
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

GIULIO LANZAVECCHIA, COSTANTINO MANGIONI

Osservazioni sul meccanismo di unione delle cellule intestinali umane

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 38 (1965), n.2, p. 264–268.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1965_8_38_2_264_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 sul meccanismo di unione delle cellule intestinali umane* (*). Nota di GIULIO LANZAVECCHIA e COSTANTINO MANGIONI (**), presentata (***) dal Corrisp. S. RANZI.

Recentemente André [1] ha messo in evidenza che le cellule dell'epididimo di topo, di forma prismatica, si uniscono tra di loro lungo gli spigoli, per mezzo di particolari pieghe. Le cellule restano in tal modo ingranate a tre a tre, mediante delle specie di lamine citoplasmatiche ripiegate ad uncino, e disposte simmetricamente tra di loro. Questo tipo di unione cellulare viene chiamato da André « replis en crochet », e secondo tale Autore dovrebbe essere comune a molti epiteli cubici e prismatici. In questa zona inoltre il citoplasma dovrebbe essere particolarmente gelificato, e quindi rigido, in modo da conferire una certa stabilità al sistema di connessione. Sebbene non sia possibile dimostrare la realtà di una simile supposizione, è interessante ricordare che il citoplasma all'interno delle pieghe ad uncino si differenzia morfologicamente da quello del resto della cellula, essendo completamente privo di ogni sorta di organuli. Il fatto che le pieghe ad uncino siano sempre presenti, anche nei casi di massima distensione cellulare, fa effettivamente presumere che si tratti di un sistema abbastanza rigido. André fa ancora notare che la profondità di questi ingranamenti cellulari appare massima verso la base della cellula, e diminuisce gradatamente verso il margine libero, ove tuttavia si osservano altri sistemi di ancoraggio cellulare, e cioè barre terminali (o giunzioni pentalaminari) e desmosomi: questi tipi di giunzione tuttavia uniscono le cellule a due a due, e non a tre a tre, come avviene per il sistema di connessione con pieghe ad uncino. È da rilevare che in altri tipi cellulari sono stati rinvenuti dei tratti pentalaminari, anche in lontananza del margine libero [2, 3, 4, 5], ma comunque non in rapporto con le pieghe ad uncino.

Frammenti di epitelio intestinale umano normale (tratto sigma-colico), prelevati mediante biopsia, sono stati fissati in acido osmico tamponato secondo Millonig [6] (tale fissazione è stata talvolta preceduta da prefissazione con aldeide glutarica: i risultati ottenuti sono identici nei due casi, almeno per ciò che si riferisce alle membrane cellulari ed alle giunzioni). L'inclusione è stata effettuata in Vestopal W. Le sezioni, ottenute con l'Ultrotome LKB, dopo colorazione con citrato di piombo [7], sono state osservate con il microscopio elettronico Hitachi HS-7.

(*) Lavoro eseguito dal Gruppo di Ricerca per l'Embriologia del C.N.R., per lo studio del Differenziamento, nell'Istituto di Zoologia dell'Università statale di Milano (Sezione di Microscopia elettronica, « Fondazione Carlo Erba »).

(**) Indirizzo attuale di C. Mangioni: Clinica Ostetrica e Ginecologica dell'Università di Sassari.

(***) Nella seduta del 13 febbraio 1965.

Nell'epitelio intestinale umano (tratto sigma-colico) abbiamo potuto mettere in evidenza un complesso sistema di ingranamenti cellulari: le membrane sono fortemente ripiegate, per cui le cellule adiacenti risultano strettamente legate tra di loro (Tav. I, fig. A). Ci è anche stato possibile osservare con notevole frequenza dei punti di contatto fra tre cellule, ove le membrane appaiono confluire con una certa regolarità verso un unico punto. Giunzioni di questo tipo hanno una morfologia strettamente assimilabile a quella delle pieghe ad uncino descritte da André. Inoltre, in accordo con quanto è stato messo in evidenza da questo Autore nell'epitelio dell'epididimo del topo, anche nelle cellule intestinali la profondità delle pieghe sui lati cellulari, va aumentando dall'apice verso la base della cellula. In più, dalla parete laterale delle cellule, si spingono numerose digitazioni citoplasmatiche uncinatae, che sembrano ripiegarsi prevalentemente verso la base o l'apice della cellula, decorrendo parallelamente all'asse di questa, almeno per quanto è possibile giudicare dalle immagini ottenute, le quali, a causa della estrema complessità degli ingranamenti cellulari, non consentono una loro ricostruzione tridimensionale sicura. È tuttavia chiaramente dimostrabile che queste digitazioni ad uncino vengono ad essere completamente avvolte da due espansioni laminari della cellula adiacente, che le avvolgono a guisa di pseudopodi, senza tuttavia che le loro estremità si fondano (Tav. II, fig. C). Esse peraltro giungono in contatto tra di loro, e le due membrane cellulari restano vicine l'una all'altra. Si viene cioè a realizzare un contatto tra due parti della medesima cellula. Oltre alla presenza di questi ingranamenti cellulari, abbiamo potuto osservare, in una zona che corrisponde pressapoco al terzo basale dell'epitelio, una grande quantità di tratti pentalaminari, che sono invece del tutto assenti nei due terzi superiori dei limiti cellulari, ad eccezione del breve tratto in prossimità del margine libero, e noto come barra terminale.

La membrana cellulare, sui lati delle cellule intestinali, mostra una tipica struttura trilaminare (Unit membrane di Robertson [8]), ed ha uno spessore complessivo dei tre strati di 80–90 Å. Presenta quindi le stesse dimensioni osservate da Farquhar e Palade [9] e da Sjöstrand [10] su intestino di ratto, mentre differisce da quella presente sul margine libero cellulare, il cui spessore varia, secondo i diversi Autori [9, 10, 11, 12, 13], tra 95 e 120 Å. Le membrane di due cellule adiacenti ci sono apparse perfettamente parallele tra di loro, e separate da uno spazio trasparente agli elettroni di spessore regolarmente costante, il cui valore oscilla tra 60 e 70 Å. Lo spessore complessivo di due membrane cellulari adiacenti è di conseguenza compreso tra 230 e 250 Å, misura che corrisponde perfettamente a quella osservata da Sjöstrand e Elfvin [2] nel pancreas esocrino, mentre lo stesso Sjöstrand [10] nell'intestino di ratto osserva che lo spazio intercellulare è sempre molto più grande di quello osservato nel pancreas, è di spessore irregolare, e raggiunge i massimi valori durante l'assorbimento dei lipidi (l'autore non indica i più alti valori osservati: fa solo notare che in animali che si nutrono, nei tratti dove gli spazi intercellulari raggiungono la loro ampiezza minima, la distanza tra le membrane cellulari di due cellule vicine è compresa tra 200 e 300 Å). È impossibile dare

una spiegazione a queste osservazioni così discordanti: non va però dimenticato che le attuali tecniche di fissazione ed inclusione non sempre sono in grado di garantire contro eventuali alterazioni ultrastrutturali, osservabili alle più elevate risoluzioni, ed in particolare contro scollamenti di cellule adiacenti.

A livello delle giunzioni pentalaminari, lo spessore complessivo delle due membrane cellulari, è risultato di circa 160 Å, valore che corrisponde in modo perfetto a quello riscontrato da vari Autori su diverso materiale. Espresse in termini di organizzazione di molecole, le giunzioni pentalaminari consistono essenzialmente in una fusione delle lamine esterne proteiche di due membrane appartenenti a due cellule diverse adiacenti tra di loro. Come è noto la membrana cellulare è costituita da due strati proteici paralleli tra di loro, separati da un doppio strato di fosfolipidi orientati perpendicolarmente alla membrana cellulare, e disposti in modo da avere i gruppi idrofili orientati verso gli strati proteici, ed i gruppi lipofili internamente, affacciati tra di loro [8]. Nella giunzione pentalaminare si viene ad avere la seguente successione di strati: proteine, fosfolipidi, proteine, fosfolipidi, proteine. Lo strato centrale di proteine viene quindi ad essere comune alle due membrane cellulari, e pertanto le due cellule, nelle zone di giunzione pentalaminare, sono effettivamente fuse tra di loro. Nella fig. 1 vengono schematicamente illustrati i rapporti che le cellule dell'intestino assumono tra di loro a livello degli ingranamenti cellulari, e l'organizzazione molecolare sia delle membrane cellulari che delle giunzioni pentalaminari.

La lunghezza dei tratti pentalaminari è molto variabile nelle diverse immagini ottenute, e può variare da poche centinaia di Å fino a 2 o 3 μ . Essa tuttavia, entro certi limiti, è dipendente dal piano della sezione rispetto all'asse cellulare. In sezioni condotte più o meno parallelamente all'asse della cellula, i tratti pentalaminari raggiungono le massime lunghezze, mentre se la sezione è perpendicolare all'asse cellulare, e cioè taglia trasversalmente le pieghe ad uncino ingranate tra di loro lungo gli spigoli delle cellule, o le digitazioni uncinatate precedentemente descritte, essi appaiono solo in brevi tratti dei confini cellulari, in vicinanza al cardine delle tre membrane (Tav. II, fig. B e C). Questo fa presumere che le giunzioni pentalaminari assumano l'aspetto di elementi nastriformi, disposti parallelamente all'asse della cellula, e non invece ad anello, come avviene per le barre terminali.

La funzione della barra terminale, così come è stata brillantemente indicata da Miller [14] e soprattutto da Furquhar e Palade [9], è quella di costituire una sorta di rete continua che unisce tutte le cellule epiteliali adiacenti, in prossimità del loro margine apicale. Essa, per la sua particolare struttura molecolare, si oppone ad ogni diffusione lungo i margini cellulari. La sua funzione appare immediatamente evidente e logica in quegli epiteli che hanno lo scopo di creare o di mantenere un determinato dislivello osmotico o ionico. È evidente tuttavia che le barre terminali, sempre a causa della loro struttura, devono contribuire a tenere unite tra di loro le cellule adiacenti. Per quanto si riferisce alle giunzioni pentalaminari poste sui lati delle cellule intestinali,

in considerazione della loro presumibile disposizione, non sembra che possano contribuire alla costituzione di una barriera contro la diffusione di sostanze attraverso il sottile spazio esistente tra due cellule epiteliali adiacenti. È invece

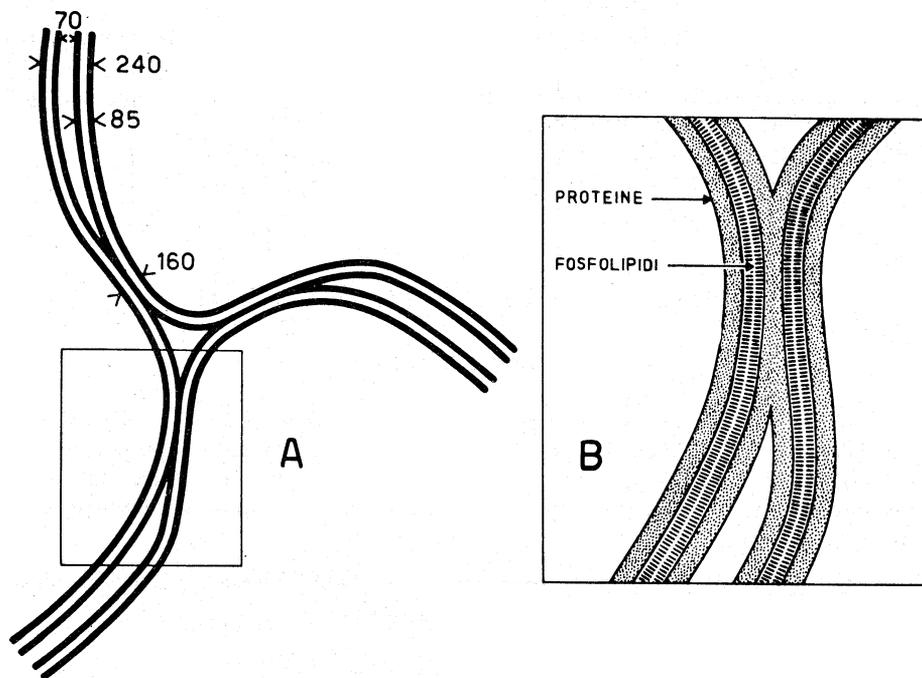


Fig. 1. — Illustrazione schematica dei rapporti che le cellule intestinali assumono tra di loro, a livello degli ingranamenti cellulari.

A: aspetto delle giunzioni pentalaminari in prossimità del cardine di unione fra tre cellule: le misure indicate sono espresse in Å. Ingrandimento approssimativo $\times 500.000$. — B: particolare dello schema A, illustrante l'organizzazione molecolare delle proteine e dei fosfolipidi, sia nei tratti normali delle membrane che a livello delle giunzioni pentalaminari. Ingrandimento approssimativo $\times 1.600.000$.

più verosimile attribuire a questi tratti di giunzione pentalaminare, la funzione di contribuire insieme alla pieghe ad uncino ed agli ingranamenti cellulari di vario aspetto, al mantenimento di una più stretta aderenza tra le cellule intestinali, insieme ad alcuni rari desmosomi, che sono talvolta osservabili anche in queste zone.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] J. ANDRÉ, « J. de Microscopie », 2, 183 (1963).
- [2] F. S. SJÖSTRAND e L. G. ELFVIN, « J. Ultrastructure Research », 7, 504 (1962).
- [3] H. E. KÄRRER, « J. Biophysic. and Biochem. Cytol. », 7, 181 (1960).
- [4] H. E. KÄRRER, « J. Biophysic. and Biochem. Cytol. », 8, 135 (1960).
- [5] M. M. DEWEY e L. BARR, « Science », 137, 670 (1962).
- [6] G. MILLONIG, *V Inter. Congr. Electr. Micr., Philadelphia*, Academic Press, New York, 2, P-8 (1962).

- [7] E. S. REYNOLDS, « J. Cell. Biol. », 17, 208 (1963).
 [8] J. D. ROBERTSON, in *Cellular Membranes in Development*, M. Locke Ed., Academic Press, New York and London, p. 1 (1964).
 [9] G. M. FARQUHAR e G. E. PALADE, « J. Cell. Biol. », 17, 375 (1963).
 [10] F. S. SJÖSTRAND, « J. Ultrastructure Research », 8, 517 (1963).
 [11] F. S. SJÖSTRAND e H. ZETTERQVIST, Electron microscopy, *Proc. Stockholm Conf.*, 1956, p. 150 (1957).
 [12] H. ZETTERQVIST, *The ultrastructural organization of the columnar absorbing cells of the mouse jejunum*, Thesis, Stockholm (1956).
 [13] P. F. MILLINGTON e J. B. FINEAN, « J. Cell Biol. », 14, 125 (1962).
 [14] F. MILLER, « J. Biophysic. and Biochem. Cytol. », 8, 689 (1960).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I E II

TAVOLA I.

Le microfotografie sono state eseguite con il microscopio elettronico Hitachi HS-7, su materiale fissato in acido osmico (in qualche caso prefissato con glutaraldeide), ed incluso in Vestopal W. Il materiale è stato prelevato mediante biopsia, dal tratto sigma-colico dell'intestino umano (perfettamente normale all'analisi istologica) durante interventi operatori di eviscerazione pelvica.

Fig. A - Sezione condotta trasversalmente all'asse maggiore cellulare. Sono chiaramente visibili i complessi ingranamenti cellulari. $\times 30.000$.

TAVOLA II.

Valgono per questa tavola le indicazioni della tavola precedente.

Fig. B - Aspetto a forte ingrandimento dei limiti cellulari. Sezione quasi perpendicolare all'asse maggiore della cellula. Sono chiaramente visibili la struttura della membrana cellulare, ed in prossimità del cardine di giunzione fra tre cellule (\nearrow), dei tratti pentalaminari (\nearrow) $\times 150.000$.

Fig. C - Aspetto a forte ingrandimento dei limiti cellulari. Sezione obliqua. È visibile una digitazione uncinata (a) avvolta dalle pieghe di una medesima cellula (b). In prossimità del punto da cui le membrane cellulari si dipartono a costituire una specie di Y, sono visibili dei tratti pentalaminari (\nearrow). Altri tratti pentalaminari di varia lunghezza sono visibili altrove (\nearrow) $\times 150.000$.

