
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

MARINA CAMATINI, GIULIO LANZAVECCHIA

**Rilievi ultrastrutturali sulle branchie dei Pesci. -
Nota II. L'asse vascolare**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 40 (1966), n.5, p. 940-946.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1966_8_40_5_940_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. — *Rilievi ultrastrutturali sulle branchie dei Pesci* (*). —
Nota II. *L'asse vascolare*. Nota di MARINA CAMATINI e GIULIO LANZAVECCHIA, presentata (**) dal Corrisp. S. RANZI.

SUMMARY. — The blood capillary forms the axis of the secondary lamella. It is kept open by a particular kind of cells, i.e. the so-called Bietrix pillar cells, between which the blood circulates. These cells are column-shaped and support the two sides of the secondary lamella. They also have laminar extends at each end. The cylindrical body of the pillars contains the nucleus, and reaches the two basal laminae. The pillar cells have a large nucleus, the cytoplasm is generally scanty, and the organula are never well distinguished. These cells are evenly distributed, so that, in section cut parallel to the lamella development (fig. 3), one can see the blood flowing through a round meshed lattice composed of pillar cells. Therefore the blood flows through cavities bordered merely by these cells, which are endothelial. The pillar cells follows directly the endothelium of the afferent and efferent lamella vessels. Between the epithelium and the vascular axis there is a basal membrane, which delineates the whole length of the blood capillary, penetrating within the gill filament for a tract corresponding to the thickness of the filament body epithelium. The basal membrane shows some tubular indentations, which penetrate within the pillar cells cytoplasm. Nevertheless these extends are not endocellular, since they are clearly delimited by the plasma membrane.

L'asse vascolare della lamella respiratoria appare morfologicamente costituito da una cavità appiattita delimitata da espansioni laminari di cellule, i cui corpi contenenti il nucleo fungono da pilastri di sostegno (cellule a pilastro o di Bietrix ⁽¹⁾) e mantengono beante la cavità stessa (Tav. I, figg. 1, 3). Si viene a determinare, per la presenza di questi pilastri, una sorta di camera a maglie irregolari (Tav. IV, fig. 12) entro cui passano il plasma e gli elementi figurati del sangue. Questa cavità comunica da un lato con l'arteriola afferente che corre lungo il foglietto branchiale, e dall'altro lato riversa il sangue ossigenato nella arteriola efferente che decorre parallelamente alla prima (Tav. III, fig. 8). L'anatomia microscopica di tale asse vascolare risulta chiara osservandone l'aspetto di sezioni condotte secondo tre piani ortogonali dello spazio, le cui orientazioni rispetto alla lamella respiratoria sono indicate nella fig. 1. Nelle figg. 2 e 3 per contro, vengono raffigurati schematicamente gli aspetti della lamella respiratoria, in particolare dell'asse vascolare, in sezioni condotte secondo i piani indicati.

Le immagini osservabili nelle sezioni condotte secondo i piani *a* (fig. 2) e *b* sono pressapoco equivalenti tra di loro, e mostrano l'asse vascolare come una camera molto espansa e appiattita, le cui pareti superiore ed inferiore

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Zoologia dell'Università di Milano dal Gruppo di Ricerca per l'Embriologia del C.N.R.

(**) Nella seduta del 14 maggio 1966.

(1) E. BIETRIX, *Étude de quelques faits relatifs à la morphologie du système circulatoire du réseau branchial des Poissons*, These Masson, Paris, 54 pp. (1895).

sono chiaramente rappresentate dalle espansioni laminari delle cellule di Bietrix. Nella sezione condotta secondo il piano *c*, tangente allo sviluppo laminare dell'asse vascolare (fig. 3), questo appare limitato lateralmente da

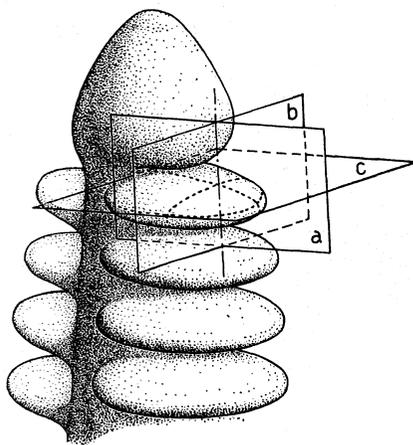


Fig. 1. - Aspetto tridimensionale (schematizzato) di una porzione di foglietto branchiale.

Vengono indicate le caratteristiche spaziali dei tre piani *a*, *b*, e *c* rispetto ad una lamella respiratoria.

una corona di cellule a mutuo contatto tra di loro, sempre rappresentate in sezioni nella parte che comprende il nucleo, mentre l'area interna della cavità sanguigna presenta i profili di numerosi pilastri (all'interno dei quali è raffigurato il nucleo) disposti in maniera irregolare; tra questi sono visibili numerosi globuli rossi spesso deformati in modo da poter passare attraverso

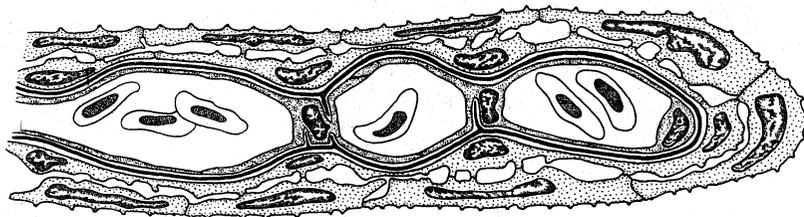


Fig. 2. - Aspetto semischematico di una lamella respiratoria sezionata secondo il piano *a*, indicato nella fig. 1.

È visibile il doppio strato epiteliale, la membrana basale ed il sistema delle cellule a pilastro che formano l'asse vascolare. L'aspetto della lamella respiratoria sezionata secondo il piano *b*, è identico a quella della stessa lamella sezionata secondo il piano *a*, l'unica differenza consiste nel fatto che esistono in quest'ultimo caso due estremità marginali con cellule endoteliali falciformi, come si verifica all'estremità distale della lamella sezionata secondo il piano *a*.

i sottili spazi tra un pilastro e l'altro. I globuli rossi pertanto circolano in cavità tali da risultare sempre in contatto con le espansioni laminari che formano il pavimento e la volta dell'asse vascolare.

Un tale fatto ovviamente facilita gli scambi respiratori tra il contenuto dei globuli rossi e l'ambiente esterno.

In definitiva una cellula a pilastro è costituita da un corpo contenente il nucleo, che la occupa quasi per intero, a forma di breve e tozzo cilindro, e da due ampie lamine citoplasmatiche che si estendono sui due lati di detto cilindro, e che si ingranano perfettamente con analoghe espansioni di altre cellule a pilastro (Tav. II, fig. 5). Queste lamine si sovrappongono parzialmente in modo irregolare in analogia a quanto d'altronde si verifica per i sottili lembi citoplasmatici delle comuni cellule endoteliali. Il nucleo può

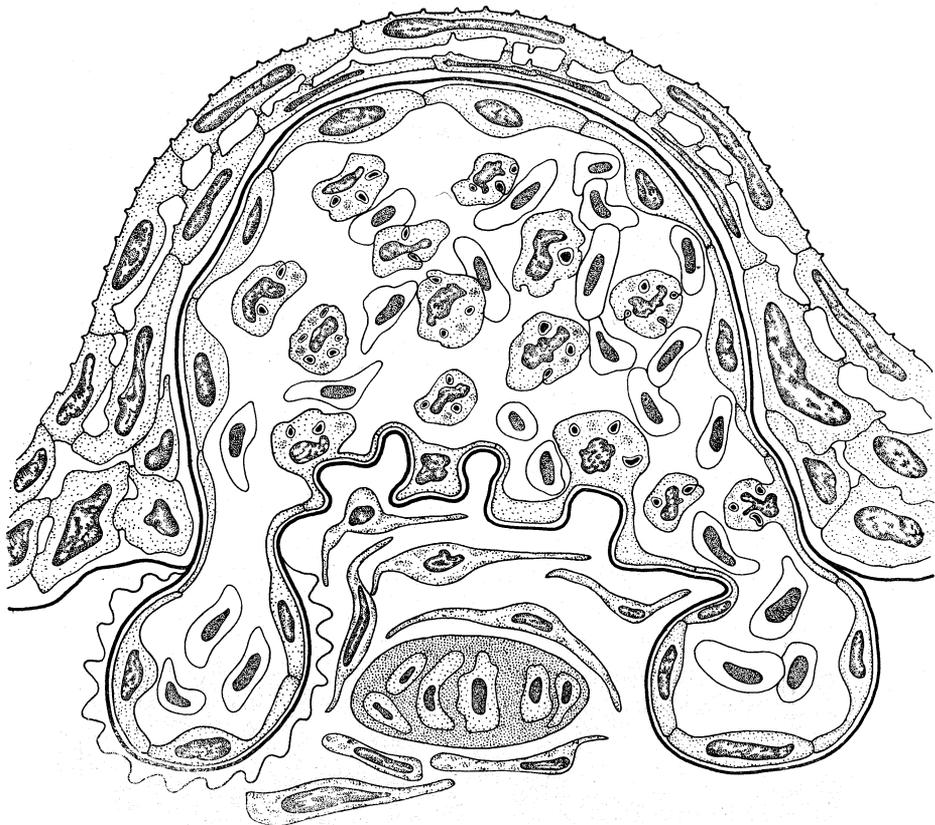


Fig. 3. - Sezione di lamella respiratoria condotta secondo il piano c della fig. 1.

L'asse vascolare appare delimitato da una membrana basale che si continua intorno ai vasi afferente (a destra) ed efferente (a sinistra) ed al di sotto dell'epitelio di rivestimento nella zona di passaggio tra la lamella e il corpo del foglietto. L'endotelio dei vasi è continuo con la parete cellulare dell'asse vascolare della lamella e con talune cellule a pilastro. Queste sono sparse irregolarmente nel lume della cavità ed in questa sezione sembrano non contrarre rapporti tra loro. Sono visibili, alla periferia dei pilastri, le cavità tubulari all'interno delle quali corrono i prolungamenti della membrana basale.

presentare nelle sezioni una diversa morfologia: in genere appare tondeggiante od ovale (Tav. II, fig. 5; Tav. IV, fig. 12), ma talvolta presenta delle curiose forme a stella. Nella parte prossimale dell'asse vascolare, in sezioni condotte parallelamente al piano a , è frequente l'osservazione di più pilastri adiacenti tra di loro (Tav. II, fig. 6). Il significato di queste immagini sarà chiarito in una successiva Nota.

Un problema tuttora aperto è quello che si riferisce alla natura delle cellule a pilastro, le quali, secondo Bietrix, sono state indicate quali responsabili della produzione di una trama collagene, che secondo le vecchie osservazioni di microscopia ottica [Acrivo ⁽²⁾, Vialli ⁽³⁾] delimiterebbe l'asse vascolare della lamella respiratoria. Tra le cellule di Bietrix ed il sangue non esiste un rivestimento formato da cellule endoteliali di morfologia tipica, ma una serie di osservazioni tende ad indicare che le prime devono essere considerate delle vere cellule endoteliali, la cui morfologia si è modificata in rapporto alle particolari necessità respiratorie delle lamelle. In primo luogo le cellule di Bietrix si continuano direttamente con le tipiche cellule endoteliali che rivestono la superficie interna delle arteriole afferente ed efferente (Tav. II, fig. 4; Tav. III, figg. 8 e 9); in secondo luogo l'osservazione delle cellule che delimitano l'asse vascolare lungo il suo margine periferico non permette di rilevare alcuna differenza con delle normali cellule endoteliali, ed anch'esse sono in contatto diretto con le espansioni laminari delle cellule di Bietrix. Anche l'analisi delle caratteristiche ultrastrutturali di tutte queste cellule non rivela differenze di sorta: il citoplasma delle cellule endoteliali vere e proprie, di quelle di Bietrix e di quelle terminali e marginali dell'asse vascolare della lamella respiratoria si presenta sempre ugualmente povero di organuli (Tav. I, fig. 2; Tav. II, fig. 5) (sia mitocondri che reticolo ergastoplasmatico ed apparato di Golgi) mentre sono in ogni caso frequenti le vescicole di pinocitosi. Osservazioni condotte sulla morfogenesi delle lamelle respiratorie, che verranno pubblicate in una successiva Nota, sono ugualmente in accordo con l'ipotesi che considera le cellule di Bietrix di natura endoteliale. Per tale motivo noi pensiamo che l'asse vascolare sia un vero capillare a morfologia caratteristica. Circa la possibilità sostenuta da Acrivo, di considerare in ultima analisi le cellule di Bietrix dei fibrociti, e come tali capaci di produrre fibrille collagene, essa appare insostenibile sia sulla base delle caratteristiche ultrastrutturali del citoplasma di queste cellule completamente prive di ergastoplasma, sia perché intorno all'asse vascolare non esiste una trama connettivale di fibrille collagene, che egli supponeva prodotta da queste cellule ⁽⁴⁾. La presenza di fibrille collagene nelle lamelle respiratorie è stata discussa a lungo, sulla base di osservazioni al microscopio ottico. Vialli (1929) in sezioni condotte secondo il piano *a* della fig. 1, parla di una *porzione* connettivale sottoepiteliale che si evidenzia mediante impregnazione argentea sotto forma di due sottili cordoni costituiti da un certo numero di fibrille molto addensate. A livello delle cellule a pilastro tale autore ha descritto anche delle fibrille che considera probabilmente endocellulari, disposte perpendicolarmente alle prime. Esisterebbe cioè un sistema tridimensionale di fibrille connettivali di sostegno della lamella: queste formerebbero una trama

(2) C. ACRIVO, « Zool. Anz. », *II*, 4, 101 (1936).

(3) M. VIALLI, *Il connettivo della lamella branchiale*, « Pubbl. Staz. Zool. Napoli », 9, 389 (1929).

(4) C. ACRIVO, « Zool. Anz. », *IO*, 9, 173 (1935).

parallela al pavimento e alla volta della cavità vascolare ed una serie di segmenti disposti perpendicolarmente allo sviluppo delle due lamine connettivali, decorrenti nel citoplasma dei pilastri. Le osservazioni al microscopio elettronico dimostrano chiaramente che nella lamella respiratoria non esistono fibrille collagene: tra l'asse vascolare e lo strato inferiore di cellule epiteliali esiste per contro una membrana basale che ricopre tutto l'asse vascolare (Tav. I, figg. 1, 2, 3; Tav. II, fig. 5) e manda delle propaggini che si affondano in cavità tubulari scavate lungo i corpi delle cellule di Bietrix (Tav. II, figg. 5, 7); non si tratta comunque di fibrille endocellulari, in quanto tali cavità sono nettamente delimitate dalla membrana plasmatica (Tav. II, fig. 7). Tuttavia il citoplasma dei pilastri presenta delle esilissime fibrille (Tav. II, fig. 7) (probabilmente del tipo dei tonofilamenti). Le immagini che al microscopio ottico, in seguito ad impregnazione argentea dei preparati, erano state interpretate come le prove dell'esistenza di una trama di fibrille connettivali, devono evidentemente essere riferite alla presenza della membrana basale (non connettivale) descritta in precedenza. Questa delinea per tutta la sua lunghezza l'asse vascolare correndo sotto l'epitelio di rivestimento della lamella e penetrando nel foglietto per un tratto che corrisponde allo spessore dell'epitelio pluristratificato di questo (Tav. II, fig. 6). A tale livello si sdoppia: una parte forma la membrana basale dell'epitelio, mentre l'altra circonda la parte prossimale dell'asse vascolare, separandolo dal connettivo del foglietto, e continuandosi quindi attorno alle arteriole afferenti ed efferenti (Tav. II, fig. 6; Tav. III, fig. 8).

Lo studio della architettura tridimensionale della membrana basale, nella lamella respiratoria, appare particolarmente agevole in *Scyliorhinus stellaris* ove raggiunge dei considerevoli spessori (Tav. I, figg. 1, 2, 3). Inoltre essa appare particolarmente evidente nelle sezioni semifini osservate al microscopio ottico, ove risalta per la sua forte affinità per la fucsina basica. L'asse vascolare appare delimitato da una membrana di colore rosso vivo, che manda dei prolungamenti attraverso il citoplasma dei pilastri (Tav. I, fig. 2) in modo da costituire quella rete tridimensionale descritta da Vialli e supposta di natura collagene. Il numero di tali prolungamenti appare evidente nelle sezioni trasversali rispetto al corpo delle cellule di Bietrix (sezione *c* dello schema), ove se ne possono contare in genere da 3 a 5 disposti a corona attorno al nucleo alla periferia cellulare (Tav. III, figg. 9, 10, 11). Solo mediante l'osservazione al microscopio elettronico tuttavia si è potuto stabilire che queste porzioni della membrana basale sono sempre extracellulari, correndo all'interno di tubuli delimitati dalla membrana plasmatica (Tav. II, fig. 7).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-IV

Le fotografie sono state eseguite con il microscopio elettronico Hitachi HS-7, su materiale fissato in acido osmico ed incluso in Vestopal W.; le fotografie al microscopio ottico sono state ottenute utilizzando sezioni semifine ($0,3-0,5 \mu$) del medesimo materiale (per indicazioni più precise, vedere il paragrafo MATERIALI E METODI della Nota I, pubblicata su questi « Rendiconti », p. 679-685).

TAVOLA I.

- Fig. 1. - Fotografia eseguita al microscopio ottico di sezione semifine di *Scyliorhinus stellaris* L. Sezione condotta secondo il piano *a* dello schema nel testo. Sono visibili due lamelle respiratorie *in toto*, la cui zona centrale è occupata dall'asse vascolare, rivestito dal tipico epitelio bistratificato. ($\times 900$).
- Fig. 2. - Particolare della zona apicale di una lamella respiratoria di *Scyliorhinus stellaris* L. Sono chiaramente visibili i due strati di cellule epiteliali, al centro l'asse vascolare, circondato dalla membrana basale, che invia dei prolungamenti (\nearrow) nel citoplasma della cellula a pilastro. ($\times 2400$).
- Fig. 3. - Particolare della zona mediana di una lamella branchiale. È bene evidente la membrana basale sottoepiteliale, ed i suoi prolungamenti tra il citoplasma delle due cellule a pilastro.
- m.b. = membrana basale; P. = cellula a pilastro. ($\times 2400$).

TAVOLA II.

- Fig. 4. - Sezione semifine, condotta secondo il piano *a*, che interessa anche una parte del corpo del foglietto branchiale. Sulla sinistra si osserva l'arteriola afferente, rivestita internamente da un tipico endotelio (\nearrow) che si continua, a livello della lamella, con l'espansione laminare della cellula a pilastro (\nearrow). ($\times 400$).
- Fig. 5. - Fotografia eseguita al microscopio elettronico di una porzione dell'asse vascolare di *Salmo irideus* Gibb. Sono particolarmente evidenti le espansioni laminari del citoplasma delle cellule a pilastro, che si ingranano e si sovrappongono parzialmente (\nearrow) con le espansioni analoghe della cellula a pilastro successiva.
- P. = cellula a pilastro; E. = eritrocita; m.b. = membrana basale. ($\times 15000$).
- Fig. 6. - Particolare della zona di inserzione di due lamelle sul foglietto. L'epitelio, tra le due lamelle respiratorie, è chiaramente pluristratificato. La membrana basale circonda la parte prossimale dell'asse vascolare, separandolo dal connettivo del foglietto. ($\times 800$).
- Fig. 7. - Fotografia eseguita al microscopio elettronico. È possibile osservare una propagine della membrana basale che si affonda in una cavità scavata nel citoplasma della cellula a pilastro (P), e nettamente delimitata dalla membrana plasmatica. ($\times 36000$).

TAVOLA III.

- Fig. 8. - Sezione semifine condotta nella zona prossimale della lamella branchiale (piano intermedio tra *a* e *c*). In basso l'arteriola efferente del foglietto branchiale, tappezzata da un tipico endotelio (En), che si continua, a livello del capillare della lamella, con le cellule a pilastro (P). ($\times 800$).

- Fig. 9. - Particolare della foto precedente, in cui è possibile osservare, nella zona periferica delle cellule a pilastro, il numero di prolungamenti della membrana basale (\nearrow). ($\times 2000$).
- Fig. 10. - Sezione semifine, analoga alla precedente (più prossima tuttavia al piano c), in cui è possibile osservare l'irregolare distribuzione delle cellule a pilastro all'interno della cavità sanguigna. Tra queste sono visibili numerosi globuli rossi deformati a causa dei sottili spazi esistenti tra i pilastri. ($\times 800$).
- Fig. 11. - Particolare della foto precedente. Sono ben visibili i prolungamenti della membrana basale, disposti a corona nella zona periferica del citoplasma delle cellule a pilastro. ($\times 2000$).

TAVOLA IV.

- Fig. 12. - Fotografia eseguita al microscopio elettronico di una sezione condotta secondo il piano c . In alto a sinistra si osserva una fila di cellule a mutuo contatto, che delineano la cavità sanguigna, nella quale si vede la distribuzione irregolare delle cellule a pilastro.
- P. = cellula a pilastro; E. = eritrocita. ($\times 6000$).

