
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

GIANFRANCO GHIARA

Il ciclo dell'ergastoplasma durante l'attività secretoria della cellula pancreatica esocrina

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 33 (1962), n.5, p. 347-353.

Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1962_8_33_5_347_0

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Biologia cellulare. — *Il ciclo dell'ergastoplasma durante l'attività secretoria della cellula pancreatica esocrina* (*). Nota di GIANFRANCO GHIARA, presentata (**) dal Corrisp. M. BENAZZI.

In precedenti lavori (Ghiara, 1953; 1961 *a, b*; 1962, *a, b, c*) ho riferito i dati conseguiti intorno a particolari aspetti citologici, ultrastrutturali, e istoautoradiografici nei diversi stadi dell'attività di sintesi e di secrezione della cellula pancreatica esocrina di *Discoglossus pictus* Otth (Anfibio Anuro).

Nuovi dati ultrastrutturali, ottenuti su animali in condizioni sperimentali, mi consentono ora di prospettare uno schema interpretativo, morfo-fisiologico, del ciclo delle strutture ergastoplasmatiche in tale cellula.

Per notizie complete intorno all'impostazione sperimentale da me adottata e alle tecniche di microscopia ottica ed elettronica rinvio ai miei lavori prima citati (in particolare a Ghiara, 1962 *b*). Preciso che gli animali in esperimento (complessivamente 30 ♂♂ adulti) sono stati rialimentati in modo controllato dopo 5-7 giorni di digiuno, e sacrificati a varia distanza dal pasto. La temperatura ambientale massima è stata, nel periodo dell'esperienza, di 22-26° C.

Lo stadio *A* (si veda lo schema della fig. 1) è la cellula matura, ricca di granuli di zimogeno («Stapelzelle»: cfr. Ries, 1935). Si tratta dello stadio più frequente nel pancreas esocrino di animali digiunanti da 5-7 giorni. Le cisterne ergastoplasmatiche, spesso molto lunghe, sono addensate nella metà o nel terzo basale della cellula, e di regola disposte a vortici, a costituire uno o più paranuclei ergastoplasmatici. Anche nei paranuclei di tipo più addensato è spesso riconoscibile una sottile zona interna, di struttura simile allo ialoplasma comune, con cui si trova in continuità attraverso una regione, che potremmo definire «ilo» del paranucleo (per dati più completi, si veda Ghiara, 1961 *a, b*). La cellula non è del tutto in riposo (cfr., per quanto concerne il pancreas esocrino di Mammiferi: Daly e Mirsky, 1952; Junqueira e Hirsch, 1956); nella zona di Golgi si rilevano scarsi vacuoli (a pareti lisce), con granuli di zimogeno in via di avanzata formazione.

Lo stadio *B* (si veda anche la Microf. 1-2) rappresenta la fase iniziale della stimolazione fisiologica della cellula, e dell'estrusione dei granuli di secrezione: si riscontra nelle cellule esocrine del pancreas dopo 1-3 ore dalla rialimentazione. La zona interna del paranucleo si presenta rigonfiata, verosimilmente per idratazione (come si può arguire sia dalla discreta diminuzione della densità agli elettroni della matrice ialoplasmatica, che dalla dilatazione delle

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Istologia ed Embriologia dell'Università di Napoli, diretto dal prof. Mario Galgano.

(**) Nella seduta del 17 novembre 1962.

cisterne e vescicole ivi presenti (queste strutture, sec. Weiss, 1953, si comportano come osmometri, sensibili alle variazioni di tonicità del citoplasma). Nella fascia periferica del paranucleo, le cisterne, forse per effetto di compressione e di stiramento, sono più appiattite e distese, e hanno frequentemente l'aspetto tipico di coppie di α -citomembrane sec. Sjöstrand (1956). Non è raro cogliere zone in cui le pareti delle vescicole dilatate sono in continuità

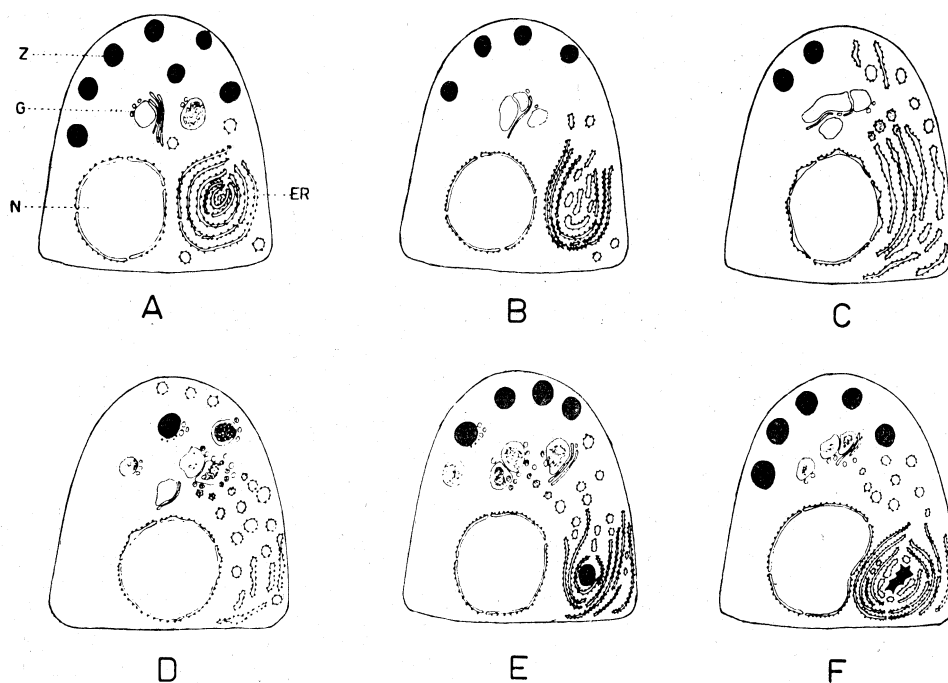


Fig. 1.

A = Cellula in stadio di «Stapelzelle»: ergastoplasma a paranucleo.

N = Nucleo; ER = Cisterne e vescicole ergastoplasmatiche; G = Sistemi di Golgi; Z = Granuli di Zimogeno.

B-C = Estrusione-Sintesi proteica: ergastoplasma progressivamente espanso.

D = Inizio della formazione dei granuli di zimogeno: ergastoplasma «microsomizzato».

E-F = Attiva costituzione dei granuli di zimogeno; la cellula si avvia verso lo stadio di «Stapelzelle» (cfr. A): fasi di ricostituzione del paranucleo ergastoplasmatico.

Altre spiegazioni sono date nel testo.

con quelle delle cisterne appiattite (Microf. 1-2): in questi casi l'aspetto delle strutture fa pensare più ad una fusione avvenuta tra due costituenti prima distinti, che non alla dilatazione accentuata di un'estremità cisternale. Successivamente il processo di rilassamento strutturale dei paranuclei si accentua, la matrice ialoplasmatica fra le cisterne ergastoplasmatiche diviene più abbondante, e i lumi cisternali si presentano dilatati più o meno regolarmente: in questi ultimi si rileva spesso del materiale, di aspetto amorfo.

Nello stadio C si va completando l'estrusione dei granuli, e continua il processo di svolgimento e di estensione delle strutture ergastoplasmatiche

(cisterne a pareti ricche di ribosomi) in tutta l'area citoplasmatica. Come ho riferito in un recente lavoro (Ghiara, 1962 *b*), i sistemi di citomembrane lisce (sistemi di Golgi) presentano una notevole stimolazione: nella zona soprannucleare si rilevano ampie cisterne, da cui sembrano originarsi, per gemmazione, vacuoli di dimensioni minori, sempre a pareti lisce. In questa zona del citoplasma, dalle estremità delle lunghe cisterne ergastoplasmatiche (a pareti granulari, ribosomiche), irregolarmente dilatate, si vedono talvolta, in via di formazione, vescicole a pareti granulari, e a contenuto denso: dalle pareti di queste gemmano microvescicole a contenuto pure denso. Tra le cisterne e le vescicole ergastoplasmatiche e i sistemi di Golgi è possibile riconoscere tutta una serie di microvescicole, di diametro variabile, e con caratteri ultrastrutturali intermedi tra quelle a pareti ribosomiche e i tipici granuli di Golgi sec. Sjöstrand e Hanzon (1954 *a, b*). Come ho già reso noto (Ghiara, 1962 *b*), a mio avviso, è verosimilmente questo il meccanismo con cui si attua il trasporto dei materiali neo-sintetizzati dai lumi delle cisterne ergastoplasmatiche ai vacuoli di Golgi, dove vengono aggregati in granuli di secrezione. Vi è inoltre qualche indicazione che gli stessi sistemi di Golgi (canalicoli, cisterne appiattite, vacuoli) possano costituirsi per addensamento e successiva confluenza delle sopradette microvescicole (cfr., Ghiara, 1962 *b*, e per precedenti ipotesi, in qualche aspetto diverse, Palay, 1958, e Sjöstrand, 1959).

Nel successivo *stadio D* continuano i processi descritti nello *stadio C*, mentre ha inizio un'attiva costituzione di granuli di zimogeno nei vacuoli di Golgi (cfr., per la documentazione micrografica, Ghiara, 1962 *b*). I costituenti ergastoplasmatici presentano la massima dispersione. In questo stadio si verifica una vera e propria «microsomizzazione» di tali costituenti: l'ergastoplasma è prevalentemente costituito da vescicole a pareti ribosomiche, di vario diametro: è l'assetto che Lacy (1956) descrive invece come caratteristico della fase di massima estrusione dei granuli di zimogeno, che, nel mio schema, potrebbe essere rappresentata dallo *stadio C*, o da uno stadio intermedio tra *C* e *D*.

Lo *stadio E*, molto frequente dopo 64 h. circa dal pasto, è caratterizzato dalla presenza di numerosi granuli di zimogeno neoformati, e, di regola, da una notevole, generale trasparenza dell'ialoplasma. Nei due terzi distali della cellula l'ergastoplasma è ancora generalmente «microsomizzato». Nel terzo basale di quasi tutte le cellule si possono riscontrare vortici di cisterne ergastoplasmatiche, che si vanno costituendo e addensando (Microf. 3-4). Le cisterne sembrano organizzarsi per confluenza di vescicole: queste ultime e le cisterne presentano pareti con ribosomi. Queste regioni spiccano, nei confronti del restante ialoplasma, per la maggior densità agli elettroni: nella matrice ialoplasmatica sono presenti ribosomi liberi in notevole quantità (Microf. 4).

Nello *stadio F* (Microf. 5) il paranucleo ergastoplasmatico, che si è originato da uno dei vortici prima descritti, presenta già il suo tipico aspetto. La cellula è ormai molto vicina allo stadio di «Stapelzelle», raffigurato nello schema come *stadio A* (che è raggiunto, di regola, dopo 5-7 giorni dal pasto).

Ho già avuto modo di occuparmi del significato morfo-funzionale dei paranuclei ergastoplasmatici (Ghiara, 1961 *a, b, e*, in particolare, Ghiara, 1962 *c*), mettendo in luce le differenze tra i miei dati e la mia interpretazione, e quelli forniti da Weiss (1953) in una ricerca sulla cellula pancreatica esocrina di Topo. In sintesi, l'autore afferma che i vortici di cisterne ergastoplasmatiche, che egli definisce *cytoplasmic centers*, sono siti di formazione di cisterne ergastoplasmatiche, al riattivarsi del ciclo secretorio, in animali tenuti a digiuno e poi rialimentati. In Discoglossio, ritengo invece di aver dimostrato che i paranuclei ergastoplasmatici costituiscono l'espressione morfologica più frequente dello stato di massimo addensamento, che le strutture ergastoplasmatiche assumono al termine di un ciclo secretorio e in preparazione del successivo. La riorganizzazione delle cisterne ergastoplasmatiche avviene nelle ultime fasi di un ciclo, e non all'inizio del nuovo. E' verosimile che, al riattivarsi del ciclo secretorio, i processi di sintesi proteica siano notevolmente facilitati dal particolare assetto ultrastrutturale dei paranuclei, in cui si attua un notevole sviluppo di superfici di contatto e di scambio tra matrice ialoplasmatica - attraverso cui giungono i materiali nutritivi -, ribosomi attaccati esternamente alle citomembrane, e ambiente interno delle cisterne ergastoplasmatiche.

Un quesito d'importanza molto generale, che emerge dai dati ultrastrutturali che ho riferito, è se durante le varie fasi del ciclo secretorio vi siano, nel citoplasma della cellula pancreatica esocrina, variazioni imponenti, o almeno significative, del contenuto totale di ribosomi. E ciò, sia in rapporto alle variazioni di basofilia da acido ribonucleico (ARN), evidenti al microscopio ottico (nei ribosomi è presente circa l'80 % dell'ARN totale della cellula, e in condizioni di polimerizzazione particolarmente alta), che al problema, più generale, citofisiologico, biochimico e per certi aspetti genetico, del significato dell'ARN ribosomico nei processi di sintesi proteica (cfr., Palade e Siekevitz, 1959; Hoagland, 1960).

Devo dire che lo stato attuale delle mie ricerche ultrastrutturali non consente una risposta sicura e diretta a tale quesito. Posso fin da ora affermare di non aver mai rinvenuto, in nessun stadio del ciclo, quadri che indichino una ricostituzione di strutture ergastoplasmatiche a livello della membrana nucleare, né ribosomi in provenienza dal nucleo, quali sono stati descritti da altri Autori in altri tipi di cellule somatiche e in ovociti (cfr., Hagenau, 1958; Wischnitzer, 1960). La ricostituzione delle cisterne ergastoplasmatiche in vortici a paranucleo ha luogo, nella maggior parte dei casi, nella regione basale della cellula, in zone adiacenti o meno al nucleo, ma non ho mai rilevato manifestazioni morfologiche che autorizzino a supporre una partecipazione diretta del nucleo al processo in corso. Fin dal momento in cui compaiono i primi vortici di cisterne (Microf. 3-4) lo ialoplasma, nella zona interessata, risulta ricco di ribosomi e di vescicole più o meno ampie, a pareti chiaramente granulari. L'intervento di fattori di origine nucleare ha verosimilmente luogo a livelli inferiori a quello ultrastrutturale.

Dal punto di vista della stabilità dei ribosomi durante il ciclo secretorio, la fase più critica, sulla quale converrà indagare più a fondo, è costituita, verosimilmente, dagli stadi C e D (del mio schema), nei quali si hanno la massima dispersione delle strutture ergastoplasmatiche, fenomeni intensi di gemmazione di microvescicole a livello delle citomembrane granulari, e di trasporto di materiali dalle vescicole e cisterne ergastoplasmatiche ai sistemi di Golgi.

Premessi questi rilievi, necessari all'inquadramento di un problema di così vasta portata, ritengo tuttavia di dover sottolineare quanto di più cospicuo risulta dall'insieme dei miei reperti ultrastrutturali: cioè che i diversi stadi del ciclo secretorio della cellula pancreatica esocrina di Discoglossus sono soprattutto caratterizzati, per quanto concerne l'ergastoplasma, da una variazione di assetti ultrastrutturali delle cisterne a pareti ribosomiche, della loro distribuzione e dispersione nell'area citoplasmatica, e da un equilibrio dinamico tra assetti a cisterne allungate e quelli a vescicole.

Negli stadi di relativo riposo funzionale le cisterne ergastoplasmatiche sono quasi completamente circoscritte, per lo più in formazioni a paranucleo, al terzo basale della cellula, dove la densità ribosomica per unità di volume raggiunge valori molto elevati. Con la stimolazione della cellula, questa enorme massa ribosomica (citomembrane granulari) acquista via via una struttura più lassa, si svolge e si estende in un'area citoplasmatica che si fa progressivamente maggiore per l'estrusione dei granuli di zimogeno costituiti nel precedente ciclo secretorio.

Ho già avuto occasione di segnalare in precedenti lavori che l'incorporazione di fosfato- P^{32} (Ghiara, 1962 a) e di DL-leucina- C^{14} (Ghiara, 1962 b), risulta maggiore in cellule ad ergastoplasma espanso, e che, per quanto concerne l'aminoacido, l'incorporazione è minima o nulla a livello dei paranuclei ergastoplasmatici della «Stapelzelle». Tenuto conto anche di questi dati istoautoradiografici, nel ciclo di sintesi e di secrezione della cellula pancreatica esocrina possono essere distinte, a mio avviso, due fasi: la prima, comprendente gli stadi A, B, C, caratterizzati dall'estrusione del materiale sintetizzato e aggregato in granuli di zimogeno nel ciclo precedente, e al tempo stesso, da un'elevata attività di sintesi proteiche a livello dei costituenti ergastoplasmatici, via via più espansi; la seconda, comprendente gli stadi D, E, F, caratterizzati, da un lato, dalla progressiva aggregazione dei prodotti di sintesi proteica in nuovi granuli di zimogeno, entro i vacuoli di Golgi, e, dall'altro lato, da un progressivo rallentamento nelle attività di sintesi proteica a livello dei costituenti ergastoplasmatici, che, intanto, si vanno riorganizzando in vortici di cisterne, alla base cellulare.

Lo schema interpretativo, che ho illustrato nella presente Nota è, ovviamente, per alcuni aspetti, ancora un'ipotesi di lavoro. Ritengo peraltro che esso possa rappresentare un'utile base non soltanto per lo sviluppo ulteriore delle ricerche sperimentali sulla secrezione esocrina del pancreas, ma, in generale, per una visione meno frammentaria dei diversi assetti ultrastrutturali dell'ergastoplasma nelle attività funzionali delle cellule.

BIBLIOGRAFIA.

- DALY M. M., MIRSKY A. E., « J. gen. Physiol. », 36, 243-254 (1952).
 GHIARA G., « Mon. Zool. Ital. », Suppl. 62, 326-334 (1953).
 GHIARA G., « Boll. Zool. », 28, [2], 493-503 (1961 a).
 GHIARA G., « Atti Soc. Pelor. Sc. fis. mat. nat. », 7, 305-328 (1961 b).
 GHIARA G., Ibidem, 8, 199-207 (1962 a).
 GHIARA G., « Boll. Zool. », 29 [1] (in corso di stampa) (1962 b).
 GHIARA G., « Boll. Soc. Biol. Sperim. », 38 (in corso di stampa) (1962 c).
 HAGUENAU F., « Int. Rev. Cytol. », 7, 425-483 (1958).
 HOAGLAND M. B., in *The nucleic Acids*, III, 449-408, Academic Press, N. Y. (1960).
 JUNQUEIRA L. C. U., HIRSCH G. C., « Int. Rev. Cytol. », 5, 323 (1956).
 LACY D., « J. Roy. Micr. Soc. », 75, 88-95 (1956).
 PALADE G. E., SIEKEVITZ P., « J. biophys. biochem. Cytol. », 6 (1959).
 PALAY S. L., in *Frontiers in Cytology*, New Haven: Yale Univ. Press, pp. 305-342 (1958).
 RIES E., « Zeitschr. f. Zellforsch. », 22, 523 (1935).
 SJÖSTRAND F. S., « Intern. Rev. Cytol. », 5, 456-533 (1956).
 SJÖSTRAND F. S., in *Biophysical Science - A Study program*, 301-318 (1959).
 SJÖSTRAND F. S., HANZON V., « Exptl. Cell Res. », 7, 393-414 (1954 a).
 SJÖSTRAND F. S., HANZON V., Ibidem, 415-429 (1954 b).
 WEISS I. M., « J. Exptl. Medec. », 98, 607-617 (1953).
 WISCHNITZER S., « Intern. Rev. Cytol. », 10, 137-162 (1960).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I E II

(Tutte le micrografie sono state eseguite su pancreas esocrino di *Discoglossi*-♂♂ adulti, tenuti a digiuno per 5-7 giorni, rialimentati e sacrificati a distanze varie dal pasto. Fissaz. Palade. Inclusione in metacrilato di butile. Colorazione delle sezioni sottili con il metodo di Karnowski.

TAVOLA I.

Microf. 1-15.000 ×

Individuo sacrificato dopo 3 h. dalla rialimentazione. Cellula in fase iniziale di stimolazione. Paranucleo ergastoplasmatico in svolgimento. Si noti la zona centrale con vescicole e cisterne a pareti granulari, dilatate in vario grado, e, alla periferia, la fascia di lunghe cisterne ergastoplasmatiche appiattite (aspetto a coppie di α -citomembrane sec. Sjöstrand).

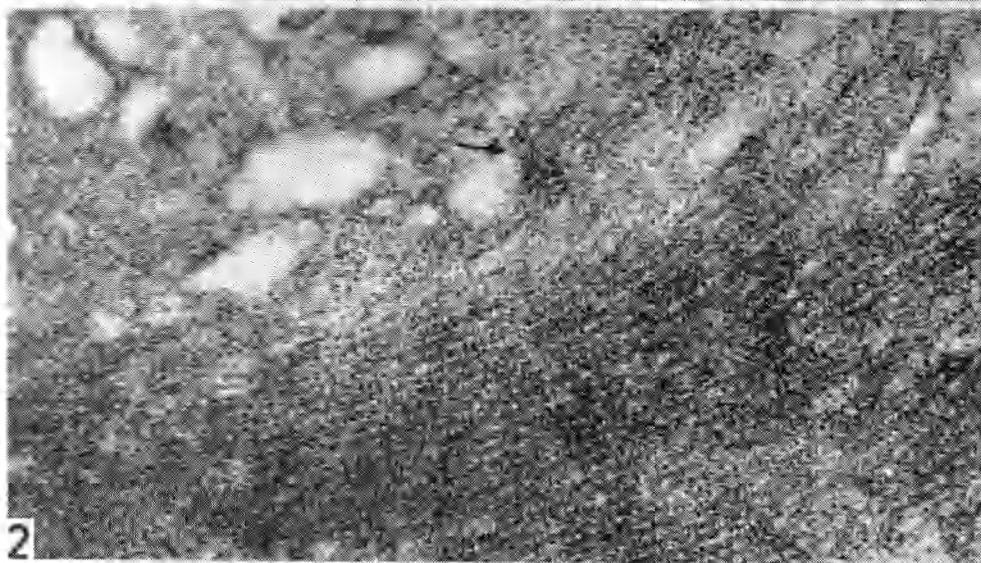
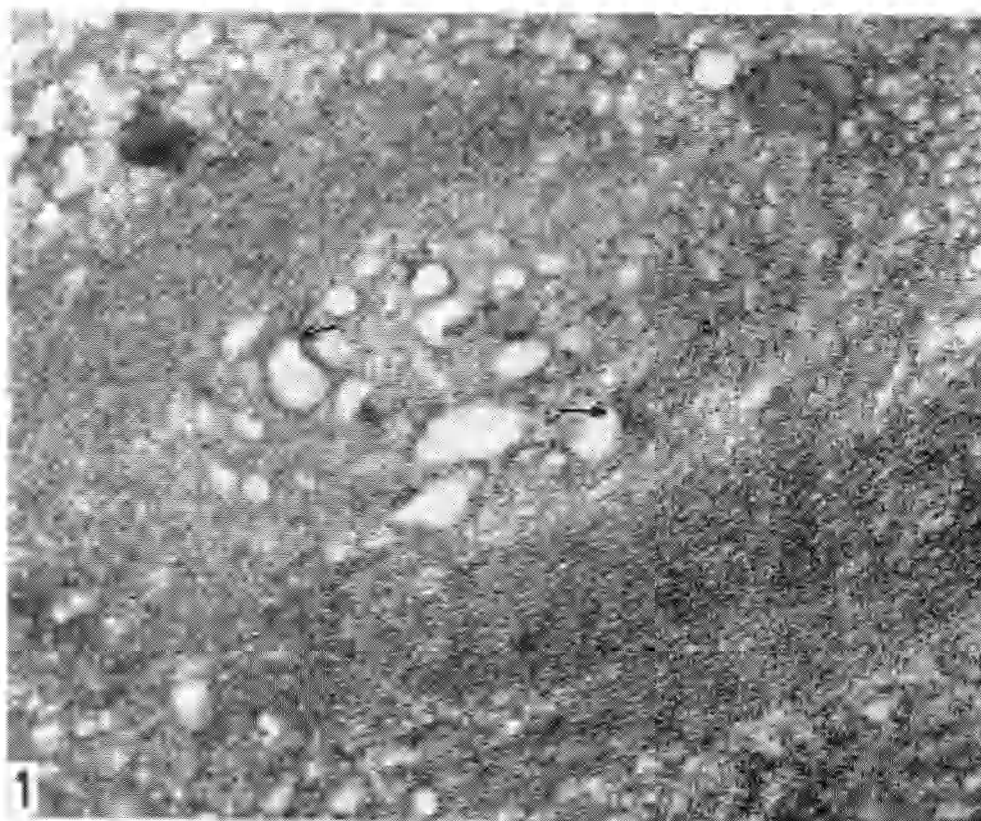
Le frecce indicano vescicole, la cui parete è in continuità con cisterne appiattite. In alto a destra, un mitocondrio.

Microf. 2-35.000 ×

Particolare della precedente.

Si noti la densità e la regolarità dei ribosomi presenti sulle citomembrane.

La freccia indica, come nella precedente Microf., una zona di continuità tra pareti di una vescicola e pareti di una cisterna appiattita.



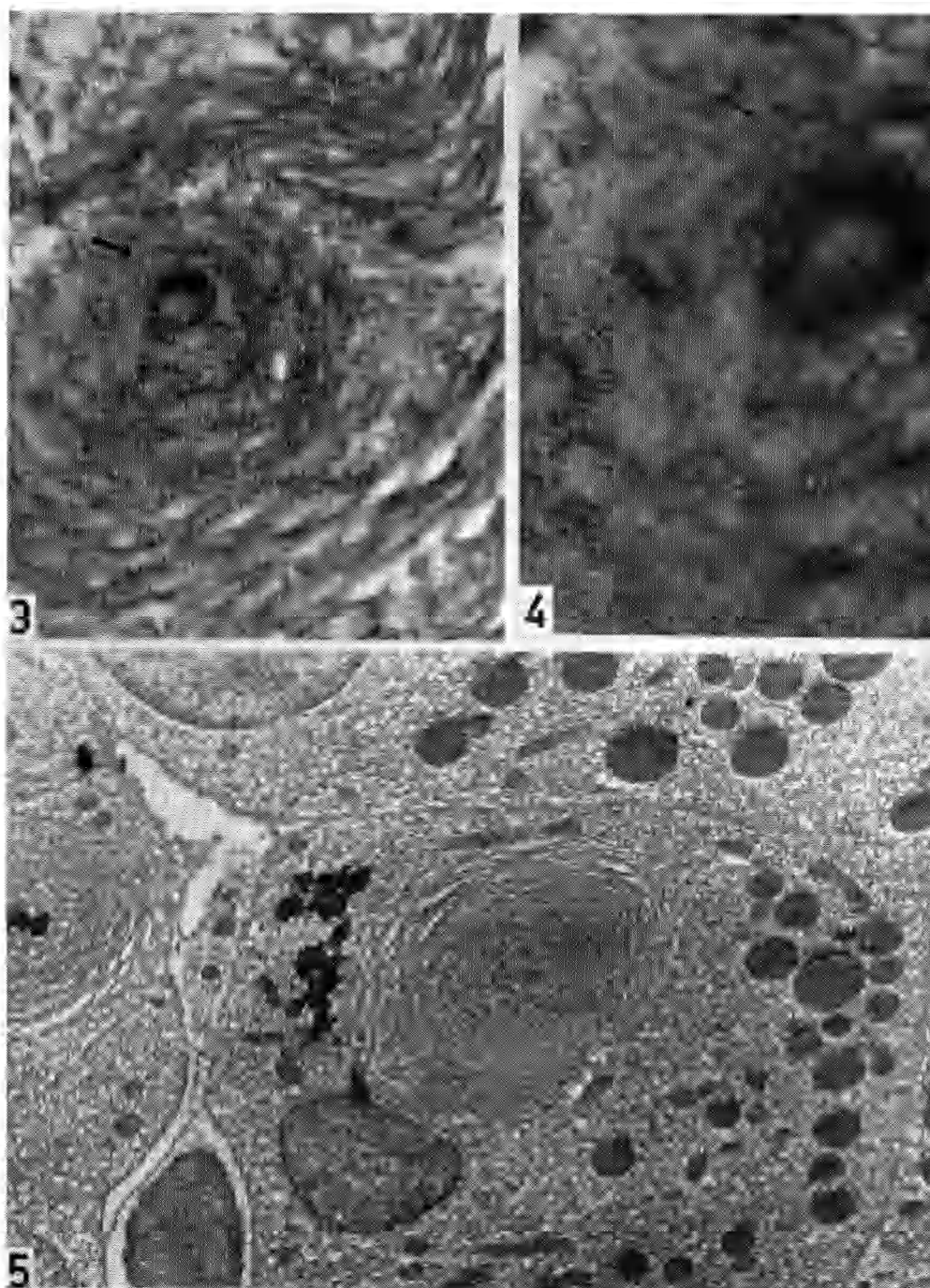


TAVOLA II.

Microf. 3 – 24.000 ×

Individuo sacrificato dopo 64 h dalla rialimentazione.

Zona basale di una cellula. Paranucleo in formazione. Si notino in alcune zone di ialoplasma, ma particolarmente in quella indicata dalla *freccia*, vescicole che si vanno ordinando a costituire cisterne disposte a vortici.

Microf. 4 – 48.000 ×

Particolare ingrandito della precedente Microf.

Si osservi come le cisterne, le vescicole e la formazione anulare densa siano a pareti granulari (ribosomiche). Un cospicuo numero di ribosomi liberi risulta presente nella matrice ialoplasmatica.

Microf. 5 – 7.000 ×

Individuo sacrificato dopo 136 h dalla rialimentazione.

Tre cellule esocrine, delle quali una è interessata dalla sezione quasi per intero, secondo l'asse maggiore: si noti, in quest'ultima, un paranucleo di discrete dimensioni, già costituito. Questa, cellula è in uno stadio molto prossimo a quello di «Stapelzelle». Nella cellula, parzialmente interessata dalla sezione, a sinistra, è presente un paranucleo a struttura non ancora molto addensata: la cellula è probabilmente in stadio F (si osservi la masserella lipidica inclusa casualmente nel paranucleo: nella cellula vicina, colpita quasi per intero dalla sezione, ammassi lipidici sono presenti nella regione basale, sotto al paranucleo).