



*Università degli studi di Modena e Reggio Emilia, Modena.*

---

# L'EVOLUZIONE DELLA DIAGNOSTICA ISTO-CITO-PATOLOGICA

8 aprile 2009

---

*Francesco Rivasi*

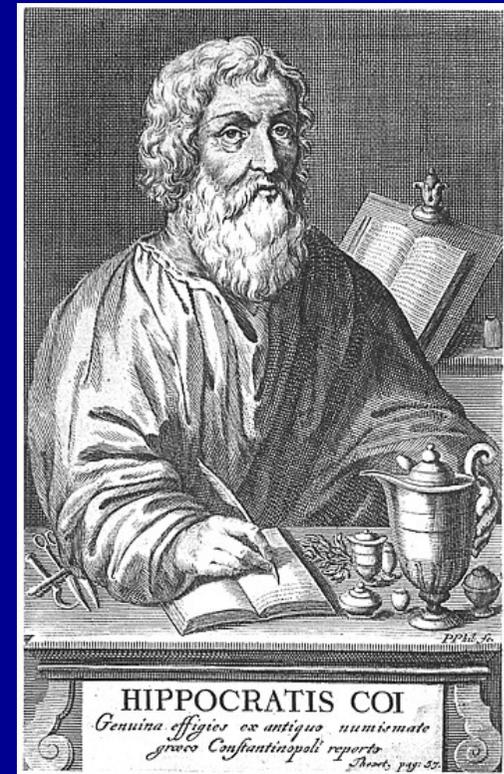
- Anatomia Patologica
- Anatomia: dal latino tardo: anatomia, dal greco:  $\alpha\nu\alpha\tau\omicron\mu\eta$  "dissezione" derivato: a sua volta da :  $\alpha\nu\alpha\tau\epsilon\mu\nu\omega$  "tagliare, sezionare"
- Il termine **patologico** (dal greco
- $\pi\acute{\alpha}\theta\omicron\lambda\omicron\gamma\iota\kappa\omicron\varsigma$ , derivato da  $\pi\alpha\theta\omicron\lambda\omicron\gamma\epsilon\omega$  trattare delle malattie,
- attraverso il francese **pathologique**

- L'anatomia patologica ha per oggetto le alterazioni indotte nei singoli organi dalle malattie, allo scopo di confermare una diagnosi o accertare la causa di morte.

- Autopsia: dal greco  $\alpha \nu \tau \phi \iota \alpha$
- Vedere con i propri occhi da  $\alpha \nu \tau \omicron \varsigma$
- stesso e  $\omicron \psi \iota \varsigma$  vista da qui "visione e conoscenza diretta dei fatti"
- In storia è stato usato questo termine per la prima volta da Erodoto:
- "fonte di informazione diretta"

- In medicina indagine sul cadavere volta ad appurare le cause di morte e le modalità, eseguita con una serie di metodiche dissezioni che consentono l'esame di singoli organi

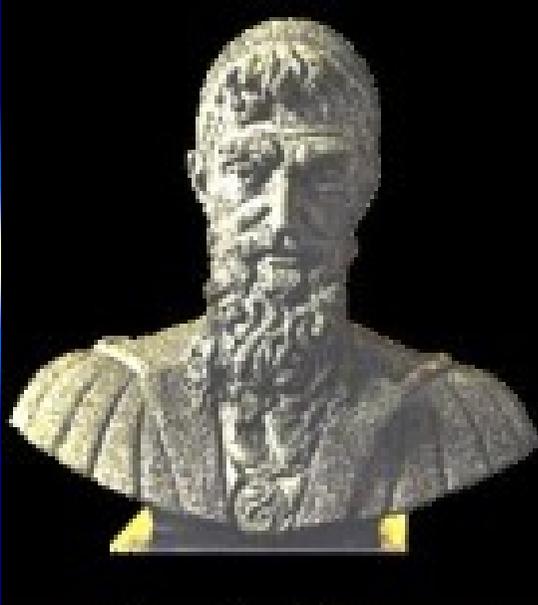
- La **civiltà egizia** fu la prima popolazione civilizzata a mostrare interesse, seppur religioso, verso la rimozione e l'esame degli organi interni.
- Il tentativo di scoprire il meccanismo delle malattie trae la sua origine dall'applicazione del metodo scientifico.
- Infatti, fu **Ippocrate**, il primo medico che fondò il metodo scientifico, e per primo si occupò dell'anatomia e della patologia umana.



- I primi tentativi di dissezione del corpo umano all'epoca degli antichi Greci, risalgono alla prima metà del 3° secolo a.C., con il contributo di due medici, **Erofilo di Calcedonia** ed **Erasistrato di Kios**.



Erofilo sovrintende a un'autopsia  
Tavola anatomica di L. Caldani - 1801

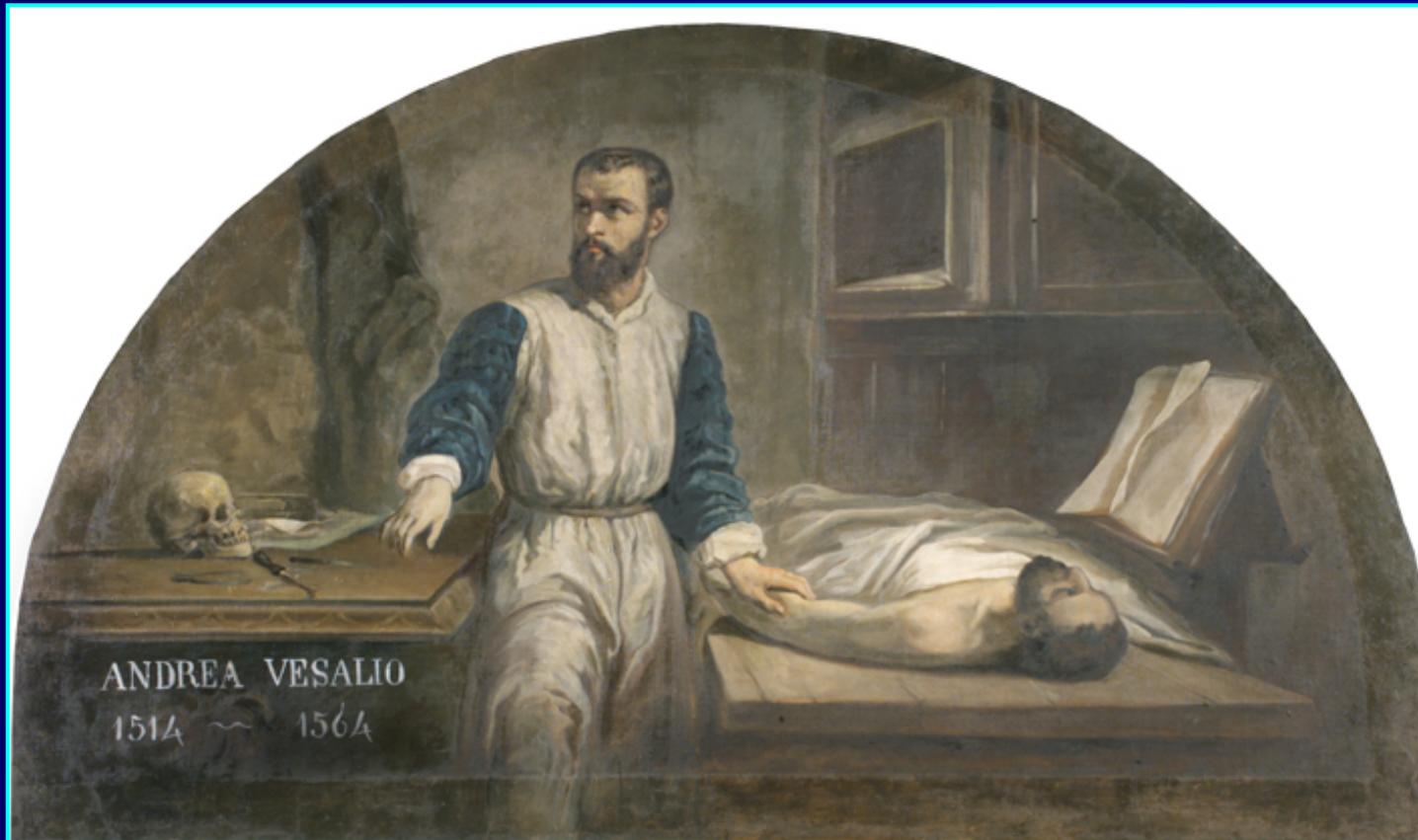


Claudio Galeno  
(129 - 199)

- In seguito, **Galeno** (129-199 a.C.), che mostrò interesse verso gli studi di Erofilo ed Erasistrato, tentò di approfondire il concetto secondo cui era possibile studiare le malattie attraverso una dissezione metodica degli organi e dei tessuti malati.

- La patologia applicata alle microbiologia e allo studio delle malattie infettive fu inoltre utile allo studio della patologia, grazie al medico **Avicenna** (980–1037) e al medico arabo **Avenzoar** (1091-1161), che fu il primo a dimostrare che il contagio della scabbia fosse causato da un parassita.
- **Ibn al-Nafis** nel 1242, usò la dissezione per definire l'anatomia della circolazione polmonare.

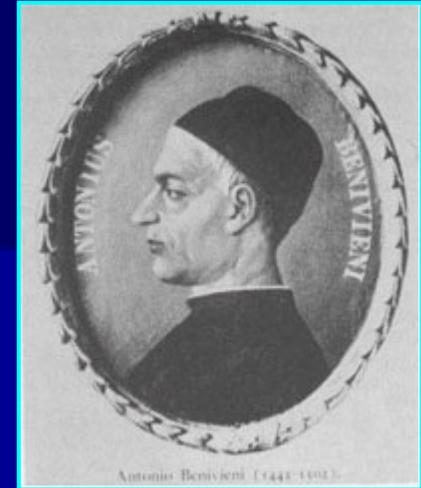
- La storia dell'anatomia moderna inizia nel Rinascimento , con la pubblicazione, nel 1543, dell'opera *De Humani Corporis Fabrica* dell'anatomista fiammingo **Andrea Vesalio**.

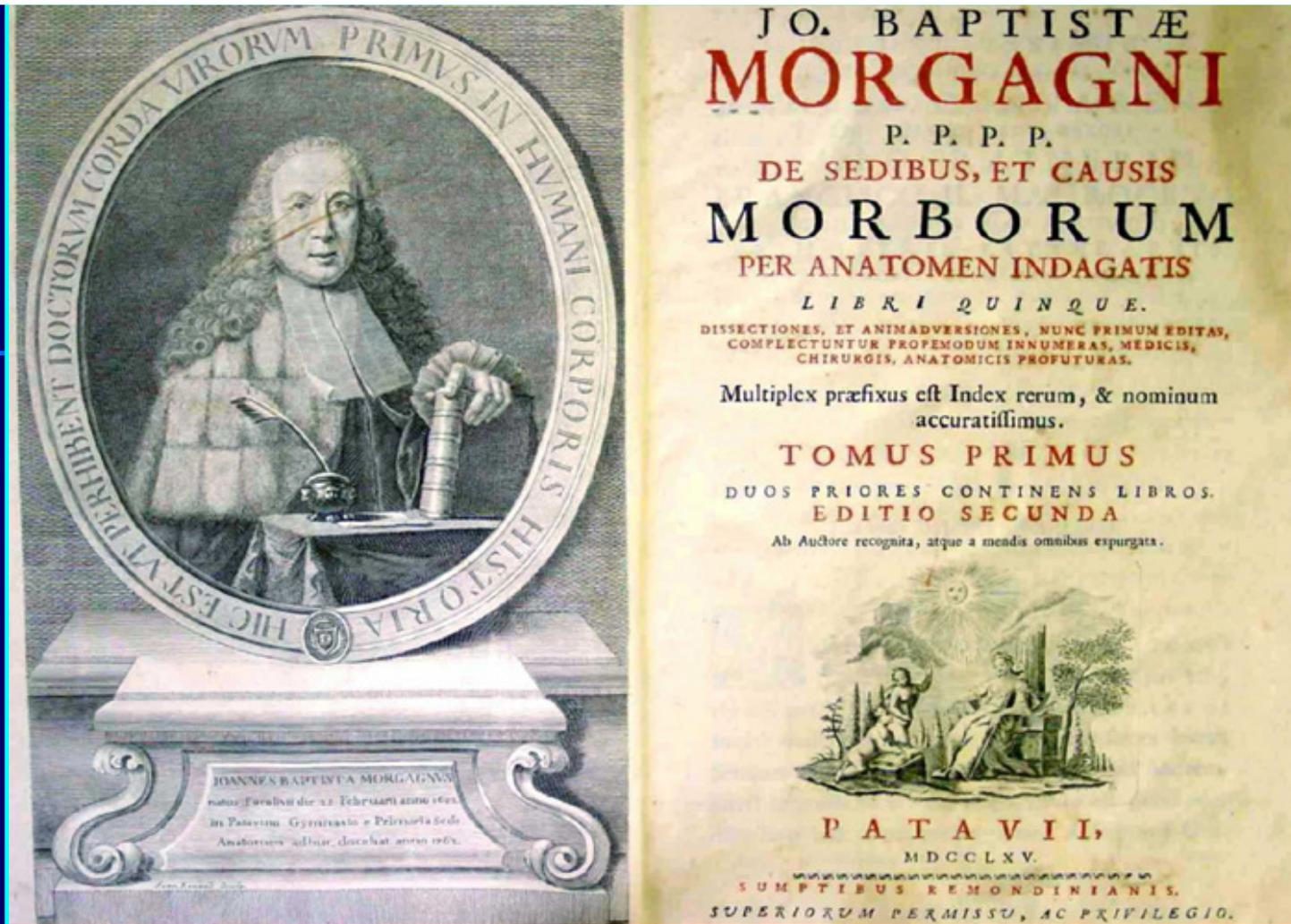


- Prima della pubblicazione di questo trattato, gli anatomisti basavano le loro conoscenze sugli scritti di scienziati vissuti più di mille anni prima, come quelli del medico greco Galeno, che si era limitato alla dissezione e all'osservazione di organi animali. Vasalio e altri studiosi del Rinascimento basarono, invece, le loro opere **sull'osservazione diretta e la dissezione di cadaveri**, ponendo così le **basi dell'anatomia moderna**.

- Nel XV secolo, la dissezione anatomica fu usata largamente dal medico italiano **Antonio Benivieni** (1443-1502).

Infatti, la patologia come scienza ha avuto inizio nel Rinascimento con l'opera del medico fiorentino, che descrisse i risultati delle autopsie da lui eseguite per chiarire le cause della morte di alcuni suoi pazienti.





Con **G. B. Morgagni** (1682-1771), il più famoso anatomo-patologo, la scienza della patologia fece un decisivo progresso ed influenzò profondamente lo sviluppo della medicina.

- Il nuovo metodo introdotto da Morgagni consisteva nel tracciare un'accurata correlazione tra i sintomi della malattia e l'anatomia patologica dei casi giunti al tavolo anatomico.
- La sua opera maggiore, ***De Sedibus et Causis Morborum per Anatomem Indagatis***, pubblicata nel **1761**, descrive i risultati di più di 600 autopsie parziali o totali, che vennero sistematicamente correlate ai sintomi mostrati dai pazienti prima del loro decesso.

Anche se a quell'epoca lo studio nell'anatomia era già avanzato, *De Sedibus* è stata la **prima trattazione specifica che ha correlato i sintomi clinici alle alterazioni anatomiche.**

# Nascita dell'anatomia microscopica

- L'invenzione, avvenuta nel **XVI-XVII** secolo, del microscopio portò allo sviluppo dell'anatomia microscopica, che può essere distinta in **istologia** (studio dei tessuti) e **citologia** (studio delle cellule).

# Nascita dell'anatomia microscopica

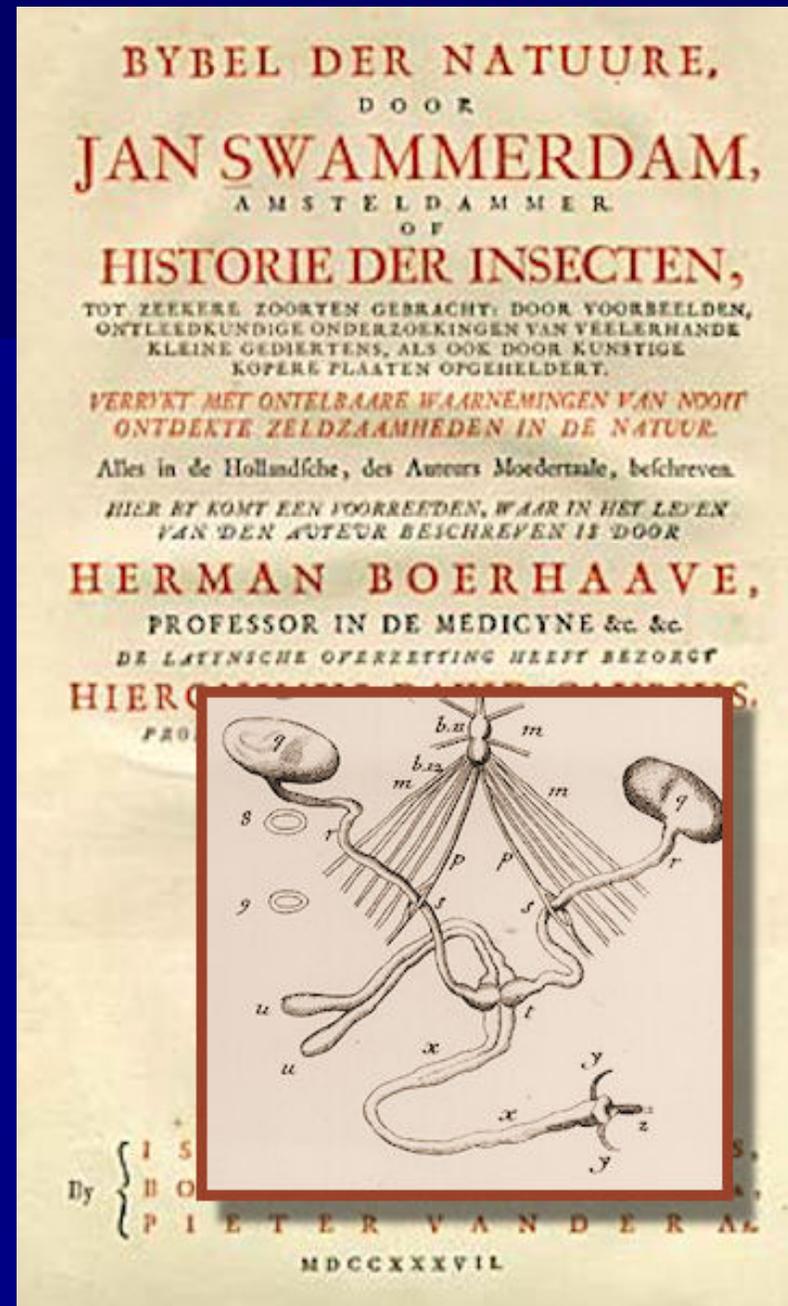
- Nel 1646 **Francesco Fontana** inventò il primo microscopio, un adattamento del telescopio di Galileo, che era composto da lenti biconcave cromatiche per l'oculare e lenti biconvesse per l'obiettivo, con un ingrandimento che poteva raggiungere i 6x.



- **Swammerdam** (1637-1680) esaminò diversi insetti e scrisse una dettagliata opera "*Biblia nature*", nella quale descrisse e riconobbe per la prima volta i globuli rossi.



Jan Jacob Swammerdam  
(1637-1680)

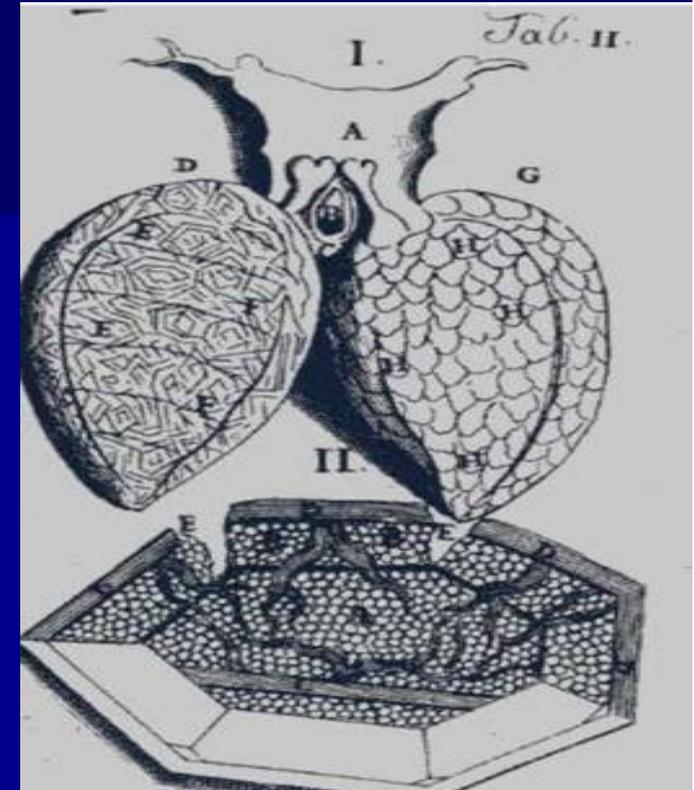


# Nascita dell'anatomia microscopica

- **Leeuwenhoek**, nel 1672, individuò per primo i follicoli ovarici, utilizzando una lente singola con ingrandimento attorno ai 275x, che permetteva di vedere dettagli fino ad allora non visibili, con i microscopi contemporanei.
- Nel XVII secolo l'anatomista italiano **Marcello Malpighi** compì le prime osservazioni della struttura microscopica di piante e animali.



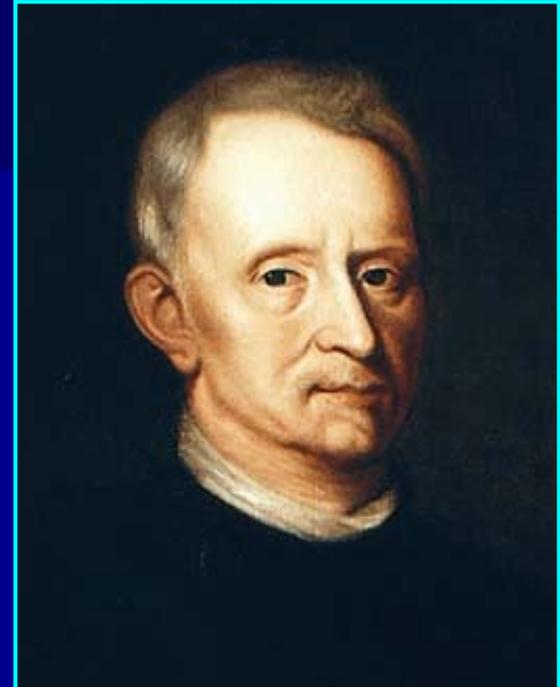
# Nascita dell'anatomia microscopica



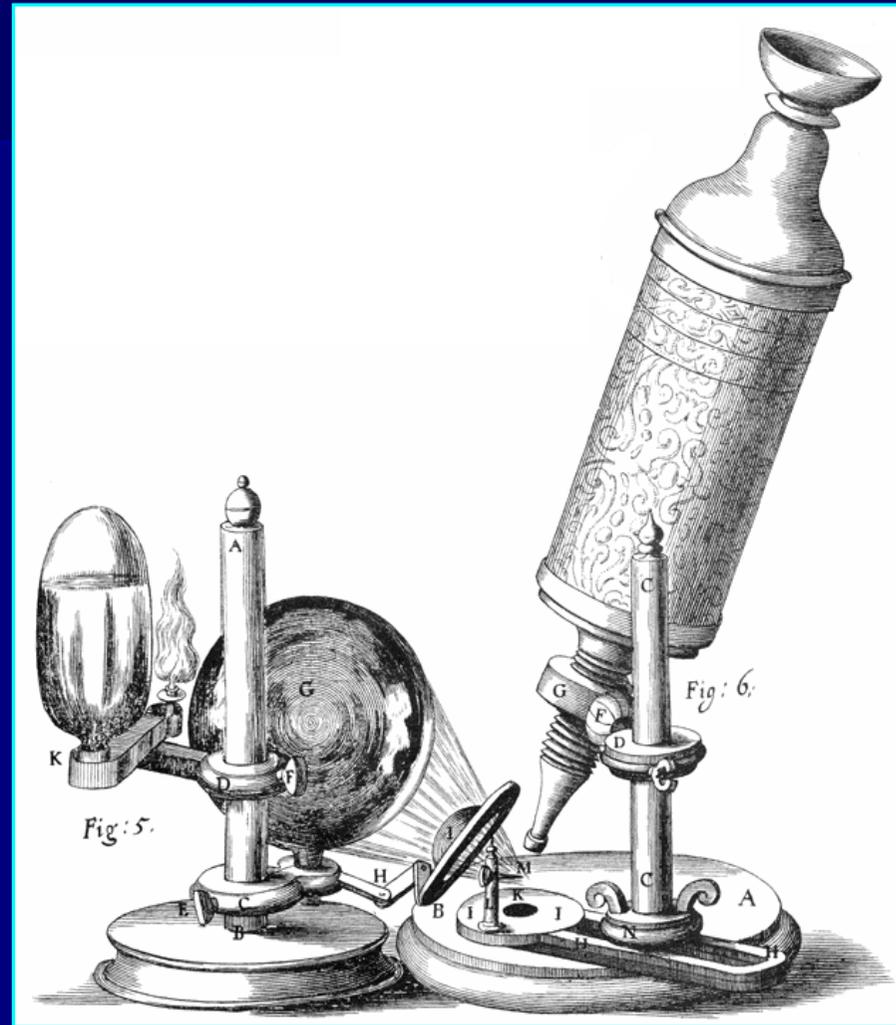
■ **Marcello Malpighi**, nel 1661, individuò capillari nel mesentero e nei polmoni di rane, contribuendo alla teoria della circolazione sanguigna di Harvey.

# Nascita dell'anatomia microscopica

- Nel 1665, **R. Hooke** disegnò e costruì un microscopio, il cui focus poteva essere modificato tramite una vite. Riuscì quindi ad individuare strutture ed unità cellulari molto piccole, fino ad allora non descritte.



- Nonostante il XVII secolo mostrò una grande attività scientifica, in particolare nel campo della microscopia, il XVIII fu un secolo poco ricco di innovazioni nell'anatomia microscopica.



# Nascita dell'anatomia microscopica

- Nel 1712 **Hertel** introdusse l'illuminazione per il microscopio, mentre nel 1791, **Beeldsnyder** costruì le prime lenti acromatiche da applicare al microscopio.
- **Bichat** (1771-1802) arrivò a descrivere 21 differenti tessuti presenti negli organi, in base alla loro funzione. Focalizzò l'attenzione sulla riproduzione e sull'embriologia.
- Nel 1833 **R. Brown** individuò e descrisse per la prima volta il nucleo cellulare.

# Nascita dell'anatomia microscopica

- Il **XIX** secolo fu un periodo molto florido per la citologia e per l'istologia, non solo in Europa, ma anche in America. Nel XIX secolo l'anatomia fece rapidamente molti progressi di grande portata, in gran parte grazie ai perfezionamenti ottenuti nel campo della microscopia ottica e dei metodi di fissazione e colorazione delle cellule e dei tessuti. **Vennero, inoltre, perfezionati i metodi della microtomia, che consentono il taglio dei tessuti in sezioni estremamente sottili.**

# L'école strasbourgeoise (I)

- Thomas LAUTH (1758-1826)

1804 :

« L'examen cadavérique est le moyen, par la *confrontation constante entre les symptômes et les lésions* d'acquérir une connaissance médicale telle que la médecine puisse directement, à partir des symptômes connaître la cause et le pronostic »

## L'école strasbourgeoise (II)

- Johan Frédéric LOBSTEIN le jeune (1777-1835), exact contemporain de Dupuytren [Le but de l'Anatomie pathologique est de] « soumettre à l'analyse les changements qu'ont introduits les maladies dans la texture des organes et *déterminer le mécanisme de leur formation* »

Discours de 1819 au moment de l'inauguration de la chaire d'Anatomie pathologique de Strasbourg, la première du monde

FACULTE DE MEDECINE  
INSTITUT DE PATHOLOGIE STRASBOURG



# La chaire d'Anatomie Pathologique de Paris (1)

- Fondée en 1835, après celle de Strasbourg
- Attribuée à Jean Cruveilhier , Professeur d'Anatomie Normale, qui eut huit successeurs au cours du XIXe et XXe siècle

# Les émules de Cruveilhier

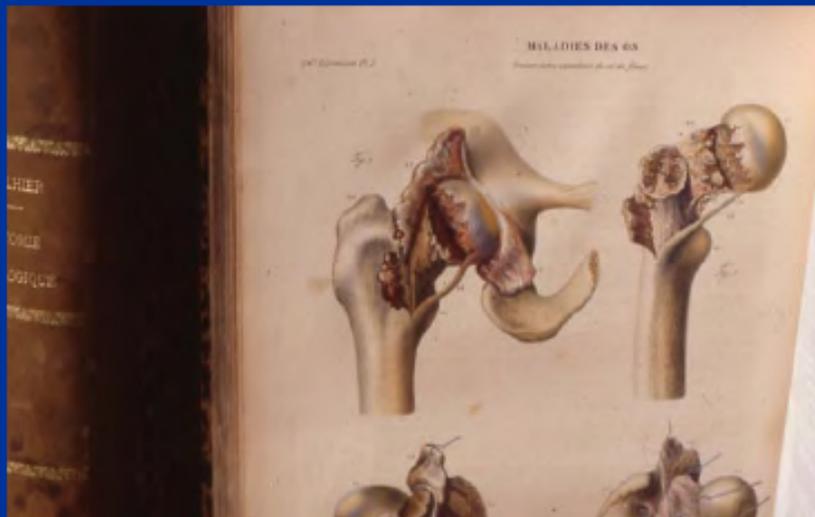
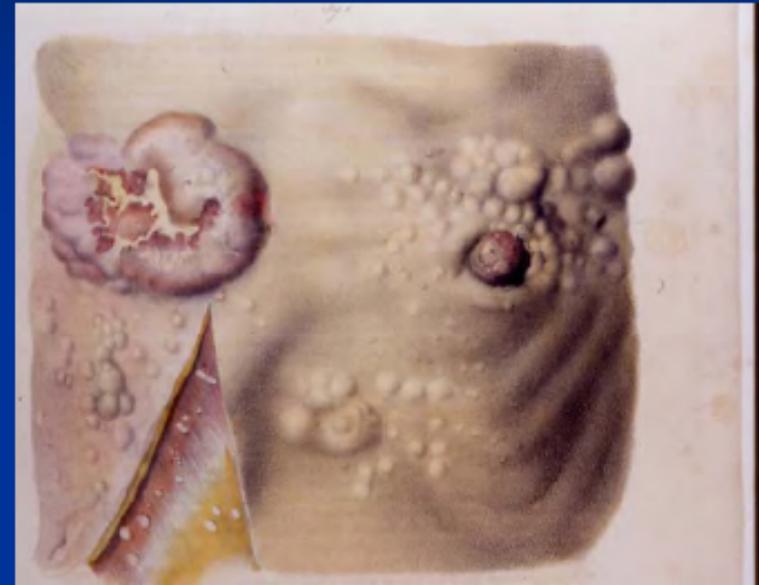
- **Karl Von Rokitansky** à Vienne et **Rudolf Virchow** à Berlin développent l'Anatomie-Pathologique dans leur pays.
- Rokitansky ne sera guère novateur alors que Virchow fera faire un pas décisif à la discipline en fondant l'histopathologie.

# La première Société Anatomique (II)

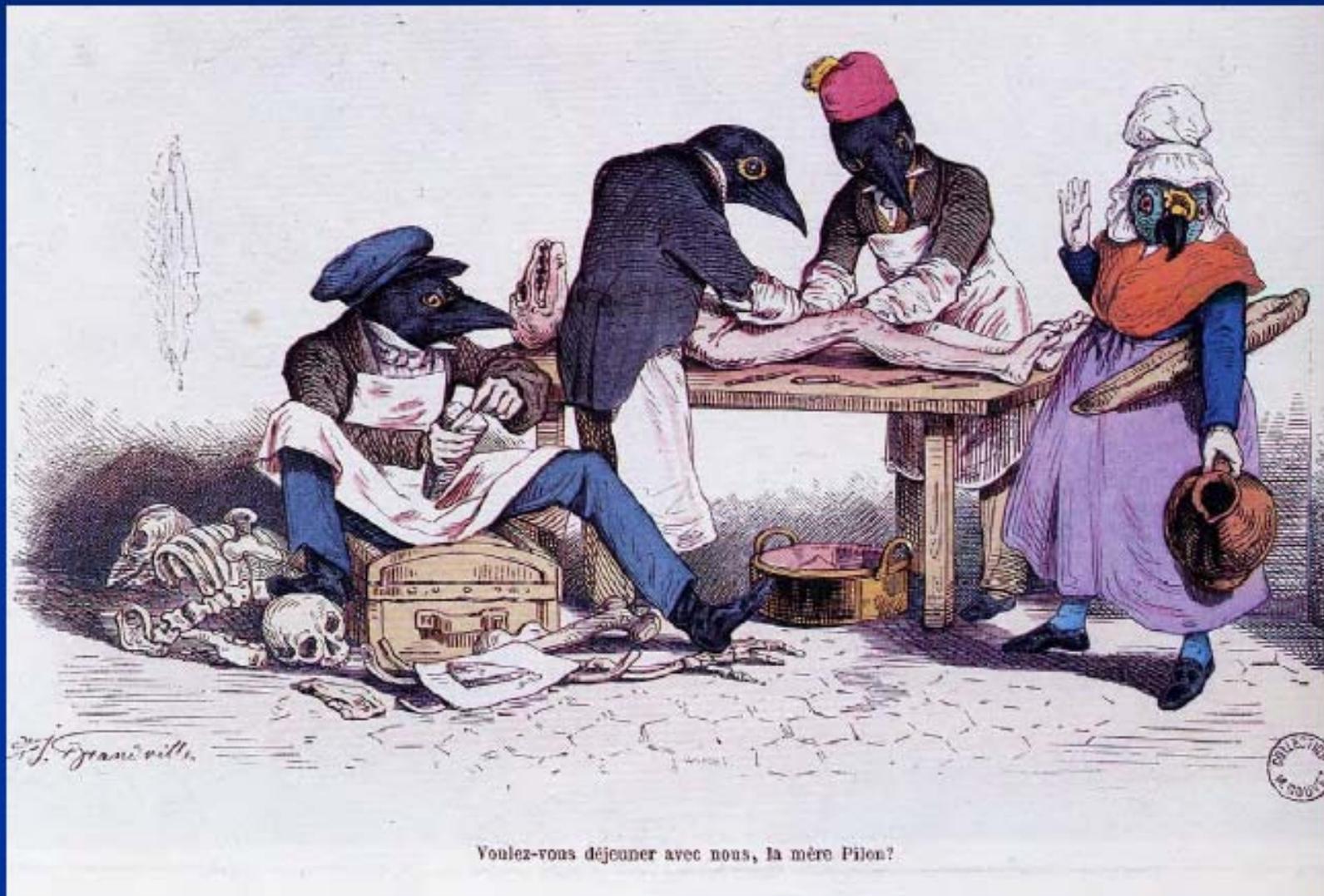
## Le diplôme de G. Dupuytren



# L'Anatomie Pathologique du corps humain : Atlas de Jean Cruveilhier (entre 1828 et 1840)

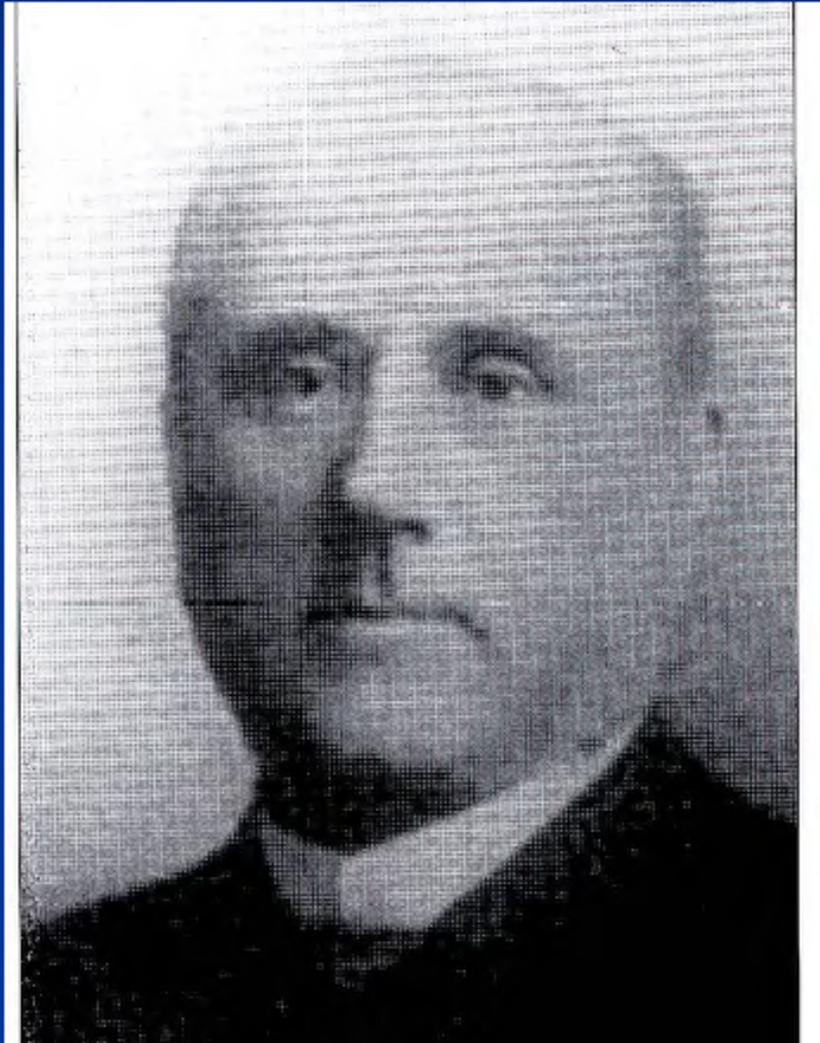


# Manifestement, l'Anatomie pathologique ne plaît pas à tout le monde !



# Un important changement de perspective

## Ernest BESNIER (1831-1909)



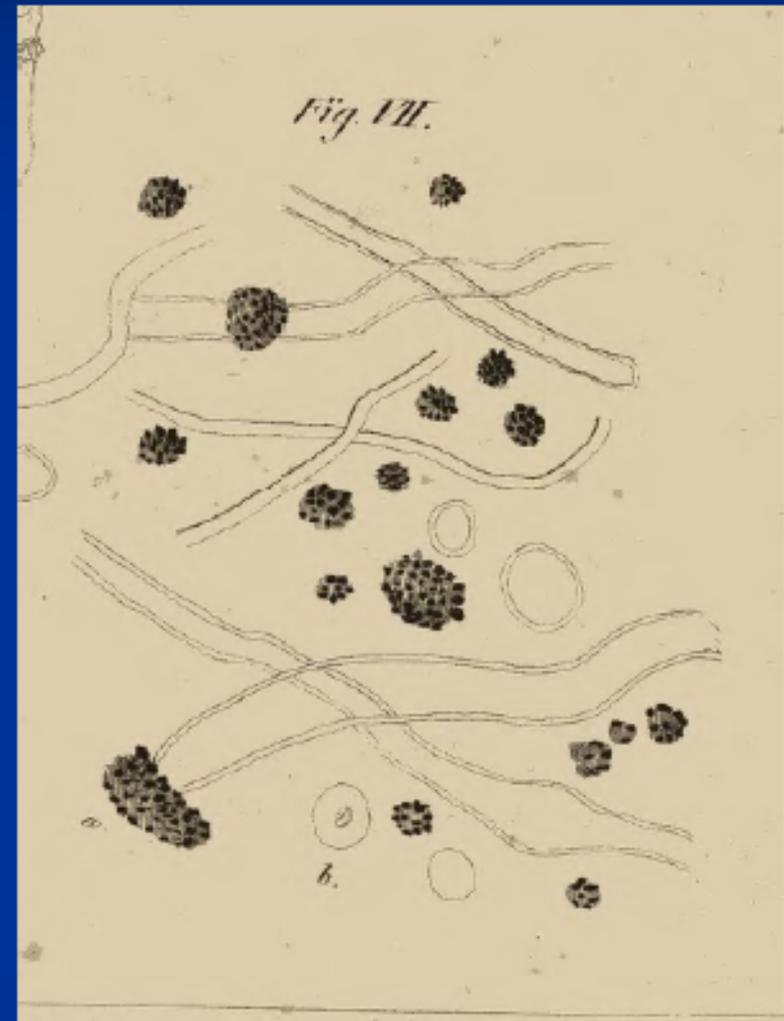
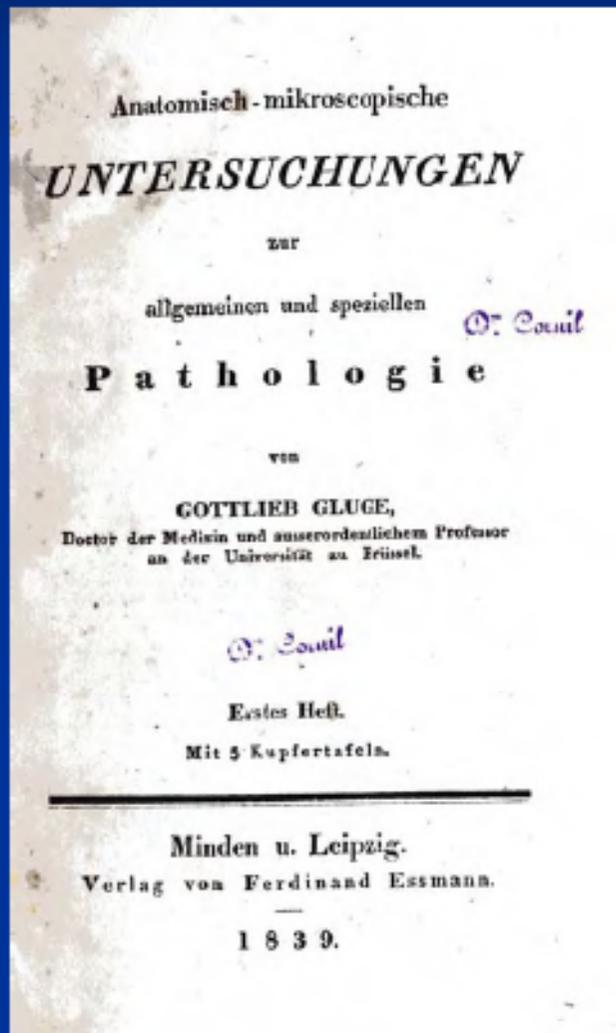
- Chef de service de dermatologie à l'hôpital Saint-Louis
- Créateur en 1879 du concept et du terme de **Biopsie** pour désigner les prélèvements de peau qu'il examinait au microscope pour confirmer, *du vivant du patient* le diagnostic des affections dermatologiques dont des autopsies avaient permis de connaître les lésions.

# Karl Freiherr Von Rokitansky(1804-1878) fait à Vienne ce que Cruveilhier fait à Paris



- « Inventeur et fondateur de l'Anatomie Pathologique »  
...selon les viennois, alors qu'il n'avait que 15 ans au moment de la création de la chaire de Lobstein !
- A la différence de Cruveilhier, c'est un Pathologiste pur qui travaille en binôme avec Joseph Skoda, clinicien.
- La Société Rokitansky réunit encore actuellement les pathologistes fiers d'avoir fait plus de 1000 autopsies (...espèce en voie d'extinction !)

En Allemagne, on parle d'anatomie pathologique  
microscopique dès 1839, avant même que la parution de  
l'Atlas de Cruveilhier ne soit terminée



# Nascita dell'anatomia microscopica

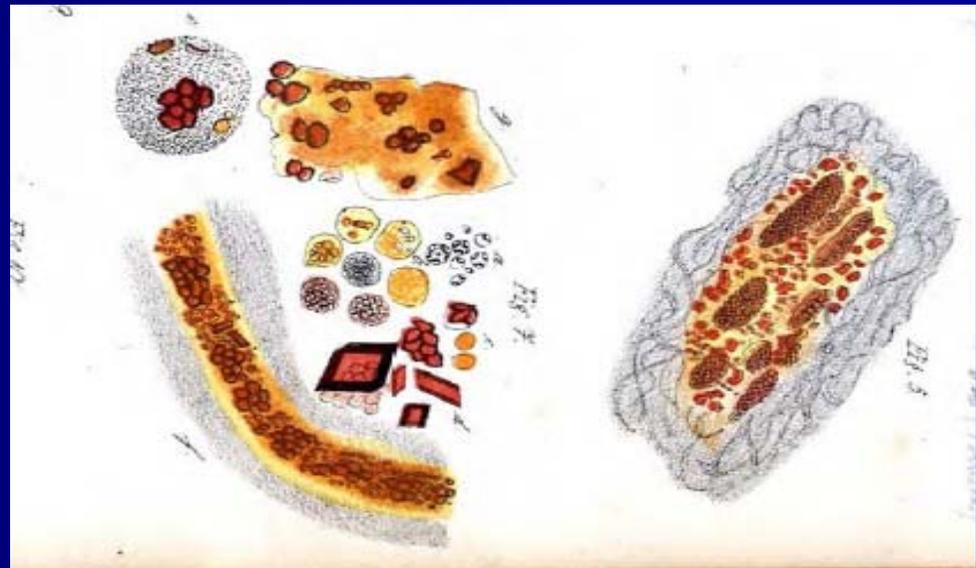
- Nel 1836, **J. Muller** descrisse le strutture cellulari dei tumori benigni, stabilendo criteri microscopici fondamentali per la differenziazione tra tumori benigni e maligni e tra sarcomi e carcinomi.

# Rudolf Virchow (1821-1902) introdusse lo studio dell'istologia

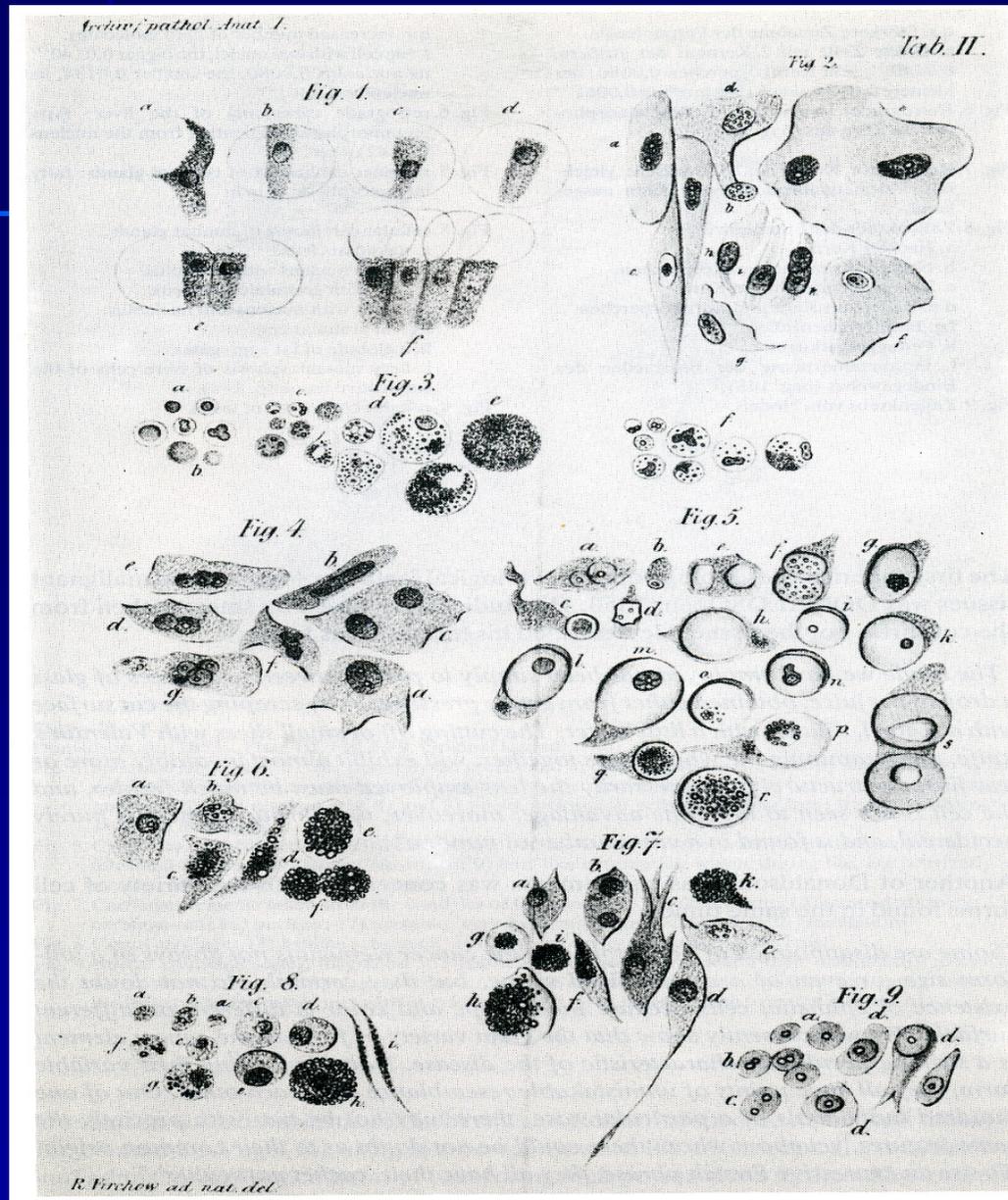


**Virchow** fu l'allievo di **Johannes Müller** che fu uno degli inventori del microscopio, rivoluzionò lo studio della manifestazioni delle malattie, ponendo grande attenzione sulla microscopia cellulare.

Le sue teorie patologiche si basano sull'origine delle cellule e fu il primo a scoprire le cellule giganti.



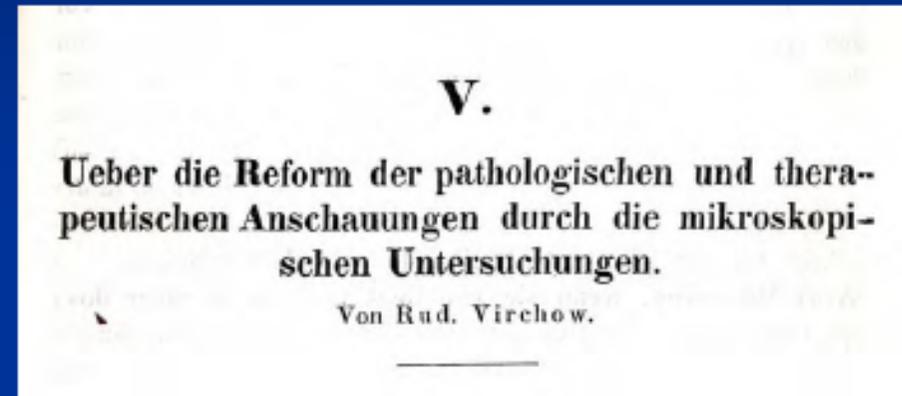
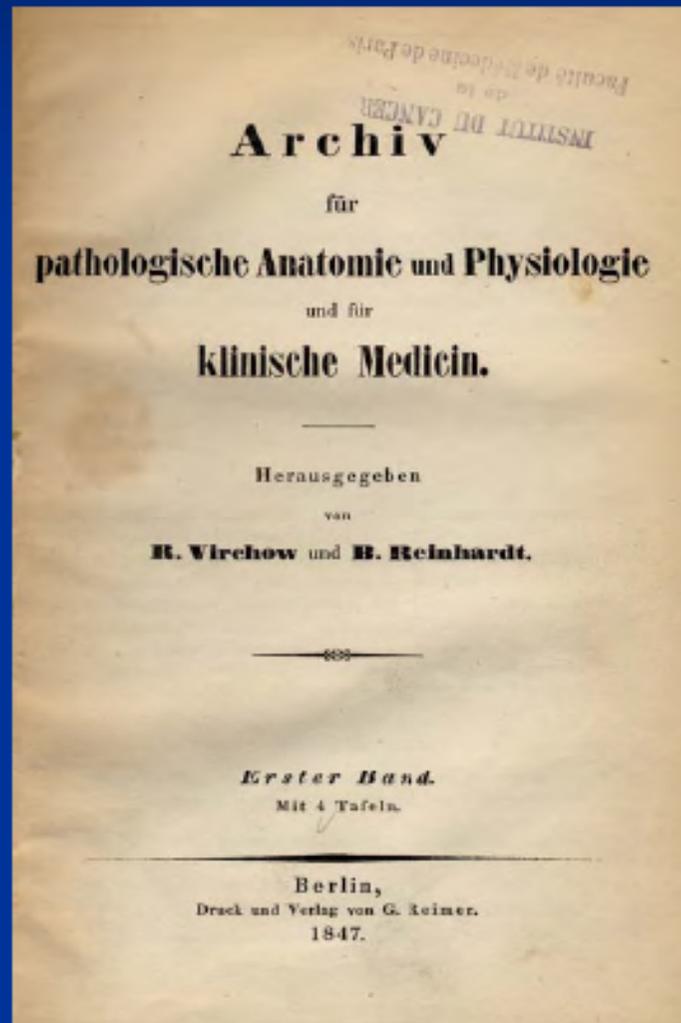
# Nascita dell'anatomia microscopica



■ Infatti, **Virchow**, da tutti oggi considerato il padre della microscopia in patologia, concluse che le modificazioni patologiche fondamentali erano riferibili ad alterazioni delle singole cellule che costituiscono i tessuti.

# Rudolf VIRCHOW (1821-1902)

fonde son journal à 26 ans !



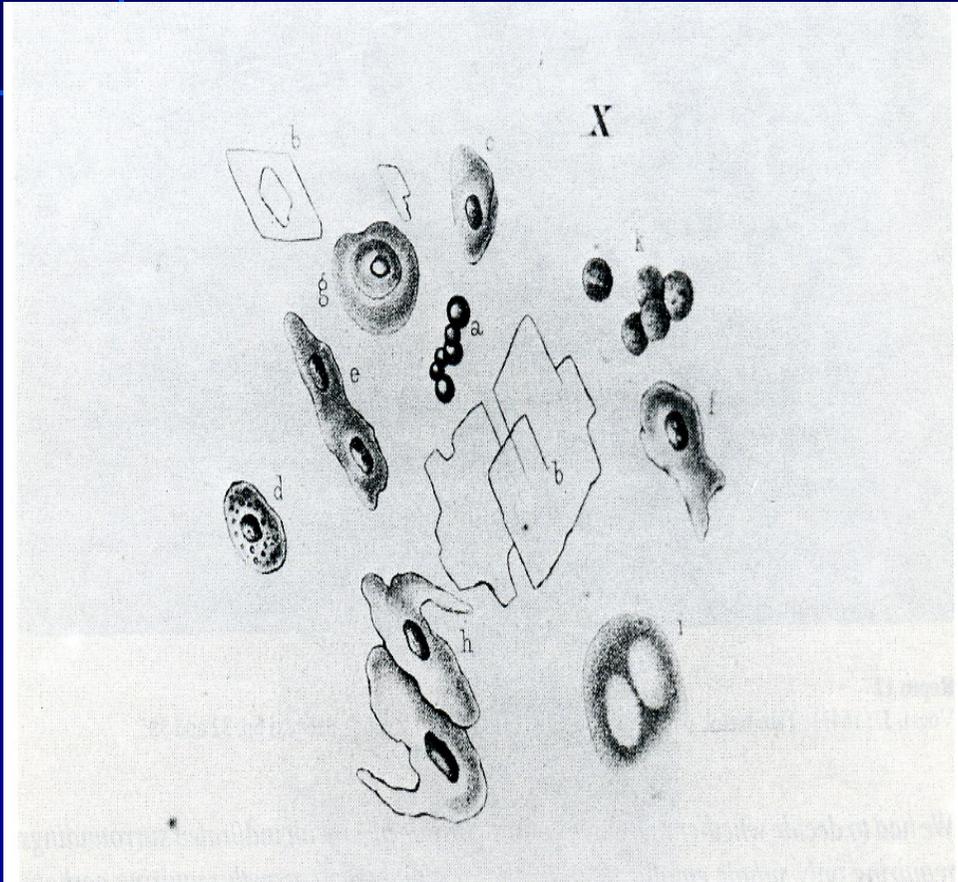
- A propos du changement induit par les recherches microscopiques dans les conceptions de la pathologie et de la thérapeutique  
*Virchow's Archiv (1847) Tome I, n° 2*

# Nascita dell'anatomia microscopica

- **Donaldson**, nel 1853, fu il primo patologo americano di rilievo, che descrisse le caratteristiche istologiche rilevanti nei tessuti benigni e in quelli maligni.



# Nascita dell'anatomia microscopica



- Nel 1843 **J. Vogel** introdusse lo studio della citologia esfoliativa.

# Nascita dell'anatomia microscopica

- Nel 1845 **A. Donnè** e **H. Lebert** ampliarono le conoscenze sulla citologia normale e su quella infiammatoria, in diversi fluidi e secreti umani.

# La cytologie pathologique

1913 : Description de cellules cancéreuses dans les crachats (**Bezançon & de Jong**), et dans les épanchements pleuraux (**Widal et Ravaut**)

1928 : Travaux de **Papanicolaou** sur le diagnostic du cancer du col de l'utérus par frottis vaginaux.

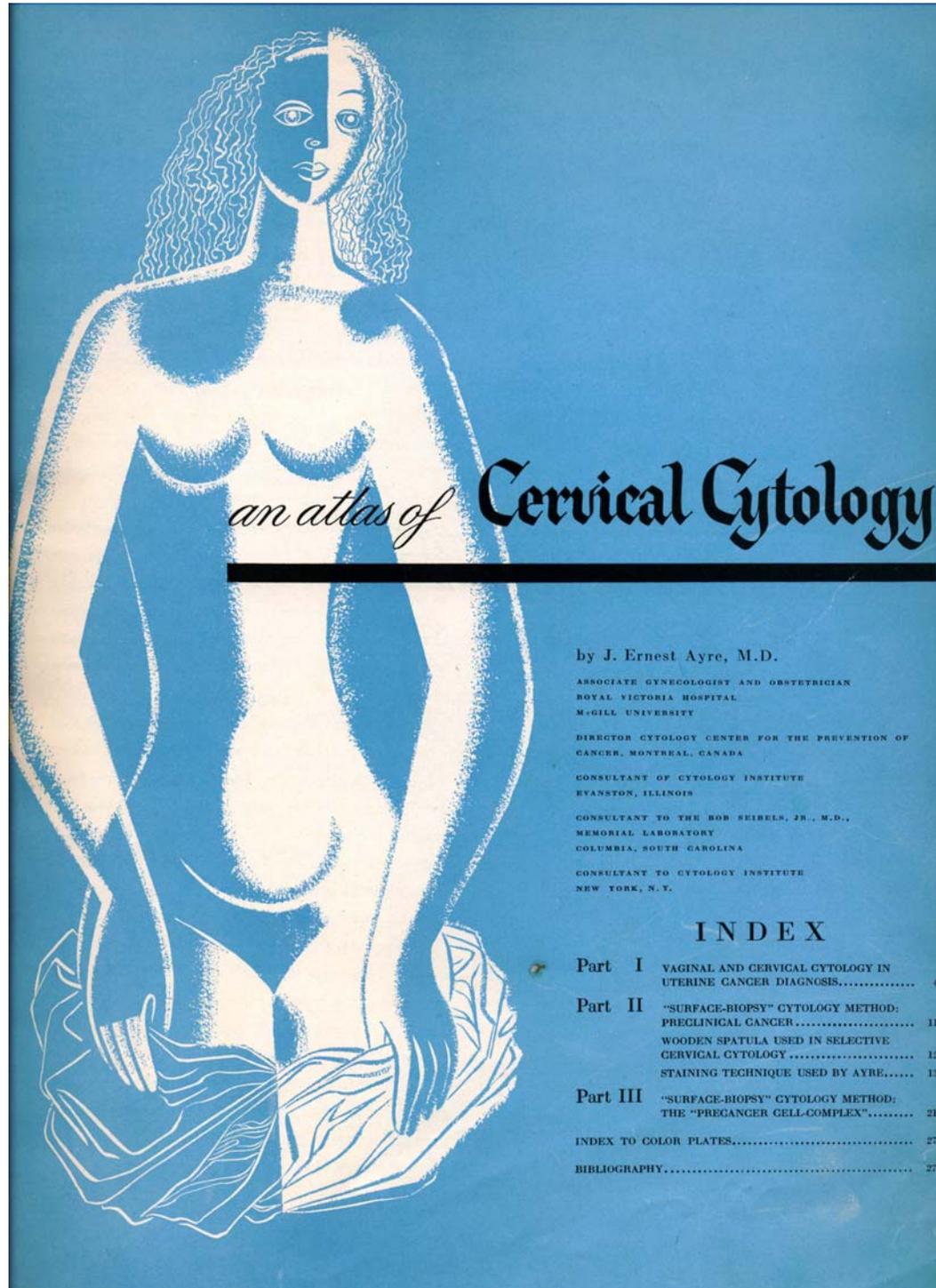
1948 : début des applications de la méthode en France

(**André Sicard** et Coll. dont **Colette MARSAN**, ici photographiée lors d'un exposé dans l'amphithéâtre Farabeuf)

1963 : Epreuve pratique de Cytologie cervico-vaginale au CES



- **Papanicolaou** (1933) e Ayre (1948) descrivono in strisci citologici cervico-vaginali delle cellule con alone chiaro perinucleare che chiamano con il termine di **Coilocita** dal greco.



*an atlas of* **Cervical Cytology**

by J. Ernest Ayre, M.D.

ASSOCIATE GYNECOLOGIST AND OBSTETRICIAN  
ROYAL VICTORIA HOSPITAL  
MCGILL UNIVERSITY

DIRECTOR CYTOLOGY CENTER FOR THE PREVENTION OF  
CANCER, MONTREAL, CANADA

CONSULTANT OF CYTOLOGY INSTITUTE  
EVANSTON, ILLINOIS

CONSULTANT TO THE BOB SEIBEL, JR., M.D.,  
MEMORIAL LABORATORY  
COLUMBIA, SOUTH CAROLINA

CONSULTANT TO CYTOLOGY INSTITUTE  
NEW YORK, N. Y.

**INDEX**

**Part I** VAGINAL AND CERVICAL CYTOLOGY IN  
UTERINE CANCER DIAGNOSIS..... 7

**Part II** "SURFACE-BIOPSY" CYTOLOGY METHOD:  
PRECLINICAL CANCER..... 11  
WOODEN SPATULA USED IN SELECTIVE  
CERVICAL CYTOLOGY..... 12  
STAINING TECHNIQUE USED BY AYRE..... 13

**Part III** "SURFACE-BIOPSY" CYTOLOGY METHOD:  
THE "PRECANCER CELL-COMPLEX"..... 21

INDEX TO COLOR PLATES..... 27

BIBLIOGRAPHY..... 27

PUBLISHED AS A SERVICE  
TO THE MEDICAL PROFESSION  
ABBOTT LABORATORIES EXPORT CORPORATION  
ATHENS BOMBAY BRUXELLES BULAWAYO CAIRO  
CHICAGO DUBLIN HONOLULU ISTANBUL JERUSALEM JOHANNESBURG  
LONDON MANILA STOCKHOLM SYDNEY WELLINGTON

*Reprinted from "What's New," July-August,  
September, October, 1948.*

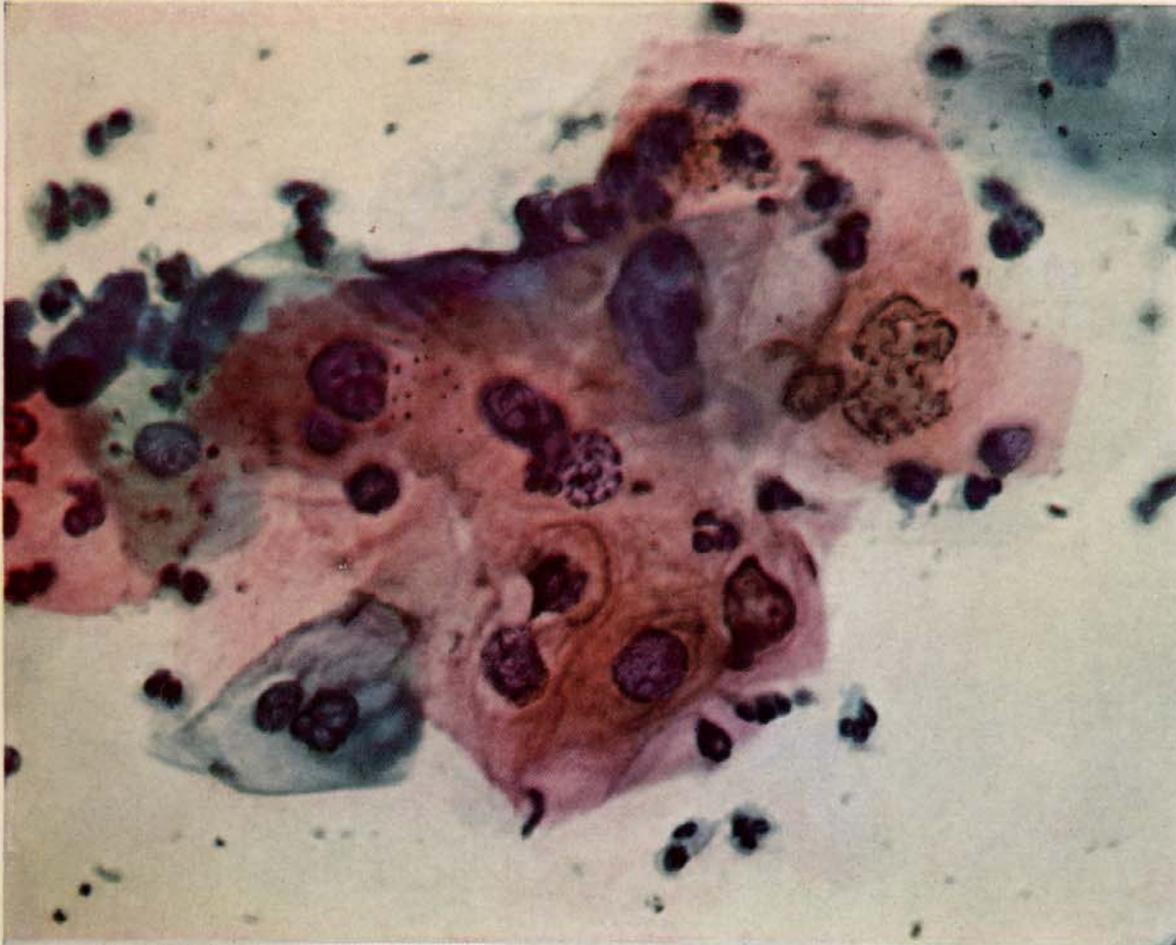


Plate 20.

**“PRECANCER CELL-COMPLEX”  
DOUBLE NUCLEI AND  
AMITOTIC DIVISION (?)**

“Surface-biopsy” cell-scraping showing cluster of cells whose nuclei show extremely unusual nuclear activity. The nuclei in all cells are abnormally large. Some show double nuclei, others show what appears to be amitotic division. This is the more remarkable as these cells are of surface or near-surface origin.

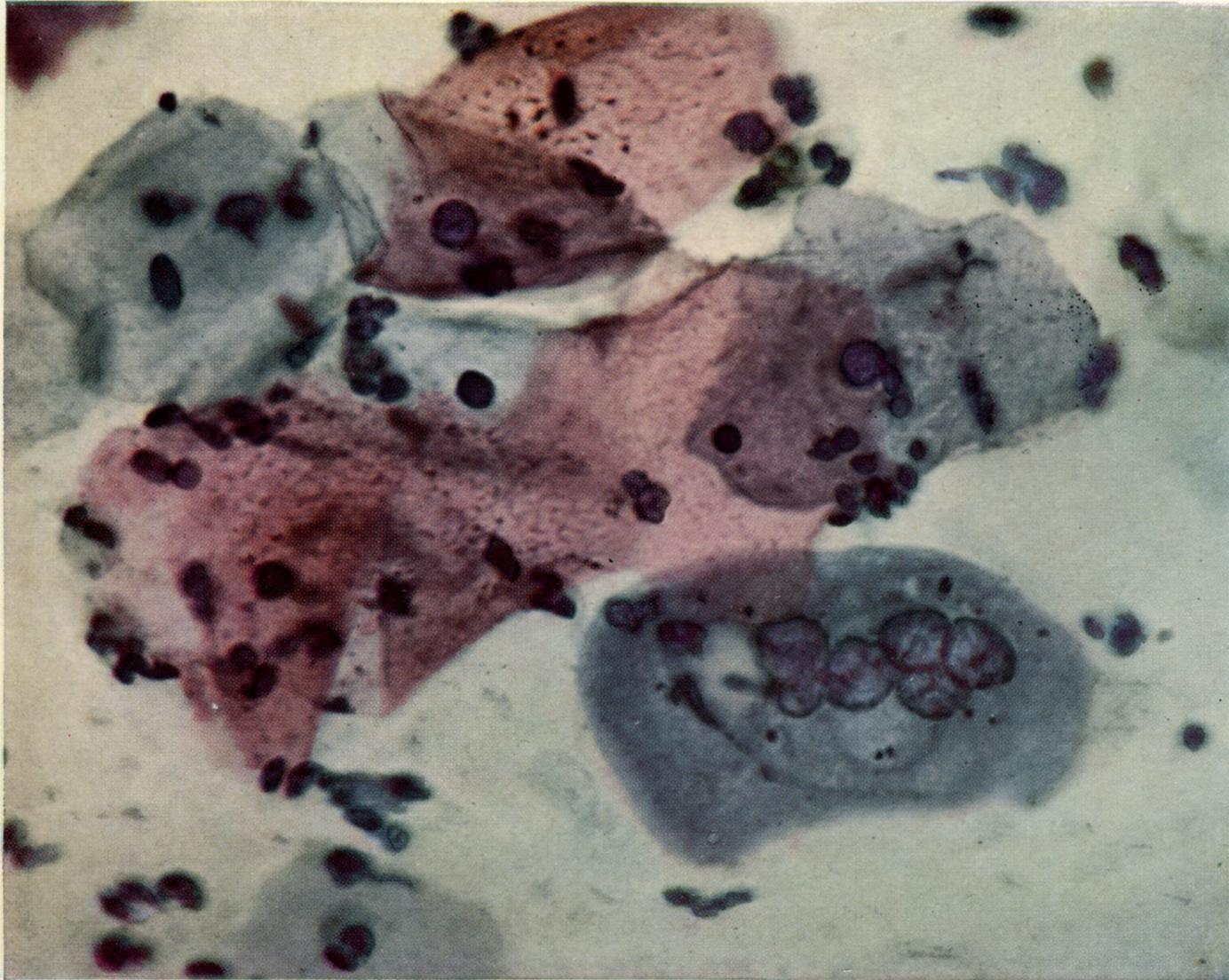


Plate 21.

**“PRECANCER  
CELL-COMPLEX” —  
MULTILOBULATION**

“Surface-biopsy” of cervix  
large basophilic cell exhibit  
multilobulation. Six separate  
appear in this cell scraped  
zone of squamous epithelium  
cornified and precornified  
normal morphology in cell

Plate 22.

**“PRECANCER CELL-COMPLEX”  
—PERINUCLEAR HALO**

“Surface-biopsy” of cells from squamo-columnar junction showing unusual squamous cells with perinuclear halo surrounding atypical nuclei which are of large, pyknotic, hourglass or double nuclear conformation. The halo is not specific to the precancer complex. It is also found in some cases of chronic inflammation and also in “full-blown” malignancies. In pure inflammation, it has rarely been found so prominent nor in association with the degree of nuclear atypicalness shown in these cells.

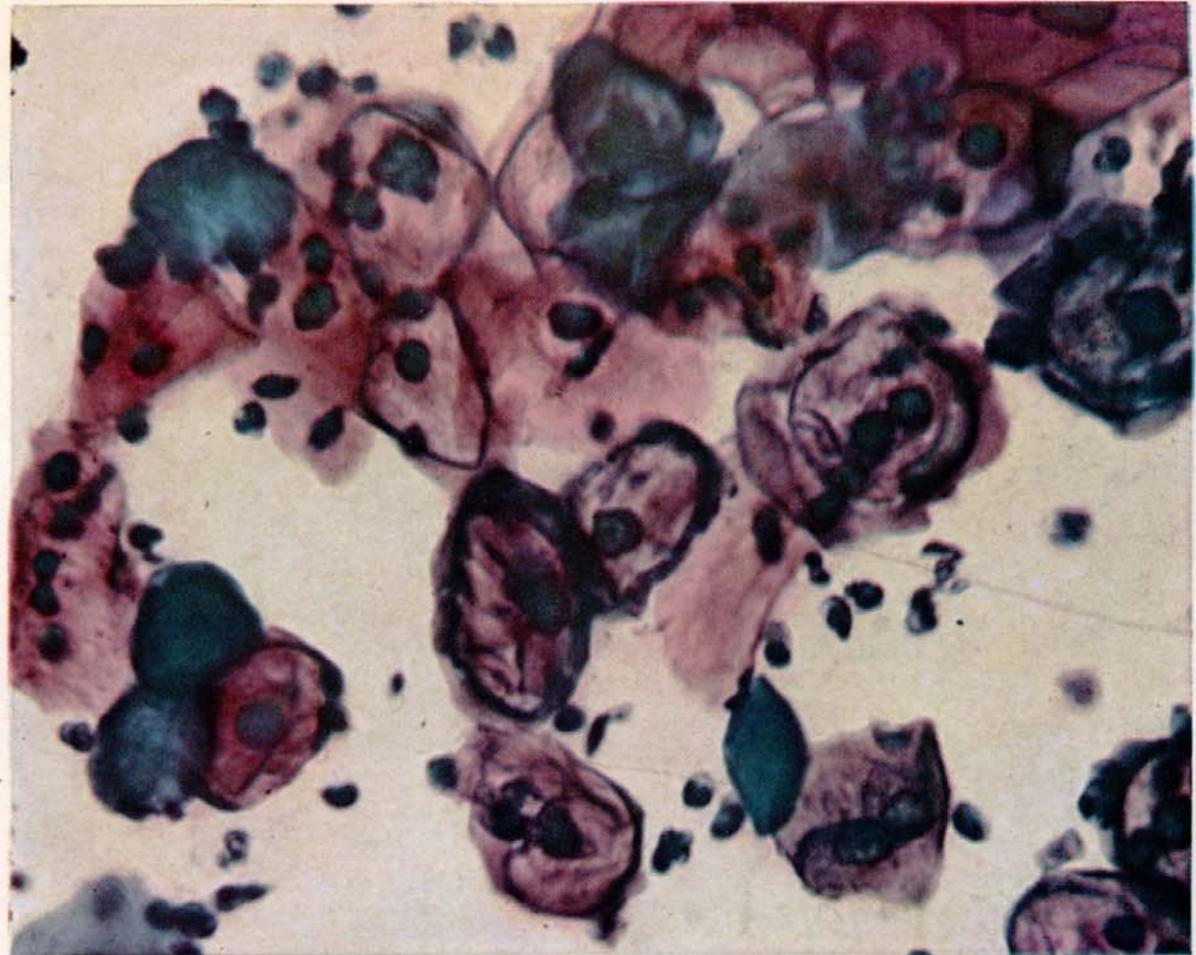
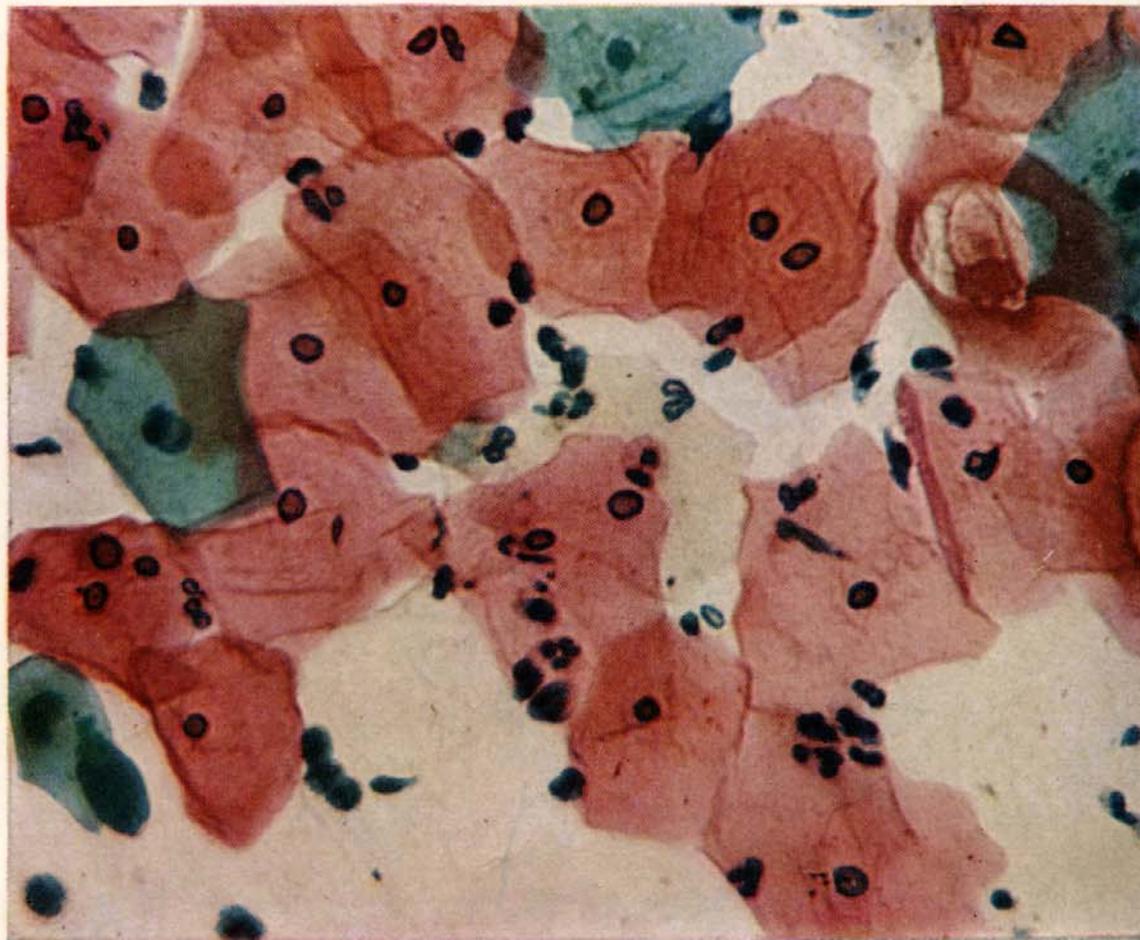
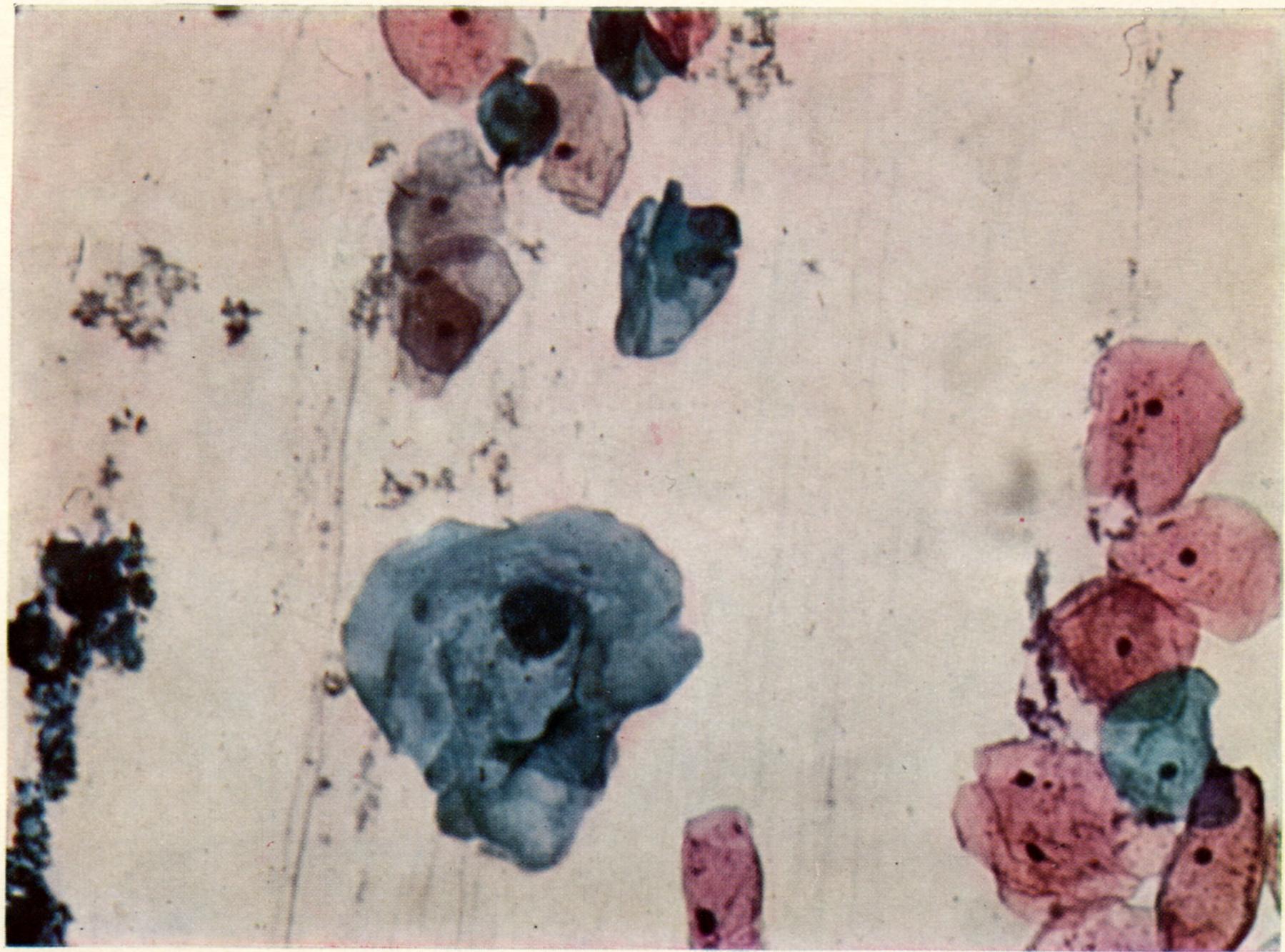


Plate 23.

**“PRECANCER CELL-COMPLEX” —  
ABNORMALLY HIGH CORNIFICATION**

“Surface-biopsy” of cervix from same case as Plate 22, showing abnormally high cornification. It perhaps is more correct to say persisting high cornification. The cornification in these cases is not always extremely high, but it usually is persistently high. Chronicity is undoubtedly an important factor. The perinuclear halo is also shown here, while other fields of the scrapings revealed atypical cells from the deeper layers.

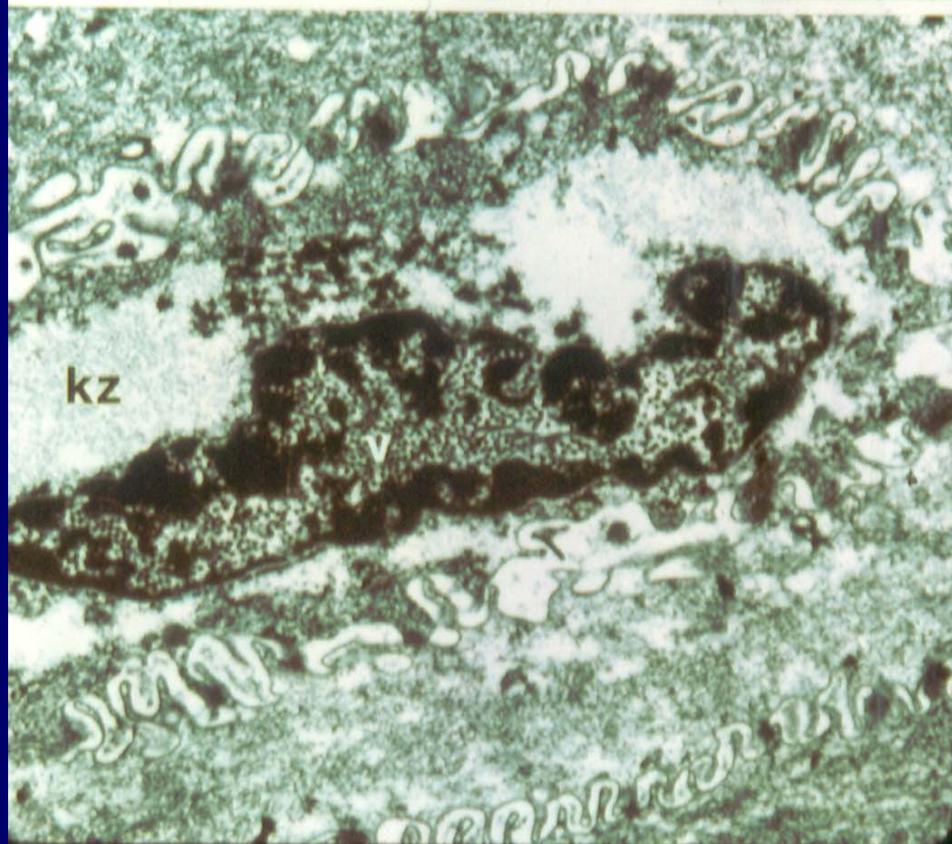
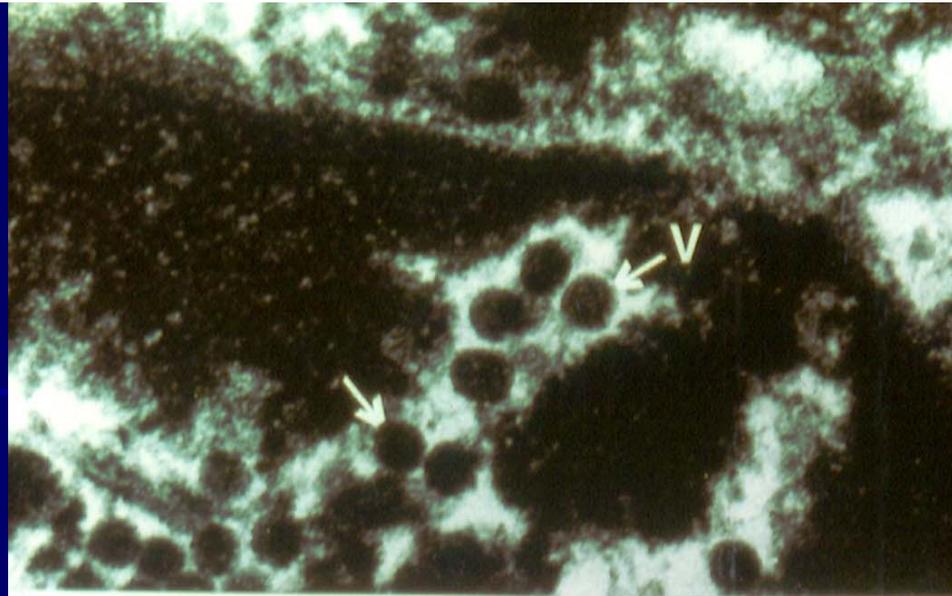


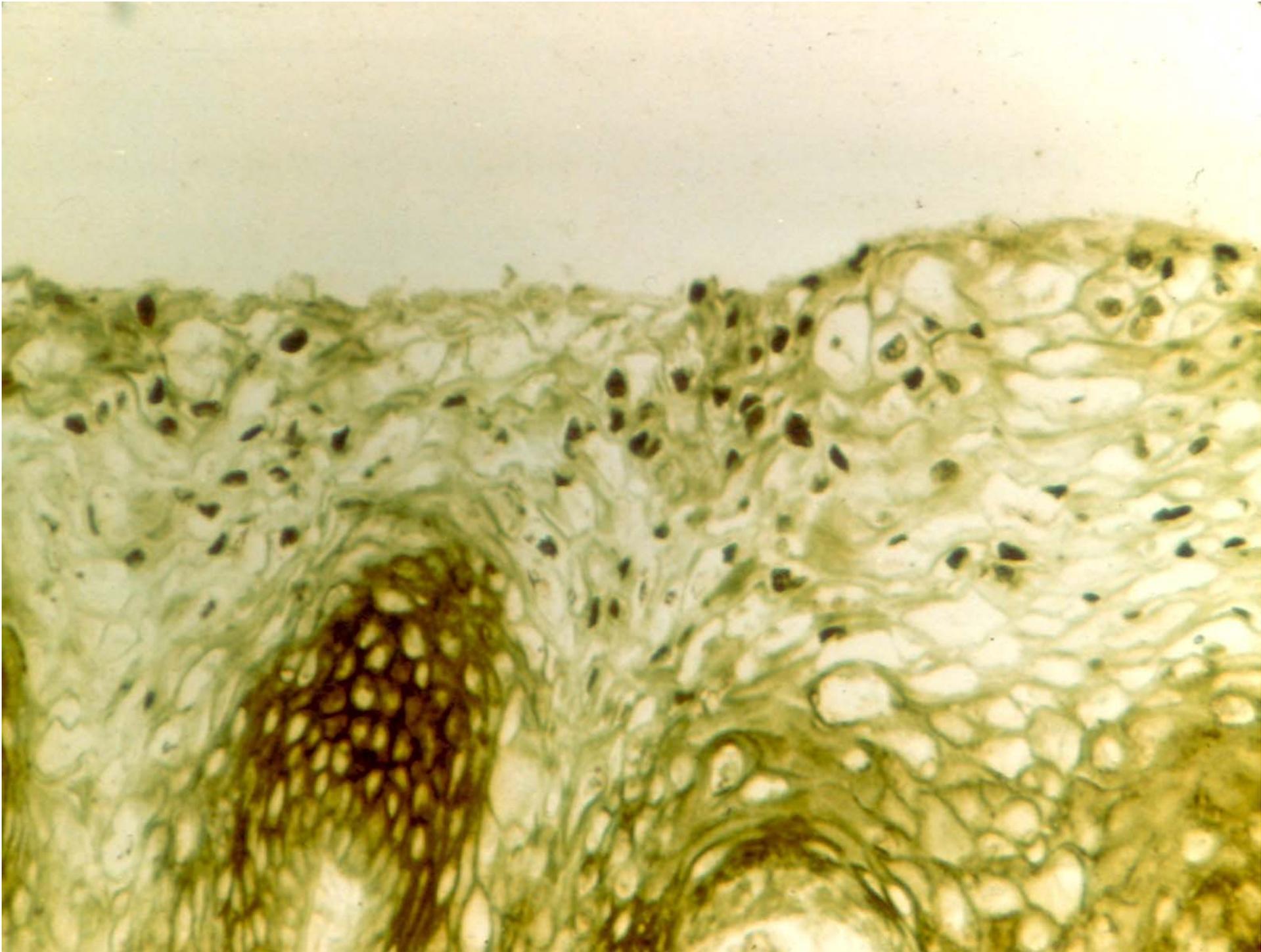


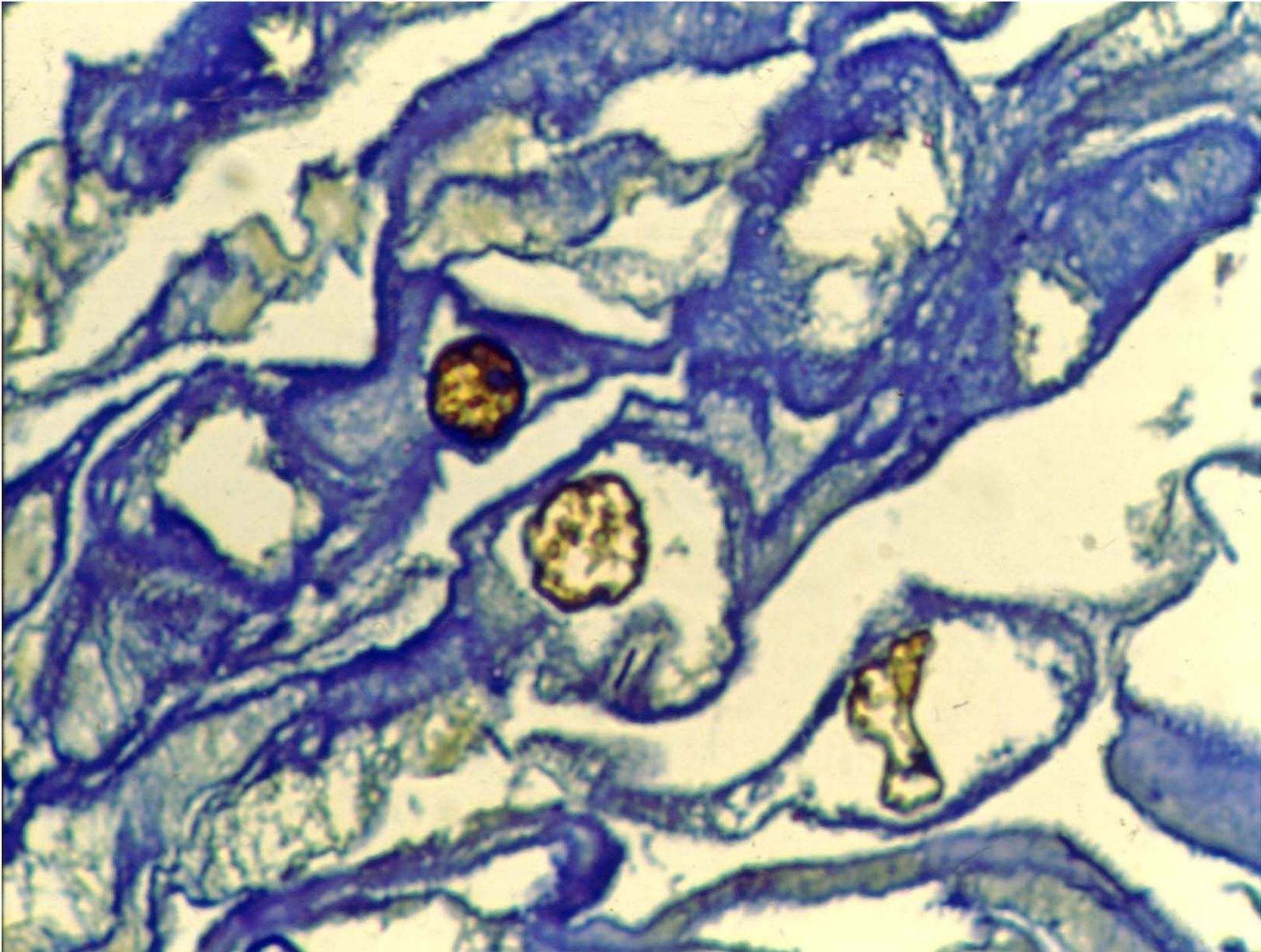
- Questi elementi considerati come precancerosi furono in seguito, solo nel 1960, correlati al condiloma da Papanicolaou.
- Purola e Savia (1977), Meisels e Fortin (1977) suggerirono poi che certe anomalie piane (condiloma piano) del collo dell'utero, una volta incluse nelle neoplasie intraepiteliali cervicali (CIN), sono l'equivalente del condiloma acuminato, ed identificarono l'atipia collocitotica come marker dell'infezione virale da HPV.
- Zur Hausen suggerì poi che l'Hpv fosse il maggior responsabile come virus oncogeno del tratto genitale.

Successivamente l'identificazione delle proteine virali permise la messa a punto di tecniche sierologiche per la ricerca degli anticorpi nell'uomo e di indagini immunoistochimiche volte alla identificazione di antigeni del papillomavirus nelle sezioni istologiche.

Le tecniche immunoistochimiche però permettono la identificazione delle lesioni solo quando l'HPV si trova in forma episomale, cioè quando le cellule epiteliali sono permissive.







# Nascita dell'anatomia microscopica

- Uno studente di Virchow, **Julius Cohnheim** (1839-1884), combinò in modo sperimentale le tecniche istologiche con la manipolazione sperimentale nello studio dei processi infiammatori, diventando uno dei più precoci patologi sperimentali.
- Inoltre, **introdusse la procedura delle sezioni congelate**, attualmente usata nelle tecniche con microtomo.

- Nella seconda metà dell'Ottocento, la patologia si divise in due grandi rami: **l'anatomia patologica**, che ha contribuito a livelli sempre più fini e perfezionati di studio delle lesioni dell'organismo umano, e la **patologia sperimentale**, i cui scopi sono lo studio delle cause e dei meccanismi di malattia, mediante indagini sull'uomo malato ed esperimenti sugli animali, mediante l'apporto di altre scienze, quali la biologia, la fisiologia e la chimica biologica.

# Roger LEROUX (1892-1901)

Professeur de 1938 à 1951

Auteur avec G. Roussy d'un manuel de travaux pratiques

Virtuose de l'examen extemporané qu'il dut par force généraliser pendant la seconde guerre mondiale faute de solvants et de paraffine !



# 1924 Les Annales d'Anatomie Pathologique Médico-chirurgicale

(actuellement Annales de Pathologie) remplacent les Bulletins et mémoires de la Société Anatomique

Fondées par Pierre Masson et Gustave Roussy, sans M. Letulle, avec 3 chirurgiens et un chercheur, A. Policard

Le secrétariat de rédaction est assuré par un chirurgien et un anatomopathologiste, Lucien Cornil qui sera Professeur à Marseille.

## ANNALES D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE MÉDICO - CHIRURGICALE

PUBLIÉES PAR

B. CUNÉO — R. GRÉGOIRE  
P. LECÈNE — P. MASSON  
A. POLICARD — G. ROUSSY

*Secrétaires de la Rédaction:*

LUCIEN CORNIL  
P. MOULONGUET

Tome I — 1924

# Nascita dell'anatomia microscopica

- Nel corso del **XX** secolo l'anatomia microscopica conobbe un ulteriore, importante sviluppo grazie all'introduzione di microscopi dotati di una risoluzione e di un ingrandimento molto superiori a quelli fino ad allora impiegati e, pertanto, in grado di rivelare dettagli prima poco chiari o invisibili.

# Nascita dell'anatomia microscopica

- I microscopi si dividono principalmente, a seconda della sorgente adoperata per l'illuminazione del campione, in **microscopi ottici**, **microscopi elettronici**, microscopi di altro tipo:

# Nascita dell'anatomia microscopica

- Il **microscopio ottico** utilizza come sorgente la luce (intesa in senso generale come radiazione elettromagnetica dal vicino infrarosso all'ultravioletto, anche se i microscopi più diffusi utilizzano proprio la radiazione visibile), ha risoluzione tipicamente minore rispetto al microscopio elettronico, ma è generalmente economico e fornisce immagini a colori anche di organismi viventi. Con il microscopio ottico si possono ad esempio distinguere i batteri.



Microscopio semplice di Antoni van Leeuwenhoek (metà del **XVII secolo**).



Modello di microscopio composto di John Cuff del **1744**, con accessori.



Microscopio del **1751**.

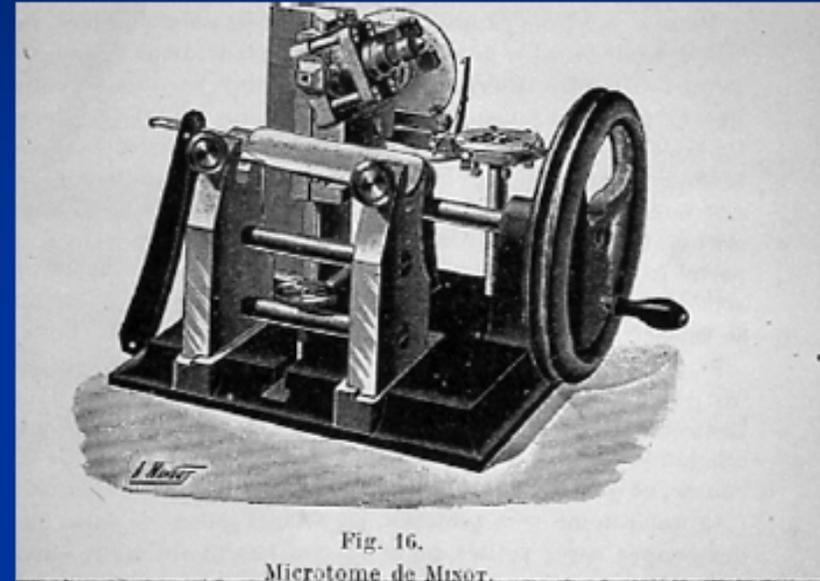


Microscopio Zeiss del **1879**.



Modello di microscopio del **1913**.

# Les progrès techniques des années 1880





Microscopio degli anni intorno al **1920**.



Microscopio Reicher degli **anni '50**.

# Nascita dell'anatomia microscopica

- Il **microscopio elettronico** utilizza come sorgente un fascio di elettroni di un certo potenziale, ha risoluzione molto maggiore di quello ottico e permette di rilevare, oltre all'immagine, anche numerose altre proprietà fisiche del campione, ma è molto complesso e costoso, deve funzionare in assenza d'aria, inoltre non fornisce immagini in vivo. Le immagini, ottenute al di fuori del campo del visibile, possono essere in bianco e nero o a *falsi colori*. Permette con i maggiori ingrandimenti di distinguere gli atomi.

# Nascita dell'anatomia microscopica

- Altri tipi di microscopi sfruttano diverse frequenze elettromagnetiche, le onde acustiche, ed altri fenomeni fisici come l'effetto tunnel e le forze di Van der Waals.

# Nascita dell'anatomia microscopica

- L'invenzione del **microscopio elettronico**, che rispetto al microscopio ottico raggiunge un potere di risoluzione e livelli d'ingrandimento enormemente superiori, ha consentito di esplorare strutture subcellulari prima intoccabili dall'indagine anatomica.

# Microscopio ottico moderno



Microscopio elettronico



# Nascita dell'anatomia microscopica

- Altri microscopi moderni, come il microscopio a contrasto di fase e il microscopio interferenziale, hanno permesso di osservare materiali viventi privi di colorazione artificiale, i quali sarebbero risultati invisibili al microscopio convenzionale.

# La patologia molecolare

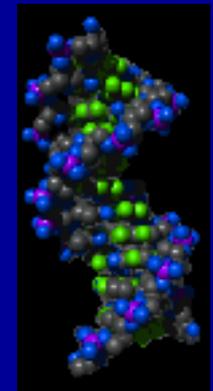
- Il termine biologia molecolare risale al **1938**, coniato da Warren Weaver, direttore della fondazione Rockefeller, che credeva in uno sviluppo della biologia a livello molecolare, grazie ad avanzamenti significativi di discipline quali la cristallografia a raggi X.

# La patologia molecolare

- Alcuni esperimenti negli anni '30 e '40 fornirono le basi su cui la disciplina sarebbe poi nata: nel **1935** si collegò per la prima volta l'ereditarietà ai cromosomi.
- Il trasferimento di tratti somatici tra ceppi batteri fu correlato al DNA nel **1943** nell'esperimento di Avery .
- Infine nell'esperimento di Hershey-Chase del **1953** fu dimostrato che il DNA è il materiale genetico.

# La patologia molecolare

- La nascita della biologia molecolare si può però far risalire alla scoperta della struttura del DNA da parte di James **Watson** e Francis **Crick**.
- L'esperimento Meselson-Stahl nel **1958** dimostrò il meccanismo di replicazione del DNA. Poco dopo il codice genetico fu decodificato dal gruppo di Crick.



# La patologia molecolare

- **1953** Watson e Crick propongono la struttura a doppia elica del DNA
- **1956-1960** Perutz determina la struttura tridimensionale dell'emoglobina
- **1958-1960** Kendrew determina la struttura tridimensionale della mioglobina

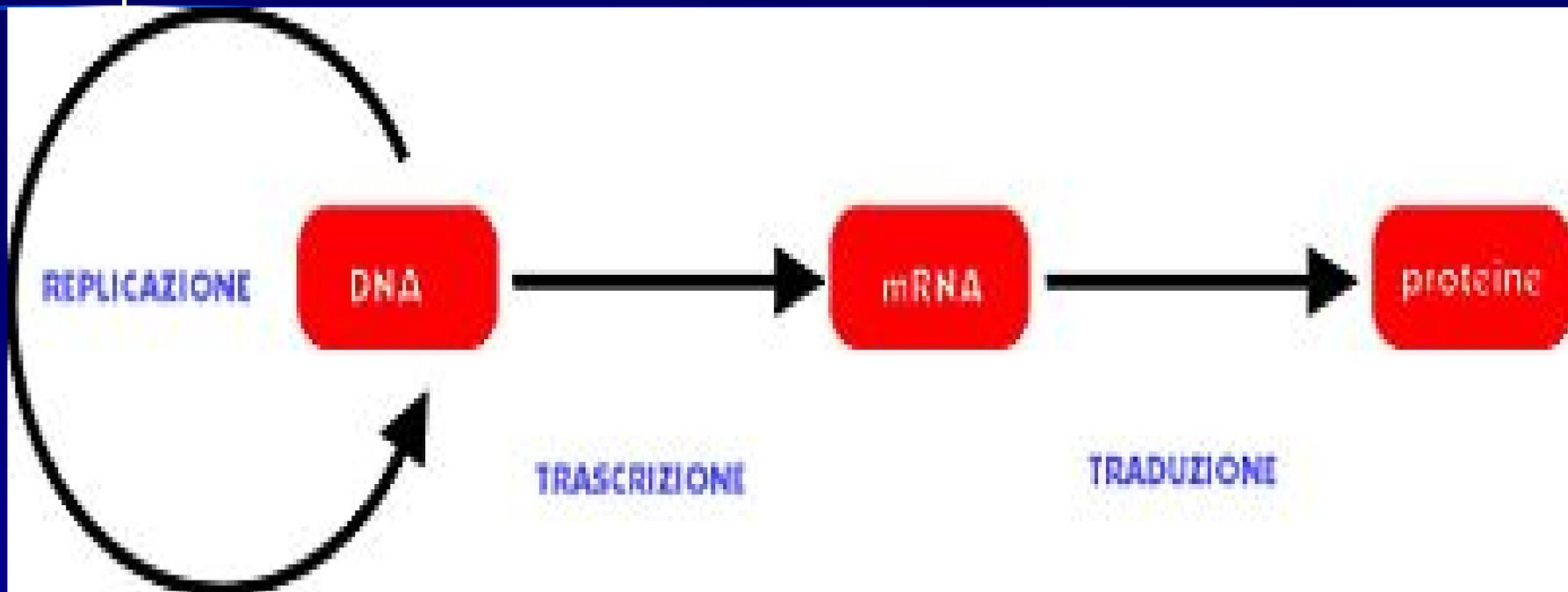
# La patologia molecolare

- Nel **1959** il programma politico-culturale lanciato venti anni prima dalla Rockefeller Foundation giungeva ad un punto fermo, vitale per la costruzione di una comunità scientifica riconosciuta. I biologi molecolari si dettero un organo di stampa proprio, il *Journal of Molecular Biology*.

# La patologia molecolare

- Sin dai primi anni **1960**, i biologi molecolari hanno scoperto come caratterizzare, isolare e manipolare le componenti molecolari delle cellule e degli organismi. Tra queste componenti citiamo il DNA, il depositario dell'informazione genetica; l'RNA, che funge da copia temporanea operativa di DNA e può svolgere funzione strutturale e catalitica nell'apparato deputato alla traduzione; le proteine, che ricoprono ruoli strutturali ed enzimatici nelle cellule.

# La patologia molecolare

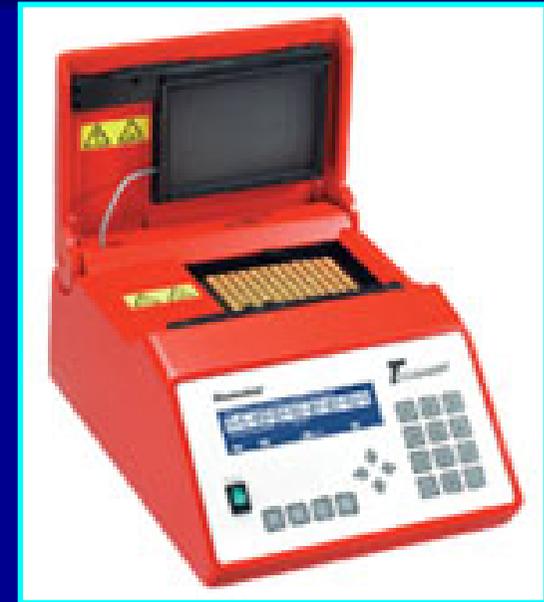


Rappresentazione grafica del dogma centrale della biologia molecolare

# La patologia molecolare

- **Reazione a catena della polimerasi (*Polymerase chain reaction* PCR)**

La reazione a catena della polimerasi o PCR è una tecnica estremamente versatile per copiare il DNA. In breve, la PCR consente la copia o l'alterazione in un modo predeterminato (milioni di volte) di una sequenza di DNA singola.

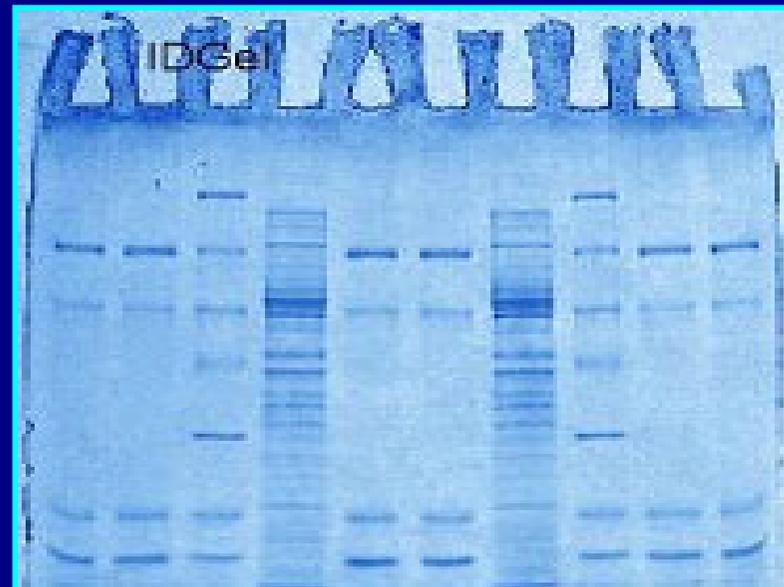
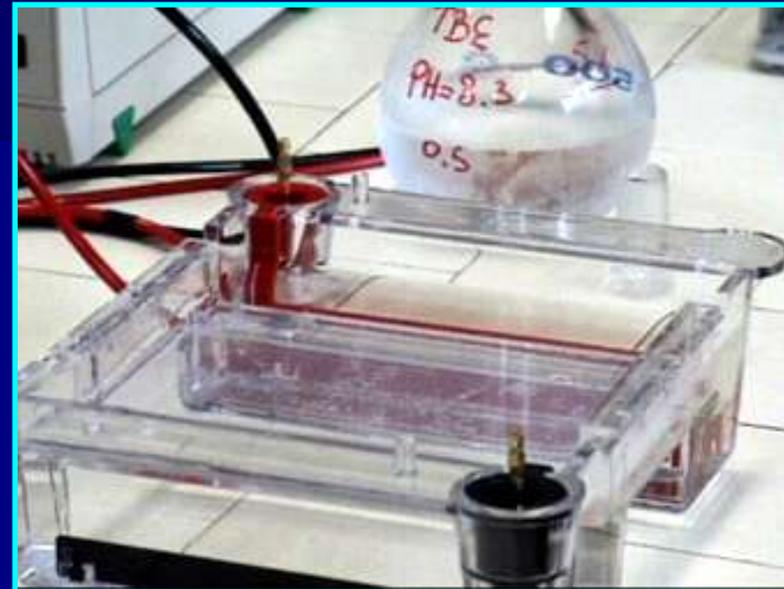


# La patologia molecolare

## ■ Elettroforesi su gel

L'elettroforesi su gel è una delle metodologie principali della biologia molecolare.

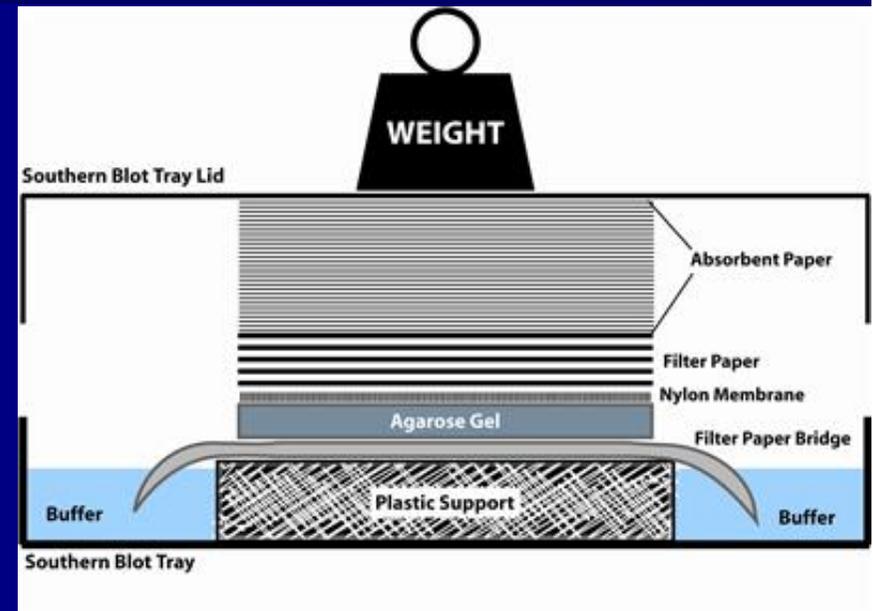
Il principio base sta nella possibilità di separare DNA, RNA e proteine sfruttando un campo elettrico.



# La patologia molecolare

## Southern blot

- Questo metodo serve a sondare la presenza di specifiche sequenze di DNA in un campione di DNA: i campioni, prima e dopo una digestione con enzimi di restrizione sono separati tramite elettroforesi su gel e dunque trasferiti su una membrana sfruttando la capillarità. La membrana può dunque essere indagata usando una sonda di DNA marcata complementare alla sequenza di interesse. Il Southern blot è una tecnica ora meno usata.



# La patologia molecolare

## Northern blot

- Il Northern blot è usato per studiare l'espressione di specifiche molecole di RNA da specifici campioni in comparazioni relative. Sostanzialmente è una combinazione di elettroforesi su gel di RNA denaturato e di un blotting.

## Western blot

- Sono stati sintetizzati anticorpi contro molte proteine iniettando una piccola quantità della proteina in un animale quale topo, coniglio, pecora o asino (anticorpi policlonali). Questi anticorpi possono essere usati per diverse tecniche analitiche o preparative.

# La cattedra di Anatomia Patologica dell'Università di Modena

- L'insegnamento dell'Anatomia Patologica ha un profilo storico e un progresso evolutivo, indicanti un'alta tradizione didattica e scientifica, iniziata nel 1860 da *Eugenio Giovanardi*, continuata e completata nel volgere degli anni dai suoi successori.

# La cattedra di Anatomia Patologica dell'Università di Modena

- Con decreto dell'8 febbraio 1860, a firma dell'allora Dittatore Carlo Farini e del Ministro di Grazia, Giustizia e Culti, venne istituita presso l'Università di Modena la cattedra di Anatomia Patologica.

# La cattedra di Anatomia Patologica dell'Università di Modena

- Con questi atti ufficiali inizia così il cammino della Anatomia patologica Modenese, il cui insegnamento assume finalmente autonomia.
- Fino a quell'epoca, infatti, l'insegnamento dell'Anatomia Patologica, comprendente anche quello della Patologia Generale, era distribuito fra la Anatomia Generale e la Patologia.

# La cattedra di Anatomia Patologica dell'Università di Modena

- Inoltre, fino al 1860, non esistendo l'insegnamento dell'Anatomia patologica, funzionava tuttavia una specie di "*settorato*", le cui mansioni erano espletate dal dott. Severi, denominato "*Dissettore anatomico per le Scuole Cliniche*".

# La cattedra di Anatomia Patologica dell'Università di Modena

- Con l'anno accademico 1860-61 inizia l'attività ufficiale vera e propria dell'insegnamento dell'Anatomia Patologica, il cui primo programma comprendeva: *" delle alterazioni che subiscono i liquidi animali, dei neoplasmi di natura omologa, dei caratteri microscopici delle neoformazioni benigne e maligne "*.

# La cattedra di Anatomia Patologica dell'Università di Modena

- Già nei primi anni di vita il Gabinetto di anatomia patologica fu particolarmente fiorente con *"non meno di 500 sono le preparazioni di anatomia patologica: materiali alterazioni del cuore, delle sue valvole e orifizi. Aneurismi, tutta la serie delle neoplasie dalle più omeomorfe e benigne alle più eteromorfe o maligne"*.

# La cattedra di Anatomia Patologica dell'Università di Modena

- Nel maggio 1862 iniziò la costruzione del fabbricato che verrà adibito ad Istituto di Anatomia ed Istologia Patologica, che salvo alcuni lavori nel 1935-36, rimase tale fino al 1955.
- Nel 1899 l'insegnamento dell'Anatomia patologica venne staccato da quello della patologia generale, assumendo completa autonomia.

# La cattedra di Anatomia Patologica dell'Università di Modena



# La cattedra di Anatomia Patologica dell'Università di Modena

- L'attività scientifica e diagnostica dell'istituto è stata ed è ancor oggi veramente notevole e polimorfa.



I due busti in terracotta verniciata a tipo bronzo esistenti nell'atrio esterno dell'Istituto raffiguranti G. B. Morgagni e A. Scarpa.

# La cattedra di Anatomia Patologica dell'Università di Modena

## ■ Cronologicamente i direttori dell'Istituto furono:

EUGENIO GIOVANARDI 1860/61-1874-75

PIO FOA' 1875-76/1883-84

LUIGI GRIFFINI 1884-85/1888-89

GIOVANNI MARTINOTTI 1889-90/1890-91

GIULIO VASSALE 1891-92/1897-98

TITO CARBONE 1898-99/1902-03

ANTONIO DIONISI 1903-04/1909-10

GIULIO TAROZZI 1910-11/1928-29

ETTORE RAVENNA 1929-30/1937-38

GIOVANNI ZANETTI 1938-39

GIOVANNINO DE GAETANI 1939-40/1959-60

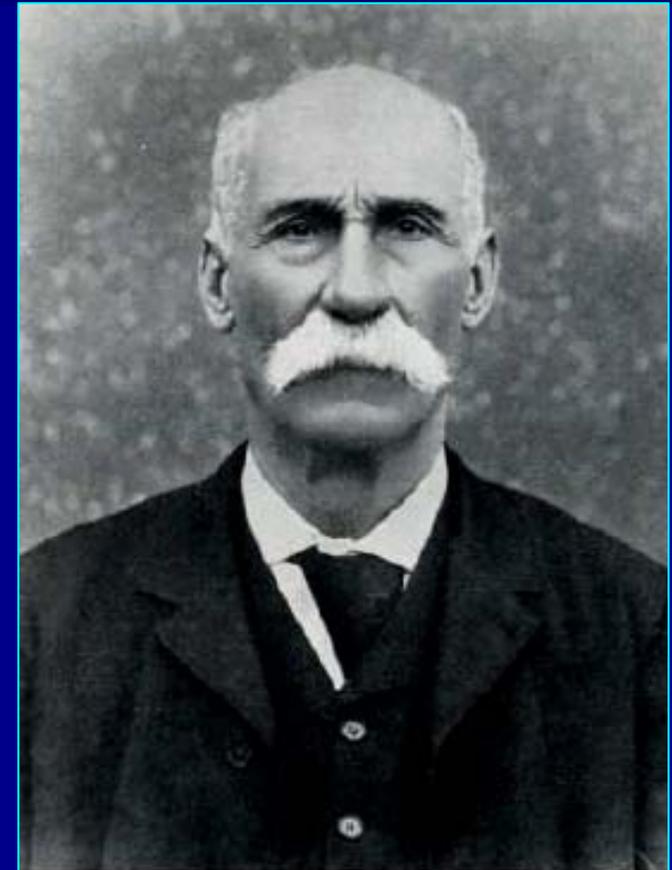
RAFFAELE STIGLIANI 1960-61

SALVATORE BATTAGLIA 1962-1981

GIAMPAOLO TRENTINI 1982-2005

## ■ EUGENIO GIOVANARDI 1860/61-1874-75

EUGENIO GIOVANARDI fu il fondatore del Gabinetto di Anatomia Patologica dell'Ateneo Modenese. Si laureò a Modena nel 1846.  
Nel 1860 venne chiamato alla cattedra di Anatomia Patologica. In 15 anni di attività come anatomo-patologo si impegnò per dare una sede dignitosa alla struttura di anatomia patologica.



**PIO FOA'** (1848-1923). Nato a Sabbioneta (Mantova) e laureatosi a Pavia nel 1872, iniziò la carriera all'Istituto di Patologia di Strasburgo, diretto da

Von Recklinghausen. Fu uno dei primi ad occuparsi dell'Anatomia Patologica della morte per scottature. Studiò la fisiopatologia della milza, l'atrofia del miocardio, sifilide cerebrale ed il morbo di Addison.

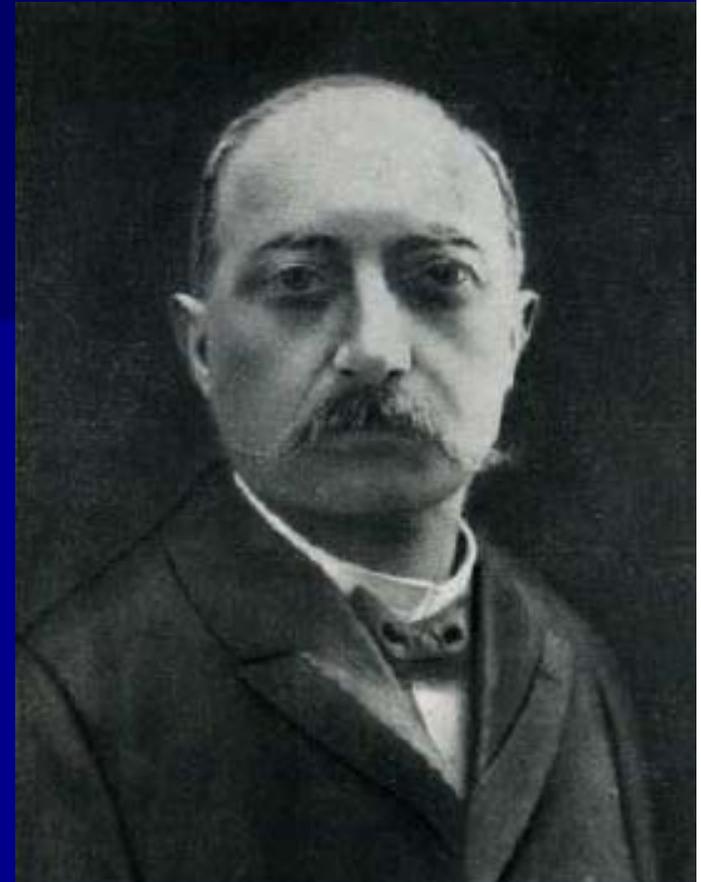


LUIGI GRIFFINI iniziò la sua carriera come allievo di Giulio Bizzozzero di Torino. L'attività scientifica Modenese fu rivolta alla riproduzione e rigenerazione di vari organi quali testicolo, milza midollo spinale ed organi gustativi.



**GIOVANNI MARTINOTTI (1857-1928).** Nato a Villanova di Casale Monferrato e laureatosi a Torino nel 1880, iniziò gli

Passò un breve periodo a Modena, ma l'attività scientifica fu notevole in quanto intraprese importanti lavori sperimentali sull'infezione da carbonchio e sui bacilli del tifo nelle acque.



**GIULIO VASSALE (1862 - 1913).**  
Nato a Lerici Bagnola e laureatosi a Torino nel 1887, fu allievo di Bizzozzero e di Griffini.

L'attività scientifica fu rivolta alle secrezioni interne sino ad allora ignorate o quasi sulla fisiopatologia delle ghiandole a secrezione interna. Pubblicò a tale riguardo una monografia nel 1914.



**TITO CARBONE (1863-1904).** Nato a Carbonara Scrivia nel Tortonese, si laureò a Torino nel 1886 e si rese benemerito della salute pubblica curando i colerosi a Tortona.

Compì importanti studi sulla gotta, si occupò dello studio del mughetto sulla tubercolosi della milza ed alcune epatopatie: cirrosi tubercolare ed atrofia giallo acuta. Morì giovanissimo contraendo in laboratorio infezione melitense.





*« A ricordo di Tito Carbone / Professore ammirato e diletto / in questa scuola di Anatomia Patologica / dal 1898 al 1903 / vissuto per la sua scienza / morto per essa / sereno e giovane / quasi martire / Settembre 1909 ».*

**ANTONIO DIONISI (1866-1931).** Nato a Pietracamela (Teramo) e laureatosi a Roma nel 1890, iniziò la carriera universitaria come assistente di A. Lustig a Firenze, poi di E. Marchiafava a Roma; ottenne per concorso nel 1904 la cattedra di

Anatomia Patologica di Modena.

Studiò nella sua attività scientifica modenese in particolare la malaria nei pipistrelli ed il fegato luetico.



**GIULIO TAROZZI (1868-1948). Nato a Torino e laureatosi a Torino nel 1892,**

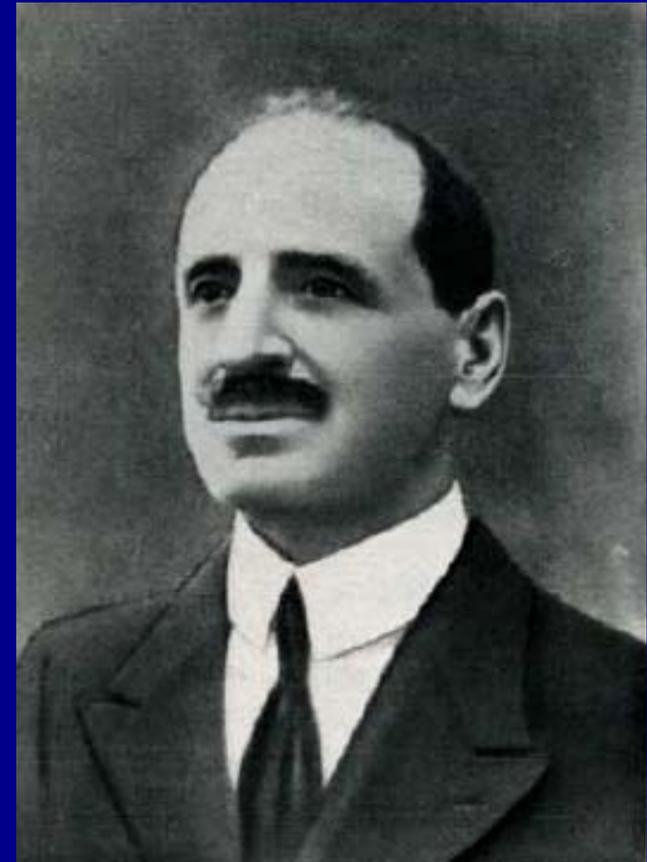
Venne chiamato a Modena nel 1910 ove rimase per 18 anni. Sotto la sua direzione il Gabinetto di Anatomia Patologica assurse alla dignità di "Istituto".

La produzione scientifica modenese è caratterizzata da contributi di interesse teratologico e micologico e di lavori sulle encefaliti in particolare quella letargica.



**ETTORE RAVENNA (1876 - .....). Nativo di Ferrara e laureatosi a Padova nel 1900.**

Nei 10 anni trascorsi a Modena fece ricerche sulla tubercolosi umane sperimentale, sull'amiloidosi, sulla tubercolosi, sui tumori vascolari sull'endocarditi batteriche da anaerobi sui tumori renali



**GIOVANNINO DE GAETANI (1903-1960).** Nato a Catania e laureatosi nella città natale nel 1927, frequentò l'Istituto di Fisiologia diretto da Antonio Clementi, poi quello di Pavia di Patologia Chirurgica diretto da Gaetano Fichera

Pronunciò il discorso inaugurale per l'a.a. 1949 su il mesenchima nella genesi dei tumori. Sotto la sua Direzione, l'Istituto venne allargato con la sopra elevazione di un piano che accolse una importante e molto fornita biblioteca.





I numerosi allievi che hanno affrontato con lui lo studio di Anatomia Patologica sono sufficienti a testimoniare l'affetto e l'ammirazione verso un uomo dotato di capacità eccezionali e di una genialità fuori del comune. (Spigolon 1961).

La attività scientifica della sua Scuola è imponente comprendendo circa 600 pubblicazioni in tutti i campi dell'Anatomia Patologica e della Patologia Sperimentale.

GIOVANNI SPIGOLON

**PER IL CENTENARIO  
DELLA CATTEDRA DI ANATOMIA PATOLOGICA  
DELL' UNIVERSITA' DI MODENA**

( NOTIZIE STORICHE )

Estratto dal " Bollettino della Società Medico - Chirurgica di Modena  
Volume LXI - N. 3 - 1961

Organo della Facoltà Medica dell' Università di Modena

Stabilimento Tipografico P. Toschi e C. - Modena

Giovannino De Gaetani fondò nel 1957  
la rivista: Archivio Italiano di Patologia e  
Clinica dei Tumori.  
Attivò la Scuola di Specializzazione in  
Oncologia.

- Al Prof De Gaetani è succeduto il Prof. Raffaele Stigliani della Scuola Anatomico Patologica Fiorentina, già direttore dell'Istituto di Anatomia Patologica dell'Università di Bahia (Brasile).



Ottobre 1972



Ottobre 1980



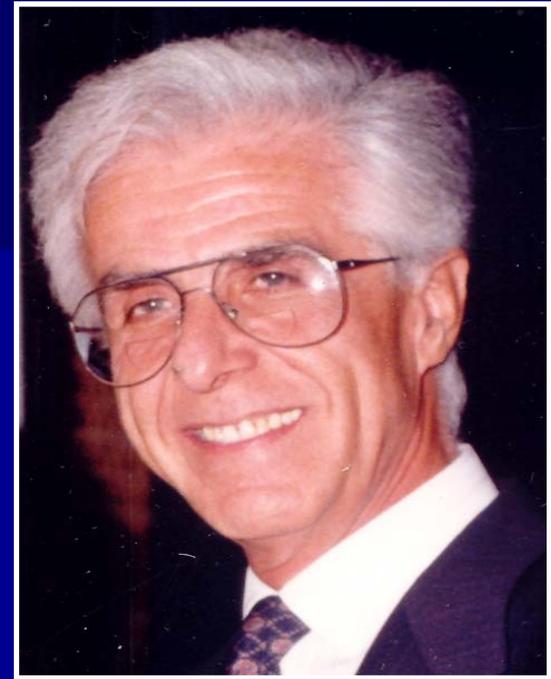
Ottobre 1982



Febbraio 2006



- Negli anni '90 ha abbandonato la ricerca in campo endo-neuro-fisiopatologico dedicandosi a tematiche più vicine all'Anatomia Patologica, quali: l'Uropatologia e la Biologia Molecolare applicata all'Anatomia Patologica.
- Quest'ultimo campo di ricerca si è avvalso dell'istituzione di un Centro di Biologia Molecolare applicato all'Anatomia Patologica





Centro Oncologico Modenese

# *APPLICAZIONI DELLA BIOLOGIA MOLECOLARE ESTRATTIVA IN ANATOMIA PATOLOGICA*

## *✓ TUMORI*

- alterazioni del DNA microsatellite, mutazioni geniche, amplificazioni geniche, traslocazioni, stato di metilazione dei promotori genici*

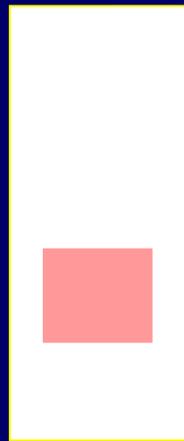
## *✓ LINFOMI*

- riarrangiamenti dei recettori antigenici: analisi di clonalità di popolazioni linfoidi di derivazione B-cell e T-cell*
- traslocazioni cromosomiche*

## *✓ MALATTIE DA AGENTI INFETTIVI*

- identificazione DNA batterico*
- identificazione DNA/RNA virale*

# *STUDIO DI GENI IN CAMPIONI FISSATI E INCLUSI IN PARAFFINA*



→ *DNA* →

*Amplificazione  
del gene di  
interesse con  
PCR*

↓  
*Analisi dei  
prodotti su gel*

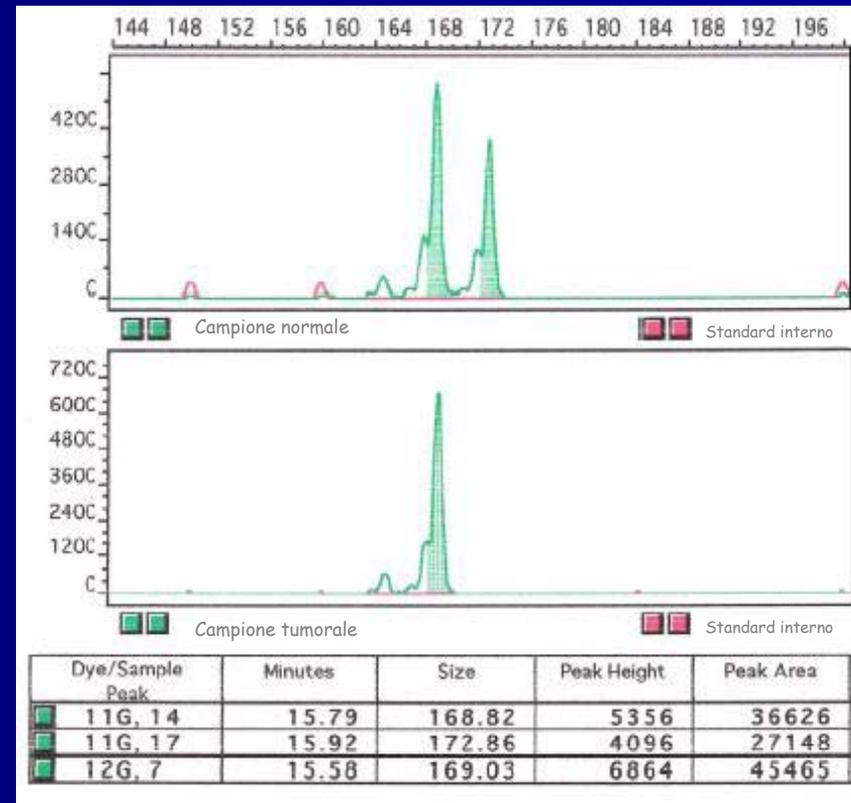
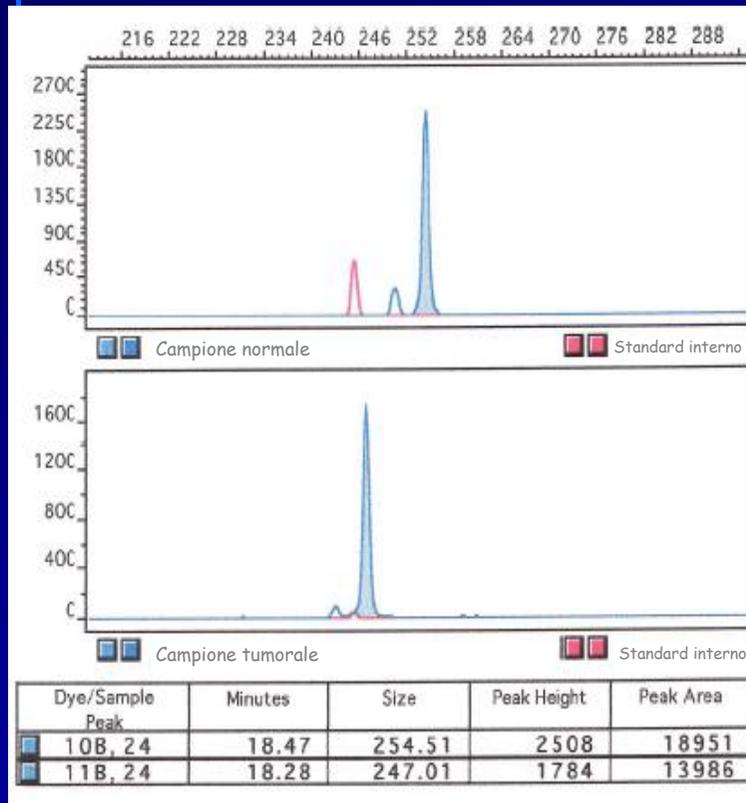
←

*Popolazione Monoclonale?  
Popolazione policlonale?  
Traslocazioni?  
Mutazioni?  
Agenti infettivi?*

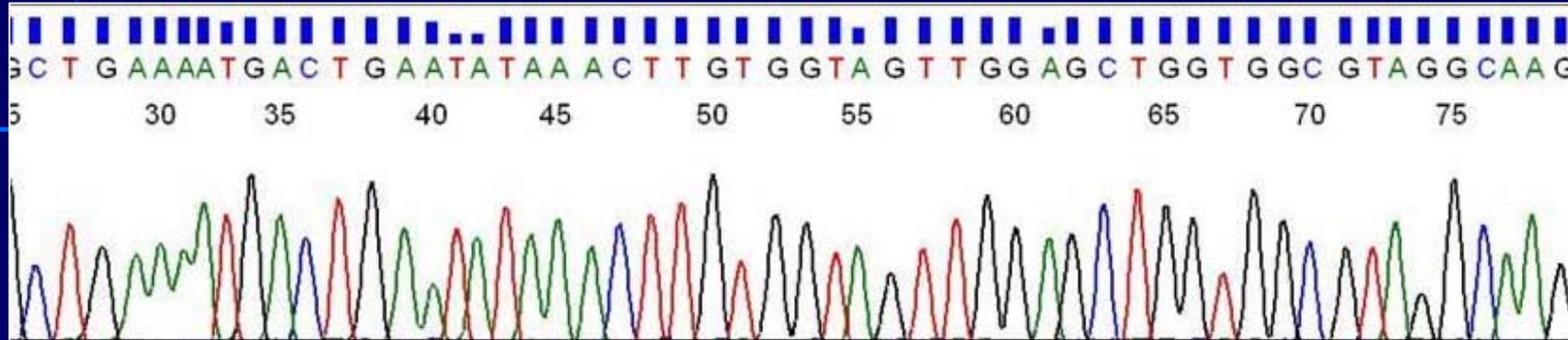
# ALTERAZIONI DEL DNA MICROSATELLITE

## MSI

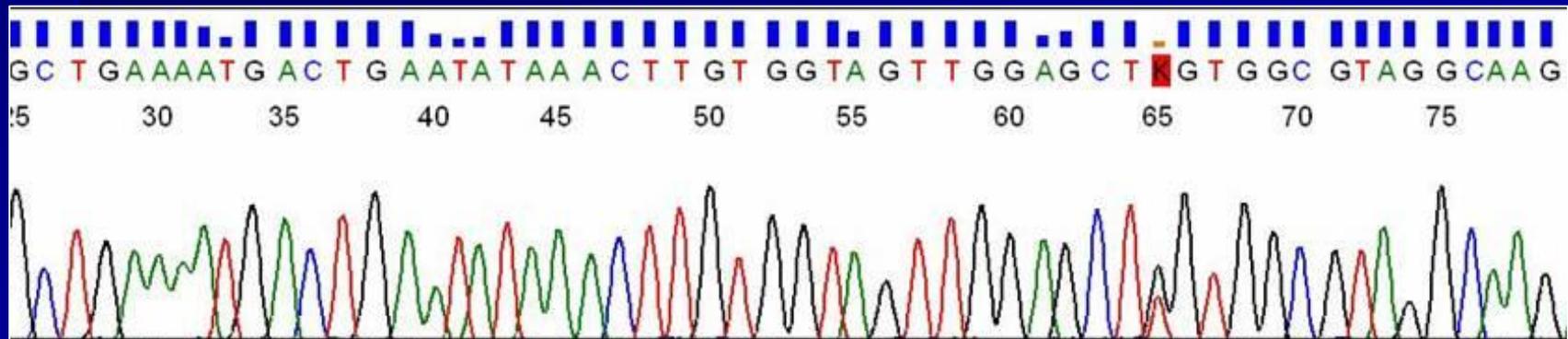
## LOH



# ANALISI DI MUTAZIONI GENICHE

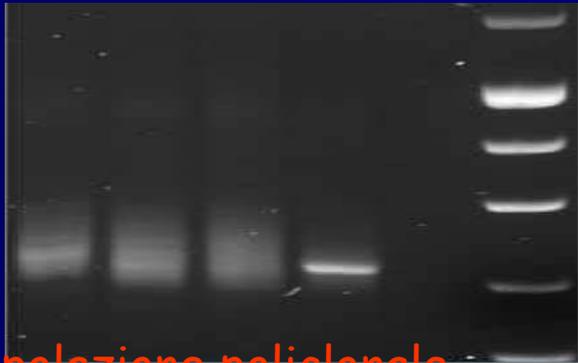


**Exon 2 K-RAS wt**

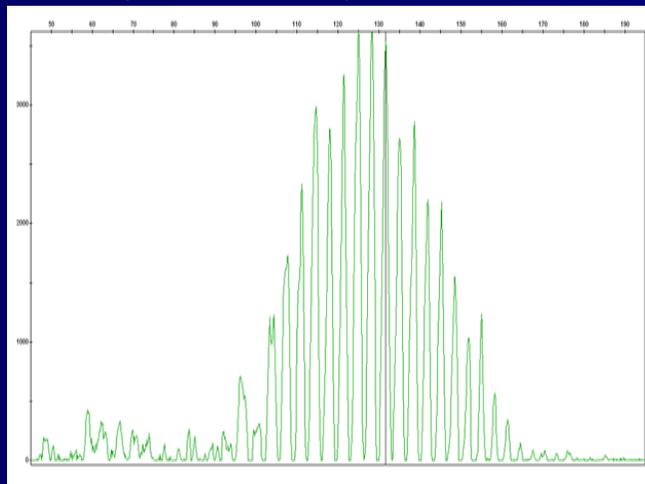


**Exon 2 K-RAS  
G12C**

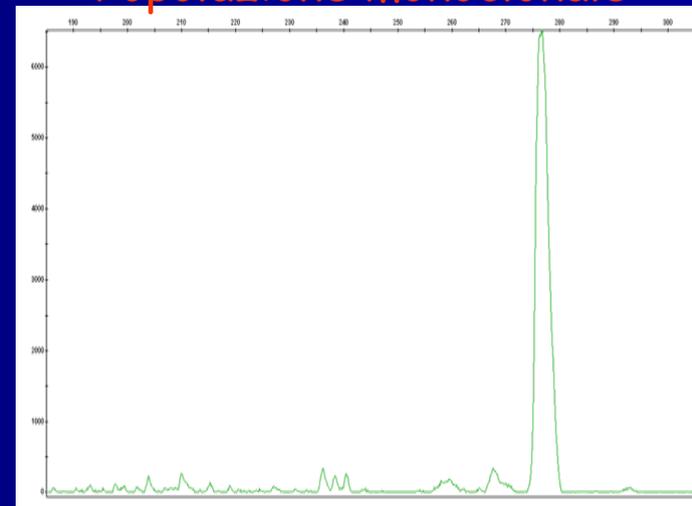
# ANALISI DI CLONALITA': CONFRONTO ELETTROFORESI SU GEL DI AGAROSIO ED ELETTROFORESI CAPILLARE



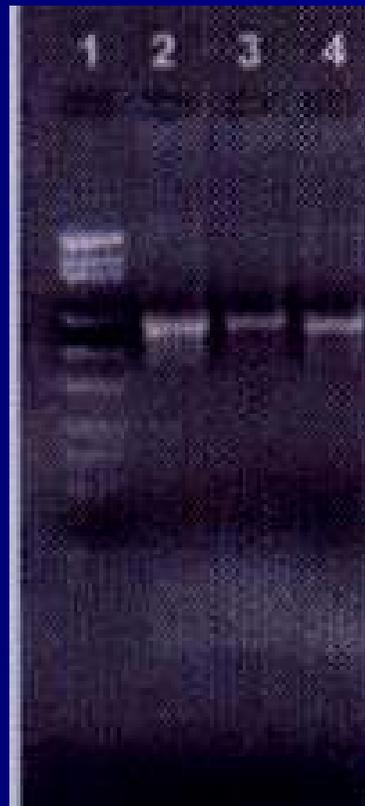
Popolazione policlonale



Popolazione monoclonale



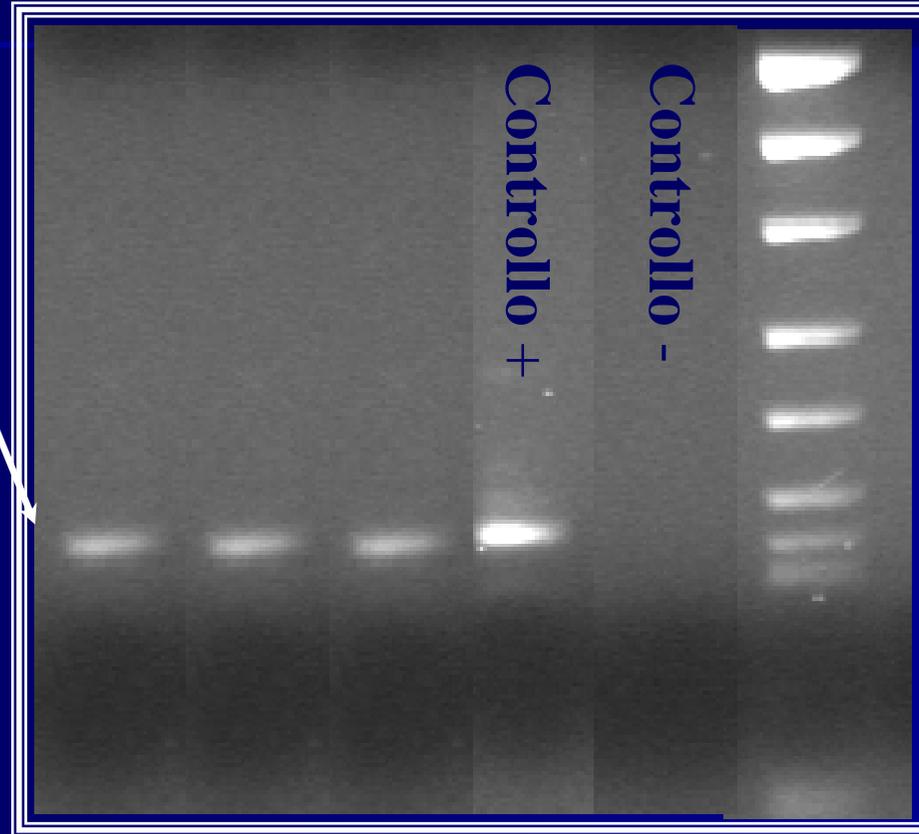
**DIAGNOSI MOLECOLARE DI  
INFEZIONE DA HPV SU  
TESSUTI FISSATI ED  
INCLUSI IN PARAFFINA**



# *M. TUBERCULOSIS: AMPLIFICAZIONE DELLA SEQUENZA IS 6110*

1 2 3 4 5 M

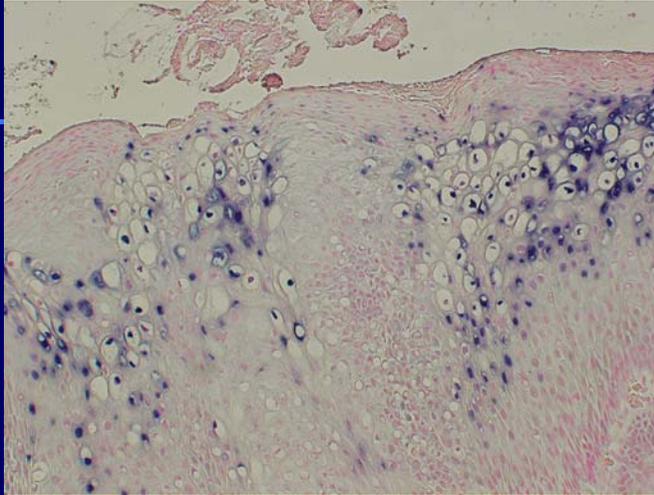
122 bp



**APPLICAZIONE DIAGNOSTICA  
delle tecniche di  
BIOLOGIA MOLECOLARE” in situ”**

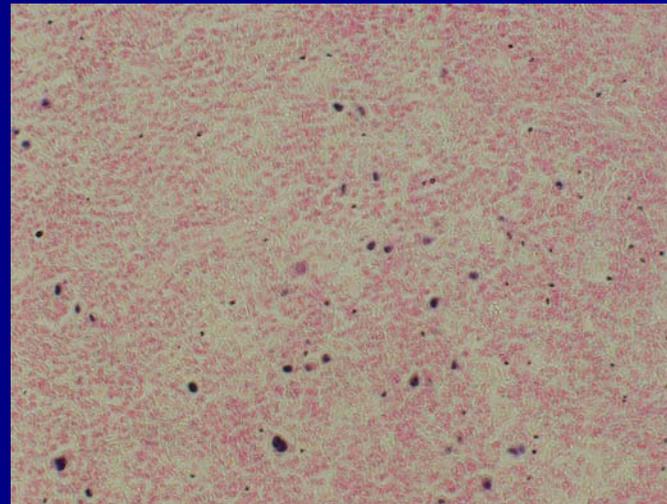
- **Diagnosi di malattie infettive: HPV, EBV**
- **Determinazione della ploidia cellulare**
- **Caratterizzazione funzionale delle neoplasie**

# Diagnosi molecolare di malattie infettive



**HPV**

**EBV**



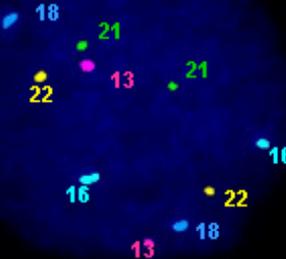
# PATOLOGIA FETO-PLACENTARE

## DETERMINAZIONE DELLA PLOIDIA CELLULARE

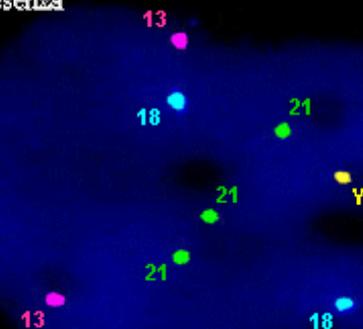
- Determinazione dell'assetto cromosomico negli aborti spontanei
- Diagnostica genetica autoptica fetale

### FISH (*Fluorescent in situ hybridization*)

la sonda marcata per il cromosoma 21 si ibridizza a livello del centromero di ciascun cromosoma 21 presente nella cellula: il riscontro di due spots deporrà per la presenza di due cromosomi 21



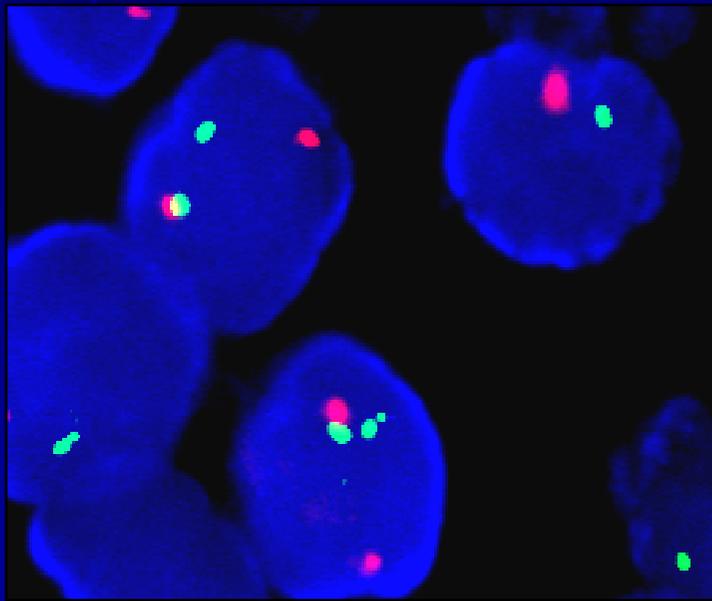
il riscontro di 3 spots indicherà la presenza di trisomia 21.



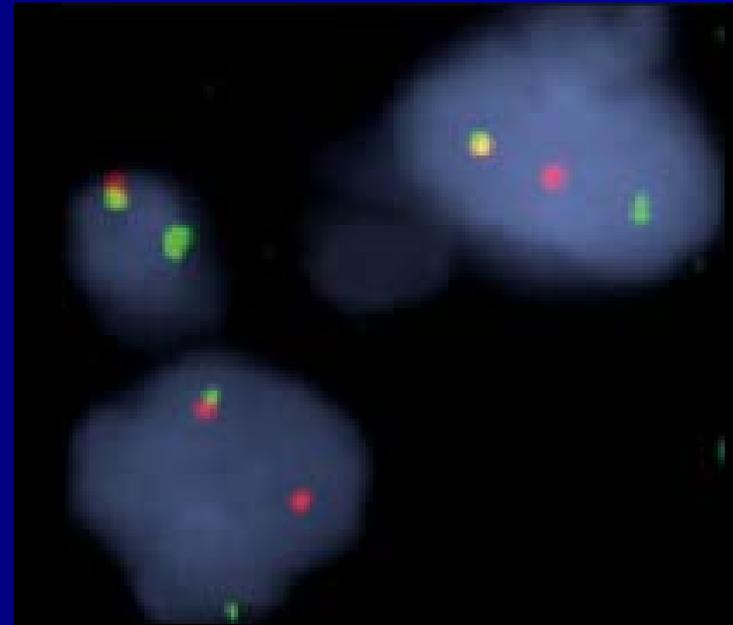
Trisomia 21

# Caratterizzazione funzionale delle neoplasie

Determinazione delle traslocazioni e dei riarrangiamenti genici di ausilio alla diagnosi di linfomi e sarcomi



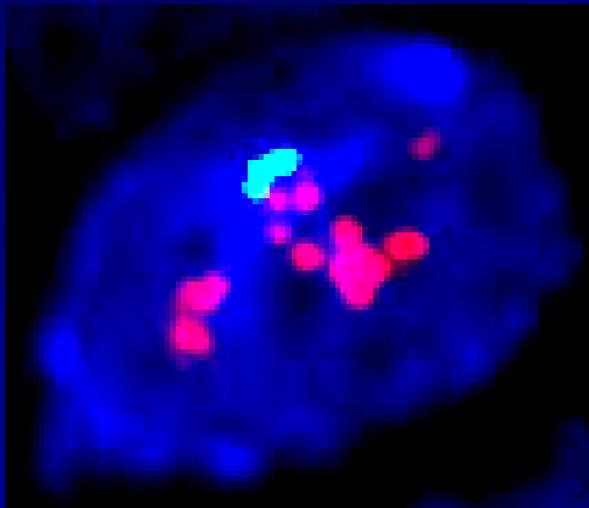
Linfoma follicolare con traslocazione bcl2/IgH



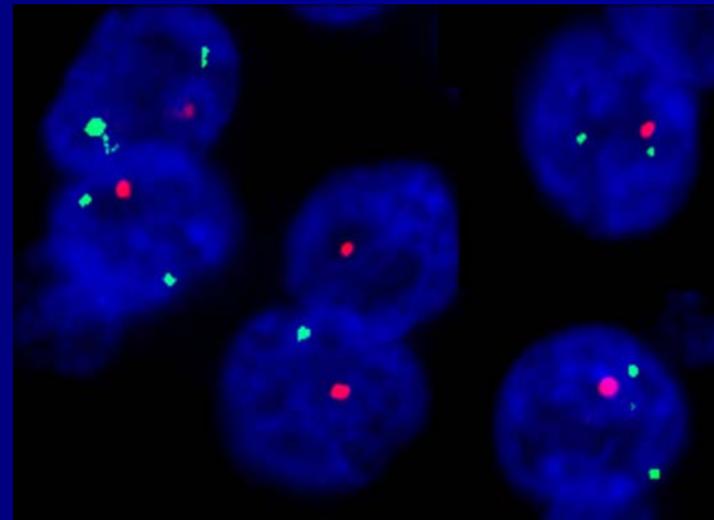
Riarrangiamento del gene EWS nel sarcoma di Ewing

# Caratterizzazione funzionale delle neoplasie

Determinazione dello stato di amplificazione e di delezione di geni coinvolti in alcune neoplasie



Cellula con amplificazione  
del gene Her2 nel  
carcinoma mammario



Delezione del gene 1p  
negli oligodendrogliomi

