5. Citopatologia

III edizione print edition
Luigi Barbieri, Loris Grossi

(vedi singoli sotto-capitoli)

5. Citopatologia....113
5.1. Il danno cellulare 115
5.1.1. Dinamica del danno cellulare....115
5.2. Danno cellulare mediato da radicali liberi 116
5.2.1. Fisico-chimica dei radicali....116
5.2.2. Radicali dell'ossigeno....117
5.2.3. Altri radicali liberi importanti in patologia....120
5.3. Radicali ossidanti e macromolecole 121
5.3.1. Radicali liberi e lipidi....121
5.3.2. Radicali liberi e proteine....122
5.3.3. Radicali liberi ed acidi nucleici....122
5.3.4. Difese contro i radicali liberi....123
5.3.5. Il giusto equilibrio delle specie reattive dell'ossigeno (ROS)....125
5.4. Il ruolo del calcio 126
5.5. Ruolo critico dell'ossigeno 127
5.5.1. Danno ischemico ed ipossico....128
5.5.2. Danno da riperfusione....130
5.6. Marker indicatori 131
5.7. Danno indotto da virus citopatici 132
5.8. Accumuli intra-cellulari 133
5.8.1. Modificazione grassa dovuta ad accumulo di trigliceridi....134
5.8.2. Modificazione grassa del fegato....135
5.8.3. Glicogeno....137
5.8.4. Lipidi (diversi dai trigliceridi)....138
5.8.5. Proteine....139
5.8.6. Lipidi e carboidrati complessi....140
5.8.7. Sostanze non metabolizzabili endogene o esogene....141
5.8.8. Pneumoconiosi: silicosi....144
5.8.9. Asbestosi....145
5.9. Alterazioni extra-cellulari 147
5.9.1. Calcificazione....147
5.9.2. Patologia da misfolding proteico....148
5.9.3. Formazione di aggregati proteici indigeribili....149
5.10. Alterazioni sub-cellulari 150
5.10.1. Membrana e citoscheletro associato....150
5.10.2. Mitocondri....151
5.10.3. Citoscheletro....152
5.11. Amiloidosi 153
5.12. Principali fonti utilizzate 156

5.1. Il danno cellulare

5.1.1. 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 alla distruzione
- La comparsa del danno quindi è legata:
  - alla *noxa*
  - alla capacità di risposta dell'organismo

5.2. 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 generalmente da:
  - assorbimento di energia radiante (luce ultravioletta, raggi X, raggi γ, etc.)
  - reazioni endogene, solitamente ossido-riduttive, tipiche di qualsiasi normale metabolismo
  - metabolismo di composti chimici esogeni

5.2.1. Fisico-chimica dei radicali

- Nelle molecole i legami generati dalla messa a comune di elettroni da parte di atomi genera orbitali molecolari che contengono coppie di elettroni con *spin* opposto, rendendo così bassa la reattività

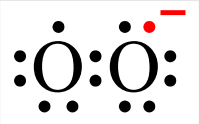
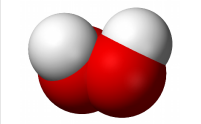
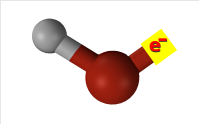
  Un radicale libero è caratterizzato dalla presenza, nell'orbitale più esterno, di un elettrone spaiato
- I radicali risultano essere instabili e reattivi, e possono reagire con proteine, lipidi, carboidrati
- I radicali liberi innescano reazioni a catena: le molecole che reagiscono con loro vengono convertite esse stesse 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

5.2.2. Radicali dell'ossigeno

☞ L'ossigeno normalmente va incontro ad una riduzione ad H_2O catalizzata dalla citocromo-ossidasi portando alla produzione di composti intermedi radicalici

Figura 5.1. Composti reattivi dell'ossigeno: ione superossido (a dx.), perossido di idrogeno (al centro), radicale idrossile (a sn.)

$O_2^{-\bullet}$  H_2O_2  $OH^{\bullet}$ 

- ione superossido
- perossido di idrogeno o acqua ossigenata. Pur non essendo un vero radicale, è molto reattivo ed è implicato in reazioni come ossidante
- radicale idrossile

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

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. Es.:

- si ebbe induzione di danni oculari (fibroplasia retrolentale) in neonati prematuri la cui insufficienza polmonare venne affrontata introducendo ossigeno ad alta pressione nell'incubatrice (oggi l'ossigeno si somministra attraverso cannula direttamente nell'albero respiratorio, anche se questa procedura è assai più invasiva)

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 P^{450}, ed altre ossidasi

$$O_2 \xrightarrow{ossidasi} O_2^{\bullet -}$$

☞ Una volta prodotto, $O_2^{-\bullet}$ può essere inattivato sia spontaneamente sia, più velocemente, dall'enzima superossido dismutasi (SOD), formando H_2O_2

$$O_2^{\bullet -} + O_2^{\bullet -} + 2H^{+} \xrightarrow{superossido\text{-}dismutasi} H_2O_2 + O_2$$

Perossido di idrogeno

☞ Il perossido di idrogeno viene prodotto o per dismutazione di $O2^{-}\bullet$ o direttamente dalle perossidasi presenti nei perossisomi (organuli contenenti catalasi presenti in molti tipi cellulari)

Radicale idrossile

- Il radicale idrossile viene generato da
  - rottura della molecola dell'acqua dovuta a radiazioni ionizzanti

$$H_2O \longrightarrow H^{\bullet} + OH^{\bullet}$$

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

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH^{\bullet} + OH^{-}$$

  - attraverso la reazione di Haber-Weiss

$$H_2O_2 + O_2^{\bullet -} \longrightarrow OH^{\bullet} + OH^{-} + O_2$$

5.2.3. Altri radicali liberi importanti in patologia

- Il ferro è 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

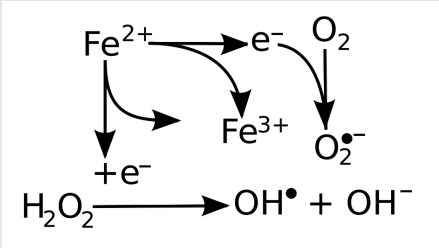


Figura 5.2. Reazione di Fenton

- Alcuni farmaci durante il loro metabolismo assumono forme radicaliche

- L'ossido di azoto ($NO^{\bullet}$), un importante mediatore chimico, è di per sé un radicale, anche se meno reattivo di altri (es.: dei radicali dell'ossigeno)

  L'ossido di azoto ($NO^{\bullet}$) può anche essere convertito nell'anione perossinitrito ($ONOO^{-}$) od in $NO_2^{\bullet}$ e NO_3^{-}

$$NO^{\bullet} + O_2^{\bullet -} \longrightarrow ONOO^{-} + H^{+} + {}^{-}OH \rightleftharpoons H_2O$$

$$OH^{\bullet} + NO_2^{\bullet} \rightleftharpoons ONOOH \rightleftharpoons HONO_2 \rightleftharpoons H^{+} + NO_3^{-}$$

5.3. 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

5.3.1. 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 gli atomi di carbonio viciniori legano a sé l'idrogeno
- questa riduzione nella forza del legame rende le molecole particolarmente sensibili all'attacco di radicali liberi
- l'interazione lipide-radicale 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

5.3.2. 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

5.3.3. 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)

5.3.4. Difese contro i radicali liberi

Decadimento spontaneo

☞ 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
- glutatione-perossidasi
- glucoso-6 fosfatasi
- deidrogenasi
- dismutasi
- 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 glutatione) svolge un ruolo importante nell'inibire la formazione di radicali liberi oppure nell'inattivare gli stessi

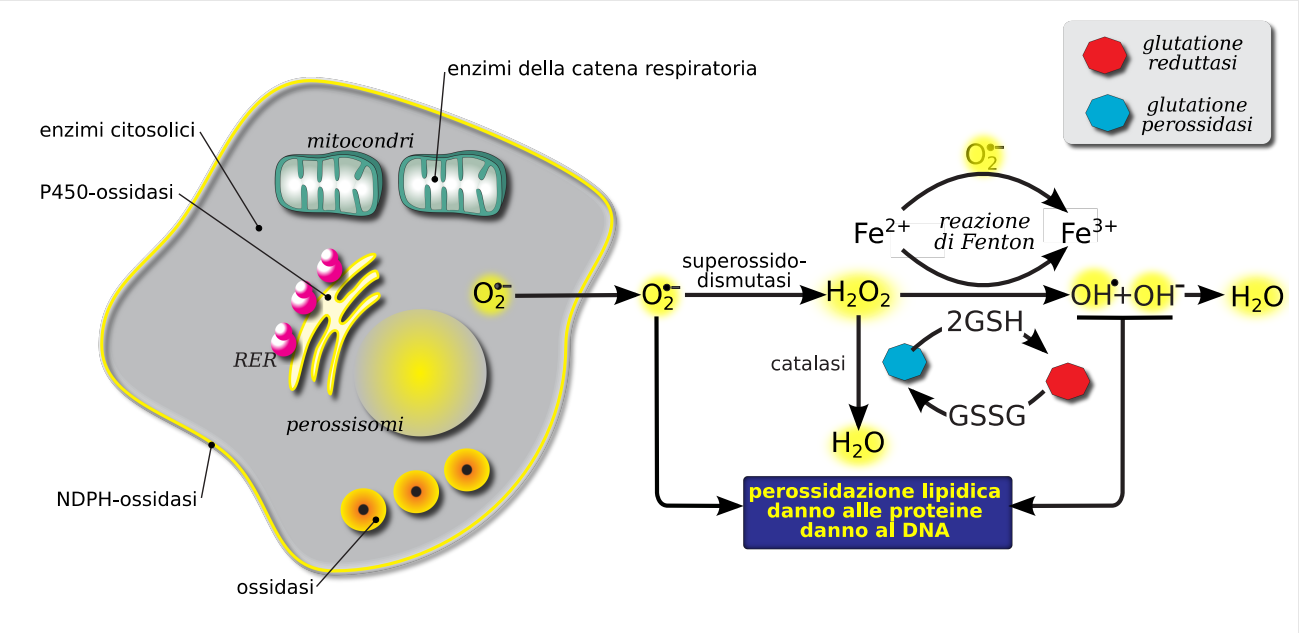


Figura 5.3. Meccanismi anti-ossidanti. Le reazioni indicate non sono descritte stechiometricamente, ma solo qualitativamente. RER: reticolo endoplasmico rugoso

5.3.5. Il giusto equilibrio delle specie reattive dell'ossigeno (ROS)

- Le ROS (*reactive oxygen species*; specie reattive dell'ossigeno) hanno effetti diversi e contrapposti

- ROS e neoplasie:
  - un aumentato livello di ROS accelera instabilità genomica e trasformazione neoplastica
  - livelli elevati di ROS hanno effetti citopatici per tutte le cellule incluse quelle tumorali
  - le cellule neoplastiche possono contestualmente innescare meccanismi protettivi controbilanciando gli effetti deleteri di livelli di ROS cronicamente elevati

  La progressione tumorale dipende quindi in maniera critica dalla sinergia tra queste due attività

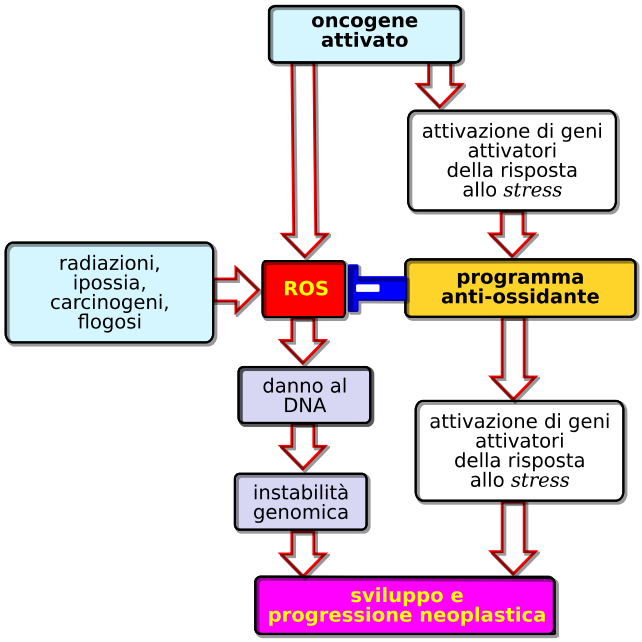
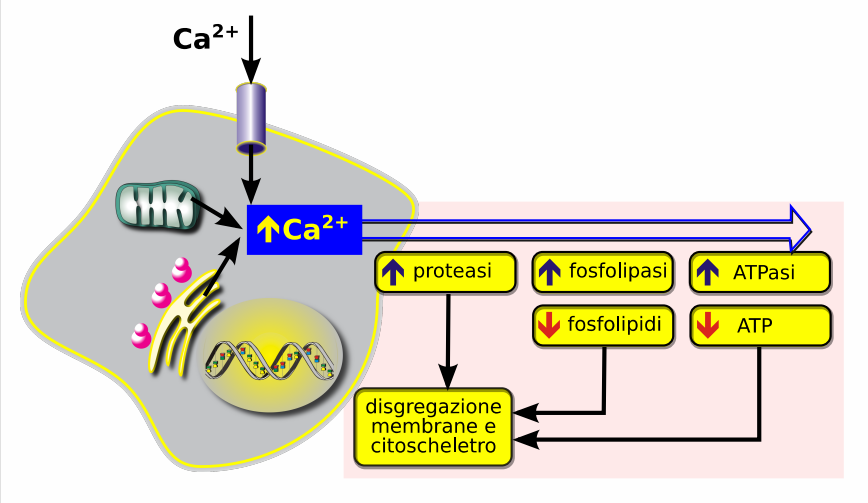


Figura 5.4. Tumori e radicali ossidanti. Liberamente tratto da Perera (2011)

5.4. 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 5.5. 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

5.5. Ruolo critico dell'ossigeno

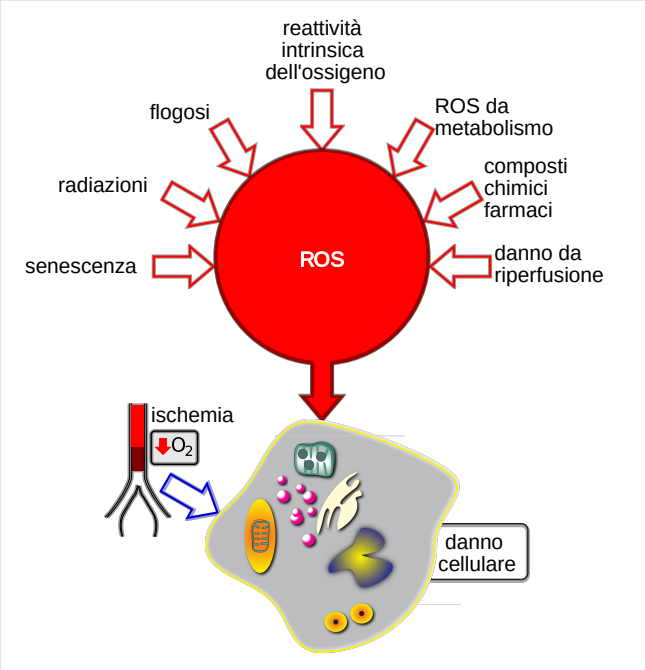


Figura 5.6. Ruolo critico dell'ossigeno

ROS: reactive oxygen species *(specie reattive 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

5.5.1. Danno ischemico ed ipossico

- Il primo effetto della 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

Le vie al danno ischemico irreversibile

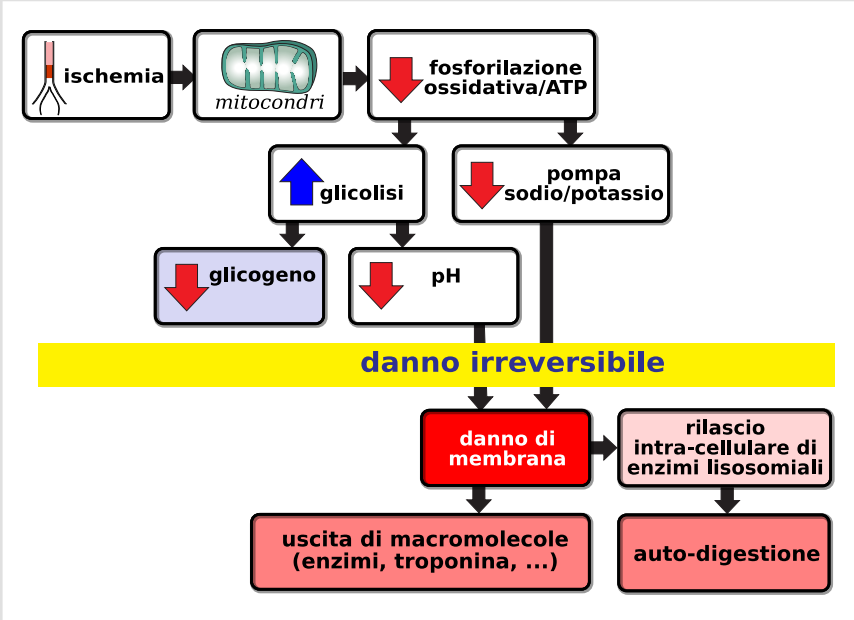


Figura 5.7. Danno irreversibile

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 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*

☞ I tessuti ischemici sopportano anche danni indiretti dovuti ad un danno primario a cellule dei tessuti di sostegno (vasi, cellule ematiche, cellule dell'interstizio) e cellule della flogosi e dell'immunità locali

5.5.2. 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)

5.6. Marker *indicatori*

Per un approfondimento vedi Pasquinelli (2014)

- La liberazione di macromolecole proteiche è la conseguenza di un danno di membrana grave

  Il ritrovare nel plasma proteine che normalmente hanno una localizzazione intra-cellulare rappresenta un *marker* di necrosi

  Alcune di queste proteine sono indicative non solo di generico danno cellulare ma anche di danno di uno specifico tipo cellulare diventando dei marker diagnostici di estrema utilità

- Tra i marker più utilizzati:
  - troponine cardiache (hsTn, *high sensitivity troponin*, saggio ad alta sensibilità per le troponine)
  - molecole enzimatiche epatiche

- Queste molecole venivano storicamente denominate enzimi indicatori perché in assenza di metodiche per rilevare la presenza di una singola proteina per le sue caratteristiche chimico/strutturali si ricorreva alla quantificazione della loro attività enzimatica

  Questi enzimi possono esistere in diverse forme iso-enzimatiche con espressione selettiva in diversi tessuti permettendo così anche la localizzazione tissutale del danno

  Oggi, con la disponibilità di metodiche per la determinazione quantitativa delle molecole stesse, a prescindere dalle loro proprietà enzimatiche, possono essere utilizzate come *marker* anche proteine strutturali

5.7. *Danno indotto da virus citopatici*

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

Tabella 5.1. 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

5.8. 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 glucoso 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 tesaurismosi)
  - *l'eccessiva sintesi di un qualsiasi prodotto metabolico*
    - sintesi eccessiva di melanina, come nel caso di alcune malattie tipo l'insufficienza surrenalica

5.8.1. 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
- La steatosi 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 gocciole (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. La steatosi si trova più facilmente nelle cellule epatiche, poiché le stesse rappresentano il sito principale del metabolismo dei grassi
  - cuore
  - rene
  - muscoli scheletrici
- Condizioni cliniche comuni in cui è presente steatosi epatica:
  - 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)
  - avvelenamento da farmaci (es.: cloroformio, tetracicline)

5.8.2. 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 lipoprotein-lipasi*
- *chilomicroni (particelle lipidiche composte di trigliceridi, fosfolipidi e proteine) provenienti dal tratto intestinale in seguito all'assorbi-mento 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

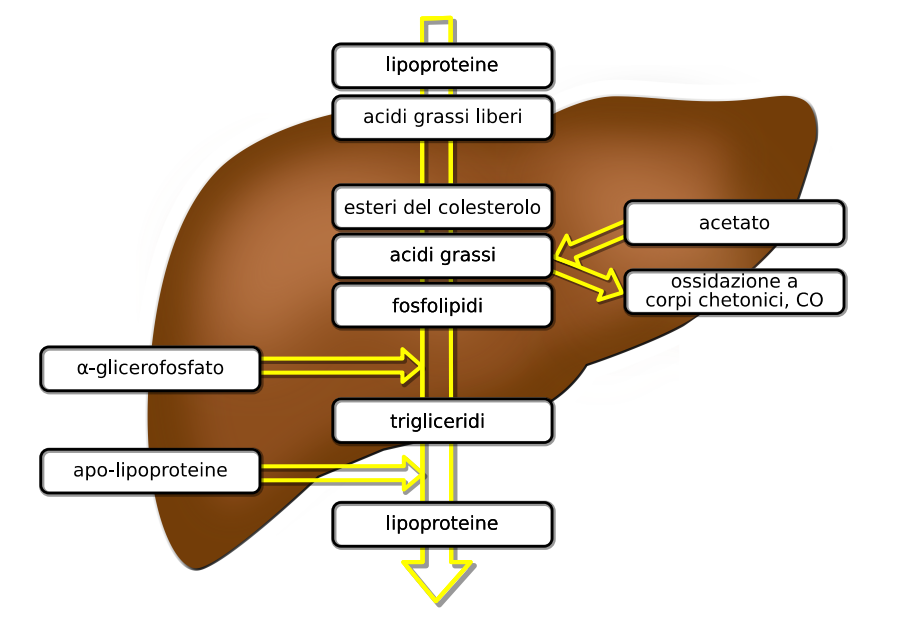


Figura 5.8. Schema sintetico del metabolismo degli acidi grassi nel fegato

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

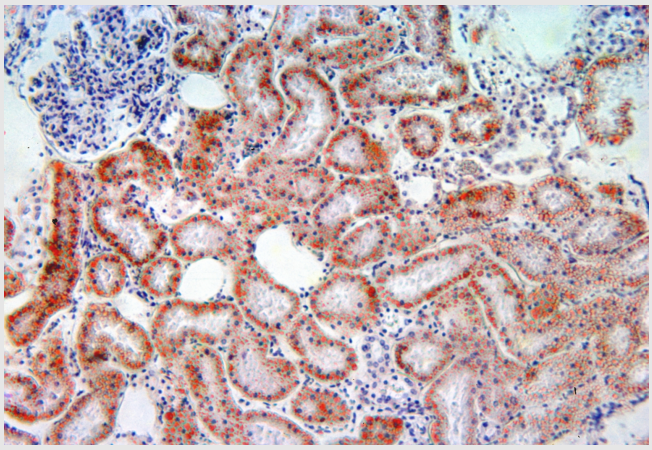


Figura 5.9. Modificazione grassa, rene. Colorazione con Sudan. Dalla collezione Eugenio Bonetti, Istituto di Patologia generale dell'Università di Bologna

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

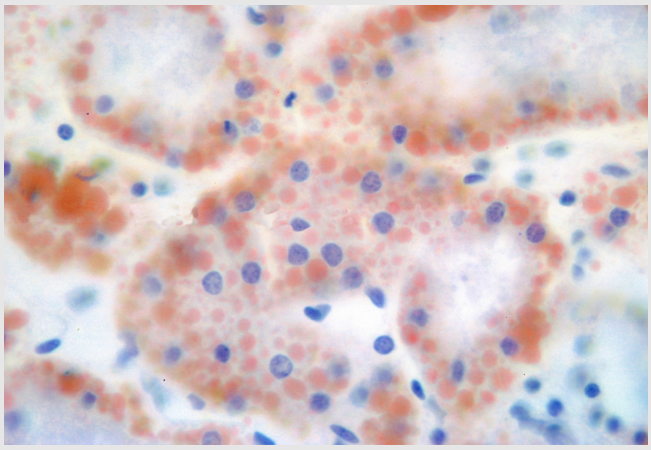


Figura 5.10. Modificazione grassa, rene. Colorazione con Sudan. Dalla collezione Eugenio Bonetti, Istituto di Patologia generale dell'Università di Bologna

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

5.8.3. 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 glucoso ematico con glicosuria
  - ne consegue un aumento del livello di riassorbimento di glucoso 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 glucoso 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

5.8.4. 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 perosssidati, 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 e xantelasmi

Figura 5.11. Xantelasmi palpebrali in un paziente iper-colesterolemico.

Modificato da lennekeverdouw.info

5.8.5. 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 rotondeggianti, omogenee e acidofile, dette corpi di Russell

5.8.6. 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 tesaurismosi

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

5.8.7. Sostanze non metabolizzabili endogene o esogene

Pigmenti

I pigmenti (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 5.2. Pigmenti endogeni ed esogeni

pigmenti di natura esogena inerti	pigmenti di natura endogena
tatuaggi	emosiderina (ferro)
polvere di carbone	bilirubina
	lipofuscina
	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”

☞ I possibili danni biologici da tatuaggio sono:

- sensibilizzazione ai pigmenti
- pigmenti contaminati o di composizione non corretta
- procedure di tatuaggio(sono invasive, effettuate da personale non sanitario, con possibile insufficienza igienica)
- necessità di interventi anche cruenti per rimuovere il tatuaggio, qualora non più voluto

Figura 5.12. Tatuaggi di indigeni originari delle Isole Marchesi. Immagini di public domain *da stampe del XIX secolo, modificate*

Polvere di carbone

☞ L'accumulo di polvere di carbone nei macrofagi presenti entro gli alveoli e nelle strutture linfatiche 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 dove si sia utilizzato carbone (riscaldamento)
  L'antracosi può essere associata anche a fumo
- 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

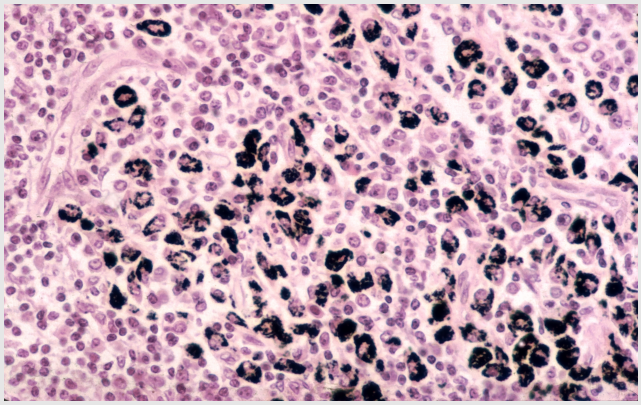


Figura 5.13. Antracosi linfonodale. Si osservino i macrofagi carichi di carbone (neri). Dalla collezione Eugenio Bonetti, Istituto di Patologia generale dell'Università di Bologna

5.8.8. 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 debolmente reattive. Provocano fibrosi polmonare progressiva. Tra queste le più comuni sono:

- silicosi
- asbestosi

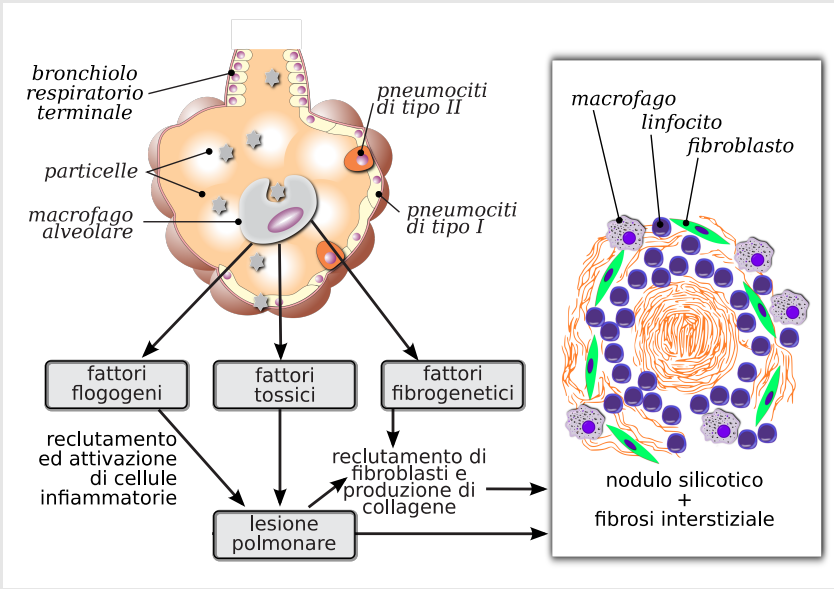


Figura 5.14. Patogenesi della silicosi

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 sovvertimento 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

5.8.9. Asbestosi

☞ L'asbestosi è caratterizzata dalla cicatrizzazione del tessuto polmonare dovuta all'inalazione di fibre di asbesto

Quando le fibre di asbesto raggiungono i sacchi alveolari causano flogosi e l'attivazione del sistema immunitario locale

La risposta infiammatoria può essere definita cronica piuttosto che acuta, per una ragione temporale, anche se è sostenuta da una continua flogosi acuta non remittente di basso livello

L'infiammazione da asbesto è caratterizzata essenzialmente dal tentativo macrofagico di fagocitare le fibre e dalla stimolazione correlata dei fibroblasti che producono fibre collagene e matrice extra-cellulare

A causa della scarsa reattività delle fibre di asbesto, che resistono quindi alla degradazione completa, i macrofagi vengono danneggiati, rilasciano citochine, attraggono ulteriori macrofagi e fibroblasti: ne deriva lentamente una fibrosi massiva progressiva

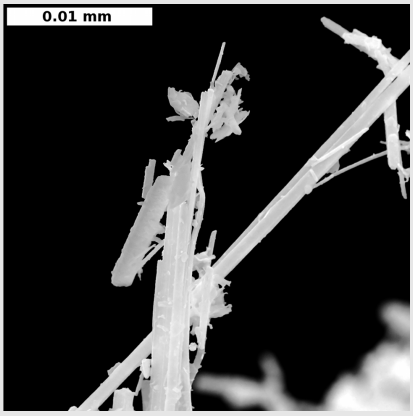


Figura 5.15. Fibre di antofillite, una delle forme cristalline dell'amianto. Immagine di public domain *modificata da usgsprobe.cr.usgs.gov_anthophyllite*

☞ Le masse fibrose possono essere viste al microscopio ottico. Presentano le fibre di asbesto ricoperte da un strato di materiale proteinaceo contenente ferro (corpi psammomatosi, o corpi dell'asbesto)

La cicatrice fibrotica provoca un ispessimento della parete alveolo capillare, che riduce l'elasticità polmonare e la capacità di diffusione dei gas, con conseguente ipossiemia, e, in ultimo, ipercapnia (aumento della concentrazione di CO_2)

☞ L'esposizione all'asbesto è causa quasi esclusiva di mesotelioma, un tumore altamente maligno di pleura e peritoneo, con un rapporto causa-effetto così stretto da essere causa di malattia professionale (vedi i lavoratori dell'Eternit ed i loro famigliari)

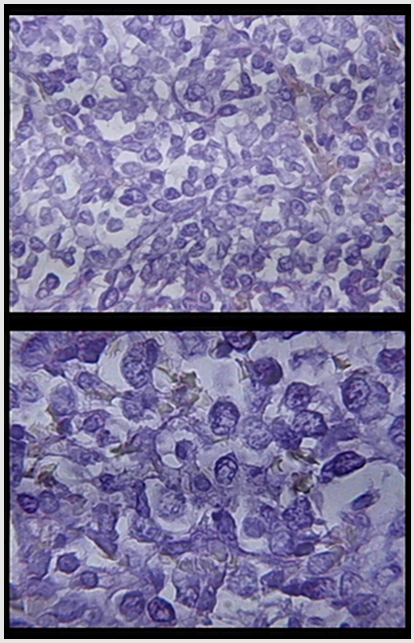


Figura 5.16. Mesotelioma. Elaborazione di un'immagine di public domain. *Origine* [wikipedia.org_mesothelioma]

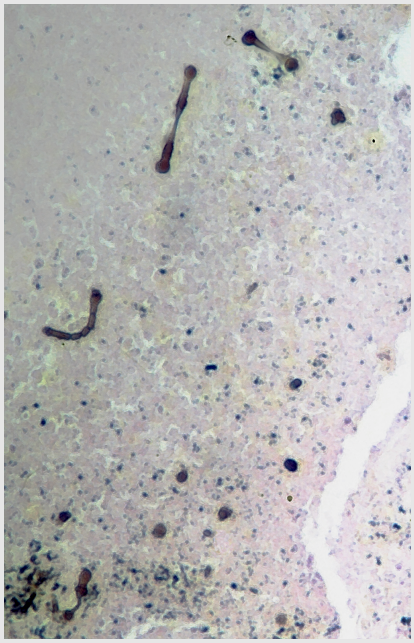


Figura 5.17. Corpuscoli dell'asbesto in granuloma in paziente con asbestosi polmonare avanzata. Dalla collezione Eugenio Bonetti, Istituto di Patologia generale dell'Università di Bologna

5.9. Alterazioni extra-cellulari

5.9.1. 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: iper-calcemia

Le cause più importanti di iper-calcemia includono

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

5.9.2. 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

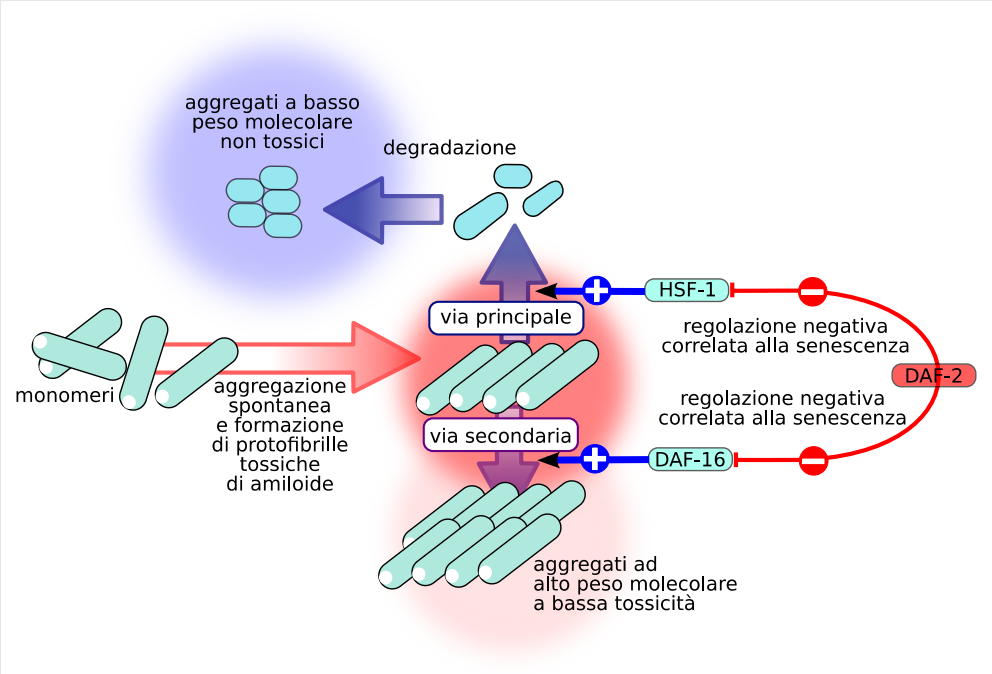
- peptide β-amiloide (nell'amiloidosi)
- α-sinucleina (nel morbo di Parkinson)
- huntingtonina (nella corea di Huntington)

5.9.3. Formazione di aggregati proteici indigeribili

Figura 5.18. Invecchiamento e stress. Liberamente tratto 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



5.10. Alterazioni sub-cellulari

Le principali alterazioni sub-cellulari sono a carico di:

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

5.10.1. 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

5.10.2. 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

5.10.3. 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 intra-cellulari

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)

5.11. 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 è dovuta ad una caratteristica fisica
- con il suo progressivo accumulo l'amiloide viene a schiacciare le cellule adiacenti producendo atrofia, o riduce la funzionalità del microcircolo

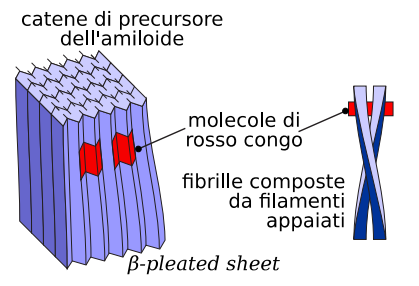


Figura 5.19. Amiloide: struttura

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

Liberamente tratto da Glenner (1980)

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
- Aβ 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

Il *turnover* dell'amiloide Aβ

- L'amiloide Aβ 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 Aβ
  - la APP di superficie può andare incontro ad endocitosi con conseguente processazione in diversi compartimenti cellulari

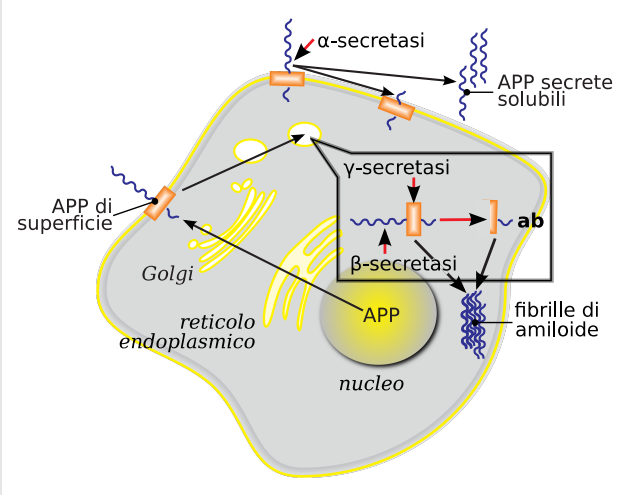


Figura 5.20. Precursori dell'amiloide. APP: amiloid precursor protein *(precursore della proteina amiloide)*

5.12. 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

LeBlanc, P.M., Hollinger, K.A., Klontz, K.C. (2012) Tattoo Ink–Related Infections — Awareness, Diagnosis, Reporting, and Prevention. N. Engl. J. Med. 367, 985-987

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

Perera, R., Bardesy, N. (2011) When antioxidants are bad. Nature 475, 43-44

Querfurth, H.W., LaFerla, F.M. (2010) Alzheimer's disease. N. Engl. J. Med.. 362, 329-344

Siti web

cdc.gov	*visitato il 4/11/2007*	*accessibile il 15/06/2013*
lennekeverdouw.info	*visitato il 22/10/2009*	*contenuto non più disponibile il 23/06/2011*
pathology.vcu.edu	*visitato il 12/09/2008*	*accessibile il 15/06/2013*
usgsprobe.cr.usgs.gov_Anthophyllite	*visitato il 20-10-2011*	*accessibile il 15-06-2013*
wikipedia.org_mesothelioma	*visitato il 20-10-2011*	*accessibile il 15-06-2013*