. Malattie di Niemann-Pick e Gaucher: patogenesi. Da: AA vari (1998)

A causa della deficienza di β -glicosidasi o sfingomielinasi si ha un accumulo di lipidi non digeribili

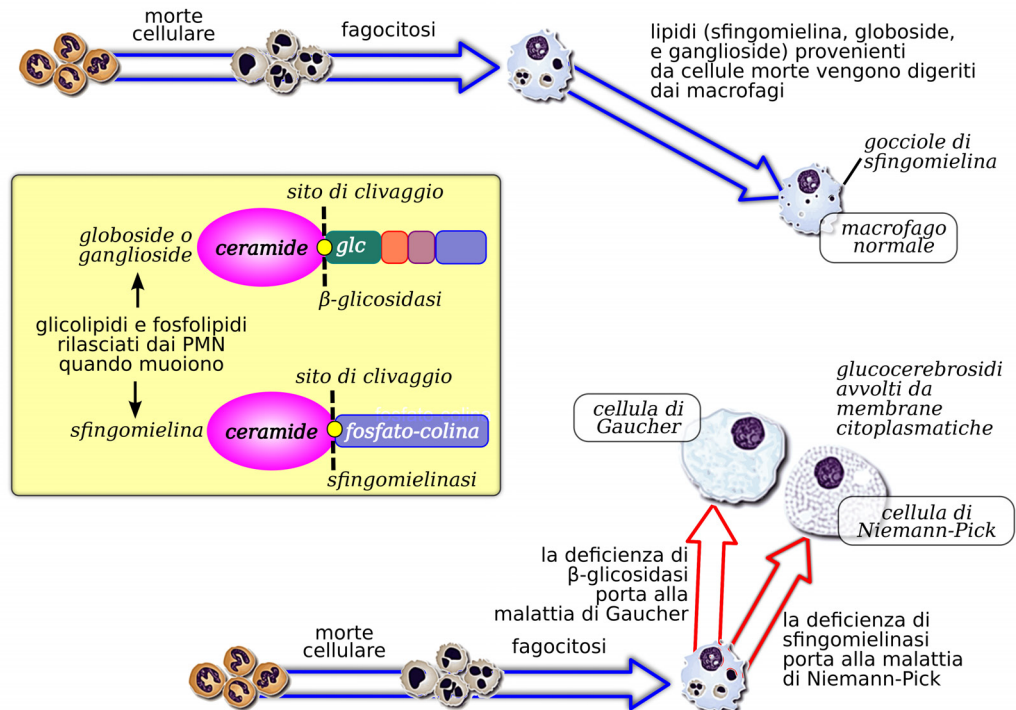
Questi due enzimi sono necessari per la degradazione lisosomiale dei glicolipidi e dei fosfolipidi rilasciati dalle cellule in via di distruzione

Gli enzimi tagliano la ceramide dal resto della molecola

Nella malattia di Gaucher, vari enzimi degradano tutto fatta eccezione per il legame glucoso-ceramide

Nella malattia di Niemann-Pick, la sfingomielina rimane intatta

I lipidi non digeriti si accumulano nei lisosomi dei macrofagi



6.8.8. SOSTANZE NON METABOLIZZABILI ENDOGENE O ESOGENE

Pigmenti

I pigmenti (letteralmente sostanze colorate) che si possono accumulare nel nostro organismo sono divisibili per gli effetti che hanno in

- inerti
- reattivi

Sebbene un accumulo di pigmenti non abbia, nella maggior parte dei casi, alcuna implicazione funzionale, esso fornisce una indicazione sull'esistenza e natura di una qualche anomalia alla base di tale comparsa

la formazione entro le cellule di un accumulo di pigmenti può avere origine

- esogena
- endogena

Tabella 6.2: Pigmenti endogeni ed esogeni

Pigmenti di natura esogena inerti	Pigmenti di natura endogena
● tatuaggi	● emosiderina (ferro)
● polvere di carbone	● bilirubina
	● lipofusina
	● melanina

Tatuaggi

➡ Più innocua natura ha invece la modificazione della pigmentazione indotta dal tatuaggio, potendo essa al massimo risultare imbarazzante, dato che il pigmento utilizzato ha la indelicata proprietà di persistere *in situ* entro i macrofagi del derma per tutta la vita, determinando un serio problema in chi desideri sposare "Guendalina" mentre il proprio seducente ornamento dermico risulti dedicato a "Vanessa"



Figura 6.14. Tatuaggi di indigeni originari delle Isole Marchesi

Polvere di carbone

➡ L'accumulo di polvere di carbone nei macrofagi presenti entro gli alveoli e nei canali linfatici annerisce i tessuti polmonari (**antracosi**)

- tale condizione viene considerata indicatrice di inquinamento atmosferico, cui sono esposti sia il minatore che lavora in miniere di carbone che l'individuo residente in una grande città
- nei minatori che estraggono carbone, un grande accumulo entro i polmoni di questo tipo di polvere può dare origine alla cosiddetta pneumoconiosi del lavoratore del carbone
- questa non interferisce con la funzionalità respiratoria, ad eccezione di casi estremi di fibrosi massiva progressiva polmonare

6.8.9. PNEUMOCONIOSI: SILICOSI

Un discorso a parte meritano le pneumoconiosi che sono correlate con l'antracosi da polvere di carbone ma che sono formate dalla presenza di sostanze reattive. Provocano **fibrosi polmonare progressiva**. Tra queste:

- **silicosi**
- **asbestosi**
- berillosi (rara)

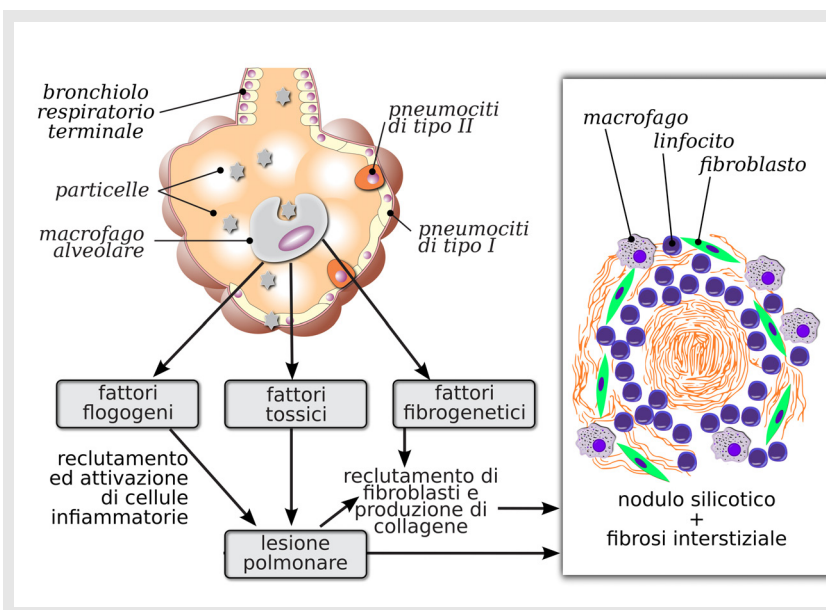


Figura 6.15. Patogenesi della silicosi

La silice è in grado di evocare una seria reazione fibrosante: la silicosi

L'introduzione di particelle di silice comporta la fagocitosi delle stesse da parte dei macrofagi alveolari

la silice libera piccole quantità di acido silicico che sono flogogene, non viene digerita dai macrofagi che morendo la rilasciano nell'interstizio

Questo provoca flogosi cronica interstiziale diffusa con sovertimento della struttura polmonare e formazione di enfisema e granulomi

La silicosi è una malattia cronica progressiva che conduce ad invalidità permanente e morte per insufficienza respiratoria

6.9. Alterazioni extra-cellulari

6.9.1. CALCIFICAZIONE

 La calcificazione tissutale impropria si verifica con due meccanismi distinti:

- calcificazione distrofica
- calcificazione metastatica

Calcificazione distrofica

La calcificazione distrofica è costituita da depositi di calcio in tessuti necrotici in presenza di normali livelli ematici di calcio e di un suo regolare ricambio

I meccanismi biochimici che portano alla calcificazione distrofica sono molteplici. In generale:

- la denaturazione delle proteine determina l'esposizione di alcuni gruppi reattivi che legano i fosfati liberatisi a seguito della disgregazione della cellula
- i fosfati a loro volta si legano al calcio

Calcificazione metastatica

La calcificazione metastatica si manifesta in tessuti normali in associazione con squilibri nel ricambio del calcio

Le cause più importanti di iper-calcemia includono:

- iper-paratiroidismo
- intossicazione da vitamina D
- sarcoidosi sistemica
- sindrome latte/alcali

6.9.2. MODIFICAZIONE IALINA

Definizione

Ialino è un termine riferito a qualsiasi sostanza omogenea, trasparente, di aspetto roseo alla colorazione con ematossilina-eosina

 Depositi ialini si possono verificare:

- dentro le cellule (vedi accumuli di proteine)
- fra le cellule

Il termine viene applicato ad una notevole varietà di modificazioni istologiche solo con intento descrittivo:

- cicatrici con presenza di collagene fibroso denso possono presentarsi con aspetto ialino
- l'ispessimento e la reduplicazione delle membrane basali, nelle arteriole soggette per lungo tempo a ipertensione, sono causa di arteriolosclerosi ialina
- gli anormali depositi proteici extra-cellulari tipici dell'amiloidosi

6.9.3. PATOLOGIA DA MISFOLDING PROTEICO

☞ La corretta sintesi, *folding*, assemblaggio, traslocazione ed eliminazione delle proteine sono essenziali per la salute della cellula e dell'organismo

Quando le proteine si ripiegano in modo scorretto possono innescare una cascata di eventi molecolari deleteri, che terminano in una disfunzione cellulare

☞ Quando la formazione di aggregati proteici modificati nella conformazione, sì da non poter essere eliminati, avvengono nei neuroni, le conseguenze possono essere devastanti

Molte neuropatie coinvolgono la comparsa citopatologica di aggregati proteici intra- ed extra-cellulari nel cervello, tra cui:

- il morbo di Alzheimer
- il morbo di Parkinson
- la sclerosi laterale amiotrofica (SLA)
- la corea di Huntington

In queste ed in altre neuropatie è presente una mutazione in una proteina che causa la comparsa di oligomeri ed altri aggregati tossici, tra cui

- peptide β -amiloide (nell'amiloidosi)
- α -sinucleina (nel morbo di Parkinson)
- huntingtonina (nella corea di Huntington)

6.9.4. FORMAZIONE DI AGGREGATI PROTEICI INDIGERIBILI

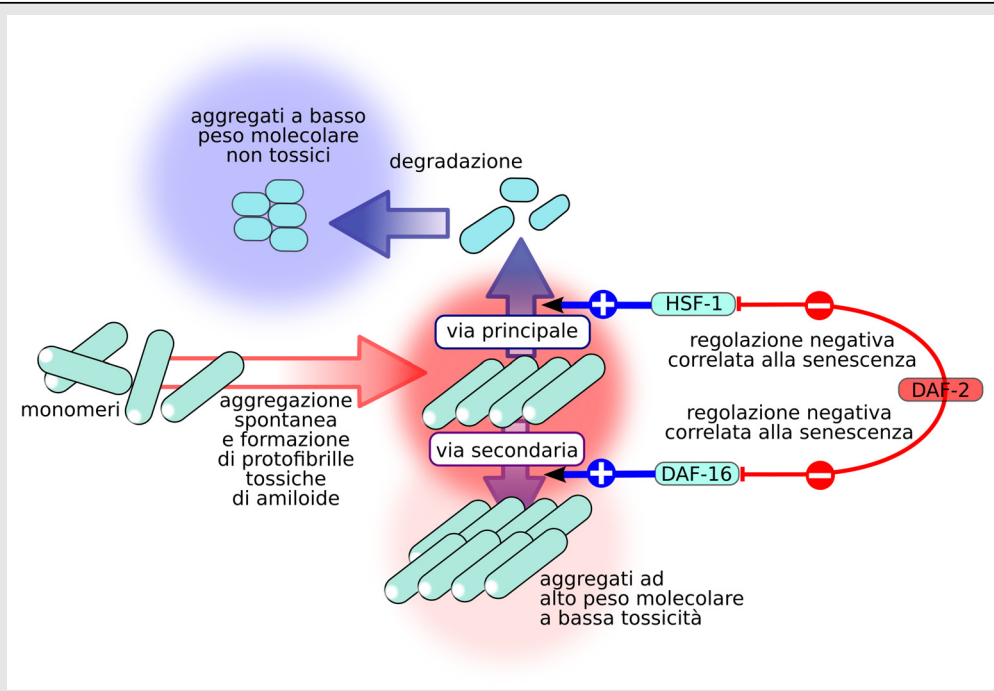
Figura 6.16. Invecchiamento e stress. Modificato da Morimoto (2007)

Il fattore HSF-1 accelera la degradazione degli oligomeri tossici a prodotti non tossici

Quando la capacità di questa via principale viene superata si attiva una via secondaria sotto il controllo di DAF-16

Nella senescenza DAF-2 blocca entrambe queste vie provocando l'accumulo degli oligomeri tossici

Lo stress può portare a condizioni per cui si accumulano aggregati proteici non digeribili con vario grado di citotossicità, contribuendo all'invecchiamento cerebrale



6.10. Alterazioni sub-cellulari

 Le principali alterazioni sub-cellulari sono a carico di:

- membrana e citoscheletro associato
- lisosomi
- reticolo endoplasmico
- mitocondri
- citoscheletro

6.10.1. MEMBRANA E CITOSCHELETRO ASSOCIATO

 Cause di danno alla membrana ed al citoscheletro associato sono:

- *ischemia e tossici: causano danni alla membrana, reversibili o irreversibili*
- *danni di origine genetica riguardanti il numero e le affinità dei recettori di membrana*
 - es.: nella iper-colesterolemia familiare
- *danni dovuti ad anticorpi verso recettori di membrana*
 - es.: il recettore della tireotropina nell'ipertiroidismo primario
- *difetti dello scheletro della membrana*
 - le alterazioni dello scheletro della membrana sono responsabili di molte importanti malattie dei globuli rossi (es.: in alcuni pazienti con sferocitosi ereditaria, nei quali i globuli rossi sono sferoidi, il difetto nella forma dei globuli rossi è causato da molecole di spectrina anomale che sono incapaci di legare la proteina 4.1 e quindi di mantenere la stabilità della membrana eritrocitaria)

6.10.2. INDUZIONE (IPERTROFIA) DEL RETICOLO ENDOPLASMATICO LISCIO

 L'uso protratto di barbiturici porta uno stato di aumentata tolleranza

Le basi di questo adattamento sono state individuate nell'induzione o ipertrofia del reticolo endoplasmico liscio degli epatociti

I barbiturati sono detossificati nel fegato dalla demetilazione ossidativa, che coinvolge sistemi ossidativi che si trovano nel reticolo endoplasmico liscio

I barbiturati inducono la sintesi di enzimi e l'ipertrofia del reticolo endoplasmico liscio che li contiene.

In questo modo, la cellula aumenta la propria capacità di detossificare i farmaci e quindi si adatta ad un ambiente alterato

I sistemi ossidativi del reticolo endoplasmico liscio sono coinvolti nel metabolismo di altri composti esogeni: idrocarburi carcinogeni, steroidi, tetracloruro di carbonio, alcol, insetticidi, etc.

Le cellule epatiche che presentano ipertrofia del reticolo endoplasmico liscio sono capaci di metabolizzare queste sostanze più rapidamente

6.10.3. MITOCONDRI

 La disfunzione mitocondriale gioca un ruolo importante nel danno cellulare acuto

Varie alterazioni numeriche, dimensionali e di forma dei mitocondri avvengono come conseguenza di condizioni patologiche

- nella ipertrofia e nella atrofia cellulare c'è un aumento o una diminuzione, rispettivamente, del numero dei mitocondri nelle cellule

I mitocondri possono assumere una forma estremamente ingrandita e anomala (mega-mitocondri)

- nel fegato nella malattia alcolica ed in certe deficienze nutrizionali
- nel muscolo scheletrico in alcune miopatie
- in altre cellule nelle quali c'è un'alterazione della crescita e della replicazione mitocondriale

Inoltre, mitocondri grandi e pleiomorfi sono documentabili nelle cellule neoplastiche

 Esistono rare malattie da alterazioni del genoma mitocondriale

Si ricorda che il genoma mitocondriale è tutto codificante e che quindi ogni mutazione viene espressa

Tuttavia ogni cellula possiede numerose copie di DNA mitocondriale, facendo sì che l'effetto finale fenotipico dipenda dalla somma delle attività di tutte le copie

Le mutazioni genetiche mitocondriali si ereditano con il genoma mitocondriale e quindi per via matrilineare

6.10.4. CITOSCHELETRO

 Il citoscheletro consiste oltre a altre proteine contrattili non polimerizzate e non filamentose in

- microtubuli (20-25 nm di diametro)
- filamenti sottili di actina (6-8 nm)
- filamenti spessi di miosina (15 nm)
- varie classi di filamenti intermedi (10 nm)

Le anomalie del citoscheletro si riflettono in difetti di funzione cellulare, come la motilità degli organuli intracellulari

Miofilamenti e microtubuli funzionanti sono essenziali nei vari stadi della migrazione leucocitaria e della fagocitosi, e deficienze funzionali del citoscheletro stanno alla base dei difetti di motilità leucocitaria a fronte di uno stimolo chemiotattico, o determinano l'incapacità di tali cellule a fagocitare

Esempi di patologia da citoscheletro sono:

- un difetto di polimerizzazione dei microtubuli nella sindrome di Chediak-Higashi causa una ritardata o diminuita funzione dei lisosomi e quindi un ostacolo alla fagocitosi
- alcuni farmaci inibiscono la funzione dei microfilamenti e quindi interferiscono con la fagocitosi
- difetti nella organizzazione dei microtubuli impediscono la motilità degli spermatozoi determinando sterilità
- difetti microtubulari determinano immobilità delle ciglia dell'apparato respiratorio e quindi interferiscono con la capacità di liberarsi dei batteri inalati con la conseguenza di infezioni polmonari spesso fatali (sindrome da immobilità ciliare)

6.10.5. AMILOIDOSI



L'amiloide è una sostanza proteica, depositata tra le cellule in vari tessuti in diversi quadri clinici collettivamente chiamati amiloidosi

- l'amiloidosi non va considerata come una unica entità patologica ma come un gruppo di malattie che hanno in comune la deposizione di materiale con caratteristiche fisiche simili
- al microscopio ottico e con colorazioni tissutali standard l'amiloide appare come una sostanza eosinofila, amorfa, a localizzazione extra-cellulare
Assume una caratteristica birifrangenza verde quando viene colorata con rosso Congo ed il preparato viene analizzato con luce polarizzata
Questa caratteristica tintoriale non è dovuta ad una caratteristica chimica ma piuttosto fisica
- con il suo progressivo accumulo l'amiloide viene a schiacciare le cellule adiacenti producendo atrofia, o riduce la funzionalità del microcircolo

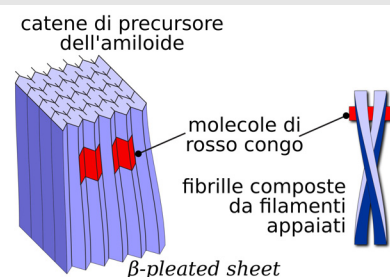


Figura 6.17. Amiloide: struttura.

Struttura di una fibrilla amiloide che mostra la struttura β -pleated sheet ed i siti di legame per il rosso Congo.

Da Glenner (1980), ridisegnato.

Natura fisica dell'amiloide



Al microscopio elettronico la componente principale dell'amiloide appare composto per lo più da fibrille non ramificate di lunghezza variabile e di diametro tra 7.5 e 10 nm

La struttura al microscopio elettronico è uguale per tutti i tipi di amiloide

La cristallografia ai raggi X e la spettroscopia ai raggi infrarossi mostrano la caratteristica conformazione β -pleated sheet

Natura chimica dell'amiloide



La componente proteica è composta da:

95 % fibrille amiloide

5 % componente P ed altre glicoproteine

3 sono i tipi più comuni di amiloide (tra più di 15 identificati):

- AL (amiloide da catena leggera) deriva da catene leggere delle immunoglobuline
- AA (associata all'amiloide) è una particolare proteina non immunoglobulinica prodotta dal fegato
- A β si trova nelle lesioni cerebrali del morbo di Alzheimer

Oltre alle fibrille altri componenti minori sono sempre presenti nell'amiloide:

- la componente SAP (*serum amiloid P component*)
- proteoglicani
- glicosamminoglicani ricchi di gruppi solfato: sostanze non proteinacee connettivali

II TURNOVER dell'amiloide $\alpha\beta$

☞ L'amiloide $\alpha\beta$ che si trova nelle lesioni del morbo di Alzheimer deriva dalla proteina APP (*amiloid precursor protein*)

- la funzione cellulare è ignota
- è costituita da un singolo dominio trans-membrana
- è espressa sulla superficie cellulare
- una forma solubile viene rilasciata dalla superficie cellulare per azione proteolitica dell'enzima α -secretase
- la forma secreta non da origine al frammento $\alpha\beta$
- la APP di superficie può andare incontro ad endocitosi con conseguente processazione in diversi compartimenti cellulari

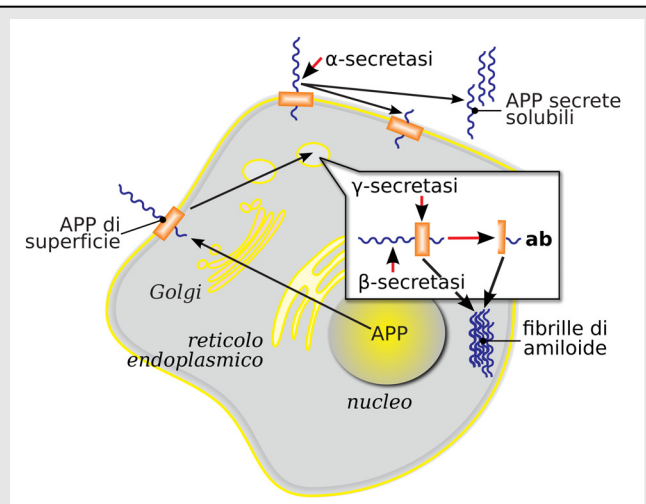


Figura 6.18. Precursori dell'amiloide. APP: amiloid precursor protein (precursore della proteina amiloide)

6.11. Principali fonti utilizzate

- AA vari (1998) *Color Atlas of Hematology I* ed. College of American Pathologists pub., Washington
- Cotran, R.S., Kumar, V., Collins, T. (1999) *Robbins pathologic basis of disease*. VI ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia
- Fawcett, D.W. (1986) *A textbook of histology*. XI ed. Saunders Company, Philadelphia
- Glenner, G.G. (1980) Amyloid deposits and amyloidosis - the beta fibrilloses 1. *N. Engl. J. Med.* 302, 1283-1292
- Kuznetsov, G., Nigam, S.K. (1998) Folding of secretory and membrane proteins. *N. Engl. J. Med.* 339, 1688-1695
- Liotta, L.A., Belluco, C., Petricoin, E.F. III (2008) Genomics and proteomics. In: DeVita, V.T., Lawrence, T.S., Rosenberg, S.A. (eds.) *Devita, Hellman & Rosenberg's Cancer: principles & practice of oncology*. VIII ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. Pp. 13-34
- Martin, J.B. (1999) Molecular basis of the neurodegenerative disorders. *N. Engl. J. Med.* 340, 1970-1980
- Morimoto, R.I. (2007) Aging and neurodegenerative disease. *N. Engl. J. Med.* 355, 2254-2255
- Querfurth, H.W., LaFerla, F.M. (2010) Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* 362, 329-344

Siti web

cdc.gov

commons.wikipedia.org

depts.washington.edu/daglab

lennekeverdouw.info

path.upmc.edu/cases/case478/images

pathology.vcu.edu

urbana_atlas_of_pathology

visitato il 4/11/2007

visitato il 06/09/2008

visitato il 4/11/2007

visitato il 22/10/2009

visitato il 22-01-2008

visitato il 12/09/2008

visitato il 31-12-2007

accessibile il 22/06/2011

accessibile il 22/06/2011

accessibile il 22/06/2011

accessibile il 22/06/2011

contenuto non più disponibile il 23/06/2011

accessibile il 22/06/2011

accessibile il 22/06/2011

