

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI  
**RENDICONTI**

---

GIULIO LANZAVECCHIA

**Studi sulla muscolatura elicoidale e paramiosinica.  
Nota I. Morfologia ultrastrutturale dei muscoli  
longitudinali di Lumbricus terrestris L.**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 44 (1968), n.3, p. 448–454.*  
Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1968\\_8\\_44\\_3\\_448\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1968_8_44_3_448_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/>

**Zoologia.** — *Studi sulla muscolatura elicoidale e paramiosinica.*

Nota I. *Morfologia ultrastrutturale dei muscoli longitudinali di Lumbricus terrestris L.* Nota (\*) di GIULIO LANZAVECCHIA, presentata (\*\*) dal Corrisp. S. RANZI.

SUMMARY. — The morphological organization of the earthworm body wall muscles, both contracted and decontracted, is studied. These muscles are helical in type; their primary myofilaments are 6  $\mu$  long, 350–400 Å thick, and show a paramyosinic structure. The morphological properties and functions of the Z elements and of the sarcoplasmic reticulum are discussed, and the changes in the fine structure of the muscles, are analyzed in relation to the contraction process.

L'organizzazione ultrastrutturale dei muscoli elicoidali e a striatura doppia obliqua si può considerare attualmente nota nelle sue linee generali, soprattutto in seguito alle osservazioni di Ikemoto (1963) su *Eisenia foetida*, di Hanson e Lowy (1961) sulla parte traslucida dell'adduttore di *Crassostrea angulata*, di Rosenbluth (1965, 1967, 1968) su *Ascaris* e *Glycera*, di Bouligand (1966) su *Haplosyllis depressa* e *Sabella pavonina*, e di Chapron e Valembois (1967) su *Allolobophora caliginosa* e *Eisenia foetida*. È evidente che si tratta di muscoli striati, con due tipi di miofilamenti che si ingranano tra di loro nel corso della contrazione, e che sono orientati parallelamente (o quasi) all'asse del muscolo. Essi tuttavia differiscono dai muscoli striati tipici dei Vertebrati e degli Artropodi poiché la striatura, invece di essere trasversale, è fortemente obliqua; l'angolo tra la direzione della striatura e l'asse del muscolo è infatti in genere di pochi gradi. I rapporti esistenti tra muscoli elicoidali veri e propri a sezione circolare e muscoli a striatura doppia obliqua a sezione ellittica molto appiattita, sono stati chiariti da Bouligand (1966); questo autore ha ben dimostrato che i secondi derivano dai primi per scomparsa dell'asse citoplasmatico. I sarcomeri sono comunque limitati a formare una fascia periferica che, nel caso del lombrico, non supera 1,5  $\mu$ , e possono quindi essere considerati come spessi nastri che percorrono la superficie muscolare lungo linee elicoidali.

Per la loro particolare organizzazione questi muscoli pongono ancora taluni problemi per quanto riguarda il meccanismo e l'efficienza della contrazione, il differenziamento specifico in relazione alla diversa posizione sistematica o al diverso *habitat*, e le relazioni che sembrano presentare con i muscoli di tipo paramiosinico. In questa prima Nota mi limito alla descri-

(\*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Zoologia dell'Università di Milano (Sezione di microscopia elettronica « Fondazione C. Erba »). Gruppo di ricerca per l'Embriologia del C.N.R.

(\*\*) Nella seduta del 9 marzo 1968.

zione morfologica ultrastrutturale dei muscoli longitudinali della parete di *Lumbricus terrestris* L., Per la nomenclatura dei diversi componenti muscolari, mi attengo essenzialmente a quanto proposto da Bouligand (1966).

Esemplari di *Lumbricus terrestris* L. sono stati fissati in condizioni di completa distensione muscolare o di massima contrazione. Nel primo caso gli animali sono stati brevemente addormentati con alcool etilico 5%, e quindi bloccati su di una tavoletta mediante spilli, in condizione distesa. Vengono aperti mediante una incisione dorsale, e mentre si continua a far gocciolare su di essi una soluzione di glutaraldeide 3% in tampone cacodilato 0,1 M e  $\text{CaCl}_2$  0,003 M, sono rapidamente privati dei visceri e dei setti tra i metameri, mettendo il più possibile a nudo la muscolatura. Se gli animali sono fissati senza previa narcosi, si contraggono immediatamente. Dopo due ore di fissazione in glutaraldeide, si lava brevemente in tampone cacodilato 0,1 M, contenente il 10% di glucosio, e quindi si fissa per altre due ore in acido osmico 1% in tampone fosfati. Dopo disidratazione in alcool etilico e ossido di propilene, l'inclusione è fatta in una miscela di Epon 812 e araldite. Nel corso della disidratazione i blocchetti sono precolorati con acetato di uranile. Le sezioni ottenute con l'ultramicrotomo Ultratome I LKB, dopo «colorazione» con citrato di Pb, sono state osservate con un microscopio elettronico Hitachi HS-7.

I muscoli descritti in questa Nota sono costituiti da tante fibre unicellulari di tipo elicoidale, disposte secondo un disegno chiaramente pennato. Le singole fibre partono come le barbe di una penna da un asse connettivale povero di cellule e ricco di fibrille collagene disposte con una certa irregolarità (Tav. I, fig. 1; Tav. II, figg. 3 e 4). Ciascuna fibra, in sezione trasversale, mostra una forma pressapoco ellittica, con un diametro maggiore di 10–15  $\mu$ , ed un diametro minore di 2,5–3  $\mu$  nei muscoli rilasciati. Questi valori aumentano con la contrazione, e in muscoli completamente contratti si misurano per le singole fibre diametri maggiori di 15–20  $\mu$ , e diametri minori di 4–5  $\mu$ . Ciò ovviamente è da porre in relazione al fatto che il volume della fibra si mantiene pressapoco costante nel corso della contrazione. Il citoplasma è pressoché completamente occupato dal materiale contrattile, costituito da due diversi tipi di miofilamenti. Questi sono disposti con regolarità, in modo da determinare, nelle sezioni trasversali, una successione di zone o bande, corrispondenti a quelle visibili in sezioni longitudinali di muscoli a striatura trasversale, orientate perpendicolarmente al sarcolemma. Questa disposizione, tipica dei muscoli elicoidali, è stata illustrata in dettaglio da Rosenbluth (1965) nei muscoli di *Ascaris*. Sempre in sezione trasversale, le fibre appaiono più o meno chiaramente separate in due metà speculari da una linea che corre lungo il diametro maggiore. Essa è la sezione del piano a livello del quale giungono in contatto i sarcomeri periferici, in conseguenza della scomparsa dell'asse citoplasmatico, e quindi dell'appiattimento della fibra. I miofilamenti più spessi, con diametro compreso tra 350 e 400 Å, sono in genere indicati come primari, ed è verosimile che almeno in parte siano formati da miosina (il loro diametro è stato misurato sempre nella zona centrale della cosiddetta banda A, in quanto essi tendono ad assottigliarsi alle estremità). I filamenti sottili hanno invece un diametro costante di 70–80 Å, e sono da considerarsi uguali o simili ai filamenti secondari osservabili in tutti i muscoli (Tav. IV, fig. 10; Tav. V, figg. 12 e 13). Il rapporto numerico tra filamenti secondari e primari non è

agevolmente determinabile, a causa della notevole irregolarità nella loro distribuzione: le misure effettuate su vari sarcomeri indicano tuttavia che esso si aggira attorno ai valori di 7 od 8, come nei muscoli elicoidali longitudinali della parete corporea di *Tubifex* (ricerche in corso), e poco superiore rispetto a quello ottenuto da Bouligand (1966) in *Haplosyllis*. Tale rapporto aumenta notevolmente (fino a una volta e mezza) nei muscoli completamente contratti, come conseguenza di una sovrapposizione di miofilamenti secondari nella regione centrale dei sarcomeri (Tav. V, figg. 12 e 13). Questo fatto può essere spiegato solo ammettendo una loro maggiore lunghezza rispetto a quelli primari, poiché questi ultimi non si incrociano attraverso la linea o sistema Z, né presentano delle evidenti flessioni, come sostenuto da Ike-moto (1963) e parzialmente da Bouligand (1966).

Nei muscoli completamente rilasciati i miofilamenti primari, nelle sezioni trasversali, sono disposti a formare tre-quattro serie allineate per ogni « sarcomero », il che significa ovviamente che essi sono sfasati, in senso longitudinale, di un terzo o una quarto della loro lunghezza. Sono inoltre chiaramente distinguibili delle zone o bande A, I e H; le prime due hanno un'ampiezza pressapoco equivalente, pari a 0,13–0,15  $\mu$ . Per tale motivo il « sarcomero », in sezione trasversale, ha un'ampiezza di 0,26–0,30  $\mu$ . La banda H ha invece un'ampiezza piuttosto limitata, poiché anche nei muscoli completamente distesi è sempre presente una notevole interdigitazione tra i due tipi di miofilamenti (Tav. I, fig. 2; Tav. IV, figg. 9 e 10). In accordo con quanto prima detto, ciò può spiegarsi solo ammettendo una maggiore lunghezza dei filamenti secondari rispetto a quelli primari. Parallelamente al grado di contrazione delle fibre muscolari, aumenta anche il numero delle serie allineate, per ogni sarcomero, di filamenti primari in sezione trasversale (Tav. IV, figg. 9 e 10); in condizioni di contrazione massima tale numero arriva fino ad otto (Tav. V, fig. 12). Ciò significa ancora che i miofilamenti primari in queste condizioni sono sfasati gli uni rispetto agli altri solo di un ottavo della loro lunghezza. In queste fibre, sempre osservate in sezioni trasversali, scompare la zona I, in quanto i filamenti primari giungono a contatto degli elementi Z e dei tubuli del reticolo; inoltre il sarcomero aumenta la propria lunghezza parallelamente al crescere della distanza tra i singoli miofilamenti, e raggiunge valori compresi tra 0,35 e 0,45  $\mu$  (Tav. V, fig. 11).

La disposizione dei tubuli del reticolo sarcoplasmatico è uguale a quella descritta in *Glycera* da Rosenbluth (1968); i singoli elementi tubulari che decorrono al centro della banda I, orientati perpendicolarmente alla direzione dei miofilamenti, partono da ampie cisterne subsarcolemmali, che costituiscono un sistema apparentemente discontinuo alla periferia della fibra; spesso tuttavia appaiono comuni a più « sarcomeri » (Tav. I, fig. 2; Tav. II, figg. 3 e 5). Esse comunque non si aprono mai all'esterno delle fibre, e pertanto l'intero sistema dei tubuli e delle cisterne deve essere considerato omologo al reticolo sarcoplasmatico dei muscoli striati, e non al sistema T, contrariamente a quanto proposto da Chapron e Valembouis (1967). Secondo le osservazioni di Rosenbluth su *Glycera*, gli appaiamenti tra cisterne subsar-

colemmali e membrana sarcoplasmatica, dovrebbero assumere il significato di diadi. Attualmente questa sembra essere l'ipotesi più attendibile, sulla base dei semplici dati morfologici di cui si è finora a conoscenza; si può del resto ricordare che, soprattutto durante il processo di istogenesi, nei muscoli striati degli Artropodi si possono osservare frequenti diadi alla periferia della fibra, costituite da cisterne del reticolo in apposizione alla membrana sarcoplasmatica non invaginata a formare i tubi del sistema T. È ovvio tuttavia che una risposta precisa a questo problema si potrà avere solo in seguito alla dimostrazione della presenza di una ATPasi  $Mg^{++}$  dipendente nelle cisterne subsarcolemmali.

Anche gli elementi o bastoncelli Z sono disposti come in *Glycera*, e percorrono la parte mediana della banda I, correndo parallelamente ai tubuli del reticolo, con cui non entrano mai in rapporti di continuità. Contrariamente all'ipotesi di Chapron e Valembois, essi non possono considerarsi dei loro derivati. In sezioni longitudinali condotte parallelamente all'asse maggiore trasversale della fibra, si osserva una regolare successione di tubuli ed elementi Z (sezionati entrambi trasversalmente) tra loro pressapoco equidistanti (Tav. III, fig. 6). Nelle sezioni longitudinali la struttura elicoidale del muscolo è in genere difficilmente apprezzabile, anche a causa della fortissima obliquità della striatura. Questa comunque può essere correttamente valutata in teoria solo nelle sezioni rigorosamente parallele alla superficie della fibra; l'angolo della striatura appare infatti gradualmente ridursi man mano che la sezione (pur restando longitudinale) diventa radiale. In quest'ultimo caso essa appare addirittura di tipo trasversale, come è ben stato dimostrato da Rosenbluth (1965) e da Bouligand (1966). L'angolo  $\vartheta$  tra la direzione della striatura e la direzione dei miofilamenti, può essere facilmente calcolato, conoscendo la lunghezza dei miofilamenti primari, e l'ampiezza della banda A in sezione trasversale; infatti la tangente dell'angolo  $\vartheta$  è uguale al rapporto tra l'ampiezza della banda A e la lunghezza dei miofilamenti primari. Quest'ultimo valore non è facilmente determinabile, poiché difficilmente un filamento è compreso per tutta la sua lunghezza nello spessore di una sezione: la massima lunghezza osservata in sezioni che apparivano rigorosamente longitudinali, è stata di  $6 \mu$ , e tale valore viene qui attribuito ai miofilamenti primari (va tenuto presente che esso potrà al più essere maggiore ma non minore). Per tale motivo, poiché l'ampiezza della banda A, in sezione trasversale e nei muscoli decontratti, è di appena  $0,13-0,15 \mu$ , l'angolo  $\vartheta$  risulta inferiore ai  $2^\circ$  ( $\tan \vartheta = \sim \sim 0,15/6 = \sim 0,025$ ). Nel muscolo contratto invece  $\tan \vartheta = \sim 0,40/6 = \sim 0,066$ , per cui l'angolo  $\vartheta$  è poco inferiore a  $4^\circ$ .

La conoscenza degli elementi morfologici che concorrono alla formazione del muscolo elicoidale del lombrico, permette di trarre alcune conclusioni relative alla possibilità dei singoli elementi Z di costituire un sistema funzionalmente analogo alla stria Z dei muscoli a striatura trasversale. Il diametro di ogni elemento Z, di forma pressapoco cilindrica, è di circa  $250 \text{ \AA}$ . La loro distanza nel muscolo decontratto in proiezione verticale, sebbene abbastanza irregolare, è di circa  $0,5 \mu$ . Poiché l'inclinazione della striatura elicoidale,

come si è visto, è per il muscolo decontratto minore di  $2^\circ$ , ne segue che lo sfasamento in proiezione laterale tra due elementi Z successivi è pressapoco uguale al loro diametro. Per tale motivo tutti i miofilamenti secondari risulteranno legati ad essi, sia pure a livelli diversi del muscolo. Ne risulta quindi una specie di stria Z discontinua, formata da tanti elementi disuniti, disposti come i gradini di una ripida scala (i dati qui enunciati per il muscolo decontratto possono applicarsi perfettamente anche a quello contratto). Da un punto di vista funzionale, un tale sistema è analogo ad una stria Z continua per quanto concerne la rigidità dell'apparato contrattile durante il meccanismo di interdigitazione dei due tipi di miofilamenti, mentre rende possibile l'attuarsi delle notevoli variazioni di lunghezza delle linee elicoidali del muscolo nel processo contrazione-decontrazione, e quelle dell'angolo tra striatura elicoidale ed asse del muscolo. Tali fenomeni verranno analizzati in dettaglio in una successiva Nota dedicata allo studio della meccanica della contrazione nei muscoli elicoidali.

Il nucleo è sempre posto marginalmente al sistema contrattile, in una sporgenza citoplasmatica di piccole dimensioni, ove si trovano anche alcuni mitocondri e granuli di glicogeno (Tav. II, fig. 5). Alle loro estremità le singole fibre presentano sottili estroflessioni citoplasmatiche laminari, che si ingranano probabilmente per favorire l'adesione tra le diverse cellule. Non sono mai stati osservati tuttavia dispositivi di giunzione sul tipo di quelli descritti in *Holothuria* (Lanzavecchia, 1967 a), e neppure desmosomi, come in *Glycera*.

I miofilamenti primari, in immagini ad alta risoluzione, mostrano una serie di bande trasversali abbastanza evidenti (Tav. III, fig. 7), regolarmente spaziate di 70–80 Å; tale valore è uguale alla metà del periodo più evidente della paramiosina (144 Å), e compare del resto come subperiodo nei miofilamenti paramiosinici isolati di mitilo (Lanzavecchia, 1966). Si prospetta quindi che i miofilamenti primari dei muscoli di lombrico siano caratterizzati da una struttura paramiosinica, in accordo del resto a quanto è stato osservato mediante diffrazione con i raggi X (Elliott, 1964). Circa l'eventuale significato delle strutture paramiosiniche nei muscoli, si rimanda a quanto in precedenza proposto sull'argomento (Lanzavecchia, 1967 b), ricordando tuttavia che una corretta soluzione di tale problema potrà aversi solo al termine di una lunga indagine comparativa, eseguita su animali diversi.

#### LAVORI CITATI.

- BOULIGAND Y., *La disposition des myofilaments chez une Annélide Polychète*, « J. Microscopie », 5, 305–322 (1966).  
 CHAPRON C. e VALEMBOIS P., *Infrastructure de la fibre musculaire pariétale des lombriciens*, « J. Microscopie », 6, 617–626 (1967).  
 ELLIOTT G. F., *X-ray diffraction studies on striated and smooth muscles*, « Proc. Roy. Soc. (London) », Series B, 160, 467–472, (1964).  
 HANSON J. e LOWY J., *The structure of the muscle fibres in the translucent part of the adductor of the oyster, Crassostrea angulata*, « Proc. Roy. Soc. (London) », Series B, 154, 173–196 (1961).

- IKEMOTO N., *Further studies in electron microscopic structures of the oblique striated muscle of the earthworm Eisenia foetida*, « Biol. J. Okayama Univ. », 9, 81-126 (1963).
- LANZAVECCHIA G., *Osservazioni sull'ultrastruttura del miofilamento paramiosinico nei Molluschi*, « Accad. Naz. Lincei (Rend. Sci. fis. mat. nat.) », 41, 374-379 (1966).
- LANZAVECCHIA G., *Morfologia ultrastrutturale dei muscoli longitudinali dell'oloturia (Holothuria tubulosa)*, « Accad. Naz. Lincei (Rend. Sci. fis. mat. nat.) », 42, 894-902 (1967 a).
- LANZAVECCHIA G., *Analisi comparata ultrastrutturale dei sistemi contrattili*, « Istituto Lombardo (Rend. Sc.) » B 101, 233-328 (1967 b).
- ROSENBLUTH J., *Ultrastructural organization of obliquely striated muscle fibers in Ascaris lumbricoides*, « J. Cell Biol. », 25, 495-515 (1965).
- ROSENBLUTH J., *Obliquely striated muscle. III - Contraction mechanism of Ascaris body muscle*, « J. Cell Biol. », 34, 15-33 (1967).
- ROSENBLUTH J., *Obliquely striated muscle. IV - Sarcoplasmic reticulum, contractile apparatus, and endomysium of the body muscle of a Polychaete, Glycera, in relation to its speed*, « J. Cell Biol. », 36, 245-259 (1968).

## SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-V

### TAVOLA I.

- Fig. 1. - Sezione trasversale dei muscoli a piccolo ingrandimento, per mettere in evidenza l'aspetto generale delle fibre, la loro disposizione reciproca, e la presenza dei « sarcomeri »  $\times 8.000$
- Fig. 2. - Sezione trasversale. Particolare di una fibra decontratta; è ben visibile la successione dei « sarcomeri » e l'alternanza delle bande o zone A e I. Al centro di queste si osservano gli elementi Z e i tubuli del reticolo. Ai lati cisterne subsarcolemmali ( $\nearrow$ ). Nella regione mediana della fibra, lungo l'asse maggiore di questa, si vede abbastanza chiaramente la linea virtuale in rapporto alla quale si realizza l'inversione dell'obliquità della striatura trasversale.  $\times 28.000$ .

### TAVOLA II.

- Fig. 3. - Sezione trasversale di muscolo decontratto. Aspetto dell'asse o setto ricco di fibrille collagene (S) da cui si dipartono le fibre muscolari, con un disposizione pennata.  $\times 24.000$ .
- Fig. 4. - Aspetto delle fibrille collagene del setto, a più forte ingrandimento.  $\times 75.000$ .
- Fig. 5. - Sezione trasversale di muscolo decontratto. È visibile un nucleo (N) al margine della fibra, che appare abbastanza strettamente ingranata con quelle adiacenti, mediante prolungamenti alari citoplasmatici ( $\nearrow$ ).  $\times 26.000$ .

### TAVOLA III.

- Fig. 6. - Sezione longitudinale condotta parallelamente alla superficie della fibra. La striatura appare poco inclinata rispetto alla direzione dei miofilamenti. Al centro delle bande I (visibili in quanto il muscolo è decontratto) si osserva una regolare successione di elementi Z e di tubuli del reticolo, sezionati trasversalmente.  $\times 21.000$ .
- Fig. 7. - Miofilamenti primari sezionati longitudinalmente, a forte ingrandimento. È abbastanza chiaramente visibile un periodo trasversale di circa 70-80 Å, da attribuirsi con ogni probabilità ad una struttura di tipo paramiosinico.  $\times 125.000$ .

Fig. 8. - Sezione longitudinale, condotta obliquamente rispetto alla superficie della fibra. È ben visibile l'alternanza delle zone o bande A ed I. In queste si osservano profili degli elementi Z e dei tubuli del reticolo, variamente orientati rispetto alla superficie della sezione. Nella banda A sono anche visibili zone H, ove i miofilamenti secondari sono assenti.  $\times 55.000$ .

#### TAVOLA IV.

Fig. 9. - Sezione trasversale di fibre muscolari. Mentre le due di sinistra sono pressoché completamente decontratte, quella di destra è in condizioni di notevole contrazione, come risulta dalla quasi completa scomparsa delle bande I, e dal maggior numero di miofilamenti primari per ogni banda A.  $\times 28.000$ .

Fig. 10. - Particolare della fig. 9, che mette in rilievo l'organizzazione dei miofilamenti primari e secondari, e l'aspetto dei tubuli del reticolo (RS) e degli elementi Z (Z).  $\times 90.000$ .

#### TAVOLA V.

Fig. 11. - Sezione trasversale di fibra fortemente contratta. Non sono più visibili bande A ed I.  $\times 15.000$ .

Fig. 12. - Aspetto a forte ingrandimento di una fibra completamente contratta in sezione trasversale. I filamenti primari giungono in contatto con gli elementi Z ed i tubuli del reticolo, ed i filamenti secondari sono molto numerosi, soprattutto al centro del « sarcomero ».  $\times 87.000$ .

Fig. 13. - Particolare della fig. 12, che mette in rilievo l'alto valore del rapporto tra filamenti secondari e primari.  $\times 125.000$ .









