
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ROBERTO VALVASSORI, MAGDA DE EGUILEOR

**Organizzazione delle fibre muscolari nei Cestodi
[Anoplocephala magna (Abildgaard)]**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 61 (1976), n.5, p. 495–502.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1976_8_61_5_495_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/>

SEZIONE III

(Botanica, zoologia, fisiologia e patologia)

Zoologia. — *Organizzazione delle fibre muscolari nei Cestodi* [*Anoplocephala magna* (Abildgaard)] (*). Nota di ROBERTO VALVASSORI e MAGDA DE EGUILÉOR, presentata (**) dal Socio S. RANZI.

SUMMARY. — The fine structure of longitudinal (deep and superficial) and circular muscles of *Anoplocephala magna* has been analyzed with the electron microscope.

The fibers show a similar organization, with contractile and nuclear regions well separated; ER vesicles are present only at the surface of the fibers (subsarcolemmal cisternae), while mitochondria and J granules are scattered throughout the cytoplasm.

Myosin and actin filaments, at last in partially relaxed fibers, show a fairly regular arrangement, similar to that observed in the "intermediate smooth muscle fibers" or "pseudo striated fibers" in Molluscs.

Nella presente ricerca vengono presi in esame i muscoli di *Anoplocephala magna* (Abildgaard) (Platelminti, Cestodi) che allo stadio adulto si rinviene nell'intestino di giovani cavalli.

Queste fibre muscolari vengono generalmente considerate « lisce » (Grassè, 1961; Lumsden e Byram, 1967) anche se differiscono sostanzialmente dalla classica muscolatura liscia dei Vertebrati (Prosser, 1960; Hanson e Lowy, 1957; Lowy e Small, 1970; Panner e Honig, 1967, 1970; Small e Squire, 1972).

Le osservazioni sono state condotte allo scopo di approfondire le conoscenze sulla disposizione reciproca dei miofilamenti e sulla presenza e distribuzione di un sistema di conduzione endocellulare e intercellulare dell'eccitamento.

Tale lavoro si inserisce in una serie di ricerche condotte in questo laboratorio su animali privi di uno scheletro morfologicamente identificabile (Turbellari: de Eguileor e Valvassori, 1975; Anellidi: Lanzavecchia, 1968 a, 1968 b, 1971, 1972, Lanzavecchia e de Eguileor, 1976, Lanzavecchia, *et al.* in stampa, Ferraguti e Lanzavecchia, in preparazione; Nematomorfi: Lanzavecchia, Valvassori e de Eguileor, in stampa; Sipunculidi: de Eguileor e Valvassori in preparazione) allo scopo di correlare l'ultrastruttura e l'organizzazione dei sistemi contrattili con la posizione sistematica degli animali stessi, tenendo conto delle modificazioni adattative che possono essersi verificate durante il cammino evolutivo; nel caso in questione, da una primitiva vita libera a un tipo di vita strettamente parassitaria.

Campioni di *Anoplocephala magna* sono stati fissati in glutaraldeide 2% in tampone cacodilato 0,1 M con l'aggiunta di CaCl_2 0,03 M.

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Zoologia dell'Università statale di Milano. Contratto del C.N.R. N. 75.00601.04.115.3607.

(**) Nella seduta del 13 novembre 1976.

Dopo un'ora la concentrazione della glutaraldeide è stata aumentata al 3%. In questa seconda condizione i campioni sono stati lasciati per un'ora. Dopo lavaggio in tampone caco-dilato 0,1 M, il campione è stato postfissato in OsO_4 1,33% tamponato con S-collidina 0,1 M.

Trascorse all'incirca due ore il campione è stato lavato in tampone trismaleato 0,05 M e precolorato in acetato di uranile 1% sino al mattino seguente. Dopo rapida disidratazione in serie crescenti di alcool, il campione è stato incluso in una miscela di Epon-Araldite.

Le sezioni sono state ottenute con gli ultramicrotomi Ultratome I e III e osservate con il microscopio elettronico Hitachi HU 11 ES.

OSSERVAZIONI

Al di sotto dell'epitelio (sincizio) si trovano due strati di fibre muscolari; circolari più esternamente e longitudinali interne. Numerose altre fibre decorrono, immerse nel parenchima profondo, sia in senso longitudinale che in direzione dorso ventrale. Altre piccole fibre, con orientamento vario si trovano in corrispondenza degli organi e delle strutture interne dell'animale (Tav. I, figg. 1, 2).

Vengono qui descritte solamente le fibre dei primi due strati e le fibre longitudinali profonde.

Le fibre circolari formano un unico strato di piccoli elementi adiacenti tra i quali decorrono prolungamenti del sovrastante sincizio contenenti un citoplasma scarsamente strutturato; questi prolungamenti circondano parzialmente singole fibre o gruppi di fibre. Esse sono grossolanamente ellissoidali in sezione trasversale (longitudinale rispetto all'asse della proglottide), hanno l'asse maggiore perpendicolare rispetto alla superficie dell'epitelio e normalmente hanno diametri inferiori ai 2μ (Tav. I, figg. 3, 4).

Sottili e lunghi prolungamenti che si staccano da queste fibre sembrano prendere rapporti con altri elementi dello stesso strato o con fibre longitudinali sottostanti e mostrano internamente piccoli mitocondri ($0,15-0,25 \mu$), microtubuli e granuli di glicogeno. Il corpo delle fibre è per intero occupato da filamenti di actina di circa 70 \AA e da filamenti di miosina di 330 \AA (massimo 450 \AA). La disposizione reciproca dei due tipi di filamenti è irregolare; si possono osservare tuttavia corone di $12/13$ filamenti di actina attorno ad uno di miosina. Nelle regioni con soli filamenti di actina vi sono corpi densi o granulazioni J (740 \AA in media) che prendono frequentemente contatto con il sarcolemma in corrispondenza di leggere depressioni (Tav. I, fig. 4).

In sezione trasversale si contano in media 10 corpi densi per μ^2 .

Esistono scarse cisterne appiattite disposte parallelamente al sarcolemma e distanti da questo circa 220 \AA ; in tale spazio non si osservano strutture identificabili quali «foot processes», sebbene talvolta vi sia del materiale elettrondenso. Queste cisterne interessano al massimo il 4-5% della superficie della fibra.

I muscoli longitudinali sottostanti, osservati in una sezione trasversale di una proglottide, sono costituiti da elementi ancora ellittici (diametro mas-

simo di circa 6μ) reso irregolare da estroflessioni dirette sia verso il tegumento che verso il parenchima. Queste fibre presentano un aspetto ultrastrutturale uguale a quello delle fibre circolari.

Le sezioni longitudinali di questi due tipi di fibre forniscono scarse indicazioni sulla disposizione e sulla lunghezza dei filamenti che vengono solo parzialmente compresi nel piano della sezione, a causa del loro decorso ondulato; la lunghezza massima misurata è stata di 4μ .

Esse mettono invece bene in risalto i rapporti tra granulazioni J e filamenti secondari: questi ultimi sembrano prendere stretti rapporti con i granuli J, anche nel caso in cui questi sono in contatto con il sarcolemma.

In alcune immagini è possibile mettere in evidenza delle proiezioni trasversali, sui filamenti spessi, che sembrano prendere contatto con un filamento sottile; queste proiezioni trasversali si ripetono lungo il filamento con una periodicità di circa 140 \AA (Tav. IV, figg. 12, 13).

Le fibre longitudinali profonde sono isolate o formano gruppi di numerosi elementi nel parenchima della proglottide. In sezione trasversale presentano un aspetto polimorfo, grossolanamente circolare (diametro massimo 10μ) lobato e frastagliato, a ferro di cavallo o decisamente annulare (Tav. II, figg. 5, 6; Tav. III, fig. 7). Spesso due o più cellule sono tra di loro interdigitate strettamente. Sulla faccia interna della membrana cellulare si osservano spesso strutture costituite da una zona fortemente elettrondensa di 200 \AA di spessore e $350\text{--}400 \text{ \AA}$ di lunghezza, cui segue, verso il materiale contrattile, la zona meno densa e fittamente articolata della granulazione J.

Nello spazio extracellulare, in corrispondenza di tali strutture, si nota un accumulo di materiale elettrondenso sulla faccia esterna della membrana (Tav. III, fig. 9). Strutture simili sono state descritte da Caesar *et al.* (1957) in muscoli lisci di Mammiferi, Shoenberg (1969) nell'utero di coniglio, Pedersen (1968) in muscoli di Nemertini, Reger (1969) in muscoli di Ectoprotti, McRae (1965) in muscoli di Tubellari, Hayes e Kelly (1969) nel muscolo cardiaco di *Venus mercenaria* (Bivalvi) definendole « attachment plaques ».

Nei muscoli retrattori della proboscide di *Golfingia gouldi* (Sipunculide), Ernst (1970) paragona queste strutture a « emidesmosomi ».

Quando due fibre muscolari sono adiacenti (interdigitate) gli emidesmosomi ora descritti possono trovarsi affacciati dando origine a delle situazioni che vagamente ricordano le « giunzioni aderenti », sebbene le membrane delle due cellule distino circa $0,1 \mu$. Tale distanza, ai lati della giunzione, si riduce al valore normale di $100\text{--}150 \text{ \AA}$ (Tav. IV, figg. 10, 11).

In queste fibre il numero complessivo dei corpi densi si mantiene su valori paragonabili a quelli rilevati nel caso delle fibre più superficiali: se ne possono contare da 7 a 11 per μ^2 (in sezione trasversale).

Cisterne appiattite del reticolo disposte, come nelle fibre superficiali, parallelamente al sarcolemma e con le medesime caratteristiche costitutive, sono invece assai più numerose e estese, potendo interessare il 20–30 % della superficie della fibra.

I filamenti di actina e miosina sono fortemente interdigitati; tuttavia sono visibili zone I più o meno ampie (con soli filamenti di actina), mentre mancano zone H (con soli filamenti di miosina).

La disposizione generale dei miofilamenti non è sempre del tutto casuale; in talune fibre i filamenti di miosina sono disposti a formare delle linee curve grossolanamente radiali che possono chiudersi a delimitare zone I abbastanza ampie, al centro delle quali è possibile vedere una granulazione J (Tav. II, figg. 5, 6). In queste fibre le granulazioni J sono molto meno numerose e la loro frequenza per μ^2 oscilla attorno al valore di 4.

Sebbene non sia possibile individuare uno schema geometrico per definire i rapporti tra i filamenti spessi e sottili, questi ultimi formano frequentemente corone di 12-13 elementi attorno ai primi (Tav. III, fig. 8).

Sovente è possibile rilevare come alcuni filamenti secondari di una corona appartengano anche a corone adiacenti.

L'arco di circonferenza del filamento spesso, in rapporto ad ogni filamento sottile, risulta oscillare tra 80 e 100 Å, valore abbastanza inferiore a quello di 110-120 indicato nello schema proposto da Squire (1971).

I mitocondri, sempre piccoli e tondeggianti, assumono nelle fibre longitudinali più interne delle disposizioni caratteristiche: possono infatti essere dislocati al di sotto del sarcolemma in diretto contatto col materiale contrattile o occupare estroflessioni citoplasmatiche che frequentemente si staccano da queste fibre. In queste estroflessioni, regolarmente sprovviste di materiale contrattile, oltre ai mitocondri sono anche abbondanti i microtubuli e i granuli di glicogeno. Sovente i mitocondri sono ammassati al centro della fibra, sempre accompagnati da glicogeno. In sezione, la superficie occupata dai mitocondri è rilevante e in alcuni casi può raggiungere il 15-20% di quella della fibra (in media il 10%).

In nessuna cellula muscolare sono stati mai osservati nuclei, come pure non si sono mai notate giunzioni di alcun tipo con altri elementi cellulari. Per contro è frequentissimo osservare giunzioni di tipo «gap» fra cellule di natura non identificabile.

A causa della considerevole irregolarità di queste fibre muscolari non è possibile stabilirne, con sufficiente precisione, la organizzazione tridimensionale.

Per la scarsa consistenza dei tessuti dell'animale non è stato possibile portare meccanicamente (anche in vermi anestetizzati) le fibre muscolari in condizioni di decontrazione tali da poter meglio individuare la disposizione reciproca dei filamenti.

Di conseguenza le immagini osservate si riferiscono nella quasi totalità a fibre contratte, come conseguenza dell'effetto del fissatore durante l'allestimento del preparato. Alcune fibre, tuttavia, soprattutto tra le longitudinali profonde, presentano una disposizione dei filamenti e dei corpi densi che consente l'identificazione di zone con soli filamenti di actina e di zone di sovrapposizione dei due tipi di filamenti, rispettivamente interpretate come «bande I» e «bande A».

Si deve perciò ritenere che in questi casi le fibre si trovino in uno stato di relativa decontrazione che sembra confermata anche dalla minore frequenza dei corpi densi. In questo stesso senso può essere interpretata anche la disposizione regolare, a file, dei miofilamenti di miosina.

Nelle fibre più contratte (con maggiore frequenza di corpi densi), tale disposizione ordinata si perderebbe per effetto della più spinta interdigitazione dei due tipi di filamenti.

I corpi densi o granulazioni J possono essere interpretati, in accordo con altri Autori (Hanson e Lowy, 1957, 1959, 1961; Rosenbluth, 1967; Hayes e Kelly, 1969; Panner e Honig, 1967, 1970; Waltz, 1973, 1975; Shaw, 1974) come elementi Z, strutture cioè che dando attacco ai filamenti di actina limitano e definiscono l'estensione della contrazione.

Il loro numero abbastanza ridotto, anche nelle fibre contratte, in relazione all'abbondanza di filamenti secondari, deve far ritenere che la lunghezza di questi ultimi debba essere considerevole; ciò porterebbe anche a spiegare la mancanza, nelle fibre parzialmente decontratte, di zone chiaramente interpretabili come « bande H ».

Tutte le fibre osservate mancano completamente di invaginazioni del sarcolemma in qualche modo interpretabili come elementi del sistema T.

Sono invece presenti, sia pure in modo diverso nelle fibre superficiali e profonde, appaiamenti tra le cisterne del reticolo e la membrana superficiale, come si verifica per le cisterne subsarcolemmali di altri muscoli, ritenute coinvolte nei meccanismi di cattura e rilascio degli ioni Ca^{++} durante le fasi della contrazione.

La presenza di cisterne subsarcolemmali anche molto estese porta a ritenere che questi muscoli siano soggetti a un efficace controllo fisiologico, probabilmente superiore a quello esistente nei muscoli degli Echinodermi (Kawaguti, 1965; Lanzavecchia, 1967; Saita, 1969) ove tali strutture sono scarsamente sviluppate.

Per contro il numero delle cisterne subsarcolemmali è simile a quello, osservato nelle fibre muscolari di taluni Turbellari (de Eguileor e Valvassori, 1975) e di *Glossobalanus minutus* (Enteropneusta) (Castellani e Saita, 1974). La mancanza di invaginazioni del sarcolemma a formare tubuli del sistema T può essere attribuito al ridotto diametro delle fibre e quindi alla breve distanza tra il sarcolemma e il centro della fibra stessa.

Una simile condizione si verifica anche in muscoli striati (piccole fibre atriali del miocardio di gatto (McNutt e Fawcett, 1969) e fibre della muscolatura corporea di anfiosso (Peachey, 1961) e sagitta (Camatini e Lanzavecchia, 1966).

Un problema per il momento insolubile emerge dall'osservazione dei mitocondri che sono presenti in quantità rilevante nelle fibre muscolari.

Le conoscenze sulla respirazione dei Cestodi sono scarse e non sempre in accordo fra di loro.

È comunque probabile che nel tubo intestinale i vermi solitari vivano in condizioni largamente anaerobiche; manca in ogni caso un sistema di con-

duzione dell'ossigeno ed anche l'emoglobina tissutale presente in altri Platyhelminths e nei Nematodi sembra assente nei Cestodi.

In questi ultimi tuttavia sono funzionanti, almeno in maniera parziale, gli enzimi del ciclo di Krebs.

Nel complesso le fibre muscolari di *Anoplocephala magna* presentano una organizzazione non facilmente interpretabile a causa soprattutto della difficoltà di poter osservare elementi decontratti.

In fibre parzialmente decontratte tuttavia è rilevabile una disposizione caratteristica dei filamenti di miosina e actina, in sezione trasversale, simile a quella descritta da Hunt (1972) in *Buccinum undatum* e riferibile pertanto, sulla base della descrizione di Hoyle (1964) ai gruppi delle «intermediate smooth muscle fibers» o delle «pseudo striated muscle fibers».

Osservazioni analoghe sono anche state compiute in *Golfingia gouldii* (Ernst, 1970), in *Sipunculus nudus* (de Eguileor e Valvassori, in preparazione), entrambi appartenenti alla Classe dei Sipunculidi.

LAVORI CITATI

- CAESAR R., EDWARDS G. A. e RUSKA H. (1957) - «J. Biophys. Biochem. Cytol.», 3, 867.
 CAMATINI M. e LANZAVECCHIA G. (1966) - «Accad. Naz. Lincei, Rend. Sc. fis. mat. nat.», 41, 392.
 CASTELLANI CERESA L. e SAITA A. (1974) - «Monitore Zool. Ital.», 8, 117.
 DE EGUILÉOR M. e VALVASSORI R. (1975) - «Monitore Zool. Ital.», 9, 37.
 DE EGUILÉOR M. e VALVASSORI R. - In preparazione.
 ERNST V. (1970) - Ph. D. Thesis University of Louisville, Louisville, Kentucky.
 FERRAGUTI M. e LANZAVECCHIA G. - In preparazione.
 GRASSÉ P. P. (1961) - «Traité de Zoologie», Tome IV.
 HANSON J. e LOWY J. (1957) - «Nature, Lond.», 180, 906.
 HANSON J. e LOWY J. (1959) - «Nature, Lond.», 184, 286.
 HANSON J. e LOWY J. (1961) - «Proc. R. Soc. Ser. B.», 154, 173.
 HAYES R. L. e KELLY R. E. (1969) - «J. Morph.», 127, 151.
 HOYLE G. (1964) - In «Physiology of Mollusca» (eds. C. M. Yonge and Wilbur K. M.), Vol. 1, 313. Academic Press, New York.
 HUNT S. (1972) - «Tissue and Cell», 4, 479.
 KAWAGUTI S. (1965) - «Biol. J. Okayama Univ.», 11, 75.
 LANZAVECCHIA G. (1967) - «Accad. Naz. Lincei, Rend. Sc. fis. mat. nat.», 42, 894.
 LANZAVECCHIA G. (1968 a) - «Accad. Naz. Lincei, Rend. Sc. fis. mat. nat.», 44, 448.
 LANZAVECCHIA G. (1968 b) - «Accad. Naz. Lincei, Rend. Sc. fis. mat. nat.», 44, 575.
 LANZAVECCHIA G. (1971) - «Accad. Naz. Lincei, Rend. Sc. fis. mat. nat.», 50, 50.
 LANZAVECCHIA G. (1972) - «Boll. Zool.», 39, 159.
 LANZAVECCHIA G. e DE EGUILÉOR M. (1976) - «J. Submicr. Cytol.», 8, 69.
 LANZAVECCHIA G., DE EGUILÉOR M., VAILATI G. e VALVASSORI R. - «Boll. Zool.». In stampa.
 LANZAVECCHIA G., VALVASSORI R. e DE EGUILÉOR M. - «J. Mol. Biol.». In stampa.
 LOWY J. e SMALL J. V. (1970) - «Nature, Lond.», 227, 46.
 LUMSDEN R. D. e BYRAM J. III (1967) - «J. Parasit.», 53, 326.
 MCNUTT N. S. e FAWCETT D. W. (1969) - «J. Cell. Biol.», 42, 46.
 MCRAE E. K. (1963) - «J. Cell. Biol.», 18, 651.
 PANNER B. J. e HONIG C. R. (1967) - «J. Cell. Biol.», 35, 303.
 PANNER B. J. e HONIG C. R. (1970) - «J. Cell. Biol.», 44, 52.

- PEACHEY L. D. (1961) - « J. Biophys. Biochem. Cytol. », 10, 159.
PEDERSEN K. J. (1968) - « Z. Mikr. Anat. », 90, 570.
PROSSER G. L. (1960) - In « The structure and function of muscle. ». Bourne G. H. Ed. Academic Press, New York and London, Vol. 2, 387.
REGER J. (1969) - « J. Cell. Sci. », 4, 305.
ROSENBLUTH J. (1967) - « J. Cell. Biol. », 34, 15.
SAITA A. (1969) - « Rc. Ist. Lomb. Sci. Lett. », 103, 297.
SHAW K. (1974) - « Tissue and Cell », 6, 431.
SHOENBERG C. F. (1958) - « J. Biophys. Biochem. Cytol. », 4, 609.
SMALL J. V. e SQUIRE J. M. (1972) - « J. Mol. Biol. », 67, 117.
SQUIRE J. M. (1971) - « Nature », 233, 457.
WALTZ B. (1973) - « Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. », 140, 389.
WALTZ B. (1975) - « Mem. Ist. Ital. Idrobiol. », 32, 425.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-IV

TAVOLA I

- Fig. 1. - Sezione semifina longitudinale di proglottidi. Alla periferia è visibile il tegumento sinciziale e la regione più opaca contenente le fibre muscolari. ($\times 50$).
Fig. 2. - Sezione semifina trasversale. Al di sotto del tegumento è visibile la regione contenente le fibre circolari e le longitudinali periferiche (non ben distinguibili) mentre più in profondità si osservano gruppi di fibre longitudinali profonde. ($\times 200$).
Fig. 3. - Sezione longitudinale. Al di sotto del sincizio (S) sono visibili le piccole fibre circolari (C) tagliate trasversalmente e una fibra longitudinale periferica (L). ($\times 4.800$).
Fig. 4. - Le piccole fibre circolari sono intercalate tra i processi citoplasmatici del sincizio periferico (P). ($\times 32.000$).

TAVOLA II

- Figg. 5 e 6. - Fibre longitudinali profonde parzialmente decontratte. Si notano zone A e zone I, e numerosi mitocondri spesso riuniti in gruppi e frammisti a granuli di glicogeno. La disposizione dei filamenti di miosina è visibile nell'inserto, b 6). Alla periferia della fibra vi sono numerose cisterne subsarcolemmali. ($\times 18.000$).

TAVOLA III

- Fig. 7. - Fibra longitudinale profonda a forma di anello. ($\times 12.000$).
Fig. 8. - Particolare della figura precedente. È riconoscibile la disposizione dei mitocondri e delle cisterne subsarcolemmali. ($\times 65.000$).
Nell'inserto vengono illustrate le corone di filamenti di actina attorno a quelli di miosina. ($\times 150.000$).
Fig. 9. - Particolare di una fibra contratta con la superficie frastagliata da introflessioni terminanti con « emidesmosomi ». Sono visibili le cisterne subsarcolemmali le granulazioni J, mentre non si distinguono zone A ed I. ($\times 60.000$).
Nell'inserto è illustrata la struttura di un emidesmosoma. ($\times 150.000$).

TAVOLA IV

- Fig. 10. - Fibre longitudinali profonde incastrate fra di loro e collegate mediante caratteristiche strutture giunzionali. ($\times 47.000$).
- Fig. 11. - Giunzione fra due cellule consistente in due emidesmosomi affacciati e separati da materiale elettrone-denso. ($\times 105.000$).
- Fig. 12. - Sezione longitudinale di una fibra muscolare. Non sono riconoscibili sarcomeri o strutture analoghe. ($\times 65.000$).
- Fig. 13. - Particolare dei rapporti esistenti fra filamenti di actina e miosina; essi sono collegati fra loro da ponti con periodicit  longitudinale di 140 \AA . ($\times 138.000$).







