## ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

## CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# Rendiconti

Bruno Bertolini, Franco Mangia

# Osservazioni sulla ultrastruttura dell'occhio pineale della lampreda

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 41 (1966), n.1-2, p. 147–153.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\_1966\_8\_41\_1-2\_147\_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/

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Accademia Nazionale dei Lincei, 1966.

**Biologia.** — Osservazioni sulla ultrastruttura dell'occhio pineale della lampreda<sup>(\*)</sup>. Nota<sup>(\*\*)</sup> di Bruno Bertolini e Franco Mangia, presentata dal Socio A. Stefanelli.

SUMMARY. — The ultrastructure of the pineal eye of lampreys has been studied by electron microscopy. Three cell types have been recognized as the chief components of the retina, namely photoreceptors, supporting cells and ganglion cells.

The photoreceptors are of ciliary type. Supporting cells contain two peculiar cytoplasmic structures: mieloid bodies, similar to those described in the pigmentary epithelium of the lateral eyes, and myelin figures, whose origin has been discussed.

L'ultrastruttura degli occhi parietali e dell'epifisi dei Vertebrati è stata descritta negli ultimi anni in quasi tutte le classi: nei Teleostei da Breucker e Horstmann (1965 [1]) e da Rüdeberg (1966 [2]); negli Anfibi da Eakin e Westfall (1961 [3]), Oksche e Vaupel-von Harnack (1962 [4]; 1963 a [5]; 1963 b [6]; 1964 [7]), Kelly e Smith (1964 [8]); nei Rettili da Eakin e Westfall (1960 [9]), Steyn (1960 [10]), Lierse (1965 [11]).

In tutte le classi suddette sono stati osservati fotorecettori; tali elementi non sono invece presenti nell'epifisi dei Mammiferi (Anderson, 1965 [12]).

Quanto ai Ciclostomi, sono state finora pubblicate solamente due fotografie di un fotorecettore pineale e di uno parapineale, in un lavoro sulla morfologia comparata delle cellule fotorecettrici (Eakin, 1963 [13]).

Secondo l'autore suddetto, i fotorecettori degli organi parietali dei Ciclostomi sono di tipo ciliare, simili dunque a quelli sia degli organi parietali delle altre classi dei Vertebrati, che degli occhi laterali.

Mancando una descrizione completa della ultrastruttura dell'occhio pineale di questa classe di Vertebrati, ci è parso interessante tale studio.

In questa Nota riportiamo i primi risultati delle ricerche in corso su questo materiale.

#### MATERIALE E METODO.

Lo studio è stato condotto sull'occhio pineale di vari esemplari, sia ammoceti che adulti, di *Lampetra zanandreai* (Vladikov), *L. planeri* (Bl.), e di *L. fluviatilis* (L.).

L'occhio pineale, rapidamente dissezionato, è stato fissato in  $OsO_4$  al 2% in tampone fosfato 0,13 o 0,2 M, con o senza aggiunta di saccarosio (Millonig, 1962 [14]).

<sup>(\*)</sup> Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia Comparata «G. B. Grassi» dell'Università di Roma e nel Centro di Neuroembriologia del C.N.R. con i fondi del Gruppo di ricerca di Embriologia.

<sup>(\*\*)</sup> Pervenuta all'Accademia il 28 luglio 1966.

Il materiale è stato disidratato in acetone ed incluso in Metacrilato, secondo le tecniche usuali.

Le sezioni sono state eseguite con un Ultrotome LKB, colorate con idrossido di Pb secondo il metodo A di Karnovsky (1961 [15]) e fotografate con un microscopio elettronico Hitachi HU–11.

Parte del materiale è stata anche studiata con le normali tecniche della microscopia ottica.

#### DESCRIZIONE DEI RISULTATI.

Secondo i lavori classici (Studnička, 1905 [16]) ed anche moderni (Pop e Dusa, 1959 [17]), la retina dell'occhio pineale della lampreda è rappresentata da uno strato cellulare monostratificato, costituito da tre tipi fondamentali di cellule: fotorecettori, cellule di sostegno e cellule gangliari.

Gli Autori suddetti hanno poi descritto anche cellule fusiformi di nevroglia, con le estremità appuntite e disposte parallelamente alla capsula connettivale dell'organo.

È stato possibile riconoscere al microscopio elettronico i primi tre tipi cellulari fondamentali, di cui sarà ora brevemente descritta la ultrastruttura.

I *fotorecettori* conformemente a quanto già visto da Eakin (1963 [13]), sono di tipo ciliare, come tutti i fotorecettori dei Vertebrati.

Il corpo cellulare è allungato e non raggiunge con la sua base la capsula connettivale esterna dell'organo. La regione sopranucleare è nettamente distinta in un segmento prossimale ed un segmento distale o esterno, del tutto libero nel lume dell'occhio.

I due segmenti sono fra loro riuniti da una struttura ciliare di connessione.

La regione paranucleare non presenta particolari differenziamenti: il nucleo è circondato da una sottile regione citoplasmatica con abbondante reticolo liscio e scarsi mitocondri. In tale zona sono anche presenti citomembrane con ribosomi, mai però organizzate in ergastoplasma.

Il segmento prossimale è unito alle cellule di sostegno ed ai fotorecettori adiacenti da barre terminali. Esso è caratterizzato da un fitto addensarsi di mitocondri, particolarmente nella zona più distale del segmento stesso. Abbondante è anche il glicogeno ed il reticolo liscio, che però si infittiscono soprattutto nella parte del segmento più prossima al nucleo.

Il punto in cui si impianta il segmento ciliare di connessione è del tutto privo di mitocondri.

La base del ciglio di connessione, che è completamente libero nel lume dell'occhio, è caratterizzata da una breve costrizione.

Il segmento distale od esterno è tipicamente costituito da una serie di sacchi appiattiti, impilati l'uno sull'altro, che si dipartono dalla continuazione della struttura ciliare che collega tale segmento al prossimale.

I sacchi hanno uno spessore di circa 200 Å; una singola membrana misura circa 55 Å; la cavità all'interno delle due pareti di un sacco appare di circa 90 Å; la distanza tra due sacchi contigui è di circa 100 Å. Non sono state possibili esatte misurazioni del numero dei sacchi in un singolo segmento, a causa della estrema difficoltà di ottenere delle sezioni longitudinali di tale regione sicuramente complete.

In ogni caso però, lo sviluppo della pila di sacchi appare essere assai maggiore in lunghezza che in spessore: tali formazioni infatti si prolungano all'interno del lume almeno per qualche micron.

Le *cellule di sostegno* hanno forma allungata e colonnare, raggiungendo con un'estremità la capsula connettivale esterna dell'organo.

Esse prendono rapporto con le cellule adiacenti, sia di sostegno che fotorecettrici, mediante barre terminali e complesse strutture a «bouton»; ne risulta quindi un contorno tortuoso e vario.

Esse si adattano inoltre agli interstizi fra le cellule, che riempiono con prolungamenti citoplasmatici, come appare dalle sezioni trasverse.

Tali cellule presentano una regione basale per lo più allargata a suola, che poggia sulla membrana basale, oltre la quale è il connettivo della capsula dell'occhio. Tale regione cellulare appare particolarmente ricca di mitocondri.

Presenti in tutta la cellula, ma particolarmente sviluppati in questa parte basale, sono delle peculiari strutture lamellari o « corpi mieloidi », in chiara diretta connessione con il reticolo endoplasmico liscio. Il loro aspetto complessivo è per lo più falciforme, sommariamente comparabile, quanto alla morfologia, ad un apparato di Golgi fortemente sviluppato e modificato, e spesso è anche circolare (I-I,5  $\mu$  di diametro o più).

Tali formazioni sono costituite da una serie di doppie membrane fittamente disposte l'una accanto all'altra. Le due pareti dello stesso sacco appaiono nei preparati generalmente accollate fra loro, così che la cavità fra esse compresa è spesso virtuale.

Lo spessore di ciascuna singola membrana è di circa 35 Å; la distanza fra due sacchi contigui circa 55 Å, lo spessore di un singolo sacco circa 120 Å.

Le coppie di membrane terminano alle loro estremità con delle vescicole, in diretta connessione, come già detto, con il reticolo endoplasmico liscio.

Il citoplasma delle cellule di sostegno è caratterizzato ovunque dalla presenza di un fitto reticolo endoplasmico liscio. È invece praticamente assente l'ergastoplasma, anche nelle immediate vicinanze del nucleo.

Sono state anche osservate frequenti fibrille simili a quelle presenti nel citoplasma dei gliociti.

Sia i mitocondri che i corpi mieloidi diventano più radi nel citoplasma prossimo al lume dell'organo.

Tale regione citoplasmatica è invece caratterizzata dalla frequentissima presenza di «figure mieliniche», rappresentate da vortici di membrane concentriche più o meno fitti, racchiusi entro una membrana ben delimitata.

Le membrane all'interno presentano spesso chiari segni di degenerazione, con vari gradi di lisi.

Là dove le lamelle sono ancora integre, in genere cioè nelle zone più prossime al lume, è stato possibile misurare lo spessore di una singola membrana, che è risultato essere di circa 55 Å.

<sup>11. –</sup> RENDICONTI 1966, Vol. XLI, fasc. 1–2.

Talvolta le membrane sono appaiate fra loro a costituire delle cisterne, il cui spessore è di circa 90 Å. La distanza fra i vari sacchi che così si identificano, è fortemente variabile in seguito ai rimaneggiamenti che tali sacchi hanno subìto all'interno del vacuolo digestivo.

Le figure mieliniche, come abbiamo già osservato, appaiono in genere tanto più degradate, quanto più ci si allontana dal lume dell'occhio, ed anche il loro numero scema fortemente; nella regione basale non sono infatti state osservate.

Nel citoplasma delle cellule di sostegno è anche presente del glicogeno, ma esso è più scarso che nei fotorecettori.

Il nucleo ha forma assai varia, generalmente lobata.

La superficie cellulare che si affaccia sul lume non presenta generalmente alcun particolare differenziamento, nè ciglia, nè microvilli.

Le *cellule gangliari* sono particolarmente frequenti all'origine del peduncolo, nei pressi della capsula connettivale dell'organo.

Hanno forma rotondeggiante, con un grosso nucleo circondato da scarso citoplasma, ricco di mitocondri, ed in cui sono presenti reticolo endoplasmico liscio e citomembrane con ribosomi.

Sono stati anche osservati neurofilamenti.

Nel *lume* sono stati osservati vortici di membrane concentriche, apparentemente del tutto liberi.

Le singole lamelle sono generalmente ben conservate, e le loro misure corrispondono a quelle dei sacchi distali dei fotorecettori.

#### DISCUSSIONE.

Nella retina dell'occhio pineale della lampreda sono stati osservati diversi tipi di strutture lamellari:

1) I segmenti distali dei fotorecettori, che, rispetto a quelli degli Anfibi, sono molto più sviluppati in lunghezza che in spessore; tale allungamento dei sacchi appare del tutto peculiare dei fotorecettori pineali della lampreda.

2) I vortici di lamelle concentriche liberi nel lume. Tali strutture sono generalmente ben conservate, e le loro misure corrispondono a quelle dei segmenti esterni dei fotorecettori.

Si tratta probabilmente di frammenti di segmenti distali staccatisi dal corpo cellulare del fotorecettore, caduti nel lume, e riorganizzatisi in formazioni concentriche.

3) Le *figure mieliniche* osservate all'interno delle cellule di sostegno. Anche esse, come le strutture libere nel lume, sono costituite da una serie di membrane avvolte concentricamente.

Le misure, là dove le strutture sono ancora ben conservate, appaiono essere uguali a quelle dei sacchi dei segmenti esterni dei fotorecettori.

Il rinvenimento di questi tre tipi di strutture lamellari, di cui gli ultimi due in vari stadi di degenerazione, va interpretato come indice di un vero e proprio ricambio dei segmenti esterni dei fotorecettori. L'accrescimento dei dischi di ciascun segmento sarebbe infatti continuo e provocherebbe il progressivo distacco delle parti più distali, con conseguente caduta di queste nel lume.

Tali frammenti, ripiegatisi su sè stessi a dare le strutture anulari, verrebbero poi fagocitati dalle cellule di sostegno adiacenti ai fotorecettori. Infatti le figure mieliniche si presentano all'interno delle cellule di sostegno in vari gradi di demolizione, ed in particolare tanto più digerite, quanto più lontane dalla superficie cellulare che si affaccia sul lume.

Purtroppo, data la probabile relativa velocità dell'evento, nei nostri preparati non sono state osservate fagocitosi in atto.

Del resto, fenomeni del genere sono già stati ipotizzati nell'occhio frontale di *Rana* (Kelly e Smith, 1964 [8]), e nella retina umana (Bairati e Orzalesi, 1963 [18]).

In particolare Kelly e Smith (1964 [8]) in *Rana*, all'interno di macrofagi vaganti nel lume e specialmente addensati intorno ai segmenti esterni dei fotorecettori, hanno osservato figure mieliniche assai simili a quelle da noi descritte.

Le nostre osservazioni sulla lampreda confermano quindi l'ipotesi di Kelly e Smith di un probabile ricambio dei segmenti esterni dei fotorecettori secondo le modalità suddette.

Nella lampreda non esistono però cellule specializzate per la fagocitosi dei detriti, come i macrofagi vaganti nel lume dell'occhio frontale della rana, ma tale compito è assolto dalle stesse cellule di sostegno.

4) I corpi mieloidi all'interno delle cellule di sostegno sono invece strutture di significato completamente diverso da quello delle formazioni lamellari sopra discusse.

Pur avendo un aspetto sommariamente comparabile a quello di un apparato di Golgi molto sviluppato, essi sono senza dubbio organelli a sé stanti e caratteristici, con un significato funzionale del tutto diverso.

Tali strutture sono da tempo note ai ricercatori, in quanto presenti nell'epitelio pigmentato del *tapetum nigrum* della retina degli occhi laterali.

Porter e Yamada (1960 [19]) li hanno interpretati come strutture esse stesse fotorecettrici, probabilmente in rapporto agli spostamenti dei granuli di pigmento.

Questa ipotesi appare però non applicabile ai corpi mieloidi dell'occhio pineale dei Ciclostomi, poiché qui, come del resto anche negli Anfibi, il pigmento è del tutto assente.

In seguito a considerazioni simili, anche Okuda (1960 [20]) ritiene assai improbabile tale funzione per i corpi mieloidi dell'epitelio pigmentato degli occhi laterali.

Un'altra interpretazione, forse più convincente, è quella proposta da Dowling e Gibbons (1961 [21]; 1962 [22]) e Dowling e Sidman (1962 [23]), secondo i quali tali organelli sarebbero in rapporto con il ciclo della vitamina A nel metabolismo dei pigmenti visivi.

#### CONCLUSIONI.

La differenza fondamentale della retina dell'occhio pineale dei Ciclostomi rispetto alla retina degli occhi laterali sta non tanto nella intima struttura delle cellule, quanto nella loro disposizione.

La retina degli occhi laterali si presenta infatti come una struttura molto più evoluta, essendo organizzata in vari strati cellulari ben definiti e distinti fra loro. La retina pineale invece è costituita da un solo strato cellulare, in cui le cellule di sostegno possono considerarsi analoghe sia alle fibre di Müller, per la loro funzione trofica e di supporto, sia alle cellule pigmentate del *tapetum nigrum*, per il loro contenuto in corpi mieloidi, come è stato anche sostenuto da Kelly e Smith (1964 [8]), per l'occhio frontale di *Rana*.

Inoltre tali cellule appaiono più primitive, rispetto alle analoghe degli Anfibi, poiché la funzione fagocitaria dei detriti derivanti dai fotorecettori è ancora a loro carico, e non esplicata da cellule specializzate del tipo dei macrofagi.

#### BIBLIOGRAFIA.

- [1] H. BREUCKER e E. HORSTMANN, «Progr. in Brain Res. », 10, 259 (1965).
- [2] C. RÜDEBERG, « Pubbl. Staz. Zool. Napoli », 35, 47 (1966).
- [3] M. R. EAKIN e J. A. WESTFALL, «Embryologia», 6, 84 (1961).
- [4] A. OKSCHE e M. VAUPEL-VON HARNACK, «Naturwissensch.», 49, 429 (1962).
- [5] A.OKSCHE e M. VAUPEL-VON HARNACK, «Z. Zellforsch.», 59, 239 (1963 a).
- [6] A. OKSCHE e M. VAUPEL-VON HARNACK, «Z. Zellforsch.», 59, 582 (1963 b).
- [7] A. OKSCHE e M. VAUPEL-VON HARNACK « Progr. in Brain Res. », 5, 209 (1964).
- [8] D. E. KELLY e S. W. SMITH, « J. Cell Biol. », 22, 653 (1964).
- [9] M. R. EAKIN e J. A. WESTFALL, « J. Biophys. Biochem. Cytol. », 8, 483 (1960).
- [10] W. STEYN, «Z. Zellforsch.», 51, 735 (1960).
- [11] W. LIERSE, «Z. Zellforsch.», 65, 397 (1965).
- [12] E. ANDERSON, « J. Ultrastr. Res. », supplement n. 8 (1965).
- [13] M. R. EAKIN, General Physiology of Cell Specialisation, p. 393, Ed. D. Mazia and A. Tyler, New York (1963).
- [14] G. MILLONIG, *Electron Microscopy*, 5th International Congress for Electron Microscopy, P-8, Ed. S. S. Breese, Academic Press, New York-London (1962).
- [15] M. J. KARNOVSKY, « J. Biophys. Biochem. Cytol. », 11, 729 (1961).
- [16] F. K. STUDNICKA, Die Parietalorgane, in Oppel, Lehrbuch der vergleichende mikroskopische Anatomie der Wirbeltiere, V, Jena 1905.
- [17] V. POP e L. DUSA, «Stud. Cercet. Biol. », 10, 143 (1959).
- [18] A. BAIRATI e N. ORZALESI, « J. Ultrastr. Res. », 9, 484 (1963).
- [19] K. R. PORTER e E. YAMADA, « J. Biophys. Biochem. Cytol. », 8, 181 (1960).
- [20] K. OKUDA, « Jap. J. Ophtalm. », 6, 76 (1962).
- [21] J. E. DOWLING e J. R. GIBBONS, in *The Structure of the Eye*, Ed. G. Smelser, New York (1961).
- [22] J. E. DOWLING e J. R. GIBBONS, « J. Cell Biol. », 14, 459 (1962).
- [23] J. E. DOWLING e R. L. SIDMAN, « J. Cell Biol. », 14, 73 (1962).

Z

Acc. Lincei – Rend. d. Cl. di Sc. fis.,<br/>mat. e nat. – Vol. XLI.B. BERTOLINI e F. MANGIA – Osservazioni sulla<br/>ultrastruttura dell'occhio, ecc. – TAV. I.

Acc. Lincei – Rend. d. Cl. di Sc. fis., B. BERTOLINI e F. MANGIA – Osservazioni sulla mat. e nat. - Vol. XLI.

ultrastrutture dell'ecchio, ecc. - TAV. II.





Acc. Lincei - Rend. d. Cl. di Sc. fis.,<br/>mat. e nat. - Vol. XLI.B. BERTOLINI e F. MANGIA - Osservazioni sulla<br/>ultrastruttura dell'occhio, ecc. - TAV. III.

#### SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-III

#### TAVOLA I.

- Fig. I. Regione apicale di un fotorecettore. Il segmento prossimale (sp) è molto ricco di mitocondri, ed è connesso al segmento distale, costituito da una serie di sacchi appiattiti, per mezzo di una struttura ciliare (la freccia indica alcune delle fibre del ciglio). ×28.000.
- Fig. 2. Parte del segmento distale di un fotorecettore, probabilmente libera nel lume dell'occhio, in cui i sacchi si sono riorganizzati in una struttura anulare. × 28.000.
- Fig. 3. Inclusi contenenti figure mieliniche, in una cellula di sostegno. × 28.000.

#### TAVOLA II.

Fig. 4. – Cellule di sostegno. Le cellule sono unite, in prossimità del lume dell'occhio (L), da barre terminali (freccia), ed il loro contorno è piuttosto sinuoso. Nel citoplasma apicale si notano numerose figure mieliniche (2), che diventano meno frequenti man mano che si procede verso la base delle cellule. Nelle stesse cellule sono anche presenti i corpi mieloidi (1). × 16.000

#### TAVOLA III.

- Fig. 5. Regione basale della retina, ricoperta dalla capsula connettivale (C). Le cellule di sostegno mostrano, in questa regione, dei piedi terminali espansi, ricchi di mitocondri e di grandi corpi mieloidi (cm). I fotorecettori (F) non raggiungono la superficie esterna. ×9500.
- Fig. 6. Corpi mieloidi in una cellula di sostegno. Essi sono formati da serie di sacchi paralleli, che si espandono al margine in vescicole; queste sono in continuità con il reticolo endoplasmico agranulare. × 28.000.
- Fig. 7. Ingrandimento di un corpo mieloide; notare la regolarità della disposizione delle lamelle.  $\times$  45.000.

A. Rossi-Fanelli e B. Finzi