

Corso integrato di *Istologia ed Embriologia*

Il tessuto connettivo

Il **tessuto connettivo** può essere distinto in:

- | | |
|---|----------------------------|
| 1. tessuto connettivo propriamente detto; | ⇒ lasso o denso |
| 2. cartilagine; | ⇒ abbastanza densa |
| 3. osso; | ⇒ molto denso |
| 4. sangue. | ⇒ cell. immerse nel plasma |

Le sue funzioni sono:

- collegamento tra ghiandole, muscoli, nervi, vasi;
- supporto meccanico ed elastico;
- regola la diffusione di ioni e molecole;
- difesa (infiammazione e immunità ⇒ soprattutto il sangue);
- importanza nel differenziamento e sviluppo per la potenzialità di svilupparsi in una varietà di cellule.

Il tessuto connettivo può essere:

- lasso (ricco di cellule ⇒ di solito giovane);
- denso (ricco di fibre).

Origine embriologica del tessuto connettivo ⇒ **mesoderma** (parte centrale del *bottoncino embrionale*: 2-3 settimane di vita)

Il mesoderma evolve in **cellule mesenchimali indifferenziate** (*staminali*), che possono specializzarsi in moltissimi modi (totipotenti ⇒ tanta eterocromatina). Sono cellule allo stesso tempo connettivali ed embrionali.

Il tessuto connettivo deriva dalle cellule mesenchimali indifferenziate. Esse si specializzano in seguito, diventando:

- **cellule stromali staminali** (⇒ fibroblasta, condroblasta, osteoblasta, angioblasta, cellula muscolare liscia);
- **cellule ematopoietiche staminali** (⇒ cellule del sangue).

Tutte le cellule staminali hanno un nucleo molto grande eterocromatico.

La specializzazione consiste nell'attivare alcuni specifici geni: l'eterocromatina (condensata e non codificante) diventa eucromatina (poco condensata e codificante per alcune proteine). Naturalmente i geni attivati da un condroblasta, ad es., sono diversi da quelli attivati da un angioblasta.

-blasta \Rightarrow desinenza per cellule giovani che matureranno (es.: osteoblasta \Rightarrow osteocita).

Tessuto connettivo propriamente detto

Fibroblasta \Rightarrow Ricco di reticolo endoplasmatico rugoso (RER \Rightarrow ricco di ribosomi).
Secerne molte sostanze. Ha il citoplasma basofilo, perché i ribosomi (ricchi di RNA) sono abbondantissimi (nel RER).

Il fibroblasta produce la **matrice extracellulare**. Essa può essere amorfa o fibrillare.

Prodotti fibrillari del fibroblasta:

- collagene (fibre grosse o sottili);
- fibre elastiche (elastina e microfibrille).

Prodotti “amorfi” del fibroblasta:

- proteoglicani (acido ialuronico, proteina link, glicosaminoglicani);
- glicoproteine della matrice.

Collagene

E' il responsabile della rigidità del connettivo. E' resistente alla trazione e alla compressione.

Ci sono circa 20 diversi tipi di collagene, tutti caratterizzati dall'essere filamentosi e dal possedere il 33% di glicina.

L'unità base del collagene (procollagene) è formata da 3 catene da 1000 amminoacidi l'una.

3 pro-catene α si assemblano a formare un triplo cavo destrorso. Oltre a glicina, c'è anche prolina e lisina, che vengono idrossilate (idrossiprolina e idrossilisina). L'idrossilisina viene anche glicosilata. Solo in seguito a questi processi le tre procatene α si assemblano.

Dopo la secrezione da parte del fibroblasta, il procollagene si avvolge del tutto e diventa collagene: delle peptidasi tagliano i propeptidi iniziale e finale non avvolti. Adesso il collagene è pronto per avvolgersi in fibrille di vario spessore.

Unità di collagene
avvolte in fibrille

Le fibrille si assemblano in modo sfasato (*gap* di ~ 35 nm).

In sintesi:

1. ossidrilazione di specifici residui di prolina e lisina;
2. glicosilazione di alcuni residui di idrossilisina;
3. autoassemblaggio di 3 pro-catene α ;
4. formazione del triplo cavo destrorso del procollagene;
5. secrezione nell'ambiente extracellulare;
6. taglio dei propeptidi (da parte di una peptidasi);
7. autoassemblaggio in fibrille;
8. aggregazione di fibrille di collagene a formare spesse fibre di collagene.

La rigidità del collagene deriva dai legami crociati covalenti tra le unità di collagene della fibrilla. Essi riguardano la lisina, presente soprattutto alla fine dell'unità dell'unità di collagene.

lisina + allisina \Rightarrow legami crociati (base di Schiff)

allisina + allisina \Rightarrow legami crociati (addizione aldolica)
(enzima: lisil ossidasi)

Fibroblasti adulti \Rightarrow fibre spesse di diametro di 100 nm;

Fibroblasti giovani \Rightarrow fibre sottili di diametro di 20 nm.

Fibre di derma

Collagene I \Rightarrow derma adulto

Collagene III, V \Rightarrow derma giovane

Collagene VI \Rightarrow filamenti sottili tra
le fibre (le legano
tra loro)

Collagene IV \rightarrow Ha interruzioni della catena filamentosa (2 o 3 per molecola) a causa dell'assenza, in certe posizioni, della glicina (\Rightarrow la catena si ripiega due volte a zig zag).

In questo collagene i propeptidi non sono stati rimossi (essi hanno struttura globulare). Questo tipo di collagene è molto diffuso nelle membrane basali. Si associa in foglietti. I suoi telopeptidi si uniscono a formare strutture esagonali.

Il collagene IV ha la funzione di filtro, in quanto crea una struttura a rete.

	<i>Tipo di collagene</i>	<i>Funzione specifica</i>
Fibre	I, II, III, V (20-100 nm)	Resistenza alla trazione e alla pressione
Fibrille e filamenti	VI, VII	Avvolgimenti e collegamenti
Reti	IV	Filtri

Esistono collageni con tre catene uguali:

II, III, V ($\alpha 1$, $\alpha 1$, $\alpha 1$).

Esistono collageni con tre catene diverse:

VI ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$).

Esistono collageni con due catene uguali e una diversa:

I ($\alpha 1$, $\alpha 1$, $\alpha 2$).

Il collagene di tipo I è il più frequente.

Se le catene sono uguali significa che derivano dallo stesso gene.

Al microscopio, le fibre di collagene appaiono a bande chiare e a bande scure. Ciò perché le fibre sono disposte in modo sfasato: ci sono delle zone vuote e delle zone di sovrapposizione tra una fibra e l'altra. Poiché i coloranti penetrano nei vuoti, i gap risultano scuri (il colore si deposita) e le sovrapposizioni chiare.

<i>Collagene</i>	<i>Cellula</i>	<i>Tessuto</i>
I	Fibroblasti Osteoblasti (fibre bandate da 100 nm)	Derma adulto, tendini Osso
II	Condroblasti (fibrille da 20-30 nm)	Cartilagine
III, V	Fibroblasti Cellule muscolari lisce Mioblasti (fibrille da 20-30 nm) (matura lentamente)	Derma giovane Vasi Muscolo (deriva dal mesoderma, ma non dalle cellule mesenchimali indifferenziate: dai mioblasti)
IV	Cellule epiteliali (non matura: resta procollagene e non vengono asportati i telopeptidi) (forma reti)	Membrana basale delle cellule epiteliali

<i>Collagene</i>	<i>Cellula</i>	<i>Tessuto</i>
VI	Fibroblasti	Filamenti che avvolgono fasci di fibre collagene

Fibre elastiche

componente interna \Rightarrow rete di elastina

componente esterna \Rightarrow microfibrille

Microfibrille \Rightarrow composte da fibrillina (350 kD), capace di aggregarsi e dar luogo alle microfibrille, disposte parallelamente.

Tropoelastina \Rightarrow 70 kD (molti aa idrofobici) \Rightarrow è prodotta dalla cellula e poi secreta

Spesso zone contenenti lisina e alanina di unità di tropoelastina diverse si avvicinano e l'enzima lisil-ossidasi crea dei legami crociati covalenti tra le unità.

lisina + 3 allisine (aldeidi della lisina) \Rightarrow formano un legame trasverso e creano una struttura esagonale piridinica \Rightarrow desmosina

L'elastina è prodotta dai fibroblasti, ma anche da cellule muscolari lisce dei vasi, da condroblasti e da cellule endoteliali.

Se stirata entro un certo limite, l'elastina torna come prima dello stiramento, perché gli aminoacidi idrofobici (molti) cercano di stare in contatto tra loro, mentre lo stiramento li porta a contatto con l'acqua. Sono i legami trasversali tipo base di Schiff (lisina + allisina) a impedire lo sfaldamento della rete.

Le pareti dei vasi (soprattutto arterie) devono sopportare pressioni enormi, così che serve una proteina elastica che formi la struttura dei vasi.

La pelle, soprattutto giovane, produce elastina (\Rightarrow elasticità). Anche le cartilagini (es., orecchie) sono elastiche (i condroblasti producono elastina).

Proteoglicani del derma prodotti dai fibroblasti

Acido ialuronico + proteina link + glicosaminoglicano \Rightarrow Proteoglicano

Versicano (90% polisaccaridi; 10% proteina) \Rightarrow acido condroitin-solforico (CS) e acido dermatan-solforico (DS)

Il numero di ripetizioni del disaccaride A-B varia da individuo a individuo e da cellula a cellula, perché non è determinato geneticamente. Ciò che è determinato geneticamente è l'enzima che costruisce i GAG.

Acido glucuronico \Rightarrow acido condroitinsolforico
NacGal +

Acido iduronico \Rightarrow acido dermatansolforico

GAG \Rightarrow strutture acide molto ricche di acqua \Rightarrow importanti nella diffusione di ioni e molecole (vedi funzioni tessuto connettivo): i gruppi SO_3H creano un alone di solvatazione che aumenta la solubilità degli ioni.

Acido ialuronico \Rightarrow acido glucuronico + NacGlc
meno acido dell'acido condroitinsolforico (no gruppi solforati)
sta da solo, non è inserito su una parte proteica

Eparan solfato \Rightarrow come acido ialuronico, ma solforato in posizione 2 (talvolta 4 e/o 6) della NacGlc. E' perciò molto acido. E' inserito su un core proteico.

Glicoproteine della matrice

Sono collegate alla membrana esterna della cellula.

Fibronectina (250 kD)

Struttura fibrillare e globulare a “V”

Si trova sotto forma di dimero: i due monomeri sono legati da ponti disolfuro S-S

E' ancorata alla cellula dalla “sequenza RGD” (arg-gly-asp), tramite un recettore integrinico (*integrina* \Rightarrow collega l'interno della cellula con l'esterno: il citoscheletro con l'esterno).

Esistono famiglie di geni che codificano subunità α e β diverse delle integrine.

Le integrine legano in modo specifico glicoproteine della matrice (fibronectina, laminina, ecc.) o collagene per l'adesione cellula-matrice. Mediano anche adesioni cellula-cellula.

Laminina

Struttura globulare-fibrillare a croce latina

Viene riconosciuta da recettori di tipo integrinico (come la fibronectina)

Le glicoproteine della matrice si addensano in certe zone, attirando recettori integrinici sulla membrana e molecole adattatrici all'interno. Le glicoproteine della matrice, quindi, attirano molecole altrimenti disperse e polarizzano la cellula: le integrine addensate creano una *placca di adesione*, cioè una zona della membrana della cellula che aderisce alla fibronectina.

Fibronectina \Rightarrow fibroblasti

Laminina \Rightarrow cellule epiteliali

Cellula epiteliale \Rightarrow ha una membrana basale ricca di collagene IV, laminina e perlecano (proteoglicano dell'eparan solfato). La membrana basale è suddivisa in lamina lucida (più chiara) e lamina densa (più scura). Tra la lamina densa e il connettivo lasso sono presenti fibrille ancoranti di collegamento.

Il collagene VII ancora la cellula epiteliale al tessuto connettivo.

Perlecano \Rightarrow proteoglicano dell'eparan solfato, costituente una membrana basale.
Interagisce con le integine (assomiglia alla laminina).

Sindecano \Rightarrow piccolo proteoglicano particolare: è integrato nella membrana.
Esso regola interazioni epitelio-mesenchimali durante lo sviluppo: lega tramite le catene di eparan solfato fattori di crescita.

Cartilagine

Condroblasta \Rightarrow produce la cartilagine. Ha una membrana molto sfrangiata, con introflessioni.

Cartilagine:

- ialina \Rightarrow embrione (abbozzo scheletrico) e dopo la nascita (articolazioni delle ossa lunghe, trachea, costole);
- elastica \Rightarrow epiglottide, padiglioni auricolari;
- fibrosa \Rightarrow dischi intervertebrali.

Cartilagine ialina della trachea \rightarrow gruppetti di cellule (**gruppi isogeni**) circondati da matrice

gruppi isogeni

La cartilagine è rivestita da tessuto connettivo fibroso, detto **pericondrio** (tessuto connettivo denso), che contiene nervi e vasi sanguigni. La cartilagine in sé non contiene vasi o nervi. I nutrienti arrivano per diffusione.

E' costituita da condroblasti, raggruppati in gruppi di 3-4 cellule (gruppi isogeni). Essi sono ricchi di reticolo endoplasmatico rugoso e di apparato di Golgi.

La matrice circostante i gruppi isogeni è prodotta dagli stessi condroblasti.

Matrice pericellulare ⇒ presente tra le cellule che costituiscono i gruppi isogeni

Collegata alla membrana delle cellule per mezzo di integrine

Contiene filamenti sottili non bandati di collagene VI, glicoproteine della matrice (simili alla fibronectina, come ad es. la decorina) e vescicole

Matrice territoriale ⇒ circonda i gruppi isogeni

Costituita da collagene II (20-50 nm), aggrecano (proteoglicano dell'acido condroitinsolfonico)

Si colora con coloranti basici (ematoxilina), perché è ricca di gruppi polari acidi

Matrice extraterritoriale ⇒ Costituita da fasci di collagene II molto addensati

Si colora con coloranti acidi (eosina), perché è ricca di gruppi polari basici (⇒ lisina del collagene)

Condroblasti ⇒ contengono nella membrana integrine, che li collegano alla matrice pericellulare

Decorina ⇒ sembra regolare la fibrillogenasi del collagene. E' una piccola glicoproteina formata da acido condroitinsolfonico e acido dermatansolfonico. Ha un'asse proteico di 40 kD.

Aggrecano ⇒ contiene acido ialuronico e acido condroitinsolfonico. E' acido e idratato.

Funzioni della cartilagine ⇒ funzioni meccaniche (resistenza alla compressione ⇒ è un ammortizzatore). Questa proprietà è dovuta alla ricchezza di GAG dei proteoglicani (acido condroitinsolfonico), che contengono una grande quantità di acqua, che può comprimersi.

E' importante per l'allungamento delle ossa lunghe come cartilagine seriale o di coniugazione.

Tessuto osseo

Ossa:

- lunghe (femore, omero, radio, ulna, ...)
- piatte (occipitale, parietale, ...)

L'osso (lungo) è cavo: all'interno c'è il midollo osseo, che ha varie funzioni (es., emopoiesi).

zona interna ⇒ zona spugnosa (vicino al midollo osseo)

zona esterna ⇒ zona compatta (vicino al bordo)

Nella zona spugnosa ci sono vasi.

Zona compatta ⇒ costituita da cilindretti cavi (osteoni), formati da lamelle concentriche. Le cavità degli osteoni sono dette canali di Havers. Le strutture cilindriche sono dette. Gli osteoni sono formati da lamelle. Nei canali di Havers scorrono vasi sanguigni. Ci sono anche canali trasversali, detti canali di Volkmann, che collegano tra loro i canali di Havers. Verso l'esterno della zona compatta c'è il periostio (tessuto connettivo denso), connesso alla zona compatta da fibre di collagene spessissime dette fibre di Sharpey. Tra le lamelle degli osteoni ci sono gli osteociti.

Ogni lamella è formata da strie parallele tra loro. Le lamelle adiacenti hanno strie parallele tra loro, ma perpendicolari alle precedenti. Le strie sono formate da fibre di collagene. Ci sono anche fibre trasversali tra lamelle ⇒ resistenza alla trazione. Le fibre sono immerse in sali di calcio e di fosfato e idrossiapatite.

Cristalli di idrossiapatite ⇒ si inseriscono tra le lacune delle unità di collagene nelle fibre di collagene I ⇒ una sorta di “ingessatura”

Vicino ai canali di Havers ci sono varie cellule: osteoblasti, osteociti, cellule osteoprogenitrici, osteoclasti.

cellule mesenchimali indifferenziate (osteoprogenitrici) \Rightarrow generano osteoblasti
osteoblasti \Rightarrow generano osteociti

Osteoclasti \Rightarrow distruggono il tessuto osseo. Monociti \Rightarrow macrofagi \Rightarrow osteoclasti. I monociti sono cellule molto grosse e polinucleate. Gli osteoclasti contengono molti lisosomi. Hanno molte increspature ed estroflessioni nella membrana plasmatica (chiamata *orletto a spazzola*). Formano delle sacche su cui versano degli enzimi con cui erodono l'osso.

Osteoblasti \Rightarrow producono osteoide (fibre di collagene, glicoproteine e proteoglicani), una matrice non calcificata, amorfa, che poi calcifica. Hanno il citoplasma basofilo dovuto all'abbondanza di reticolo endoplasmatico rugoso e di apparato di Golgi. Sono presenti nella matrice pericellulare (glicoproteine della matrice (tipo osteonectina), vescicole di secrezione (ricche di fosfatasi alcalina e ioni calcio e fosfato, importanti per la nucleazione. La fosfatasi alcalina facilita la produzione di questi ioni.)). La membrana aderisce alla matrice pericellulare mediante integrine specifiche. In seguito alla stimolazione da parte di ormoni (somatotropo, paratormone, ormoni sessuali) e di vitamine, gli osteoblasti secernono fattori di crescita, tra cui l'osteocalcina, una sostanza che stimola la trasformazione di monociti (passando per macrofagi) in osteoclasti, affinché questi ultimi distruggano l'osso, cosicché gli osteoblasti possono riformarlo.

Osteociti \Rightarrow presenti nelle lacune tra le lamelle della zona compatta. Hanno estroflessioni che passano attraverso le lamelle vicine per entrare in contatto con quelle di altri osteociti nelle lamelle adiacenti \Rightarrow scambio di sostanze nutritizie. Sono murati nella matrice calcificata e connessi tra loro tramite canalicoli e ai canali di Havers. Non sono basofili e non hanno vescicole positive per la fosfatasi alcalina.

Le cellule osteoprogenitrici sono presenti nell'endostio e nel periostio.

Matrice \Rightarrow collagene fibrillare I con fibre parallele nella stessa lamella e perpendicolari nella lamella contigua. A contatto con il periostio ci sono fibre di Sharpey.

Proteoglicani di basso peso molecolare nell'osteoide (decorina).

Idrossiapatite $\text{Ca}_{10}\text{PO}_4(\text{OH})_2$ \Rightarrow dapprima amorfa, poi cristallizza in cristalli aghiformi (30x3 nm) con asse parallelo a quello delle fibre di collagene.

Glicoproteine strutturali (es., osteopontina). L'osteopontina ha basso pM (~ 30 kD). Contiene fosfato legato a serina e a treonina. Lega l'idrossiapatite. Ha una sequenza arg-gly-asp (RGD), che la fa aderire a integrine degli osteoblasti. E' localizzata nella matrice pericellulare (osteoide).

Mineralizzazione ossea \Rightarrow avviene in seguito al fatto che gli ioni calcio e fosfato sono in situazione di sovrasaturazione nelle vescicole. La loro precipitazione viene facilitata dalla

fosfatasi alcalina e si formano i primi nuclei calcificanti. Dapprima sono sali di calcio e di fosfato amorfi, poi diventano cristalli.

Funzione del tessuto osseo ⇒ meccanica: costituisce l'impalcatura del corpo: alle ossa lunghe si attaccano i muscoli e i tendini; le ossa piatte proteggono il cervello.

Inoltre, contiene intrappolati nella matrice diversi fattori di crescita (es., osteocalcina).

Osteogenesi

Ossificazione intramembranosa diretta mesenchimale ⇒ ossa piatte

Ossificazione encondrale indiretta ⇒ ossa lunghe e vertebre

Da entrambi i processi viene originato in un primo tempo dell'osso immaturo non lamellare o a fibre intrecciate. Questo, in un secondo tempo, diventerà osso maturo lamellare, grazie all'azione erosiva degli osteoclasti.

Nell'ossificazione intramembranosa le ossa si formano subito, mentre in quella encondrale si forma prima la cartilagine, che poi calcificherà per diventare osso.

Ossificazione encondrale indiretta ⇒ nella diafisi compare un rinforzo (colletto diafisario) da cui inizia l'ossificazione. Sono le cellule osteoprogenitrici a iniziare il processo: il bordo della cartilagine diventa subito osso (tramite ossificazione intramembranosa). Ciò avviene nell'embrione al 2°-3° mese. In seguito, l'ossificazione si estende alle altre parti della cartilagine: le cellule diventano dapprima *proliferanti* (si dividono), poi *ipertrofiche* (si ingrossano; formano pile, i cui elementi sono separati da sostanza fondamentale) e infine *calcificate* (per la precipitazione di sali). L'ossificazione parte dalla diafisi e si estende alla metafisi.

A questo punto l'epifisi ha ancora natura di cartilagine ialina (in cui le cellule non si dividono). Intanto, nelle cartilagini calcificate della diafisi inizia la vascolarizzazione: entrano vasi, cellule endoteliali, altre cellule osteoprogenitrici, osteoclasti. Gli osteoclasti degradano la cartilagine calcificata e gli osteoblasti la rimpiazzano con osso immaturo non lamellare (molto disordinato, a fibre intrecciate). Le cellule osteoprogenitrici, in collaborazione con gli osteoclasti, sostituiscono l'osso immaturo non lamellare con osso maturo lamellare (in età adulta).

Alla fine si calcifica anche l'epifisi. La calcificazione dell'epifisi è l'ultima tappa dell'ossificazione encondrale indiretta. Essa avviene nel passaggio dalla pubertà all'età adulta: la cartilagine seriata o di coniugazione sparisce, lasciando il posto all'osso.

cartilagine ialina ⇒ cellule proliferanti ⇒ cellule ipertrofiche ⇒ cellule calcificate (cartilaginee) ⇒ osteoclasti distruggono cartilagini calcificate ⇒ osteoblasti/osteociti creano tessuto osseo non lamellare ⇒ osteoclasti distruggono tessuto osseo non lamellare ⇒ tessuto osseo lamellare

In generale, si forma prima l'osso compatto, poi quello spugnoso e infine il midollo osseo.

Cartilagine \Rightarrow importante per l'allungamento delle ossa lunghe come cartilagine seriale o di coniugazione.

Durante la vita, gli osteoni si rimodellano continuamente. Col passare degli anni, gli osteoni si ingrandiscono a spese l'uno dell'altro. L'osso si adatta alle linee di tensione determinate dal peso corporeo, rimodellando la sua struttura. Così l'osso si rigenera e si rimodella a seconda dell'età, delle abitudini, dei pesi da sopportare.

Neoformazione e riassorbimento osseo \Rightarrow durante tutta la vita, il 5-10% dell'osso viene sostituito durante ogni anno. I fattori di crescita (es., osteocalcina) sono intrappolati nella matrice e vengono liberati quando l'osso è degradato o stirato in modo inappropriato (\Rightarrow fratture).

Embrione:

- ectoderma \Rightarrow epidermide, tubo neurale (\Rightarrow midollo spinale), cresta neurale;
- mesoderma \Rightarrow notocorda, somiti (\Rightarrow cellule mesenchimali);
- endoderma \Rightarrow organi più interni.

Il tubo neurale è originato da un'introflessione dell'ectoderma.

Il mesoderma si differenzia in molte parti:

Notocorda (sotto del tubo neurale);

Somiti (ai lati del tubo neurale);

mesoderma laterale somatico (più lateralmente rispetto ai somiti);

mesoderma laterale intermedio (sotto e di lato rispetto ai somiti);

mesoderma laterale splanchnico (sotto e ancora più lateralmente rispetto ai somiti).

I somiti sono delle sfere di cellule epiteliali che si distribuiscono lungo tutto l'embrione.

Somite:

miotomo \Rightarrow tessuto muscolare striato (\Rightarrow muscoli scheletrici);

dermotomo \Rightarrow derma (più vicino all'ectoderma, da cui avrà origine il derma);

sclerotomo \Rightarrow cellule mesenchimali indifferenziate (\Rightarrow tessuto connettivo, vertebre) (zona più interna).

Più lateralmente rispetto ai somiti, c'è il mesoderma laterale.

mesoderma laterale somatico \Rightarrow cartilagini e ossa arti;

mesoderma laterale intermedio \Rightarrow reni, organi sessuali;

mesoderma laterale splancnico \Rightarrow sangue, cuore.

Le ossa derivano dal mesoderma laterale somatico (tranne le vertebre \Rightarrow sclerotomo dei somiti).

colonna vertebrale \Rightarrow dai somiti \Rightarrow ossificazione encondrale

ossa piatte craniali \Rightarrow dai somiti craniali con contributo della cresta neurale \Rightarrow
ossificazione intramembranosa

ossa lunghe \Rightarrow dalla piastra laterale (somatopleura) \Rightarrow ossificazione encondrale

Tessuto adiposo

cellule stromali staminali \Rightarrow **lipoblasti** \Rightarrow adipociti

Lipoblasti \Rightarrow

1. tessuto adiposo uniloculare (grasso bianco)
2. tessuto adiposo multiloculare (grasso bruno)

I lipoblasti contengono più vacuoli di grasso che vanno estendendosi sempre più, fino a confluire tra loro.

Adipociti \Rightarrow contengono uno (tessuto adiposo uniloculare) o più (tessuto adiposo multiloculare) vacuoli di grasso

diametro: 80-100 μm

Hanno una membrana basale che li separa dal connettivo (come cell. epiteliali)

Tessuto adiposo \Rightarrow ricco di vasi sanguigni per permettere un facile trasporto da e per il sangue dei trigliceridi, dei fosfolipidi e del colesterolo.

Trigliceridi \Rightarrow non possono viaggiare così come sono nel sangue, perché sono idrofobici. Sono perciò complessati con proteine \Rightarrow lipoproteine (LDL, HDL).

Gli acidi grassi vengono trasportati negli adipociti, dove vengono risintetizzati in trigliceridi per lo stivamento. Quando serve energia, gli adipociti secernono lipasi per separare gli acidi grassi dal glicerolo e poi reimmetterli nel torrente circolatorio.

La *lipogenesi* avviene nel REL dell'adipocita. Adrenalina e insulina stimolano le lipasi a compiere *lipolisi*.

Tessuto adiposo uniloculare (grasso bianco)

Diametro adipociti: 100 μm

Tessuto molto vascolarizzato

Nucleo schiacciato

Membrana basale

Grossa goccia di grasso

Tanto REL

Funzione: accumula e idrolizza grassi

Dopo l'assorbimento intestinale, i lipidi (sotto forma di LDL e HDL) vengono veicolati ai capillari dei tessuti periferici, che sono strettamente a contatto con il grasso bianco. Per mezzo di enzimi come la lipasi, prodotta dalle cellule adipose, le lipoproteine vengono degradate nei loro costituenti (acidi grassi e glicerolo), che diffondono attraverso le membrane cellulari e rivengono trasformati in trigliceridi nel REL degli adipociti (lipogenesi), andando ad arricchire la gocciola lipidica.

Ormoni come adrenalina o insulina agiscono nelle cellule adipose mediante i loro recettori specifici e possono attivare le lipasi che iniziano il processo di lipolisi, per cui i grassi accumulati nelle cellule adipose sono idrolizzati e rientrano nei capillari sanguigni per venir trasportati dove c'è necessità.

Tessuto adiposo multiloculare (grasso bruno)

Molti mitocondri \Rightarrow molti citocromi (rossi) \Rightarrow perciò il grasso bruno è detto tale

Presente negli animali ibernanti e nei neonati/embrioni.

Nell'adulto si trasforma in grasso bianco.

Contiene cellule a contatto tra loro. Esse hanno molti mitocondri con creste. Poche ATP sintasi hanno le subunità F1, così c'è un disaccoppiamento tra catena respiratoria e fosforilazione. Viene quindi dispersa la maggior parte dell'energia sotto forma di calore.

Funzione: termogenesi

Sangue

L'uomo contiene 5-6 litri di sangue, di cui:

45% cellule;

55% plasma.

Questa misura è detta *ematocrito*.

Il plasma trasporta nutrienti, gas, cellule, ormoni, ioni, proteine, enzimi, vitamine, fattori di crescita (FGF, EGF, citochine) (stimolano la crescita delle cellule o la produzione di certe proteine).

Tra le proteine:

Albumina (trasporta sostanze poco polari: ad es., grassi);

Immunoglobuline (anticorpi);

Glicoproteine (fibronectina plasmatica, fibrinogeno, plasminogeno, protrombina);

Lipoproteine (LDL, HDL)

Plasma defibrinato \Rightarrow siero

Cellula mesenchimale indifferenziata \Rightarrow cellula stromale staminale

\Rightarrow cellula emopoietica staminale

\Rightarrow **cellula linfoide staminale** (\Rightarrow linfocito)

\Rightarrow **cellula mieloide staminale**

(? mastocito, granulocito, eritrocito, monocito, piastrine)

Eritrociti

Eritrocito \Rightarrow no nucleo e no organelli

4,5-5,5 milioni/mm³ (sono più nell'uomo che nella donna)

Diametro: 7 μ m

Forma a lente biconcava

Vita media: 4 mesi (120 gg)

Contiene essenzialmente emoglobina (\Rightarrow trasporto O₂)

Membrana plasmatica robusta e flessibile \Rightarrow resistente agli urti nei capillari

Funzione eritrociti: trasporto O₂ e CO₂.

I globuli rossi si caricano di ossigeno a livello degli alveoli polmonari. Da qui passano, attraverso il torrente circolatorio, ai vari tessuti, ai quali cedono l'ossigeno e dai quali prelevano anidride carbonica. Gli eritrociti tornano poi ai polmoni, dove scaricano l'anidride carbonica, per ricominciare il ciclo.

Membrana eritrocita contiene:

- Banda 3;
- Glicoforina;
- Spettrina;
- Anchirina;

Banda 3 \Rightarrow proteina transmembrana multipasso che trasporta anioni (Cl⁻, HCO₃⁻).

Legata a proteine adattatrici (anchirina e banda 4.1) che adattano la membrana con la struttura filamentosa sottostante. Quest'ultima è formata da spettrina, che si lega ai filamenti di actina del citoscheletro.

Glicoforina \Rightarrow proteina a passaggio unico che determina un sotto-gruppo sanguigno.

Spettrina \Rightarrow collega ai filamenti di actina la glicoforina e la banda 3, tramite l'anchirina e la banda 4.1.

Fa parte di una famiglia di proteine filamentose, comprendente la distrofina e la α -actinina del muscolo, che sono composte da regioni flessibili con conformazione ad α elica.

La rete di spettrina àncora la membrana plasmatica al citoscheletro, costituito da filamenti di actina.

Dà e mantiene la forma discoidale dell'eritrocito.

Dà flessibilità all'eritrocito.

Se subisce mutazioni, le membrane degli eritrociti hanno flessibilità e resistenza limitate (\Rightarrow emolisi).

Leucociti

6-8000/mm³

Formula leucocitaria:

60-65% granulociti neutrofili

25-30% linfociti

5% monociti

2-3% granulociti eosinofili

0,5% granulociti basofili

Granulociti \Rightarrow contengono granuli. Sono polimorfonucleati. Hanno vita breve (giorni).

Linfociti \Rightarrow nucleo grande e rotondo. Sono i più piccoli. Hanno vita lunga (mesi/anni).

Monociti \Rightarrow nucleo a fagiolo (reniforme). Sono i più grandi. Hanno vita lunga (mesi/anni).

Granulociti neutrofili

Nucleo polimorfo, frammentato.

Diametro: 12-14 μm .

Granuli piccoli.

Sono mobili e fagocitari (escono dai vasi e penetrano nei tessuti).

Contengono nella membrana cellulare dei recettori per il Fc della IgG (come i macrofagi).

Vivono pochi giorni.

Hanno recettori integrinici specifici per aderire alle cellule endoteliali dei vasi. Questi recettori possono essere attivati in condizioni di danno vasale o patologia.

Due tipi di granuli:

1. Granuli specifici \Rightarrow meno densi, più piccoli, più numerosi;
2. Granuli azzurrofil (lisosomi) \Rightarrow più densi e omogenei, più grossi, meno numerosi.

Granuli specifici \Rightarrow contengono enzimi come il lisozima e la fagocitina, capaci di degradare i lipopolisaccaridi della parete batterica.

Immunoglobuline (Ig) \Rightarrow anticorpi

Possono essere riconosciute dai recettori di membrana di alcuni leucociti.

Sono presenti nel sangue.

Hanno forma di "Y".

4 catene: 2 leggere (25.000 D) e 2 pesanti (50.000 D) (tot.: 150.000 D).

Legami disolfuro delle cistine tengono insieme le catene. Nelle catene ci sono anse uguali tra loro e uguali in tutte le Ig (Fc, frammento costante). Le anse sono chiuse da legami disolfuro. Solo le anse terminali sono uniche (Fab, *antigen binding fragment*).

Fab \Rightarrow responsabile del riconoscimento e del legame dello specifico antigene.

Le Ig sono tutte diverse, perché gli Fab le rendono uniche.

Le Fab contengono regioni amminoacidiche ipervariabili.

Le Fc possono eccezionalmente variare:

IgG \Rightarrow immunoglobulina con catena pesante γ (la più comune; si lega a macrofagi e granulociti neutrofili);

IgE \Rightarrow immunoglobulina con catena pesante ϵ (molto comune; si lega a mastociti e granulociti basofili).

Granulociti eosinofili

Nucleo lobato, ma meno polimorfo dei neutrofili.

Diametro: 16 μm .

Granuli grossi con cristalloide all'interno (contengono proteine basiche).

Sono mobili e fagocitari.
Aumentano in condizioni allergiche.
Fagocitano parassiti e complessi antigene-anticorpo.

Granulociti basofili

Nucleo polimorfo, ma poco lobato.
Diametro: 14-16 μm .
Sono mobili.
Granuli più grandi e meno numerosi. Sono basofili e nascondono anche il nucleo.
Stesse sostanze contenute nei mastociti (eparina, istamina, prostaglandine, interleuchine).
Presentano nella membrana cellulare recettori per l'Fc dell'IgE, importanti nella secrezione dei granuli.
Presentano recettori integrinici inattivi.

Mastociti

Derivano come i leucociti dalle cellule linfoidi staminali.
Sono mobili.
No membrana basale.
Presentano recettori per l'Fc dell'IgE.
Quando una sostanza si attacca a questi recettori, si hanno segnali di trasduzione che danno flussi ioni di Ca^{2+} , per cui i granuli si attaccano alla membrana e si ha la degranolazione (rottura dei granuli) con liberazione dei contenuti:

- Eparina \Rightarrow anticoagulante (regione di GAG dell'eparansolfato);
- Istamina \Rightarrow vasodilatatrice della cellula muscolare liscia dei vasi. Deriva dall'amminoacido istidina;
- Prostaglandine \Rightarrow aumentano la permeabilità vasale, regolando le giunzioni occludenti. Derivano dall'acido arachidico (arachidonico?);
- Interleuchine (o citochine) e fattori di crescita.

I mastociti sono presenti nel connettivo sottovasale delle vie respiratorie e gastrointestinali. Sono simili ai granulociti basofili del sangue.
Sono cellule sentinella: molto sensibili, rivelano l'arrivo di virus, batteri, ecc. Danno inizio alla difesa locale aspecifica con rilascio dei contenuti dei granuli e successiva lenta produzione di citochine, che reclutano altre cellule (fibroblasti, cell. endoteliali).
Sono basofili a causa dell'istamina e dell'eparina.

Monociti

Nucleo reniforme.
Diametro: 18 μm .
Diventano in seguito macrofagi.
Sono in transito nel torrente circolatorio dal midollo osseo ai tessuti.
Si trovano soprattutto nel connettivo vasale.
Sono capaci di riprodursi nel connettivo (a differenza dei granulociti).
Vivono mesi/anni (a differenza dei granulociti).

Contengono lisosomi, microfilamenti, granuli e recettori di membrana, che sono presenti anche nei macrofagi.

Si muovono grazie a uno sviluppato citoscheletro.

Non sono fagocitari.

I lisosomi non sono in grado di smaltire i lipidi, che si accumulano al loro interno.

Contengono lisosomi primari (enzimi lisosomiali) e secondari (residui).

Macrofagi

Derivano dai monociti.

I macrofagi si trovano nel connettivo vasale.

Partecipano alla rigenerazione dei tessuti (produzione di fattori angiogenetici e altri fattori di crescita): secernono citochine come i mastociti e i basofili.

Hanno un'attività microbica (fagocitosi, chemiotassi (spostamento causato da messaggeri chimici: vanno dove ci sono sostanze estranee)) (hanno enzimi lisosomiali e recettori per IgG).

Interazione con la matrice (tramite integrine).

No membrana basale.

Interagiscono con la matrice del tessuto connettivo tramite integrine.

Degradano antigeni e presentano antigeni ai linfociti tramite recettori per il complesso di istocompatibilità (MHC).

Sono mobili e fagocitari (grazie a pseudopodi, microvilli, filipodi, membrane ondulate = estroflessioni della membrana prodotte dal rimaneggiamento del citoscheletro).

Hanno un sistema citoscheletrico molto sviluppato e regolato (gelsolina, filamina e α -actinina).

Presentano lisosomi primari e secondari, corpi residui e granuli.

Fagocitosi:

Un recettore IgG di membrana del macrofago riconosce le IgG che ricoprono il batterio (tramite deboli interazioni ioniche). Si genera un'introflessione nella membrana del macrofago, che circonda il batterio e si chiude dietro di esso. A questo punto vengono secreti gli enzimi lisosomiali, che degradano la vescicola fagocitata (detta *fagosoma*) contenente il batterio.

Granuli di diverso tipo:

- Lisosomi (contengono enzimi litici per degradare sostanze ingerite; anche perossidasi, che ha un'azione microbica);
- Granuli contenenti citochine e fattori di crescita che stimolano il midollo osseo a produrre granulociti e monociti. Contengono anche fattori angiogenetici che stimolano alla proliferazione le cellule endoteliali vasali e i fibroblasti giovani del connettivo (le stesse richiamate dai mastociti).

I macrofagi contengono all'interno diversi tipi di vescicole: alcune chiare contenenti enzimi lisosomiali, altre più grosse contenenti sostanze residue (polvere, batteri, virus non degradabili, ecc.).

I macrofagi presentano:

- Recettori per l'Fc γ (IgG);
- Recettori integrinici (per aderire alla matrice connettivale);
- Recettori per il complesso di istocompatibilità di tipo I e II: servono per la presentazione degli antigeni ai linfociti T; sono costituiti da molecole transmembrana appartenenti alla famiglia delle Ig.

Funzioni dei macrofagi:

- Difesa, attività microbica e fagocitaria, secrezione enzimi lisosomiali;
- Degradazione materiale fagocitato e preparazione dell'antigene per presentazione ai linfociti T;
- Rigenerazione tessuti, tramite la secrezione di citochine e fattori angiogenetici.

Tabella riassuntiva delle cellule del sangue

	<u>Eritrocito</u>	<u>Neutrofilo</u>	<u>Eosinofilo</u>	<u>Basofilo</u>	<u>Linfocito</u>	<u>Monocito</u>	<u>Piastrine</u>
Diametro	7 μm	12-14 μm	16 μm	14-16 μm	12 μm	18 μm	2-3 μm
n./mm³	4-6 mil.	6-8.000					2-300.000
Formula leucocitari a		60-65%	2-3%	1%	25-30%	5%	
Vita	120 gg	Pochi giorni			Mesi o anni		Alcuni giorni
Funzione	Trasporto O ₂ e CO ₂	Difesa e immunità					Coagulazione

Cellule endoteliali

Presenza di vescicole e granuli (fattori di crescita, glicoproteine della matrice). Le vescicole partecipano alla *transitosi*, cioè il passaggio di una vescicola dal lume del vaso ai tessuti esterni, attraverso il citoplasma delle cellule endoteliali.

Presenza di giunzioni di due tipi:

Occludenti ⇒ occludina (impediscono al liquido contenuto all'interno di fuoriuscire);

Aderenti ⇒ caderina.

Nella membrana plasmatica, dalla parte del lume, sono presenti (per l'adesione cellula-cellula):

- Selectine;
- I-Cam (molecole di adesione intercellulare);
- Integrine inattive.

Presenza di membrana basale e integrine di collegamento tra la cellula endoteliale e la matrice del connettivo.

Le cellule endoteliali sono capaci di migrare, di dividersi e generare nuovi capillari.

Selectine

Glicoproteine transmembrana Ca-dipendenti, ma non sono legate ai microfilamenti.

L'estremità N-terminale è all'esterno della cellula, quella C-terminale all'interno (come nella maggioranza dei casi).

Sono Ca-dipendenti perché il Ca si lega ad alcuni AA presenti nella parte N-terminale.

Legano come controrecettori oligosaccaridi presenti nella membrana di granulociti, linfociti e piastrine.

Sono importanti nell'adesione di cellule migranti dal torrente circolatorio (esse vanno poi ai tessuti).

I-Cam

Molecole transmembrana Ca-indipendenti e legate ai microfilamenti (tramite proteine adattatrici).

Famiglia di immunoglobuline.

Contengono ripetizioni di tipo immunoglobulinico (nella parte luminare del vaso).

Si possono legare tra loro (V-Cam) o con integrine (per legame con cellule del sangue).

Si legano ai microfilamenti tramite il dominio citoplasmatico.

Legano neutrofili, linfociti e piastrine.

Attivazione cellula endoteliale (es., in seguito a irritazione). La cellula endoteliale, grazie all'interazione con delle sostanze secrete da granulociti, linfociti, monociti o piastrine, sintetizza una maggiore quantità di selectine, che vengono poi attivate. Le selectine sporgono dalla cellula endoteliale e sono in grado di bloccare alcune delle cellule presenti nel torrente circolatorio (tramite legami ionici forti). Ora la cellula bloccata può emettere dei prolungamenti verso la giunzione, per uscire all'esterno del vaso, degradando la membrana basale, per poi giungere nel connettivo sottovasale.

Nel sito di danno o infiammazione sono presenti IgG e IgE.

Le IgE, con la parte Fab, riconoscono l'antigene, lo circondano e vengono riconosciute da un mastocita (situato nel connettivo sottovasale, dove ci può essere il contatto con sostanze estranee). Ciò determina la liberazione del contenuto dei granuli del mastocita (degranulazione): le prostaglandine aumentano la permeabilità vasale, l'istamina provoca vasodilatazione e l'eparina impedisce la coagulazione. Tutte queste reazioni sono mirate a facilitare l'afflusso di altri leucociti, per una risposta immunitaria più veloce ed efficiente.

Le IgG, con la parte Fab, riconoscono l'antigene, lo circondano e vengono riconosciute da un neutrofilo, che fagocita il corpo estraneo. Se il neutrofilo si trova in difficoltà, interviene un macrofago (più reattivo). Se anche questa reazione non è sufficiente, intervengono i linfociti.

In sintesi, si ha la chemiotassi e la fagocitosi da parte delle cellule che possiedono Fc γ R (macrofagi e neutrofili) e secrezione di istamina, eparina e prostaglandine da parte delle cellule che possiedono Fc ϵ R (mastociti e basofili).

Cellule coinvolte nella difesa non specifica (es., infiammazione):

Granulociti: basofili e neutrofili;

Macrofagi;

Mastociti;

Cellule endoteliali.

Azioni:

Secrezione sostanze che permettono un aumento della permeabilità vasale (prostaglandine) e una vasodilatazione (istamina) e la non coagulazione del sangue (eparina), da parte di basofili e mastociti;

Aumento dell'adesività delle cellule endoteliali (-> produzione selectine), che permette il blocco dei neutrofili dal torrente circolatorio;

Riconoscimento non specifico di antigeni (recettori per Fc delle Ig) (neutrofili e macrofagi);

Fagocitosi e secrezione di enzimi litici (neutrofili e macrofagi);

Produzione di fattori di crescita (citochine) per fibroblasti e fattori angiogenetici per cellule endoteliali, da parte dei macrofagi.

Vasculogenesi

Cellula mesenchimale indifferenziata \Rightarrow cellula stromale staminale \Rightarrow angioblasto \Rightarrow cellula endoteliale

Angioblasti riconoscono VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), prodotto dai macrofagi, e vengono attivati. Gli angioblasti (cellule globose) diventano cellule endoteliali (cellule appiattite). Si ha la formazione del capillare sanguigno, grazie all'interazione cellula-cellula fra le cellule endoteliali. Le cellule endoteliali secernono PDGF, che viene riconosciuto da cellule mesenchimali (periciti), che vengono attratte e secernono angiopoietina, che viene riconosciuta dalle cellule endoteliali, che interagiscono con cellule muscolari lisce tramite citochine, affinché costituiscano una parete intorno alle cellule endoteliali.

Risultato dell'interazione:

1. Differenziazione periciti
2. Inibizione proliferazione cellule endoteliali

3. Deposizione matrice per membrana basale

Alla fine, tra le cellule endoteliali che costituiscono il vaso e i periciti ci sarà la membrana basale (formata da eparan solfato (perlecano), laminina, collagene), uno strato di connettivo sottovasale e uno di cellule muscolari lisce. Questo rivestimento serve a impedire alle cellule endoteliali di proliferare ulteriormente.

Questo processo avviene a livello embrionale e quando si deve riformare un vaso in seguito a lesioni.

Vasi

Capillari:

- Continui (muscolo, connettivo nervoso -> barriera emato-encefalica) ⇒ è impossibile che il plasma esca fuori dal capillare
- Fenestrati (rene, intestino) ⇒ hanno pertugi che lasciano filtrare il sangue (es., per migrazione di leucociti, oppure per (ri)assorbimento di sostanze dal torrente circolatorio)

Giunzioni strette:

- Più rigide nei capillari del tessuto nervoso
- Più lasse nelle vene (importanti nell'infiammazione -> migrazione leucociti)

Non esistono nei capillari linfatici (privi di membrana basale)

Sono regolate da sostanze derivate dalle prostaglandine, liberate dai mastociti

Capillari linfatici ⇒ no giunzioni occludenti

No membrana basale

Variabilità di calibro

Arteria ⇒ parete molto più spessa della vena, perché deve sopportare una pressione sanguigna maggiore della vena (le cellule muscolari lisce controbilanciano la pressione interna al vaso).

Tonaca intima (strato di cellule endoteliali + connettivo sottovasale)

Membrana elastica interna

Tonaca media (molti strati di cellule muscolari lisce disposti in modo concentrico, intervallati da lamine di elastina ⇒ può deformare la parete, se il vaso è sotto una grande pressione)

Membrana elastica esterna

Tonaca avventizia (tessuto connettivo lasso, piccoli capillari (vasa vasorum) (⇒ nutrono la parete del vaso), cellule adipose)

Piastrine

Sono “parti di cellule” ⇒ elementi cellulari formati da regioni di citoplasma circondate da membrana cellulare.

Non hanno nucleo

Contengono granuli

Sono 2-300.000/mm³

Diametro: 2-3 μm

Hanno microtubuli e microfilamenti sottocorticali (per mantenere la struttura rotonda)

Derivano dai megacariociti (diametro: 80 μm), che sono cellule polinucleate o polimorfonucleate. Esse probabilmente derivano da cellule che hanno subito divisione nucleare, non seguita da divisione cellulare.

I megacariociti diventano piastrine per la formazione di invaginazioni, che si staccano portando con sé dei granuli.

Piastrine:

- Lisosomi
- Granuli densi
- Granuli α
- Integrine non attivate ⇒ sulla membrana

Ci sono due tipi di integrine:

1. Quelle che collegano la piastrina alla matrice, tramite fibrinogeno (FBN), fibronectina (FN), von Willebrandt factor (vWF) \Rightarrow adesione piastrina-matrice;
2. Quelle che collegano la piastrina ad un'altra piastrina o a una cellula endoteliale (sono le stesse integrine presenti nelle cellule endoteliali) \Rightarrow adesione piastrina-cellula

Le piastrine hanno recettori integrinici attivabili piastrina-cellula endoteliale (tramite I-Cam o integrine) e contorecettori per selectine (oligosaccaridi) (come avviene per granulociti, macrofagi e linfociti).

3 tipi di granuli:

1. Granuli densi (simili a vescicole sinaptiche) (serotonina (deriva dal triptofano) \Rightarrow vasocostrittore (antagonista dell'istamina) e adrenalina);
2. Granuli lisosomiali (idrolasi acide);
3. Granuli α (contengono o glicoproteine strutturali (FBN, FN, vWF) con funzioni adesive, oppure fattori di crescita (PDGF) e citochine (che richiamano altre cellule)).

Von Willebrandt factor (vWF)

240 kD

Viene secreto sia dalle piastrine, che dalle cellule endoteliali.

Presenta alcune zone globulari e altre lineari. La zona C-terminale è piuttosto estesa. La zona globulare vicino al COOH interagisce con una sua analoga di un'altra molecola di vWF. Ci sono delle sequenze RGD (Arg-Gly-Asp) che possono essere riconosciute dalle integrine.

Fibrinogeno (FBN)

Di solito è presente come dimero (340 kD), formato da tre catene (α , β , γ), con le parti C-terminale e N-terminale libere (teloipeptidi), mentre le regioni centrali hanno struttura ad elica (diversa da quella del collagene). L'elica è chiusa all'inizio e alla fine da legami disolfuro (S-S), presenti anche tra le due estremità N-terminali β dei due monomeri. Anche nel fibrinogeno sono presenti sequenze RGD per il legame specifico con le integrine.

Se si tagliano i teloipeptidi, il dimero si aggrega in una struttura a fibre.

Funzione piastrine ⇒ coagulazione

Le piastrine intervengono in seguito alla rottura di un vaso. Il coagulo è formato dalla rete di fibrina e dalle cellule che interagiscono con esse (piastrine, cellule endoteliali, connettivo, ecc.).

Eliminazione coagulo ⇒ avviene grazie alla secrezione di plasminogeno, che si trasforma in plasmina, per poi degradare la fibrina. La plasmina, con l'aiuto di enzimi lisosomiali, rompe i legami della fibrina a rete.

La rottura del vaso provoca:

1. Attivazione delle integrine delle piastrine
2. Esposizione di molte integrine sulla membrana delle piastrine
3. Liberazione di molte glicoproteine strutturali (FBN, FN, vWF)
4. Adesione cellula-matrice tra recettori integrinici, e fibre collageniche e filamenti delle glicoproteine strutturali. Adesione cellula-cellula tra recettori integrinici delle piastrine, e recettori integrinici e I-Cam delle cellule endoteliali.
5. La parete danneggiata libera enzimi, che trasformano la protrombina in trombina. Essa trasforma il fibrinogeno in fibrina e poi in fibrina a rete.
6. Si forma un coagulo di cellule adese tra loro tramite glicoproteine della matrice. Questo coagulo tampona la rottura del vaso, bloccando l'uscita di sangue.

7. Il coagulo viene eliminato per mezzo della trasformazione del plasminogeno in plasmina, che degrada la fibrina, con l'aiuto di enzimi lisosomiali.
8. Infine, vengono versate le sostanze contenute nei granuli α , cioè fattori di crescita (PDGF) e citochine, che stimolano la proliferazione di cellule endoteliali vasali e richiamano fibroblasti embrionali, in modo da riparare la soluzione di continuità che si era creata.

Funzioni piastrine:

- Promuovono la coagulazione del sangue
- Servono per eliminare il coagulo
- Riparano la rottura dei vasi sanguigni

Emopoiesi

Il midollo osseo è presente al centro del osso. E' molto vascolarizzato e ricco di cavità. Esse sono sinusoidi ematici tappezzati di cellule endoteliali fenestrate, con scarsa membrana basale.

Connettivo embrionale stromale \Rightarrow ricco di cellule e fibre sottili (collagene III e V), chiamate fibre reticolari, e isolotti di cellule ematopoietiche staminali da cui derivano cellule progenitrici.

Midollo osseo (ossa lunghe)

Contiene:

Cellule stromali staminali

Cellule ematopoietiche staminali

Alcune cellule staminali indifferenziate rimangono tali per tutta la vita, pur riproducendosi. Altre possono differenziarsi in cellule progenitrici di cellule staminali mieloidi o linfoidi. Altre ancora possono sia riprodursi, che differenziarsi.

Empoiesi midollare - eritrocitopoiesiProeritroblasto ⇒ eritroblasto basofilo

(citoplasma basofilo, molti ribosomi, Golgi, intensa attività mitotica, molti nucleoli)

Eritroblasto basofilo ⇒ eritroblasto policromatofilo

(scomparsa nucleoli, compaiono zone acidofile (perché c'è molta emoglobina))

Eritroblasto policromatofilo ⇒ eritroblasto ortocromatico o acidofilo

(intensa acidofilia, molta eterocromatina, attività mitotica si arresta)

Eritroblasto ortocromatico ⇒ reticolocito ⇒ eritrocito

Espulsione nucleo e organelli (nel reticolocito ci sono ancora residui di nucleo e organelli)

Granulocitopoiesi

Questo processo è identico per tutti i granulociti (neutrofili, eosinofili, basofili).

Mieloblasto citoplasma basofilo, nucleo tondo con nucleoli, no granulazioni; ha caratteristiche simili al proeritroblastoPromielocito scompaiono i nucleoli, compaiono granuli azzurrofilari (lisosomi),
Neutrofilo intensa attività mitoticaMielocito debole acidofilia, granuli azzurrofilari e granuli specifici (contenenti
Neutrofilo enzimi per demolire la parete batterica: es., fagocitina), debole attività mitoticaMetamielocito intaccatura e introflessioni nel nucleo, si arresta la divisione
Neutrofilo cellulare e la sintesi dei granuliGranulocito Nucleo segmentato, inattivo mitoticamente, non elabora granuli,
Neutrofilo attività ameboidi che consente il passaggio nel connettivo sottovasale

Sono tutte cellule presenti nel midollo osseo, non nel sangue.

Monocitopoiesi

I monociti vivono qualche giorno nel circolo e poi passano nel connettivo, dove avviene una accentuata attività fagocitaria.

Aumento lisosomi ⇒ monocito diventa macrofago

Promonocito ⇒ monocito ⇒ macrofago

Magacariocitopoiesi

Megacarioblasto mitosi incomplete portano al nucleo polimorfo e poliploide; sintetizza granuli specifici nel RER e nel Golgi

Megacariocito diametro: 80 µm. Cellula gigante con pseudopodi, nucleo polimorfo, derivato da divisioni nucleari non accompagnate da divisioni citoplasmatiche dei granuli.

Piastrine derivano da introflessioni delle membrane dei megacariociti (demarcazione delle piastrine)

Linfocitopoiesi

Cellula mesenchimale indifferenziata

Cellula linfoide staminale

Grande linfocito

Medio linfocito

Piccolo linfocito ⇐ alto rapporto nucleo-citoplasma

Linfociti:

- B
- T (helper e citotossici)

I linfociti T vengono presto rilasciati dal midollo osseo, per raggiungere il timo, una ghiandola linfo-epiteliale che scompare dopo la pubertà.

Dopo aver maturato, il linfocito passa a organi linfoidi secondari: milza, linfonodi, MALT (Mucosa Associated Lymphoid Tissue).

I linfociti B maturano esclusivamente nel midollo osseo e poi passano direttamente agli organi linfoidi secondari. Negli uccelli, passano dal midollo osseo alla *borsa di Fabrizio*, per poi giungere agli organi linfoidi secondari.

Linfociti \Rightarrow tondeggianti

Diametro: 12 μm

Nucleo grande eterocromatico

Citoplasma leggermente basofilo

Scarso citoplasma

Nella membrana \Rightarrow recettori che permettono loro di aderire alle cellule endoteliali (di tipo integrinico (per le I-Cam) e di tipo oligosaccaridico (per le selectine))

Linfociti B \Rightarrow contengono lisosomi per fagocitosi

Responsabili dell'immunità umorale (anticorpo-mediata): reagiscono agli antigeni sintetizzando anticorpi che vengono poi secreti.

Sono presenti nei follicoli linfoidi della zona corticale degli organi linfoidi secondari.

Linfociti T \Rightarrow risposta immunitaria mediata da cellule (cellulo-mediata): riconoscono gli antigeni se questi sono attaccati ad una cellula.

Sono presenti nella zona paracorticale degli organi linfoidi secondari.

Linfocito B

Le Ig possono essere o presenti nel plasma, o inserite nella membrana plasmatica dei linfociti B. Le Ig inserite nella membrana hanno un frammento C-terminale idrofobico aggiuntivo.

L'antigene si attacca all'Ig sul Fab (Antigen Binding Fragment). Il legame può essere ad alta o bassa affinità. L'affinità è alta se la conformazione dell'antigene e del Fab dell'Ig sono speculari.

Ogni linfocito B ha proprie Ig specifiche nella membrana, con un frammento C-terminale idrofobico aggiuntivo.

Quando il linfocito riconosce un antigene in modo specifico, è attivato: accresce il suo RER sintetizzando le Ig che vengono secrete. Il linfocito B diventa così plasmacellula.

I linfociti B contengono recettori per il Fc dell'IgG (come i macrofagi), per cui sono capaci di legare antigeni in modo non specifico, di fagocitarli e degradarli con i loro enzimi lisosomiali, e di presentare ai linfociti T helper l'antigene così degradato sulla loro membrana, assieme ai complessi di istocompatibilità (MHC).

I linfociti B hanno recettori per le citochine che stimolano l'accrescimento cellulare.

Mentre il linfocito sta maturando nel midollo osseo o nel timo, va incontro a cambiamenti a livello di DNA. Nel linfocito immaturo vi sono molti geni diversi (V1, V2, ...), nel DNA che serve a produrre il Fab. Essi sono modi diversi di produrre la parte variabile. Nel timo e nel midollo osseo, il linfocito va incontro a ricombinazione genetica: viene eliminata una parte del suo DNA e vengono selezionati dei geni particolari, che sono specifici per quel tipo particolare di linfocito e quindi di Ig. In questo modo, dallo stesso DNA si possono ottenere migliaia di linfociti diversi.

Ci sono circa 400 geni diversi che possono codificare la parte variabile delle Ig. Così, grazie alla combinazione di vari geni si possono ottenere migliaia di linfociti (e di Ig) diversi.

Il linfocito immaturo è totipotente; il linfocito maturo è altamente specifico.

Grazie allo splicing alternativo, vengono prodotti moltissimi tipi di Ig, tutti diversi tra loro. Ad es., se ci sono due codoni di arresto, un'Ig sarà sintetizzata fermandosi al primo, un'altra al secondo. Così, dallo stesso gene derivano molte Ig.

Allo stesso modo, si sintetizzano due tipi della stessa Ig: una è destinata alla secrezione, l'altra è posta nella membrana, come recettore (la differenza riguarda l'aggiunta o meno di una zona idrofobica C-terminale).

Ogni linfocito B produce un solo tipo di Ig, sia per quanto riguarda le Ig secrete, che per quanto riguarda le Ig di membrana.

La molteplicità di anticorpi deriva da:

1. Molteplicità di geni variabili (V) in una stessa catena
2. Ricombinazione tra geni variabili (V) e geni di giuntura (J) tra parte variabile e parte costante
3. Assortimento tra catene leggere e pesanti

Tra la parte variabile e quella costante delle Ig ci sono delle sequenze corte dette *joint*, cioè di giuntura. I geni D introducono ulteriore diversità (*diversity*).

Fattori di istocompatibilità

MHC II (30 kD) \Rightarrow macrofagi e linfociti B

Due proteine inserite nella membrana, ciascuna formata da due anse di tipo immunoglobulinico (assomigliano al Fc), mentre la parte terminale porta l'antigene.

MHC I (45 kD) \Rightarrow macrofagi e tutte le cellule

Proteina formata da una sola catena transmembrana, formata da tre anse. La β_2 microglobulina accompagna questa proteina.

Ogni cellula ha recettori per l'MHC di un solo tipo. Per questo motivo si hanno fenomeni di rigetto nei trapianti. La specificità non raggiunge però i livelli delle Ig.

Linfocito T

Nella membrana dei linfociti T sono presenti recettori per cellule T, costituiti da due catene di 40 kD (α e β), inserite con una parte idrofobica nella membrana e aventi due anse di tipo immunoglobulinico, una di tipo costante e una di tipo molto variabile, con cui riconoscono l'antigene.

I linfociti T contengono, oltre ai recettori T, anche co-recettori CD4 (T helper) e CD8 (T citotossico). Sono molecole di tipo immunoglobulinico. Il CD4 è formato da una sola catena, il CD8 da due. I co-recettori CD4 e CD8 costituiscono l'unica differenza tra linfociti T helper e linfociti T citotossici.

I linfociti T hanno molecole CD3, che sono recettori transmembrana con una parte importante citoplasmatica, colleganti i recettori T alle protein chinasi (PK), che trasportano all'interno della cellula i segnali dell'avvenuto riconoscimento dei recettori.

Linfociti T \Rightarrow risposta immunitaria cellulo-mediata

Linfociti B \Rightarrow risposta immunitaria anticorpo-mediata (umorale)

Nell'immunità cellulare ogni cellula, per attivarsi, ha bisogno di essere a contatto con un'altra cellula, a differenza di quanto avviene nell'immunità umorale (anticorpo-mediata), in cui l'attivazione avviene grazie al riconoscimento dell'antigene coperto di anticorpi.

L'antigene può legarsi direttamente alle Ig di membrana, oppure le Ig nel plasma, dopo essersi legate all'antigene, possono essere riconosciute da recettori per il Fc delle Ig. In ogni caso, l'antigene è degradato all'interno del linfocito B. Una parte non degradata dell'antigene viene esposta sui fattori di istocompatibilità, per favorire il riconoscimento dei linfociti T helper. Questi ultimi secernono citochine-interleuchine, riconosciute dai recettori dei linfociti B, che sono stimolati alla riproduzione.

Invece, i linfociti T citotossici, se stimolati dal contatto con cellule presentanti l'antigene su fattori di istocompatibilità, producono perforine: esse sono delle proteine che bucano la membrana plasmatica e favoriscono la morte programmata (apoptosi) della cellula.

Nel timo e nel midollo osseo, le cellule T immature vengono a contatto con peptidi di degradazione di proprie cellule associati con molecole MHC.

Vengono eliminate le cellule T che riconoscono fortemente MHC proprie (proprio MHC + propri peptidi).

Così si ottiene la tolleranza immunologica verso il proprio organismo.

