

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

BRUNO BERTOLINI

## Osservazioni sulla ultrastruttura del fegato nell'ammocete e nella lampreda adulta

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 36 (1964), n.6, p. 914-920.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1964\\_8\\_36\\_6\\_914\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1964_8_36_6_914_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.** — *Osservazioni sulla ultrastruttura del fegato nell'ammocete e nella lampreda adulta* (\*). Nota di BRUNO BERTOLINI, presentata (\*\*) dal Corrisp. A. STEFANELLI.

Il fegato dei Petromizonti subisce delle notevolissime modificazioni strutturali e fisiologiche con la metamorfosi dell'ammocete nella forma adulta, ed in questa col raggiungimento della maturità sessuale.

Nell'ammocete il fegato ha la struttura di una ghiandola tubolare ramificata (Langerhans 1876 [1]; Schneider 1879 [2]; Retzius 1892 [3]; Holm 1897 [4]; Dervieux 1898 [5]; Bengelsdorf ed Elias 1950 [6]), i cui tubuli sono fusi a formare delle lamine epiteliali, attraversate da più canalicoli biliari (Elias 1955 [7]), o sono semplicemente accollati, ma sempre separati da una sottile guaina connettivale (Minelli e Rossini 1961 [8]). Con la metamorfosi ricompare chiaramente la struttura tubolare (Bengelsdorf 1950 [9]), ma successivamente il lume dei tubuli (canalicolo biliare) viene obliterato e la ghiandola si trasforma in un insieme di cordoni epiteliali (Holm 1897 [4]; Elias e Bengelsdorf 1952 [10]; Minelli e Rossini 1961 [8]). I dotti biliari e la cistifellea si atrofizzano ed il coledoco scompare completamente (Holm 1897 [4]; Minelli e Rossini 1961 [8]).

È stato dimostrato (Cotronei 1922 [11], 1926 [12], 1927 [13], 1927 [14]) che esistono dei rapporti tra le diverse condizioni ecologiche delle varie specie di Petromizonti, e le modificazioni dell'apparato digerente. Il *Petromyzon marinus* e la *Lampetra fluviatilis*, dopo la metamorfosi, hanno un periodo di accrescimento, durante il quale si nutrono regolarmente. Quando inizia il periodo di maturazione sessuale, risalgono i fiumi, cessando di nutrirsi, e, durante questo periodo di digiuno, l'apparato digerente si atrofizza e nel fegato si accumulano grandi quantità di bile (Shore e Jones 1889 [15]; Kuljabko 1898 [16]; Cotronei 1926 [12], 1927 [13, 14]. Nella *Lampetra fluviatilis* (ed in *L. zanandreaei*, la specie che è oggetto della presente Nota) alla metamorfosi segue immediatamente il periodo di digiuno e di maturazione sessuale, in cui l'intestino si atrofizza e il fegato si trasforma e si carica di prodotti biliari (Cotronei 1926 [12], 1927 [13, 14]).

In questa Nota sono state studiate le modificazioni ultrastrutturali del fegato della lampreda, e le manifestazioni morfologiche di questo particolare caso di stasi biliare.

(\*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia comparata «G. B. Grassi» dell'Università di Roma.

(\*\*) Nella seduta del 10 giugno 1964.

## MATERIALE E METODO.

Piccoli frammenti di fegato di ammoceti di diversa grandezza e di adulti di *L. zanandreae*, Vladykov <sup>(1)</sup>, sono stati fissati in OsO<sub>4</sub> 2% in tampone fosfato 0,2 M (Millonig 1962 [17]), inclusi in metacrilato, Vestopal W od Epon 812; le sezioni sono state eseguite con l'Ultratome-LKB, colorate con idrossido di piombo (met. A Karnovsky 1961 [18]), e fotografate con il microscopio elettronico Hitachi HU-11. Parte del materiale è stato fissato in formolo-calcio e sezionato al congelatore od incluso in paraffina.

## DESCRIZIONE DEI RISULTATI.

*Fegato dell'ammocete.*

Gli epatociti hanno una struttura simile a quella già descritta negli altri Vertebrati. Il nucleo è piuttosto grande e rotondeggiante, con un nucleolo bene evidente. Il reticolo endoplasmico granulare è in forma di cisterne appiattite, in parte distribuite irregolarmente, ed in parte raccolto in file parallele a costituire i corpi di Berg della microscopia ottica. I tubuli e le vescicole che costituiscono il reticolo endoplasmico agranulare occupano delle vaste zone di citoplasma, ed in queste sono più abbondanti i granuli di glicogeno, di circa 300-400 Å di diametro. In complesso però il glicogeno sembra poco abbondante.

I mitocondri sono numerosi, ed il loro diametro minore è di 0,2-0,3 μ. L'apparato di Golgi è costituito da sacchi appiattiti e paralleli, disposti in gruppi accanto al canalicolo biliare. Il margine delle cisterne dell'apparato di Golgi è rigonfiato a formare delle vescicole, piene di una sostanza opaca agli elettroni. Di frequente si vedono queste vescicole distaccate a formare dei granuli densi; è possibile identificare delle forme intermedie tra questi granuli ed i corpi densi peribiliari (fig. 1).

Le cellule epatiche sono separate da uno spazio di 150-300 Å, e spesso sono presenti quei meccanismi di unione, costituiti da una estroflessione della superficie di una cellula, che viene accolta in una introflessione del citoplasma della cellula vicina.

Il canalicolo biliare è delimitato da 3-5 cellule, che sono unite al suo contorno da strutture simili a quelle descritte nel fegato del ratto e della cavia (*zonula occludens*, *zonula adhaerens* e *macula adhaerens*, Farquhar e Palade 1963 [19]). Il canalicolo è piuttosto ampio, in genere ha un diametro di 1-2 μ, e la superficie biliare delle cellule è ricca di microvilli, lunghi circa 0,5-1 μ, che occupano buona parte del lume del canalicolo. Intorno al

(1) Ringrazio il prof. G. Zanandrea, dell'Istituto di Zoologia della Università di Roma, per avermi gentilmente fornito il materiale per queste osservazioni.

canalicolo sono frequenti i corpi densi peribiliari (0,4-0,6  $\mu$  di diametro), a struttura molto polimorfa (fig. 1).

La superficie cellulare rivolta verso lo spazio di Disse è un po' differente da quella della zona corrispondente negli altri Vertebrati. Invece di essere espansa in una serie di microvillosità irregolari, la membrana cellulare mostra delle introflessioni, che formano dei canali irregolari di circa 150-500 Å di larghezza, estendentisi per qualche micron nel citoplasma, e comunicanti con lo spazio di Disse. Un'altra particolarità è la presenza di una membrana basale, tra la superficie vascolare dell'epatocita e le cellule endoteliali dei sinusoidi (fig. 2).

#### *Fegato della lampreda adulta.*

Come è ben noto, il fegato della lampreda sessualmente matura è già riconoscibile macroscopicamente, per il colore brunastro o addirittura verde malachite che esso assume. Al microscopio ottico, le cellule di questi fegati appaiono cariche di granuli di pigmento. L'ultrastruttura delle cellule è estremamente modificata. I canalicoli biliari non sono più riconoscibili; solo in qualche raro caso se ne vedono dei probabili residui, dal lume molto ridotto, privi di microvilli e identificabili perché sono ancora presenti le normali strutture pericanalicolari (corpi densi peribiliari, apparato di Golgi, desmosomi). Il reticolo endoplasmico granulare conserva la struttura a lamine parallele, soprattutto nella zona perinucleare, ma per il resto è in gran parte suddiviso in vescicole rivestite di ribosomi. Anche il reticolo liscio appare molto frammentato. I granuli di glicogeno sono dispersi e piuttosto scarsi. I mitocondri, a parte una maggiore irregolarità di forma, non appaiono modificati. L'apparato di Golgi è di rado evidente e riconoscibile. La superficie cellulare che è in rapporto con il sinusoidale non mostra più le elaborate ripiegature della membrana plasmatica, che sono presenti nella larva (fig. 3).

Le cellule sono cariche di corpi a struttura estremamente polimorfa, che, come dimensioni e distribuzione, corrispondono ai granuli di pigmento osservabili al microscopio ottico. Questi corpi, che possono raggiungere i 3  $\mu$  di diametro, hanno una struttura paragonabile a quella dei corpi densi peribiliari; essi sono formati da lamine concentriche, simili a figure mieliniche (fig. 5), da materiale amorfo denso agli elettroni, da masse di granuli di circa 60 Å di diametro e simili alle molecole di ferritina. Questi componenti possono essere riuniti in diversa quantità e con diversa disposizione in ogni singolo granulo. Spesso i granuli densi di 60 Å di diametro sono aggregati a formare dei cristalli (fig. 4). In qualche caso, porzioni di citoplasma, comprendenti cisterne del reticolo endoplasmico e mitocondri, sono sequestrate tra le lamelle «mieliniche» della periferia di questi corpi.

Piuttosto frequenti sono le cellule che presentano fenomeni di degenerazione avanzata; spesso la membrana plasmatica si rompe ed il citoplasma si versa negli spazi connettivali o nello spazio pericapillare.

## DISCUSSIONE.

L'ultrastruttura delle cellule epatiche, nella forma larvale della lampreda, non differisce in modo sostanziale da quella già nota per gli altri Vertebrati. Il diametro dei canalicoli biliari e la lunghezza dei microvilli sono circa il doppio che nei Mammiferi, ma non vi sono altre speciali differenze. La particolarità più notevole è invece nella struttura della superficie cellulare affacciata verso lo spazio di Disse; essa presenta delle introflessioni della membrana plasmatica simili a quelle descritte da Pease (1956 [20]) negli epiteli che trasportano notevoli quantità di acqua, anziché, come nei Mammiferi, soltanto delle microvillosità e delle espansioni citoplasmatiche irregolari (Fawcett 1955 [21]; Parks 1956 [22]). Nell'ammocete è presente anche una sottile membrana basale, che aderisce alla superficie dell'epatocita, ma senza seguire le introflessioni della membrana plasmatica; la membrana basale è invece assente nel fegato dei Mammiferi (Parks 1956 [22]).

Per quel che riguarda il fegato della lampreda adulta, le osservazioni al microscopio elettronico confermano la scomparsa dei canalicoli biliari, descritta dagli Autori citati. In qualche raro caso si osservano dei quadri che fanno pensare che questo avvenga per una progressiva riduzione del lume, fino a che le cellule vengono a contatto, perdendo la loro forma poligonale ed assumendo un contorno irregolare. Spesso è difficile seguire le membrane plasmatiche di due cellule a contatto, perché esse sembrano interrompersi, ed in ampie zone esse sono effettivamente frammentate e scomparse, tanto che non ci sono più confini tra un nucleo e l'altro, ed il tessuto epatico sembra essersi trasformato in un sincizio. Anche la superficie vascolare, come è stato descritto, appare modificata.

Il fenomeno più interessante, nel fegato dell'adulto, è il grande accumulo di pigmenti biliari, dovuto al fatto che le cellule continuano ad elaborare i prodotti biliari, nonostante che le vie biliari siano completamente scomparse (Shore e Jones 1889 [15]; Kuljabko 1898 [16]).

Nel fegato esistono degli stretti rapporti funzionali tra l'apparato di Golgi, i lisosomi e la secrezione biliare. L'apparato di Golgi degli epatociti, descritto per la prima volta da Stropeni (1903 [23]), ha un ruolo importante nel meccanismo di secrezione biliare (Weatherford 1932 [24]; Solè e De Robertis 1935 [25]; Dalton e Edwards 1942 [26]; Ashworth e Sanders 1960 [27]). Sia nel fegato dell'ammocete, che nel fegato del ratto (Dadoune 1963 [28]) è possibile ritrovare delle immagini morfologicamente intermedie tra i vacuoli dell'apparato di Golgi, pieni di una sostanza densa, ed i corpi densi peribiliari, che sono identificabili come lisosomi (Novikoff, Beaufay e De Duve 1956 [29]; Essner e Novikoff 1960 [30]).

È ben noto che i lisosomi, anche in uno stesso tipo cellulare, sono molto eterogenei dal punto di vista strutturale, ma, per quel che riguarda il fegato, vi sono alcune caratteristiche che possono dare almeno una buona probabilità di identificazione morfologica. Queste sono: la presenza di una membrana

singola alla periferia del granulo e l'accumulo di materiali caratteristici, come i fosfolipidi, organizzati a formare figure mieliniche (Daems e van Rijssel 1961 [31]), molecole di ferritina (Novikoff, Beaufay e De Duve 1956 [29]; Daems e van Rijssel 1961 [31]) e pigmenti biliari (Essner e Novikoff 1960 [3]). Tutte queste caratteristiche, morfologicamente riconoscibili, si osservano nei corpi densi peribiliari dell'ammocete, e si ritrovano anche nei grossi inclusi delle cellule epatiche della lampreda matura.

Nei fegati in cui sia in atto una stasi biliare, si ha un aumento di numero e di dimensioni dei corpi densi, che, dalla localizzazione peribiliare, si spargono per tutta la cellula (Essner e Novikoff 1960 [30]; Goldfischer, Arias, Essner e Novikoff 1962 [32]; Orlandi 1962 [33]). Nel caso del fegato della lampreda, il numero di questi granuli, e la concentrazione dei pigmenti biliari, raggiungono un livello eccezionale, senza che la cellula, in un primo tempo, ne appaia danneggiata, almeno da un punto di vista morfologico.

Sembra quasi che i corpi densi peribiliari, una volta formati, continuino ad accumulare le sostanze che dovrebbero essere escrete sotto forma di bile, ma che non possono più essere eliminate per la scomparsa delle vie biliari. Si verrebbero così a formare questi corpi residui (De Duve 1959 [34]), di enormi dimensioni, ma che conservano in parte la stessa struttura dell'organo da cui derivano. Naturalmente una possibile identificazione di questi inclusi, come lisosomi di dimensioni straordinarie, richiede che altre caratteristiche lisosomiali (come la presenza di fosfatasi acida) vengano accertate.

#### CONCLUSIONI.

Le cellule epatiche, nella larva della lampreda, mostrano soltanto delle scarse differenze ultrastrutturali, rispetto a quelle degli altri Vertebrati. Nell'adulto, invece, oltre alla scomparsa dei canalicoli biliari, si assiste all'accumulo di masse cospicue di prodotti biliari, che, dal punto di vista della loro ultrastruttura, possono essere paragonate, in via di ipotesi, a dei corpi densi peribiliari (lisosomi) enormemente accresciuti.

#### BIBLIOGRAFIA.

- [1] P. LANGERHANS, « Ber. Verh. Naturf. Ges. (Freiburg i. B.) » 6 (1876), cit. in [35].
- [2] A. SCHNEIDER, *Beiträge zur vergleichenden Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Wirbelthiere*, Berlin (1879), cit. in [35].
- [3] G. RETZIUS, « Biologische Untersuchungen », N. F., 4, 67 (1892).
- [4] J. HOLM, « Zool. Jahrb., Abt. Anat. », 10 (1897), cit. in [35].
- [5] L. DERVIEUX, « Boll. Musei di Zool. e Anat. comp. Univ. Torino », 13, n. 320 (1898).
- [6] H. BENGELSDORF e H. ELIAS, « Chicago med. Sch. Quart. », 12, 7 (1950).
- [7] H. ELIAS, « Biol. Rev. », 30, 263 (1955).
- [8] G. MINELLI e M. C. ROSSINI, « Boll. Zool. », 28, 449 (1961).

- [9] H. BENGELSDORF, «Anat. Rec.», 106, 175 (1950).
- [10] H. ELIAS e H. BENGELSDORF, «Acta Anat. (Basel)», 14, 297 (1952).
- [11] G. COTRONEI, «Rend. Acc. naz. Lincei», ser. 5<sup>a</sup>, 31, 132 (1922).
- [12] G. COTRONEI, «Rend. Acc. naz. Lincei», ser. 6<sup>a</sup>, 3, 767 (1926).
- [13] G. COTRONEI, «Pubbl. Staz. Zool. Napoli», 8, 71 (1927).
- [14] G. COTRONEI, «Pubbl. Staz. Zool. Napoli», 8, 371 (1927).
- [15] T. W. SHORE e H. L. JONES, «J. Physiol.», 10, 408 (1889).
- [16] A. KULJABKO, «Centralbl. f. Physiol.», 12, 38 (1898).
- [17] G. MILLONIG, *Electron Microscopy*, 5th Intern. Congr. for Electron Microscopy, Ed. S.S. Breese, Academic Press, New York-London (1962).
- [18] M. J. KARNOVSKY, «J. Biophys. Biochem. Cytol.», 11, 729 (1961).
- [19] M. G. FARQUHAR e G. E. PALADE, «J. Cell Biol.», 17, 375 (1963).
- [20] D. C. PEASE, «J. Biophys. Biochem. Cytol.», 2 Suppl., 203 (1956).
- [21] D. W. FAWCETT, «J. Natl. Cancer Inst.», 15, 1475, Suppl. (1955).
- [22] H. F. PARKS, Stockholm Confer. Electron Microscopy, 151, Academic Press, New York-London (1957).
- [23] L. STROPENI, «Boll. Soc. med. chir. Pavia», 146, cit. in [24].
- [24] H. L. WEATHERFORD, «Zeitschr. f. Zellforsch. u. mikr. Anat.», 15, 343 (1932).
- [25] R. SOLÈ e E. DE ROBERTIS, «Rev. Soc. Arg. Biol.», 11, 519 (1935).
- [26] A. J. DALTON e J. E. EDWARDS, «J. Natl. Cancer Inst.», 2, 565 (1942).
- [27] C. T. ASHWORTH e E. SANDERS, «Am. J. Pathol.», 37, 343 (1960).
- [28] J. P. DADOUNE, «Arch. Anat. micr. Morph. exp.», 52, 513 (1963).
- [29] A. B. NOVIKOFF, H. BEAUFAY e C. DE DUVE, «J. Biophys. Biochem. Cytol.», 2 Suppl., 179 (1956).
- [30] E. ESSNER e A. B. NOVIKOFF, «J. Ultrastruct. Res.», 3, 374 (1960).
- [31] W. TH. DAEMS e TH. G. VAN RIJSSEL, «J. Ultrastruct. Res.», 5, 263 (1961).
- [32] S. GOLDFISCHER, I. M. ARIAS, E. ESSNER e A. B. NOVIKOFF, «J. exp. Med.», 115, 467 (1962).
- [33] F. ORLANDI, «Acta Hepato-splenologica», 9, 155 (1962).
- [34] C. DE DUVE, in *Subcellular Particles*, 128, ed. Hayashi T., Ronald Press, New York (1959).
- [35] E. LÖNNBERG, G. FAVARO, B. MOZEJKO e M. RAUTHER, in *Bronn's Tier-Reich*, vol. 6, Leipzig (1924).

## SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I E II

### TAVOLA I.

Fig. 1. - Fegato di ammocete.

Al centro un canalicolo biliare (cb), intorno al quale sono disposte le cisterne dell'apparato di Golgi (G), dilatate al margine in vesciole piene di una sostanza densa. Si notano forme intermedie (freccia) tra le vesciole dell'apparato di Golgi ed i corpi densi peribiliari (cd). (× 20.000).

Fig. 2. - Fegato di ammocete. Superficie vascolare di una cellula epatica.

Tra la cellula endoteliale (E) del sinusoidale (Si) e l'epatocita, è presente una sostanza fibrosa, addensata a formare una sottile membrana basale (freccia). La membrana plasmatica della cellula epatica si introflette, formando dei compartimenti citoplasmatici (× 20.000).

## TAVOLA II.

Fig. 3. - Fegato di lampreda adulta. Due nuclei sono quasi a contatto senza che tra di essi sia possibile riconoscere un confine cellulare.

Nel citoplasma sono presenti dei grossi accumuli di prodotti biliari ( $\times 12.000$ ).

Fig. 4. - Fegato di lampreda adulta. Molecole di ferritina, aggregate in forma cristallina.

Questo tipo di aggregato è frequente all'interno dei corpi di inclusione ( $\times 48.000$ ).

Fig. 5. - Fegato di lampreda adulta.

Corpo di inclusione costituito da una figura mielinica e da una zona di materiale finemente granulare ( $\times 48.000$ ).

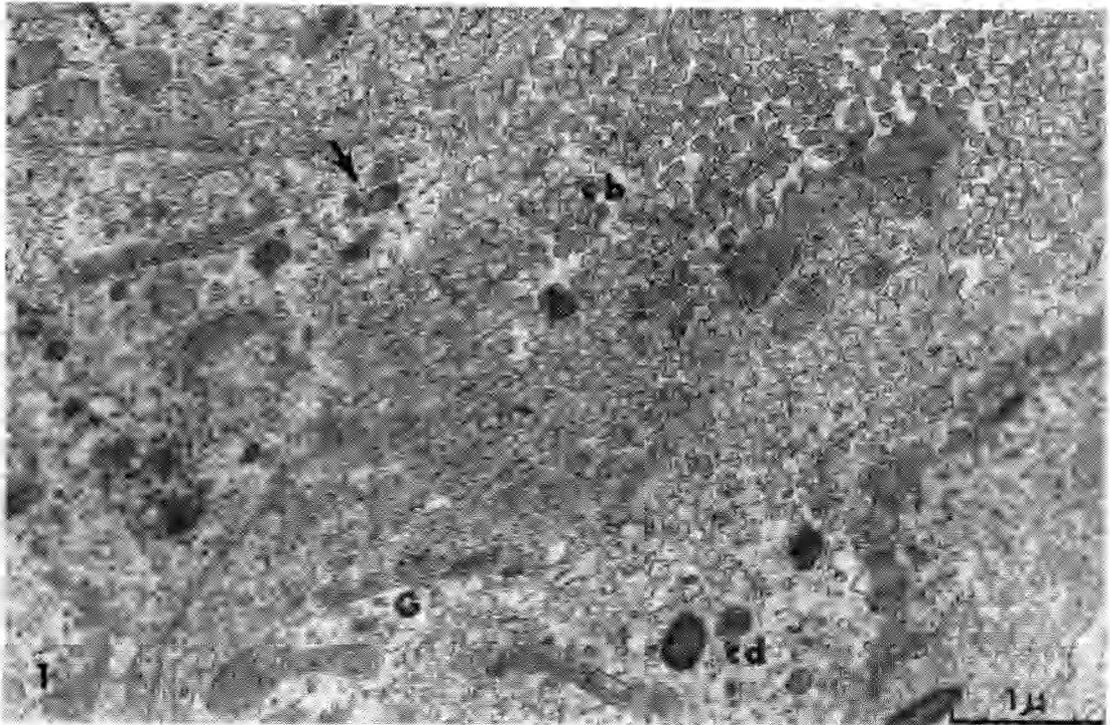


Fig. 1.

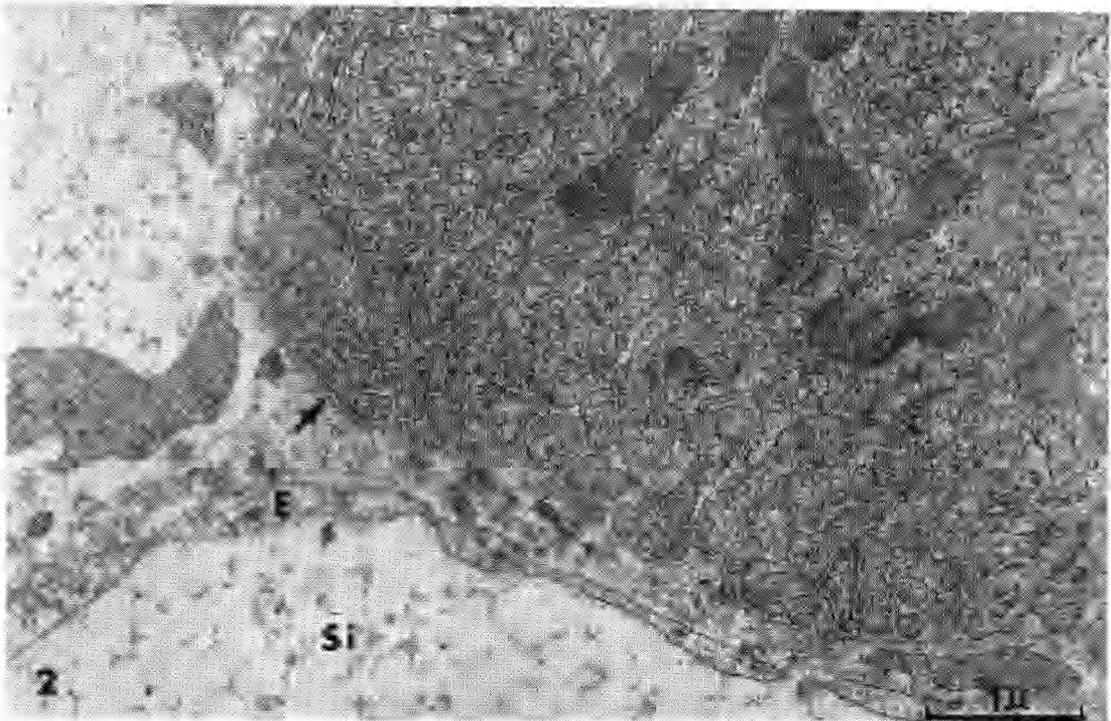


Fig. 2.

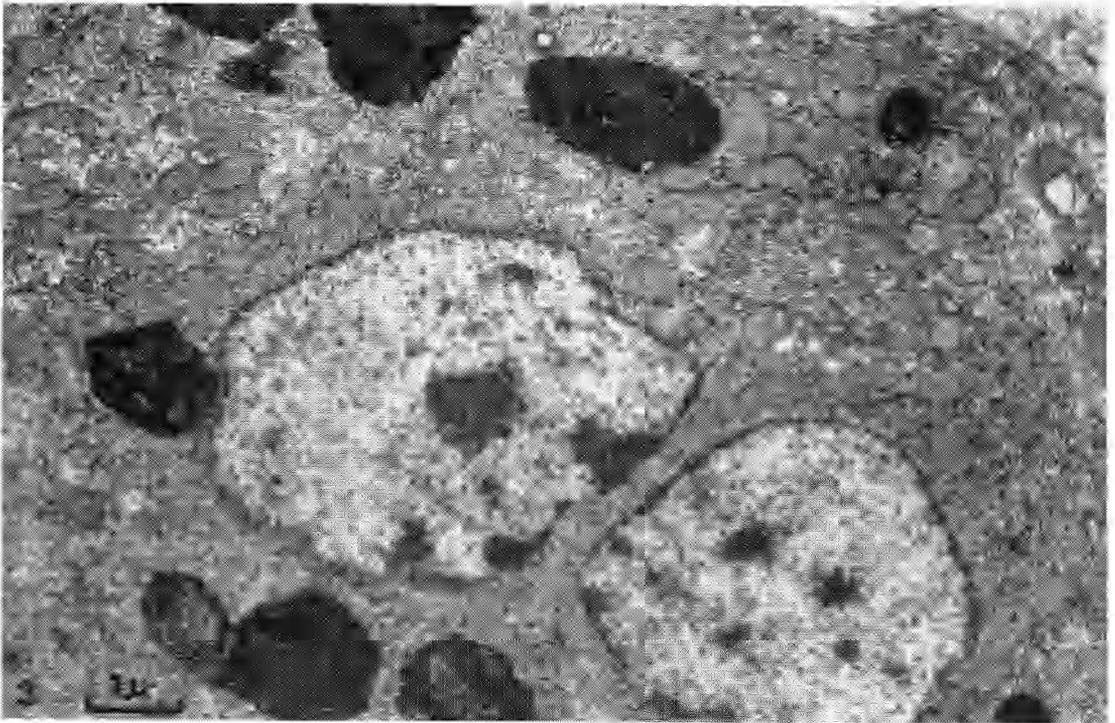


Fig. 3.



Fig. 4.

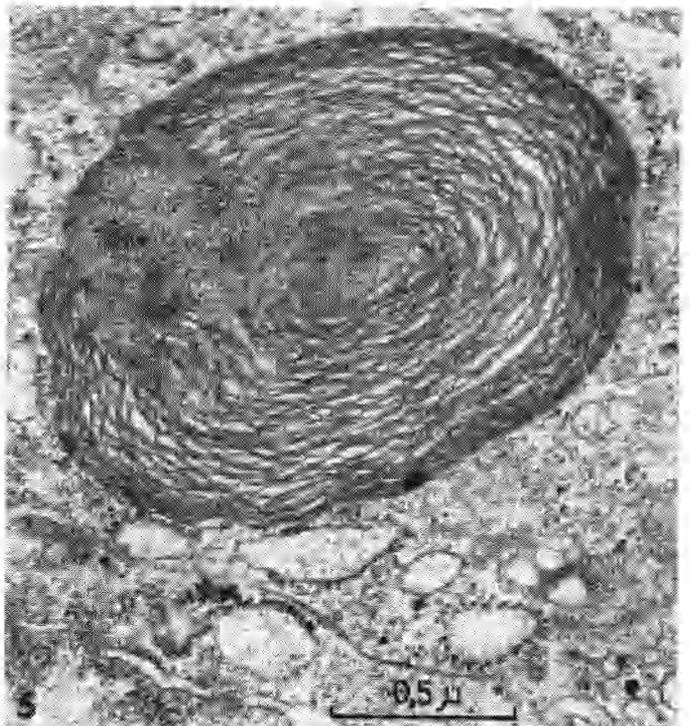


Fig. 5.