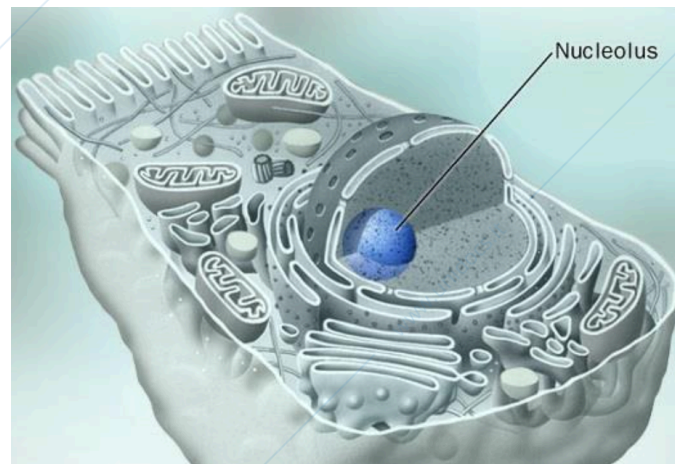
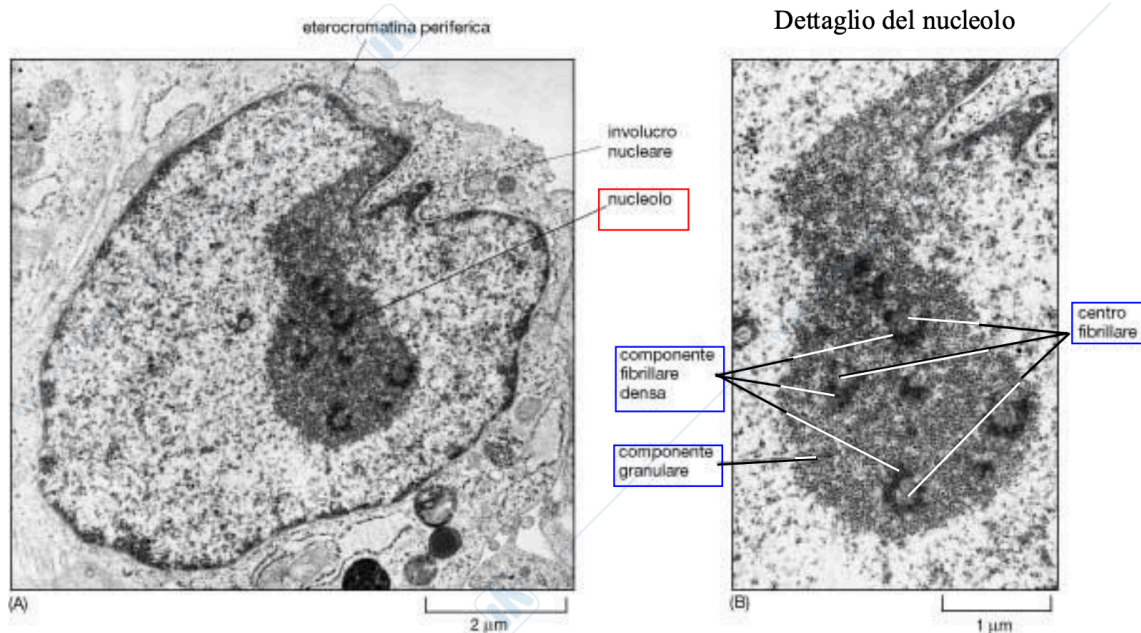


## IL NUCLEOLO

- E' un organulo non e' rivestito da membrana
- E' il sito di trascrizione degli RNA ribosomali (rRNA) e di assemblaggio delle subunità ribosomali
- E' un aggregato di rRNA, piccoli RNA coinvolti nella maturazione degli rRNA, proteine ribosomali, enzimi che modificano gli rRNA e subunità ribosomali.
- Le dimensioni cambiano in base a quanti ribosomi vengono prodotti (dipendente dal tipo cellulare)



Il nucleolo produce molti ribosomi



- Il centro fibrillare contiene geni per rRNA (rDNA) non trascritti e RNA polimerasi I inattive.
- La componente fibrillare densa contiene rDNA in trascrizione, RNA pol I attive e rRNA in fase di maturazione.
- La componente granulare contiene gli rRNA maturi e subunità ribosomali in vari stadi di maturazione

Il rDNA si trova concentrato in poche regioni del genoma

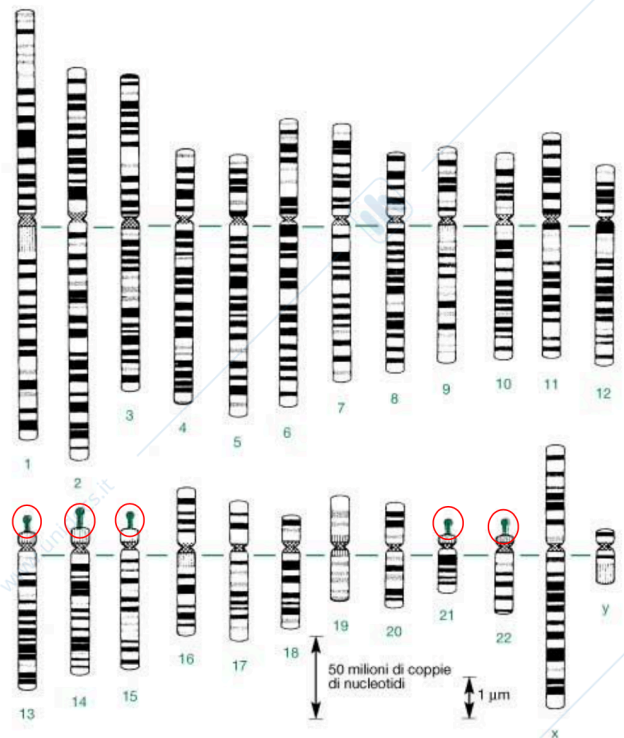
Il genoma umano ha 5 zone in cui sono concentrati i geni per il rRNA.

I cerchi rossi sui cromosomi 13, 14, 15, 21 e 22 rappresentano le zone in cui sono localizzati i geni ribosomali (DNA ribosomiale-rDNA).

Sono circa 200 geni per RNA

Sono dette **regioni nucleolo organizzatrici**

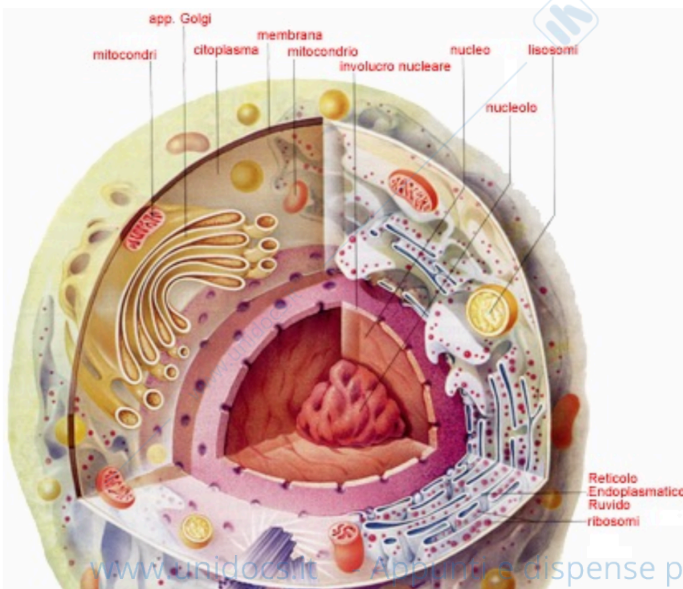
- I geni ribosomali sono presenti in copie multiple (200 copie nell'uomo, 600 copie nella rana *Xenopus laevis*), su diversi cromosomi, per sintetizzare circa 10 milioni di RNA ribosomali necessari per 10 milioni di ribosomi richiesti nella vita media di una cellula.
- Gli RNA ribosomali rappresentano oltre l'80% degli RNA presenti nella cellula



**ISTOLOGIA**= studio delle strutture microscopiche dei tessuti

**EPITELI**: Cellule dello stesso organismo hanno lo stesso genoma ma un diverso differenziamento dovuto a una regolazione genica differenziale. Ogni tipo cellulare esprimerà un differente proteoma.

### Sintesi organuli cellulari



**Mitocondri** : respirazione cellulare con produzione di energia (ATP)

**Apparato di Golgi** : glicosilazione

**Membrana** : comunicazione, trasporto

**Nucleo** : trascrizione DNA

**Lisosomi** : distruzione di agenti nocivi

**Ribosomi /RER** : sintesi proteine

**REL** : sintesi dei lipidi ,accumulo ioni calcio, detossificazione

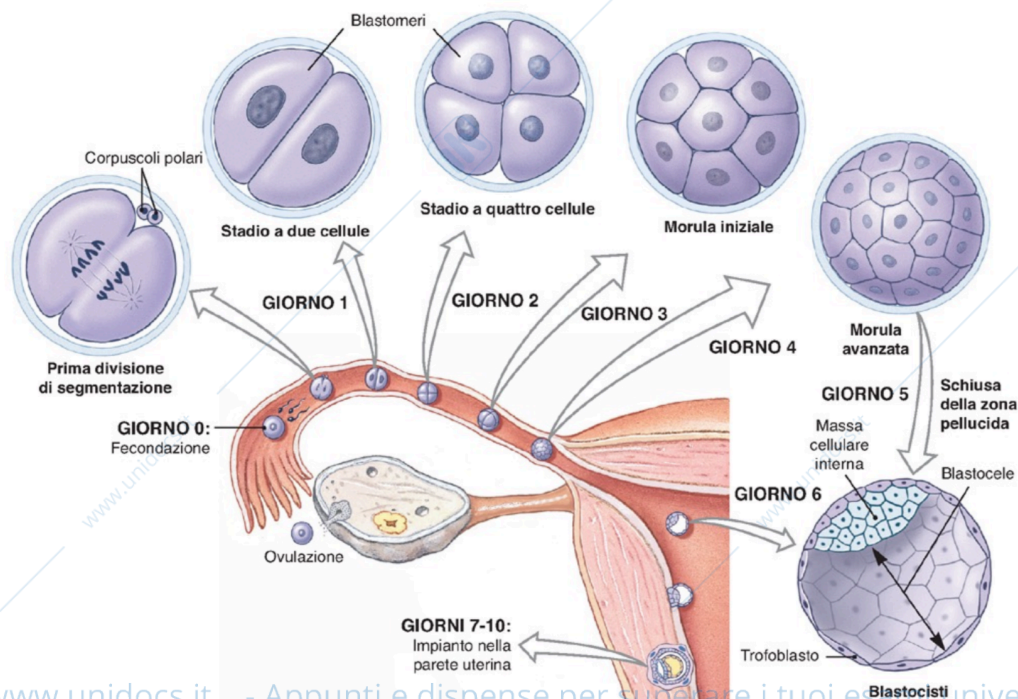
**Citoscheletro** : movimento ,sostegno, trasporto intracellulare

**DIFFERENZIAMENTO CELLULARE:** Stesso patrimonio genetico ma regolazione genica differente. Ogni tipo di cellula quindi esprimerà un **PROTEOMA** diverso.

1. Fecondazione
2. Formazione Dello Zigote
3. Prima Divisione con formazione di 2 blastomeri
4. Altre divisioni che portano alla formazione della morula
5. La morula si sviluppa in blastocisti a livello dell'utero, caratterizzata da una cavità interna detta blastocele
6. Un polo della blastocisti è delimitato da un unico strato di cellule epiteliali piatte che prende il nome di trofoblasto mentre l'altro polo è formato internamente dagli embrioplasti
7. Al 12° giorno le cellule superficiali migrano verso l'interno dando origine ad un terzo strato, lo strato superficiale è chiamato ectoderma, quello delle cellule migrate mesoderma e quello dello strato più profondo è chiamato endoderma. Questo processo si chiama gastrulazione .

I tessuti adulti si originano dai 3 foglietti embrionali, da cui deriveranno tutti i vari tessuti e organi:

- **Ectoderma:** tessuto nervoso.
- **Mesoderma:** scheletro, cartilagine , muscolatura , sistema circolatorio e reni.
- **Endoderma:** epitelio dell'apparato respiratorio , epitelio del fegato, del pancreas e della tiroide.

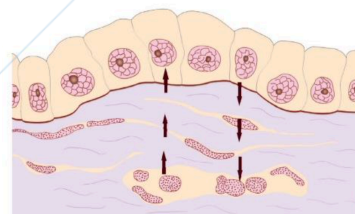


#### 4 principali tessuti:

- **Tessuto epiteliale** : riveste le superfici e le cavità corporee e forma le ghiandole.
- **Connettivo** : sostiene dal punto di vista funzionale e strutturale (detto: sangue, cartilagine, osso)
- **Muscolare** : costituito da cellule contrattili, è responsabile del movimento
- **Nervoso** : riceve, trasmette e integra le informazioni provenienti dall'interno e dall'esterno del corpo

#### TESSUTO EPITELIALE

- Costituito da cellule epiteliali molto vicine l'une alle altre, strettamente adese e con poca matrice extracellulare (quando si vede un tessuto con tanti nuclei vicini si tratta di tessuto epiteliale).
- Non è un tessuto vascolarizzato quindi le cellule traggono nutrimento mediante i capillari del tessuto connettivo (per diffusione) che invece è riccamente vascolarizzato (nella parte basale del tessuto epiteliale c'è il tessuto connettivo).
- Tra l'epitelio e il connettivo c'è la **membrana basale**.
- Origine embrionale: eterogenea.
- Si distinguono in: epiteli di rivestimenti, ghiandolari e sensoriali.

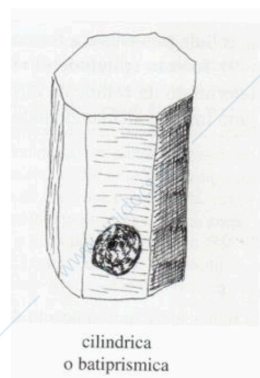
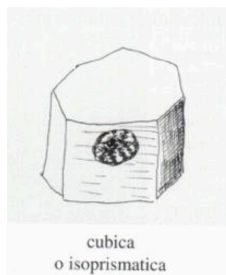


Gli epiteli di rivestimento hanno la funzione di:

- Rivestimento (sia esterno che interno)
- Protezione dai danni meccanici ,chimici ,fisici e da microorganismi
- Nel caso dell'epidermide, protezione dalla disidratazione
- Assorbimento (intestino) (alcuni)
- Escrezione (rene) (alcuni)

Gli epiteli di rivestimento si distinguono in base a due principi :

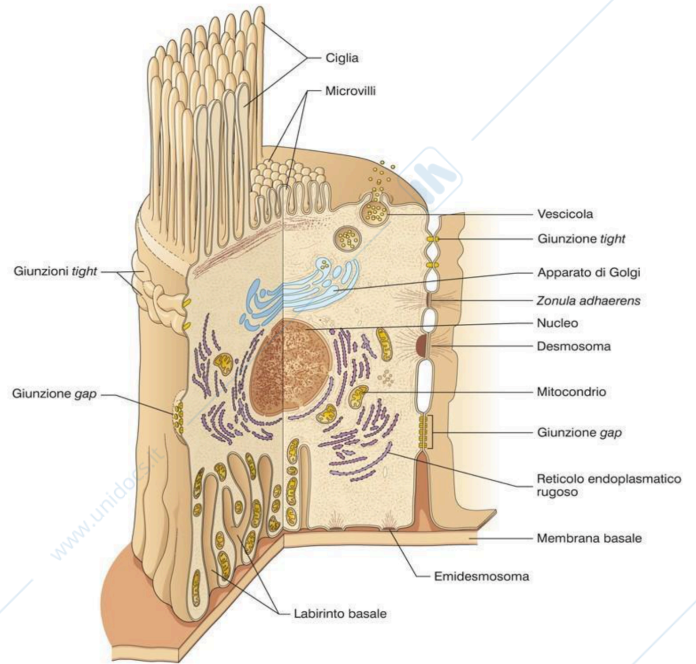
- Al numero di strati cellulari, monostratificato, semplice ,pluristratificato o composto.
- Morfologia delle cellule: pavimentosa (appiattite), cubica o cilindrica (molto allungata). In caso di epiteli pluristratificati la definizione della forma dipende dallo strato apicale (strato più esterno).



**Caratteristiche delle cellule epiteliali: POLARITA'**

Le cellule epiteliali mantengono stretti contatti le une con le altre ed hanno un'accentuata **polarità morfo-funzionale**.

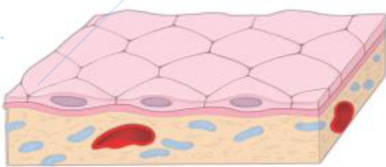
Le cellule epiteliali mantengono stretti contatti le une con le altre ed hanno un'accentuata polarità morfo-funzionale, infatti hanno la **superficie basale** che comunica con il connettivo tramite la membrana basale mentre quella **apicale** è quella esposta sul lume della cavità che lo circonda. Le **superfici laterali** sono quelle tramite le cui le cellule epiteliali prendono contatto. (quando è polarizzata ci sono proteine diverse nel citosol e nella membrana della zona apicale rispetto a quella basale)



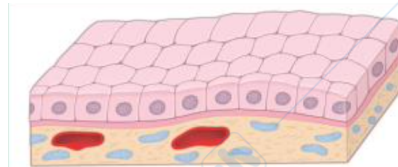
**Gli epiteli possono essere:**

- **Pavimentosi semplici/composti**, presentano nuclei molto appiattiti, per esempio questo tipo di epitelio si trova nel mesotelio del peritoneo. (1)
- **Cubici semplici/composti**, spesso si piegano per formare canali (2)
- **Cilindrici semplici/composti** (3)
- **Pseudostratificati** (4)

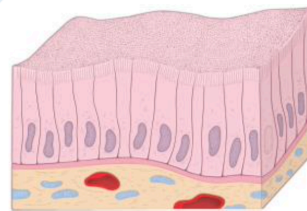
semplici:



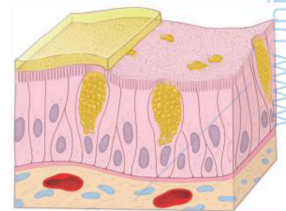
1



2

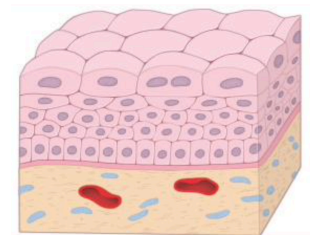
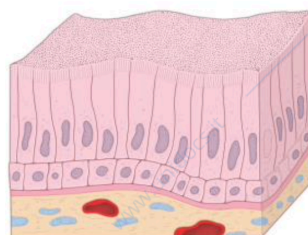
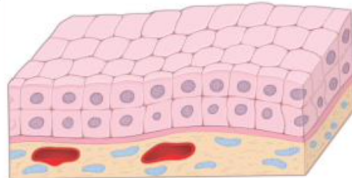
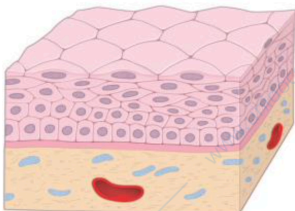


3



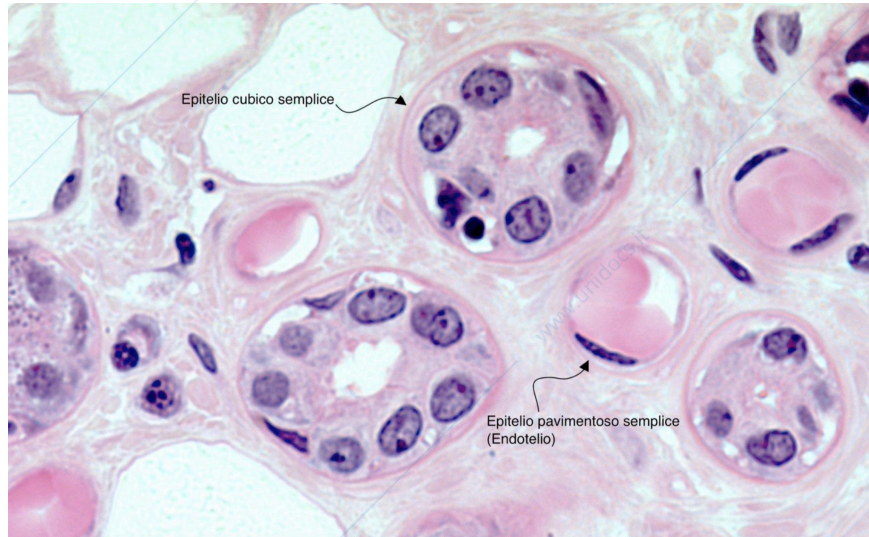
4

composti/stratificati:

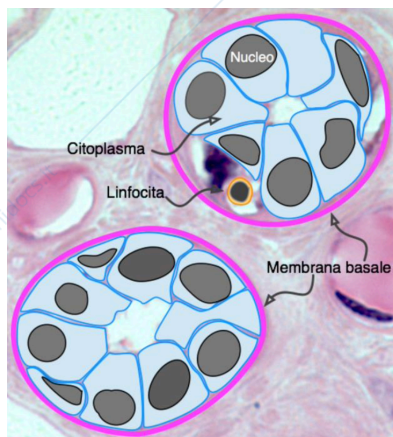


## Criteri di classificazione

- Numero di strati cellulari (monostratificato/semplce o pluristratificato/composto)
- Morfologia delle cellule (pavimentosa/squamosa, cubica o cilindrica)
- Presenza/assenza di specializzazioni a livello della superficie libera
- Presenza/assenza di cheratinizzazione



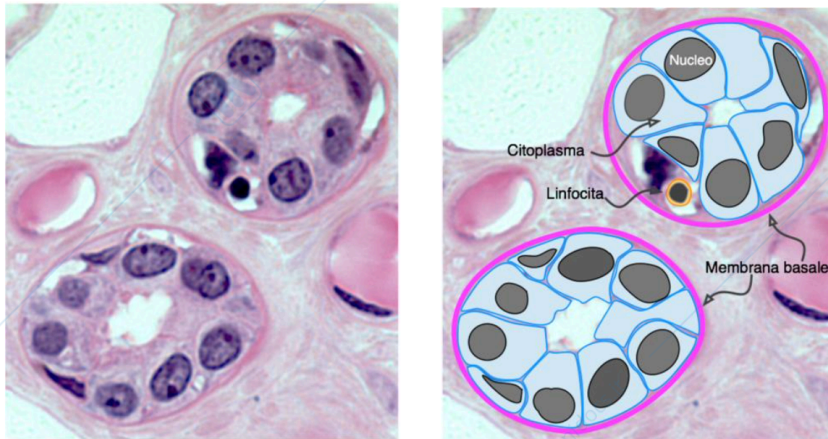
L'immagine mostra una sezione trasversale. L'epitelio pavimentoso delimita un capillare con all'interno dei globuli rossi che non presentano il nucleo.



Appena viene dato un vetrino cerco di riconoscere i nuclei che si colorano di violetto mentre il citosol assume una colorazione celeste.

**Coloranti istologici:** Per ottenere le immagini si possono utilizzare coloranti istologici tipo Ematossilina/Eosina, sostanze che sono colorate e hanno un'altra parte che hanno delle caratteristiche di acidità (si lega alle molecole che sono basiche e le colora) o basicità (si lega alle molecole che sono acide e le colora).

L'**Ematossilina** è basica e colora i composti acidi come il nucleo (per la presenza di acidi nucleici) in blu-viola mentre l'**Eosina** è acida e colora i composti basici, come il citosol, in rosa.



**CROMOFORO**: parte colorata che assorbe le radiazioni elettromagnetiche visibili.  
**AUXOCROMO**: ha proprietà acide o basiche.

**I coloranti basici** reagiscono con le componenti anioniche (cariche negativamente) delle cellule e dei tessuti: gruppi fosfato degli acidi nucleici, gruppi solfato dei glicosamminoglicani, gruppi carbossilici delle proteine e i gruppi fosfato dell' rRNA.

La reattività dei gruppi anionici nei tessuti dipende dal pH:

- pH 10 tutti e tre o gruppi (fosfato, solfato e carbossilico) vengono ionizzanti e reagiscono con il colorante.
- A pH 5-7 sono ionizzati prevalentemente i gruppi fosfato e solfato.
- pH < 4 sono ionizzati solo i gruppi solfato.

**I coloranti basici** (emallume di Mayer/ematossilina, azocarminio, fucsina basica) colorano le strutture acide (basofile) presenti sia nelle cellule (ad es. nucleo, ribosomi) che nei tessuti (cartilagine, secreti acidi....).

Quindi:

- L'eterocromatina e i nucleoli (gruppi fosfato degli acidi nucleici)
- Reticolo endoplasmatico rugoso (gruppi fosfato dell' RNA ribosomale).
- Matrice extracellulare (gruppi solfato dei carboidrati complessi)

**I coloranti acidi** reagiscono con i gruppi cationici (carichi positivamente) e in particolare con i gruppi amminici delle proteine. Colorano il citoplasma, alcuni tessuti come quello osseo e il connettivo, membrane intracellulari e fibre extracellulari.

**I coloranti acidi** (eosina, blu di anilina, orange G) colorano i componenti basici (acidofile) sia cellulari (ad es. citoplasma) che tissutali (tessuto osseo, connettivo....).

- Filamenti citoplasmatici
- Componenti membranose intracellulari
- Fibre extracellulari

**Immunofluorescenza:** si va a mettere in evidenza una particolare proteina (solo una) utilizzando un anticorpo.

**Metodi istochimici:** si utilizzano delle caratteristiche di reattività della cellula, per esempio si utilizza la proprietà degli enzimi di reagire.

## PREPARATI PER MICROSCOPIA OTTICA

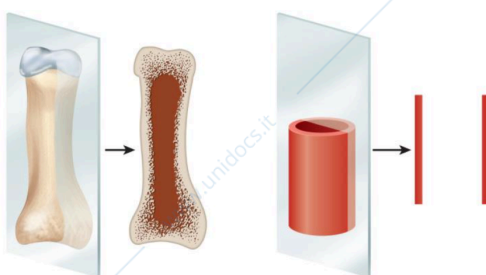
Inclusione in paraffina e taglio al microtomo (consente la produzione di vetrini stabili che si possono mantenere nel tempo):

Prelevo un tessuto (biopsia) e lo seziono tagliandolo con il microtomo molto sottilmente, non più di 10/12 micron.

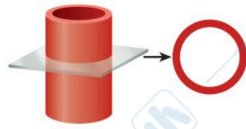
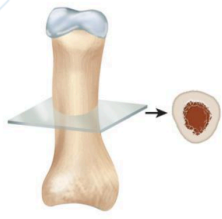
- Includo un tessuto molle nella paraffina in modo da avere una struttura rigida che sono in grado di tagliare.
- Viene effettuata la **Fissazione** al fine di mantenere la struttura e la posizione delle proteine e le condizioni normali di quel tessuto. La cellula viene uccisa. Formaldeide e etanolo sono usati come fissativi chimici.
- La paraffina non è miscibile in acqua perché è una cera quindi per poterla includere devo **disidratare** la cellula in alcool (etanolo) crescenti mediante immersione in xilolo (xilene) ,un solvente organico miscibile sia con l'etanolo sia con la paraffina, diafanizzazione.
- **Inclusione** in paraffina fluida a circa 50 °C e si lascia solidificare a temperatura ambiente.
- **Taglio al microtomo** e adesione sul vetrino porta-oggetto.
- **Reidrato** in modo da deparaffinare tramite immersioni del vetrino in alcool decrescenti.
- **Colorazione.**
- **Disidratazione** in alcool assoluto e xilene.
- **Elimino il colorante in eccesso** lavandolo e si applica un vetrino copri-oggetto facendolo aderire tramite una resina sintetica trasparente (montante).

Ciò lo facciamo per avere vetrini che si mantengono per un lungo periodo di tempo invece l'inclusione in (è un microtomo che sta in una struttura molto grande a -20 gradi), può avvenire solo se si preleva il tessuto in tempi brevissimi ma è una procedura più veloce. Dopo il prelievo del tessuto si congela in azoto liquido o a -80 °C per fissarla, dopo di che si taglia al criostato, si effettua la colorazione e si applica il vetrino copri-oggetto facendolo aderire su una resina sintetica trasparente . L'OCT è una resina che a t ambiente è fluida mentre a t -20 °C è solida.

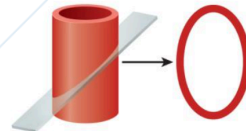
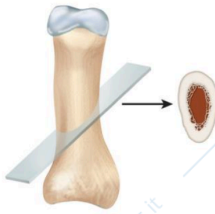
## Piani di taglio



**Sezione longitudinale:** tessuto tagliato seguendo la direzione dell'asse maggiore dell'organo



**Sezione trasversale:** tessuto tagliato perpendicolarmente alla lunghezza dell'organo



**Sezione obliqua:** tessuto tagliato con un angolo rispetto all'asse longitudinale e trasversale

DA VEDERE SE AGGIUNGERE PEZZO SLIDE 60

### **Epitelio pavimentoso semplice**

Sezione longitudinale della corteccia del cervelletto osservata al microscopio ottico.

L'epitelio pavimentoso semplice si può trovare nella parte interna (in contatto con il sangue) dei vasi sanguigni e nella parte interna del cuore, in questo caso si chiama *endotelio*, si può trovare nella cavità corporea (pleura, pericardio, peritoneo) e in

questo caso prende il nome di *mesotelio*. (lo strato a contatto il tessuto connettivo è la regione basale). L'epitelio pavimentoso semplice può formare:

- **capillari continui:** hanno una comunicazione limitata poiché le cellule endoteliali sono connesse mediante giunzioni intracellulari molto strette. L'endotelio poggia su una lamina basale continua (capillari del sistema nervoso centrale, si trova la barriera ematoencefalica).
- **capillari fenestrati:** al livello del citoplasma hanno dei pori, presentano