



## UNIVERSITÀ DI PISA CITOLOGIA E ISTOLOGIA

**MASSIMILIANO ANDREAZZOLI**

Anno accademico

2021/22

CdS

SCIENZE BIOLOGICHE

Codice

071EE

CFU

9

Moduli	Settore/i	Tipo	Ore	Docente/i
CITOLOGIA E ISTOLOGIA	BIO/06	LEZIONI	80	MASSIMILIANO ANDREAZZOLI ELISABETTA FERRARO

### Programma (contenuti dell'insegnamento)

Introduzione allo studio delle cellule e tessuti animali.

Strumenti e unità di misura utilizzati nello studio delle cellule e tessuti. Principi, utilizzo e limiti di risoluzione dei microscopi ottico ed elettronici (a trasmissione e a scansione) - Cenni sulla composizione e struttura delle principali molecole di interesse biologico: carboidrati, acidi nucleici: DNA ed RNA, proteine, lipidi. I batteriofagi ed i virus animali. Procarioti: generalità, classificazione - Struttura e ultrastruttura generale della cellula procariotica - Struttura della parete cellulare nei batteri grampositivi e gram-negativi - Meccanismi di trasferimento di molecole neutre attraverso lo spazio periplasmatico dei batteri gramnegativi.

Morfologia generale della cellula eucariotica

La membrana plasmatica: Composizione molecolare, struttura e caratteristiche generali di fosfolipidi, colesterolo e glicolipidi - Dimostrazione sperimentale della disposizione in doppio strato dei lipidi nella membrana: esperimento di Langmuir. Orientamento delle componenti di membrana sul plasmalemma e sulla membrana dei compartimenti citoplasmatici. Dimostrazione sperimentale della fluidità del doppio strato lipidico: esperimenti degli eterocarionti e di FRAP. Dimostrazione sperimentale della distribuzione asimmetrica dei fosfolipidi - Proteine di membrana: struttura, rapporti con il doppio strato lipidico, classificazione - Metodiche ultrastrutturali per lo studio delle proteine di membrana: tecnica del freeze fracture and etching - Preparazione di estratti cellulari, centrifugazione differenziale e SDS-PAGE.

Funzioni della membrana plasmatica; presenza di specializzazioni funzionali in cellule differenziate. Trasferimento transmembranale di ioni e piccole molecole: meccanismi di trasporto attivo e passivo. Proprietà elettriche della membrana - Gradiente di concentrazione ed elettrochimico - Equazione di Nerst - Trasporto passivo di ioni: canali di fuga e a sbarramento. La pompa Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>; Canali di fuga per K<sup>+</sup> e Na<sup>+</sup> e differenti concentrazioni ioniche sui due lati del plasmalemma - Potenziali di equilibrio del potassio e del sodio e creazione del potenziale di membrana. Cause molecolari della fibrosi cistica.

Scambi respiratori a livello degli alveoli. Esempio di pompe V: pompe protoniche vescicolari.

Trasferimento di macromolecole e particelle attraverso la membrana: esocitosi, gemmazione, fagocitosi, endocitosi (costitutiva e mediata da recettori).

Le giunzioni cellulari: aspetti generali e classificazione. Giunzioni occludenti: ultrastruttura e significati funzionali. Giunzioni di ancoraggio: struttura generale e classificazione delle giunzioni cellula-cellula e cellula-matrice - Struttura, ultrastruttura e composizione molecolare dei desmosomi e degli emidesmosomi - Struttura, ultrastruttura e composizione molecolare delle fasce di adesione e delle adesioni focali - Complessi di giunzione tra cellule - Giunzioni comunicanti - Giunzioni gap: generalità, ultrastruttura, regolazione.

Il citoscheletro: generalità; classificazione dei filamenti citoscheletrici - Microtubuli: ultrastruttura e composizione molecolare - Polimerizzazione degli eterodimeri di tubulina, formazione dei protofilamenti e del microtubulo - Attività di polimerizzazione e depolimerizzazione alle estremità del microtubulo - Caratteristiche dinamiche dei microtubuli entro la cellula, confrontate con quelle mostrate in vitro - Centro organizzatore dei microtubuli - Struttura del centrosoma e dei centrioli. Formazione dei microtubuli: "Cappuccio" di GTP ed instabilità dinamica - Proteine associate ai microtubuli (MAPs)

- Proteine motrici dei microtubuli: caratteri strutturali e funzionali di chinesina e dineina - Organizzazione strutturale e significato funzionale delle ciglia e dei flagelli - Ultrastruttura dell'assonema e del corpuscolo basale - Fasi e fisiologia del movimento ciliare - Filamenti intermedi: caratteri generali morfo-funzionali, composizione molecolare, classificazione, assemblaggio - Filamenti actinici: caratteri generali morfo-funzionali, composizione molecolare, assemblaggio. Proteine che interagiscono con l'actina - Ultrastruttura dei microvilli. Struttura della miosina I e II - Ruolo della miosina come motore molecolare dell'actina. Interazione tra filamenti actinici e miosinici nelle cellule non muscolari e regolazione della loro contrazione, basata sull'attivazione della calmodulina - Traffico intracellulare delle proteine.

La sintesi di proteine specifiche come aspetto del differenziamento cellulare - La localizzazione dei ribosomi espressione dei siti di sintesi delle proteine prodotte dalla cellula. Segnali di smistamento per il traffico intracellulare proteico. Reticolo endoplasmatico ruvido e liscio: struttura, funzioni - Preparazione ed uso dei microsomi. Peptide segnale di indirizzo al reticolo granulare - Struttura e funzione della particella SRP.

Trasferimento cotraduzionale di proteine solubili, transmembranali monopasso e multipasso attraverso la membrana del reticolo endoplasmatico ruvido. Glicosilazione nel reticolo ruvido, controllo qualità, ripiegamento e assemblaggio proteico. Funzioni del reticolo endoplasmatico liscio - Traffico vescicolare anterogrado e retrogrado tra reticolo endoplasmatico e Golgi.

Apparato di Golgi: ultrastruttura, compartimenti - Modifiche nell'apparato di Golgi della glicosilazione delle proteine provenienti dal reticolo ruvido.

## UNIVERSITÀ DI PISA

Lisosomi: Biogenesi, caratteri ultrastrutturali e composizione chimica; Processi di eterofagia, autofagia, autolisi e digestione extracellulare. Il mitocondrio e i perossisomi: caratteri generali morfo-funzionali, ultrastrutturali e origine evolutiva del mitocondrio - Compartimenti mitocondriali e loro contenuto - DNA mitocondriale - Segnale d'indirizzo mitocondriale - Traslocatori proteici sulle membrane mitocondriali e meccanismi d'importazione nella matrice mitocondriale, nella membrana esterna, nella membrana interna e nello spazio intermembrana. Basi molecolari dei processi ossidativi che conducono alla produzione di ATP nei mitocondri. Ultrastruttura e funzione dei perossisomi.

Il nucleo

Caratteristiche generali morfo-funzionali e significato evolutivo - Ultrastruttura del nucleo interfascico e dell'involucro nucleare. Passaggio di proteine trasportatrici e di mRNP (da anelli di Balbiani) attraverso il complesso nucleare del poro. Segnale di localizzazione nucleare - Esperimenti dimostranti la necessità e sufficienza del segnale di localizzazione nucleare per l'importazione nel nucleo. Esportazione regolata dal nucleo di proteine; segnale di esportazione nucleare (NES) - Struttura e ciclo della lamina nucleare - Cromatina: definizione e composizione - Eucromatina ed eterocromatina costitutiva e facoltativa: aspetto microscopico e differenze in termini di attività trascrizionale. Rapporti cromatina-cromosomi - Istoni: caratteri molecolari, legame al DNA - Modelli di struttura della fibra cromatinica di 30 nm - Ulteriori stadi di compattazione della cromatina: intervento di proteine non istoniche - Formazione di anse - Scaffold - Cromosomi lampbrush e politenici. Modificazioni delle code istoniche e rimodellamento della cromatina - Organizzazione molecolare e ruolo del centromero - Classificazione dei cromosomi e costruzione del cariotipo - Analisi del cariotipo mediante metodi di bandeggio e di ibridazione molecolare - FISH e territori cromosomici nel nucleo interfascico Organizzazione dei geni su un cromosoma

Nucleolo: composizione molecolare, ultrastruttura e funzioni - Componente fibrillare e granulare - Organizzazione del DNA ribosomale: disposizione in tandem dei geni ribosomali - Trascrizione e maturazione dell'rRNA - Assemblaggio delle subunità ribosomali  
Il ciclo cellulare Attività interfasiche in preparazione alla fase M: replicazione del DNA, duplicazione del centrosoma - Descrizione sintetica dei periodi della fase M: profase, prometafase, metafase, anafase, telofase, citodieresi - Analisi degli eventi della profase; fasi iniziali della formazione del fuso mitotico; frammentazione dell'involucro nucleare e transizione alla prometafase - Inserimento dei cromosomi sui microtubuli del cinetocore e disposizione in piastra equatoriale alla metafase - Classificazione dei microtubuli del fuso in metafase. Migrazione ai poli del fuso dei cromosomi in anafase A: ipotesi attiva e passiva - Attività delle proteine motrici dei microtubuli in anafase B - Telofase - Ricostituzione dell'involucro nucleare - Citodieresi. Meccanismi di controllo del ciclo cellulare - Confronto tra i principali passaggi della mitosi e della meiosi.

Istologia

Definizione di Istologia e di tessuto - Criteri di classificazione dei tessuti - Tessuti fondamentali e loro caratteristiche distintive.

Tessuto epiteliale: caratteri morfo-funzionali - Rapporti epitelioconnettivo - Specializzazioni della membrana plasmatica delle cellule epiteliali sulle superfici laterali, a contatto con la lamina basale e sulla superficie apicale Epitelio pavimentoso composto cheratinizzato - Melanociti - Plasticità dell'epitelio di transizione - Epiteli secernenti esocri ed endocri: confronto tra i meccanismi d'azione degli ormoni e dei secreti esocri - Epiteli secernenti esocri: livelli di organizzazione. Cellule mucipare calciformi - Superfici epiteliali secernenti - Ghiandole esocrine: criteri di classificazione - Modalità merocrina, apocrina ed olocrina di emissione del secreto - Ghiandole sierose, mucose e miste - Organizzazione istologica delle ghiandole esocrine composte.

Tessuto connettivo: generalità, origine, funzioni - connettivi propriamente detti (lassi e compatti) e specializzati - Matrice intercellulare Matrice intercellulare non strutturata: composizione, distribuzione, funzioni - GAG - Proteoglicani - Componente fibrillare - Fibre collagene: distribuzione e organizzazione in fibrille - Collagene fibrillare e non fibrillare - Fibre reticolari - Genesi delle fibrille collagene - Fibre elastiche: composizione, ultrastruttura, proprietà, localizzazioni - Lamina basale: composizione, ultrastruttura - Proteine di adesione: fibronectina, laminina - Differenziamento delle cellule del mesenchima - Cellule fisse e migranti: morfologia e funzioni di fibroblasti, macrofagi, plasmacellule, cellule adipose, mastociti - Tessuto adiposo bianco e bruno: struttura, istofisiologia, teorie sulla sua origine. Tessuti connettivi specializzati per funzioni di sostegno (tessuto cartilagineo e tessuto osseo)

Tessuto nervoso: il sistema Nervoso. Struttura generale dei neuroni: soma, prolungamenti, polarizzazione funzionale e loro classificazione. Organizzazione del sistema nervoso centrale e periferico. Organizzazione della sostanza grigia e sostanza bianca nel cervello e nel midollo spinale. Cenni sul Sistema Nervoso Autonomo (Orto- e Parasimpatico). Cenni sullo sviluppo del sistema nervoso centrale e periferico. Origine e derivazione embrionale di neuroni e glia del SNC e SNP. Classificazione dei neuroni in base alla morfologia del pirenoforo, al numero dei prolungamenti, all'estensione dell'assone e funzionale. Neuroglia. Cellule ependimali. Struttura ed ultrastruttura del pirenoforo e dei prolungamenti. Morfologia dei dendriti e dell'assone. Trasferimento di materiali lungo l'assone: trasporto e flusso assonico. Fibre mieliniche ed amieliniche. Mielinizzazione nelle fibre nervose periferiche. Neurilemma. Internodi e nodi di Ranvier. Fisiologia del neurone, genesi del potenziale di riposo e del potenziale d'azione. Conduzione nervosa nelle fibre nervose amieliniche e mieliniche. Sinapsi: generalità, definizione, componenti e loro classificazione in base all'identità degli elementi pre- e post-sinaptico. Sinapsi chimiche ed elettriche. Sinapsi chimiche eccitatorie ed inibitorie. Risposta del neurone postsinaptico. Principali neurotrasmettitori, loro recupero e riciclaggio. Nervi: struttura ed organizzazione istologica. Circuiti nervosi: arco riflesso. Riflesso patellare. Rigenerazione nervosa nel SNC e SNP. Barriera emato-encefalica. Meningi.

Tessuto muscolare: classificazione e localizzazione dei vari distretti. Origine embrionale, morfologia e citofisiologia degli elementi cellulari nei vari tipi di tessuto muscolare. Tessuto muscolare striato scheletrico: morfologia generale ed origine sinciziale della fibra muscolare. Organizzazione istologica dei muscoli striati scheletrici: epimisio, perimisio, endomisio. Miofibrille. Sarcomero: ultrastruttura. Miofilamenti spessi e sottili: composizione molecolare e proteine accessorie. Reticolo sarcoplasmatico. Tubulo T e triade. Stati funzionali del sarcomero. Meccanismo della contrazione acto-miosinica. Giunzione neuro-muscolare. Recettori muscarinici per l'acetilcolina. Degradazione e riciclaggio dell'acetilcolina. Cellule satelliti e ruolo rigenerativo nel muscolo scheletrico. La distrofina. Tessuto muscolare cardiaco.

Caratteristiche istologiche: striature e dischi intercalari. Differenze ultrastrutturali tra fibra muscolare scheletrica e cardiomiocita. Giunzioni nel disco intercalare. Il muscolo cardiaco come sincizio funzionale. Contrazione nel tessuto cardiaco. Sistema di conduzione del cuore. Innervazione da parte del sistema nervoso autonomo. Tessuto muscolare liscio. Esempi di muscolatura liscia (muscoli associati all'iride, ai bronchi, ai vasi e nell'apparato digerente). Ultrastruttura di una fibrocellula liscia. Corpi densi e organizzazione dei miofilamenti. Meccanismo di contrazione, sistema calcio-calmodulina. Organizzazione del tessuto muscolare liscio in multiunitario e unitario.

Laboratori

Laboratorio n. 1

Uso del microscopio ottico - Definizione di Istologia - Definizione di tessuto - Criteri di classificazione dei tessuti - Tessuti fondamentali e loro caratteristiche generali - Tessuto epiteliale: caratteri generali morfo-funzionali - Epiteli di rivestimento semplici e composti: classificazione e osservazione di preparati istologici sull'argomento.

Laboratorio n. 2

Epiteli secernenti: cellule e superfici secernenti - Classificazione e principali esempi di ghiandole esocrine ed endocrine - Osservazione e



## UNIVERSITÀ DI PISA

---

discussione di preparati istologici sull'argomento

Laboratorio n. 3

Tessuti connettivi propriamente detti, lassi e compatti; tessuto adiposo; tessuti connettivi specializzati per funzioni di sostegno (tessuto cartilagineo e tessuto osseo); sangue e tessuti emopoietici: classificazione e principali localizzazioni - Osservazione e discussione di preparati istologici sull'argomento

Laboratorio n. 4

Tessuto muscolare: classificazione e localizzazione del tessuto muscolare striato (scheletrico e cardiaco) e del tessuto muscolare liscio - Descrizione dell'aspetto microscopico di fibre muscolari, cardiociti e fibrocellule - Tessuto nervoso: caratteri generali morfo-funzionali, classificazione Osservazione e discussione di preparati istologici relativi agli argomenti.

Laboratorio n.5

Preparazione di vetrino con striscio buccale ed osservazione al microscopio in seguito a colorazione con Blu di metilene. Osservazione di preparati per immunofluorescenza diretta ed indiretta, analisi e localizzazione di specifici tessuti in larve vive di linee transgeniche di zebrafish. Preparazione di sezioni di tessuto mediante taglio al criostato ed al microtomo.

*Ultimo aggiornamento 20/07/2021 09:24*