
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

RICARDO MALDONADO

Studio al microscopio elettronico del muscolo liscio del piede del *Concholepas concholepas*

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 40 (1966), n.4, p. 692–696.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1966_8_40_4_692_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. — *Studio al microscopio elettronico del muscolo liscio del piede del Concholepas concholepas* (*). Nota di RICARDO MALDONADO (**), presentata (***) dal Corrisp. A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The substructure of the smooth fibres of the foot muscle of the Gasteropod mollusc *Concholepas concholepas* has been studied with the electron microscope. Two types of myofilaments are described: thick filaments (600–1700 Å) and thin filaments (45–70 Å). The thick myofilaments show a striated structure with periodicity of 150 Å; the thin myofilaments are interconnected by anastomotic bridges orthogonally arranged to the main axis of the fiber cell.

Lo studio della morfologia, istochimica e biochimica del *Concholepas concholepas*, mollusco gasteropode che si trova soltanto tra i gradi 10 e 55 di latitudine sud dell'Oceano Pacifico — costa cilena e peruviana — è stato incominciato pochi anni orsono [16, 17, 18, 19, 20, 21]. Data questa caratteristica ubicazione geografica e la non completamente chiara classificazione nella sistematica (Muridaceas), abbiamo voluto contribuire con questo studio ultramicroscopico della muscolatura liscia, alla miglior conoscenza della sua morfologia, fornendo nuovi dati per la sua migliore classificazione.

Piccoli pezzi del piede del mollusco preso *in vivo* furono preparati nella seguente forma:

1° prefissazione in gluteraldeide, fissazione in OsO₄ all'1% in tampone Millonig [15] pH 7,3; inclusione in Vestopal; colorazione con Pb secondo Karnovsky [13];

2° prefissazione in gluteraldeide, fissazione in OsO₄ all'1% in tampone Millonig pH 7,3; inclusione in Durcupan — Acetato Uranile; colorazione con Pb secondo Karnovsky;

3° fissazione in OsO₄ all'1% in tampone Palade [9] pH 7,5; inclusione in Durcupan — Acetato Uranile; colorazione con Pb secondo Karnovsky;

4° fissazione in OsO₄ all'1% in tampone Millonig pH 7,3; inclusione Durcupan — Acetato Uranile; colorazione con Pb secondo Karnovsky.

Sezioni con l'Ultratome LKB e fotografie con il Microscopio Elettronico Hitachi HU-II, a 75 kV di accelerazione.

Il piede di questi molluschi, grosso e alquanto forte, con un peso medio da 700 a 100 gr è costituito da abbondanti fasci di fibre muscolari lisce incro-

(*) Questo lavoro si è svolto all'Istituto di Anatomia Comparata « G. B. Grassi » (direttore, prof. Alberto Stefanelli), grazie all'aiuto economico del C.N.R. Il materiale osservato fu preparato in Cile dalla sig.na H. San José ed inviato a Roma.

(**) I miei sinceri ringraziamenti al prof. Alberto Stefanelli il cui invito rese possibile questa investigazione. Come pure la mia gratitudine alla dott.ssa S. Caravita e al dott. B. Bertolini per l'aiuto prestato.

(***) Nella seduta del 16 aprile 1966,

ciate in diverse direzioni e sostenute da una trama di fine tessuto connettivo, più o meno abbondante, secondo la regione che viene considerata [20].

Osservando questa muscolatura liscia, al microscopio elettronico, si vede che è costituita da due tipi di miocellule: alcune, di colore scuro, presentano scarso sarcoplasma ed una notevole abbondanza di miofilamenti, organizzati in forma parallela all'asse della miocellula; mentre le altre hanno una colorazione più chiara grazie alla maggior quantità di sarcoplasma indifferenziato, nel quale i miofilamenti, in numero minore, sono raggruppati nella zona centrale o, a volte, spostati verso un lato periferico (Tav. I, figg. 1-2).

In queste ultime miocellule, più chiare, si può evidenziare più facilmente la struttura cellulare interna (Tav. I, fig. 2).

La fibrocellula è circondata da una membrana netta - il sarcolemma - la cui struttura è stata studiata da Robertson nel 1957. Questo sarcolemma presenta numerose inflessioni nel corpo cellulare, che vengono occupate da espansioni del tessuto connettivo, che forma la trama di sostegno. Si osservano anche delle vescichette di diversa misura, intracellulari e vicine al sarcolemma, circondate anch'esse da una membrana composta da un solo strato. Fra queste vescichette se ne trovano alcune che potrebbero identificarsi con fenomeni di pinocitosi (Tav. I, figg. 1-2).

Numerosi mitocondri di diversa misura ($0,8-1,5 \mu$) si trovano alla periferia delle miocellule e nel sarcoplasma indifferenziato che circonda i nuclei (Tav. II, fig. 3). Di rado si trovano nello spessore della fibrocellula fra i miofilamenti (Tav. II, fig. 4).

Nel sarcoplasma interfilamentoso è notevole una grande quantità di glicogeno disposto in piccoli granuli, o in modo tale da formare delle catene tra i filamenti o dei grandi conglomerati attorno ai mitocondri o vicino alla periferia cellulare (Tav. I, fig. 1; II, fig. 3; III, figg. 5-6).

Tanto nei tagli trasversali che longitudinali del materiale studiato, è da notare l'esistenza di due tipi di miofilamenti, che si distinguono per la diversità dei loro rispettivi diametri e disposizione entro la cellula [1-6-12-14]. (Tav. I, fig. 2 e inserto).

I filamenti grossi, il cui diametro è variabile dai 600 a 1770 Å, sono al taglio trasversale, ovoidi o leggermente angolosi. Sono disposti parallelamente fra loro, percorrendo il corpo cellulare nel senso del suo asse. Presentano una periodicità lungo l'asse di 150 Å, simile a quella descritta per il *Mytilus*, *Griphaea*, *Patella* ed *Helix pomatia*. Periodicità che appare formando angolo retto con l'asse del filamento, o altrimenti in forma obliqua (Tav. III, fig. 5).

Fra i miofilamenti grossi si nota una rete di filamenti fini, da 45 a 70 Å (Tav. I, fig. 2); alcuni degli elementi che formano questa rete, prendono una direzione parallela ai filamenti grossi; altri invece, si connettono perpendicolarmente coi filamenti grossi, congiungendoli tra loro.

Nei preparati dove abbiamo avuto occasione di osservare sezioni di nuclei, questi presentano grandi dimensioni: 10 μ di lunghezza; si trovano alla periferia della cellula muscolare e sono circondati da una doppia mem-

brana con una cisterna molto ampia. La membrana interna è liscia, l'esterna invece è irregolare ed entrambe si uniscono nella delimitazione dei numerosi pori nucleari.

Il karioplasma presenta piccoli granuli di materiale osmiofilo che si condensano formando grossi grumi distribuiti di solito nella periferia dei nuclei. Il nucleolo è formato da particole dense, a volte unico ed a volte molteplici.

I nuclei appaiono circondati da un sottile strato di citoplasma. In esso si notano il reticolo endoplasmico e delle vescichette chiare di diversa misura. Per la sua porzione profonda, il nucleolo si trova in diretta relazione col sarcoplasma ed i miofilamenti. I nuclei presentano cumuli di granuli di sostanza osmiofila, che si condensano nella regione vicina alla membrana nucleare (Tav. III, fig. 6).

Tra le cellule muscolari, da noi osservate, non sono state trovate zone di contatto intimo intracellulare. Tra due miocellule, anche nella regione di maggior vicinanza, esiste uno spazio occupato da tessuto connettivo. Questo connettivo presenta, oltre le fibre collegate dotate dalla loro caratteristica periodicità, corpi cellulari nel cui citoplasma si osservano il reticolo endoplasmico, ribosomi liberi, numerosi mitocondri e dei corpi densi agli elettroni, somiglianti a lisosomi o «microbodies».

D'altra parte non abbiamo potuto identificare chiaramente delle strutture che possano interpretarsi come terminazioni nervose oppure come elementi vascolari. Studi in svolgimento chiariranno queste incognite.

In conclusione l'ultrastruttura del muscolo del piede del *Concholepas concholepas* è diversa da quella osservata nel *Mytilus*, *Patella*, *Solen*, *Griphaea* ed altri molluschi studiati, principalmente per disposizione dei suoi miofilamenti. Rassomiglia, invece, alla forma trovata nel *Murex*.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] J. HANSON e J. LOWY, *Structure of smooth muscle*, «Nature», 180, N° 4592, 906 (1957)
- [2] HANSON, LOWY, HUXLEY, BAILEY, KAY e RÜEGG, *Structure of molluscan paramyosin*, «Nature», 180, N° 4595, 1134 (1957).
- [3] J. HANSON, *The structure of the smooth muscle fibers in the body wall of the earthworm*, «J. Biophys. and Biochem. Cytol.», 3, 111 (1957).
- [4] B. C. ABBOT e J. LOWY, *Contraction in molluscan smooth muscle*, «The Journal of Physiology», 141, N° 3, 385 (1958).
- [5] C. F. SHOENBERG, *An electron microscope study of smooth muscle in pregnant uterus of rabbit*, «J. Biophys. and Biochem. Cytol.», 5, 609 (1958).
- [6] J. HANSON e J. LOWY, *Structural features relating to the mechanism of tonic contraction in certain molluscan smooth muscle*, «Proc. Physiological Soc.», 149, 31 P (1959).
- [7] J. HANSON e J. LOWY, *Evidence for a sliding filament contractile mechanism in tonic smooth muscle of lamellibranch molluscs*, «Nature», 184, N° 4682, 286 (1959).
- [8] J. C. TAEMERT, *Intracellular bridges of protoplasm anastomoses between smooth muscle cells*, «J. Biophys. and Biochem. Cytol.», 6, 67 (1959).
- [9] G. E. PALADE, *A study of fixation for electron microscopy*, «J. Exp. Med.», 95, 285 (1959).

- [10] J. S. KAHN e W. H. JOHNSON, *The localization of myosin and paramyosin in the myofilaments of the byssus retractor muscle of Mytilus edulis*, « Archives of Biochemistry and Biophysics », 86, 138 (1960).
- [11] J. C. RÜEGG, *On the tropomyosin-paramyosin system in relation to the viscous tone of lamellibranch « catch » muscle*, « Proc. Royal Soc. of London », B, 154, N° 955, 224 (1961).
- [12] J. HANSON e J. LOWY, *The structure of the muscle fibers in the translucent part of the adductor of the oyster Crassostrea angulata*, « Proc. Royal Soc. of London », B 154, N° 955, 173 (1961).
- [13] J. MORRIS KARNOVSKY, *A simple method for « staining with lead » at high pH in electron microscopy*, « J. Biophys. and Biochem. Cytol. », 11, 729 (1961).
- [14] J. LOWY e J. HANSON, *Ultrastructure of invertebrate smooth muscles* « Physiological Reviews », Supl. 5, 42, Parte II, 34 (1962).
- [15] G. MILLONIG, *Electron Microscopy*; 5th International Congress for Electron Microscopy. Ed. S.S. Breese, Academic Press New York - London 1962.
- [16] C. CORI, A. MORÁN, MONTERRAT TETAS e F. MARCUS, *Phosphorous metabolism in the foot muscle of a marine Gastropod*. Laboratorio de Bioquímica General (de la Facultad de Química y Farmacia y Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile). Comunicación personal; 1965.
- [17] L. BURZIO, *Estudio de la succínico deshidrogenasa en el corazón aislado de Concholepas concholepas*, « Archivos de Biología y Medicina Experimentales », 2, N° 2-3 (1965).
- [18] N. CARVAJAL e A. MORÁN, *Estudio de las particular aisladas de hepatopáncreas de Concholepas concholepas*, « Archivos de Biología y Medicina Experimentales », 2, N° 2-3 (1965).
- [19] A. MORÁN, S. MASSONE, R. R. GONZÁLEZ e A. L. PAVESI, *Aspectos del metabolismo glucídico en el hepatopáncreas de Concholepas concholepas (loco)*, « Archivos de Biología y Medicina Experimentales », 2, N° 2-3 (1965).
- [20] J. MALDONADO, *Estudio anatómico, histológico e histoquímico de Concholepas concholepas. Vulgo loco*, « Revista de Biología Marina », XII, Nos. 1, 2 e 3, 128 (1965).
- [21] A. STEFANELLI e R. MALDONADO, *La substruttura del muscolo liscio di molluschi Lamellibranchi e Gasteropodi* (in corso di stampa in « Boll. Zool. », [1965]).
- [22] S. V. PERRY e J. COTTERIL, *Interaction of actin and myosin*, « Nature », 206, N° 4980, 161 (1965).
- [23] F. SHOENBERG, *Contractile proteins of vertebrate smooth muscle*, « Nature », 206, N° 4983, 526 (1965).
- [24] L. MULLINS e W. GUNTHEROTH, *A collagen net hypothesis for force transference of smooth muscle*, « Nature », 206, N° 4984, 592 (1965).
- [25] B. M. MILLMAN e G. F. ELLIOT, *X-ray diffraction from contracting molluscan muscle*, « Nature », 206, N° 4986, 824 (1965).
- [26] W. BRANDT, J. P. REUBEN, L. GIRARDIER e H. GRUNDFEST, *Correlated morphological and physiological studies on isolated single muscle fibers*, « Journal of Cell Biology », 25, N° 3 Parte 2, 233 (1965).
- [27] J. ROSENBLUTH, *Smooth muscle: An ultrastructural basis for the dynamics of its contraction*, « Science », 148, N° 3675, 1337 (1965).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-III

TAVOLA I.

- Fig. 1. - Muscolo del piede di *Concholepas concholepas*. Miocellule scure e chiare. Taglio leggermente obliquo, longitudinale e trasversale. Prefissato G. A.; OsO₄; Vestopal; Pb.
- Fig. 2. - Muscolo del piede di *Concholepas concholepas*. Taglio trasversale. Tessuto connettivo intercellulare. Prefissato G. A.; OsO₄; Vestopal; Pb.-Inserito: Particolare di fig. 2. Miofilamenti grossi e fini (freccia).

TAVOLA II.

- Fig. 3-4. - Muscolo del piede di *Concholepas concholepas*. Mitochondri e granuli di glicogeno. Prefissato G.A.; OsO₄; Vespotal; Pb.

TAVOLA III.

- Fig. 5. - Muscolo del piede di *Concholepas concholepas*. Sezione longitudinale. Notare la periodicità di struttura dei miofilamenti grossi.
- Fig. 6. - Muscolo del piede di *Concholepas concholepas*. Nucleo, nucleolema, pori nucleari e citoplasma perinucleare. Prefissato G.A.; OsO₄; Durcupan - Acetato Uranile; Pb.





