

Articoli/*Articles*

DALLA BIOLOGIA CELLULARE ALLA BIOLOGIA MOLECOLARE: L'APPARATO DI GOLGI DALLA SUA SCOPERTA AI NOSTRI GIORNI

MARIO FALCHETTI, RAMONA LUPI, LAURA OTTINI*

Dipartimento di Medicina Sperimentale, *Sezione di Storia della Medicina,
Università “La Sapienza”, Roma, I

SUMMARY

*FROM CELLULAR BIOLOGY TO MOLECULAR BIOLOGY:
GOLGI APPARATUS FROM THE DISCOVERY TO NOWADAYS*

On April the 9th 1898 Golgi presented the discovery of the Apparato Reticolare Interno or internal reticular apparatus to the Società Medico-Chirurgica in Pavia. The internal reticular apparatus was described as “a fine and elegant network within the cell body” of Purkinje cells. The discovery of this new intracellular structure can be considered a by-product of Golgi studies devoted to the analysis of the nervous system histology. Golgi and his co-workers detected the internal reticular apparatus in many cell types and described the organelle pleiomorphism due to specific physiological or pathological conditions. However, the real existence of the apparatus was questioned until the organelle was finally identified by electron microscopy in 1954. At this point Golgi apparatus became an actual intracellular structure without any clear function. The involvement in cell secretion processes was verified by using biochemical and molecular investigations from the 1960s. Nowadays, Golgi apparatus is clearly known to be involved in different cell functions as growth, homeostasis and division. The correct execution of these functions lies on the ability to maintain an equilibrated balance between the proteins therein resident. Recently, Golgi apparatus has been involved also in human pathology as mutations in proteins localized in the organelle are linked to some hereditary disorders like the Lowe syndrome.

Key words: Cell theory - Golgi apparatus discovery - Cell biology - Molecular biology

Mario Falchetti, Ramona Lupi, Laura Ottini

Golgi apparatus has been debated since its discovery. From the Golgi milestones discussed here it is evident that controversies that have arisen were often resolved by information resulting from the application of new technical developments. Indeed the compound dynamic structure and the relevance in cell physiology and in human pathology render Golgi apparatus an open object for future studies. Overall, the history of the Golgi apparatus represents an excellent model not only to follow the transition of the study approaches from cellular biology to molecular cell biology but also to understand the current attention paid to integrate the molecular function and the organelle structure in order to explain what goes wrong in the context of human disease.

Il mondo microscopico: dagli animalcules alla cellula ed i suoi organelli

L'invenzione del microscopio ottico, avvenuta agli inizi del XVII secolo, permise di gettare il primo sguardo su un universo completamente sconosciuto, quello della vita microscopica. Nel corso del XVII secolo si assiste infatti al susseguirsi di osservazioni, scoperte e descrizioni di forme di vita animale microscopiche non visibili se non osservate sotto la lente del microscopio.

Tra le prime osservazioni si ricordano quelle del gesuita Athanasius Kircher (1601-1680) il quale descrisse la presenza nei malati e nei cadaveri, vittime di un'epidemia di peste che infierì a Roma nel 1656, di vermi talmente tenui e sottili, “*minutissima animalcula*”, da sfuggire ai cinque sensi se non osservati con il microscopio. Kircher arrivò ad affermare che

molte cose, ancora nascoste nella natura, ed ignote agli antichi, sono state scoperte e dimostrate vere grazie all'uso del microscopio¹.

Poco dopo il naturalista Jan Swammerdam (1637-1680), utilizzando il microscopio per osservare il comportamento e la struttura corporea degli insetti, dimostrò che i vari stadi del ciclo vitale degli insetti (uova, larva, pupa, adulto) altro non erano che differenti forme di uno stesso individuo che si sviluppava da uova deposte dagli adulti e non da materiali in putrefazione. Più o meno contemporaneamente Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723) descrisse

Dalla biologia cellulare alla biologia molecolare

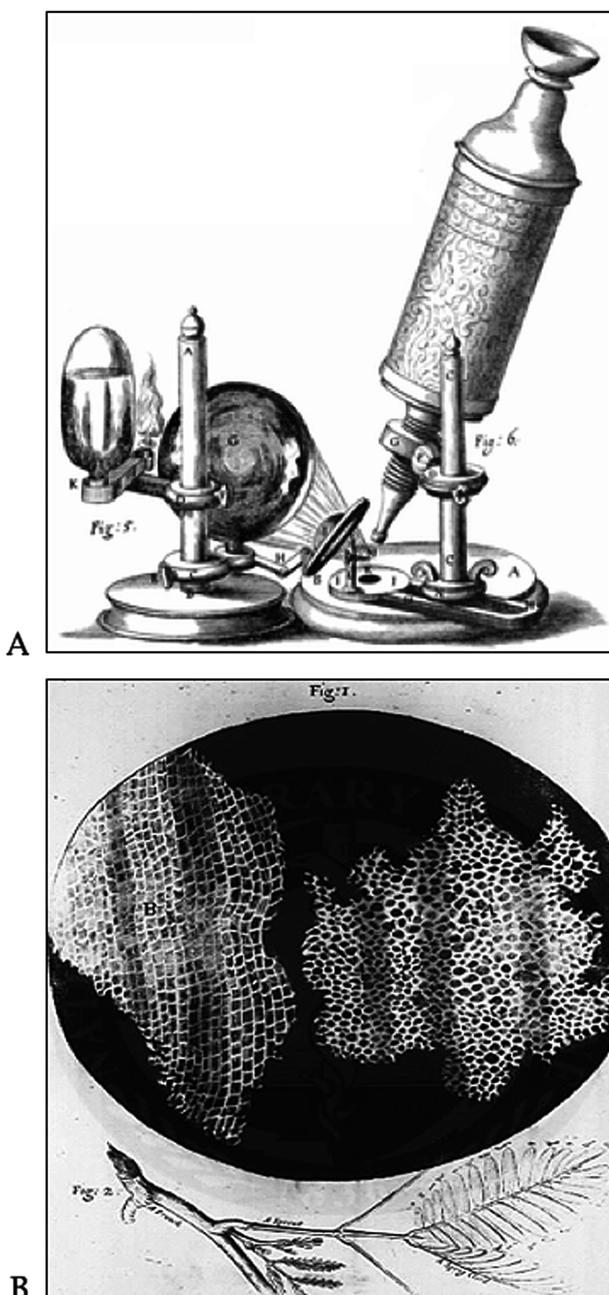


Fig. 1 - 1665. Robert Hooke: la cellula come unità strutturale microscopica. **A.** Modello di microscopio composto utilizzato da Hooke per le sue osservazioni. **B.** Disegno raffigurante un frammento di sughero come osservato da Hooke. (Riprodotto da 1.)

Mario Falchetti, Ramona Lupi, Laura Ottini

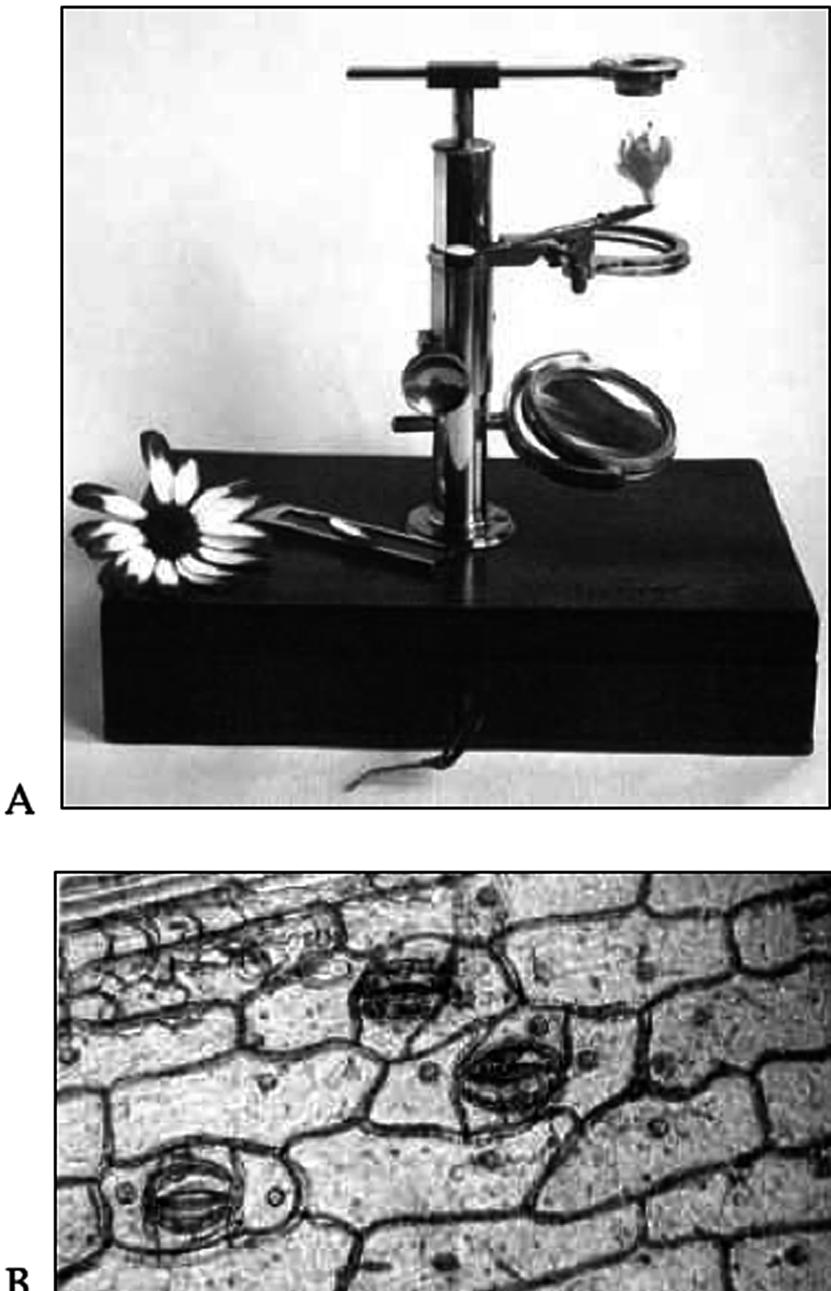


Fig. 2 - 1833. Robert Brown: il nucleo come elemento essenziale delle cellule viventi. **A.** Modello di microscopio composto utilizzato da Brown per le sue osservazioni. **B.** Preparato da foglie di orchidea che mostra nuclei presenti in tutte le cellule. (Riprodotto da <http://www.brianjford.com/wbbrown.htm>).

l'esistenza di particelle microscopiche dotate di movimento che interpretò come organismi viventi e denominò “*animalcules*”. Egli osservò numerosi organismi microscopici, tra cui batteri, protisti e piccoli invertebrati, dei quali fornì descrizioni così dettagliate, comprese le dimensioni che si avvicinano agli attuali valori in micron, che è stato possibile riconoscerli ancor oggi².

La scoperta dell'esistenza del mondo dei microrganismi fu interpretata come la scoperta dell'esistenza di un ponte tra la materia inanimata e gli esseri viventi visibili a occhio nudo. Si avvalorava così la teoria aristotelica della generazione spontanea ripresa dal filosofo francese Cartesio (1590-1645) che riteneva gli organismi inferiori originare dall'azione del calore sul materiale in putrefazione.

A sostegno della generazione spontanea furono nel corso del XVIII secolo gli esperimenti di John Needham (1713-1781). Needham affermava di aver ottenuto la nascita spontanea di *animalcula* da infusi di diversa natura e ipotizzò che fosse l'esalazione della forza vitale contenuta anche nel più piccolo frammento di materia organica, anche dopo la morte, a generare la vita³. Al contrario, Lazzaro Spallanzani (1729-1799), avendo dimostrato che gli infusi rimanevano sterili per lungo tempo se i contenitori erano sigillati ermeticamente e si intorbidivano rapidamente se questi venivano a contatto con l'aria, sosteneva che i microrganismi erano veicolati dall'aria⁴. Gli esperimenti condotti da Lazzaro Spallanzani, e prima di lui da Francesco Redi (1626-1698) e Antonio Vallisneri (1661-1730), dimostrarono definitivamente che un organismo vivente origina da un altro organismo vivente e quindi che esiste una cesura tra materia inanimata e materia vivente.

Al naturalista inglese Robert Hooke (1635-1702) è attribuita la prima descrizione microscopica della cellula. A differenza dei suoi contemporanei che utilizzavano un microscopio a singola lente, un sorta di potente piccola lente di ingrandimento molto in voga tra i microscopisti del XVII secolo⁵, Hooke sviluppò un microscopio composto, costituito da quattro tubi estensibili posti all'interno di un cilindro sul quale era sistemata una lente oculare piano-convessa. L'obiettivo era a doppia convessità con una lunghezza focale

piccola e aveva un diaframma a punta di spillo. Una struttura a forma di tazza sulla punta del cilindro serviva per appoggiarvi l'occhio alla corretta distanza dalla lente oculare⁶. Con questo nuovo microscopio Hooke nel 1665 descrisse le microscopiche unità che costituivano la base della struttura del sughero e chiamò tali unità “pori” o “cellule”, indicando con questi termini l'esistenza di uno “spazio vuoto” o “piccola stanza” circoscritto e delimitato da una parete o membrana⁷.

Con le osservazioni di Hooke era iniziata l'epoca della ricerca e caratterizzazione dei primi gradini della *scala naturae*, ossia l'individuazione della più piccola unità che potesse manifestare la vita. Questa ricerca ricevette un notevole impulso da un'innovazione tecnica nella microscopia ottica: l'introduzione dei microscopi acromatici. Con l'uso di questi microscopi si riduceva l'aberrazione cromatica che era la causa della diminuzione del potere di risoluzione dello strumento quando si usava un alto ingrandimento. Sotto la lente di questi nuovi microscopi, lo spazio vuoto che costituiva la cellula descritta da Hooke si andò riempiendo di strutture microscopiche intra-cellulari.

Nel 1833 il ricercatore scozzese Robert Brown (1773-1858) riconobbe il nucleo quale componente essenziale delle cellule. Osservando le foglie di orchidea egli scrisse

una singola areola circolare, generalmente più opaca della membrana della cellula... Questa areola, o nucleo della cellula come forse può essere chiamata, non è confinata solo nell'epiderma, ma può essere rilevata non solo nelle pubescenze della superficie... ma in molti casi anche nel parenchima ovvero nelle cellule interne del tessuto⁸.

Nel 1838 il botanico tedesco Matthias Schleiden (1804-1881) dimostrò che il nucleo era effettivamente un organello elementare presente nelle piante e strettamente legato al loro sviluppo. Le sue osservazioni sui nuclei comprendevano la descrizione della presenza di macchie, o anelli, nei nuclei stessi, che più tardi Theodore Schwann (1810-1882) identificò come nucleoli. Schleiden dimostrò che l'elemento strutturale di base delle piante era la cellula e sosten-

ne che le cellule figlie si potessero formare solo all'interno delle cellule parentali preesistenti. L'anno seguente Schwann giunse alla conclusione che il modello proposto per le piante potesse essere esteso agli animali. In una notevole sintesi, Schwann unì tutte le precedenti osservazioni istologiche e sviluppò la teoria cellulare secondo la quale tutti i tessuti, sia di origine vegetale che di origine animale, sono costituiti da un'unica unità strutturale, la cellula⁹.

Fino alla fine del secolo XIX si pensava che la cellula fosse costituita solamente da una parete, o membrana, e da una sostanza viscosa detta protoplasma in cui era immerso il nucleo. Con l'introduzione delle lenti ad immersione in olio (1870), lo sviluppo delle tecniche di microtromia e l'utilizzo di nuovi metodi di fissaggio e colorazione dei tessuti si potenzia ulteriormente il potere di risoluzione del microscopio ottico. All'interno del nucleo venne così osservata una sostanza fortemente colorata che nel corso della divisione cellulare dava origine a diverse strutture e, nel 1882, Walther

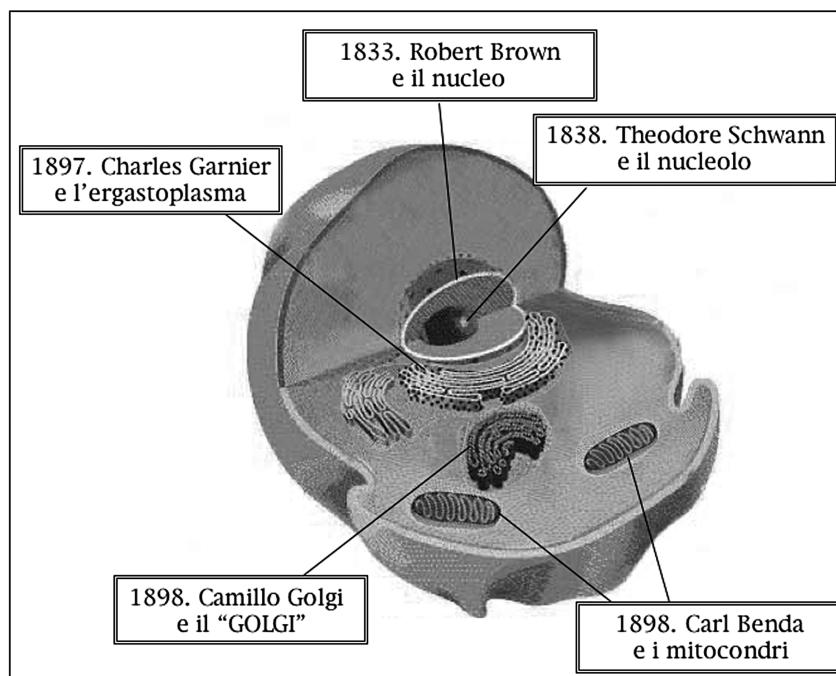


Fig. 3 - La cellula e i suoi organelli alla fine del secolo XIX. Sono riportate le date e gli Autori delle scoperte dei singoli organelli.

Flemming (1843-1905) chiamò tale sostanza cromatina. All'interno del protoplasma, nel 1897, venne scoperto l'ergastoplasma, l'attuale reticolo endoplasmatico, nel 1898 venne osservata l'esistenza dei mitocondri e nello stesso anno Camillo Golgi (1843-1926) comunicò l'esistenza di un apparato intracellulare che porta oggi il suo nome¹⁰.

L'apparato del Golgi emerge dai neuroni

È il 1897 quando Golgi, dopo aver ricoperto la carica di rettore dal 1893 al 1896 all'Università di Pavia, ritorna alla sua attività scientifica preferita, lo studio del sistema nervoso. In quegli anni era in corso un acceso dibattito sull'organizzazione del sistema nervoso. Alcuni, come Santiago Ramon y Cajal (1852-1934), sostenevano che il sistema nervoso fosse costituito da unità cellulari funzionalmente e anatomicamente separate, altri, come Golgi, proponevano per l'esistenza di una rete neurale diffusa. Probabilmente per ottenere nuove informazioni sulla rete neurale, Golgi decise di modificare le tecniche di colorazioni per le cellule nervose riducendo l'intensità dei precipitati metallici e quindi l'impregnazione dei tessuti¹¹. Il nuovo protocollo della "reazione nera" prevedeva l'indurimento di piccoli frammenti di tessuto nervoso con una miscela di osmio-dicromato seguito da impregnazione in una soluzione di nitrato d'argento. Applicando questo metodo, Golgi osservò all'interno delle cellule nervose la presenza di una rete di filamenti ben distinti e separati dalla membrana cellulare e dal nucleo. Nell'aprile del 1898, Golgi così presentò la scoperta del "*Apparato Reticolare Interno*" alla Società Medico-Chirurgica di Pavia:

Una fine ed elegante rete all'interno del corpo cellulare... completamente interna alle cellule nervose... Il particolare aspetto di questo apparato reticolare interno è attribuibile alla prevalenza di filamenti a forma di nastro, il loro modo di dividersi, le loro anastomosi, i sentieri formati da essi..., e dalla presenza in questo apparato di piatti sottili o piccoli dischi, rotondi e trasparenti al centro, che paiono essere i punti nodali del reticolo, e, infine, per il peculiare colore giallognolo che i filamenti assumono a causa della reazione.... L'aspetto più distintivo di tale apparato giace nella sua struttura complessiva, mentre è chiaramente limitato verso l'esterno... Verso l'interno, in contrasto, i filamenti della rete penetrano diversi piani.

Golgi specificò che egli aveva osservato l'apparato reticolare interno nelle cellule del Purkinje, ma suppose che tale struttura fosse presente almeno nelle principali classi di cellule nervose. In una serie di lavori tra il 1898 e il 1900 Golgi riportò la presenza dell'apparato reticolare interno nei neuroni dei gangli spinali e in quelli del sistema simpatico. Inoltre, nel gennaio 1899, egli descrisse le variazioni dell'apparato reticolare interno in relazione all'età, osservando che negli animali adulti e anziani l'impregnazione dell'apparato risultava spesso solo parziale.

Negli anni seguenti, i collaboratori di Golgi estesero gli studi sull'apparato reticolare interno a vari tipi cellulari. Antonio Pensa (1874-1970) lo osservò nelle cellule della midollare del surrene, Adelchi Negri (1876-1912) ne confermò la presenza nelle cellule del pancreas, delle ghiandole salivari, della tiroide, dell'epididimo e delle ovaie, Edoardo Gemelli (1878-1959) lo rilevò nelle cellule della ghiandola pituitaria. Divenne chiaro che l'apparato reticolare era una struttura ubiquitaria nelle cellule eucariote. Lo stesso Cajal affermò che “*l'apparato reticolare di Golgi è una struttura anatomica costante nel protoplasma di tutte le cellule viventi, sia embrionali che adulte*”. Ben presto gli stessi studi indicarono che l'apparato del Golgi si modificava in relazione all'attività funzionale della cellula. Studiando le cellule mucipare della mucosa gastrica di rana, Golgi descrisse i cambiamenti nella struttura e gli spostamenti all'interno dell'ambiente intracellulare dell'apparato durante i processi secretori. Considerando che l'apparato era presente in molti tipi cellulari, Golgi suppose un ruolo nella nutrizione cellulare piuttosto che un coinvolgimento dell'apparato nella funzione secretoria della cellula stessa. Lo stesso Cajal osservò un cambiamento nelle dimensioni dell'apparato nelle cellule caliciformi dell'intestino: l'apparato era ridotto in cellule a riposo, mentre era ipertrofico al culmine dell'attività secretoria¹².

L'apparato del Golgi è stato probabilmente osservato almeno in parte, alcuni anni prima della relazione presentata dal Golgi nel 1898. Le prime descrizioni di strutture riconducibili all'apparato descritto da Golgi risalgono al 1865 quando il ricercatore tedesco

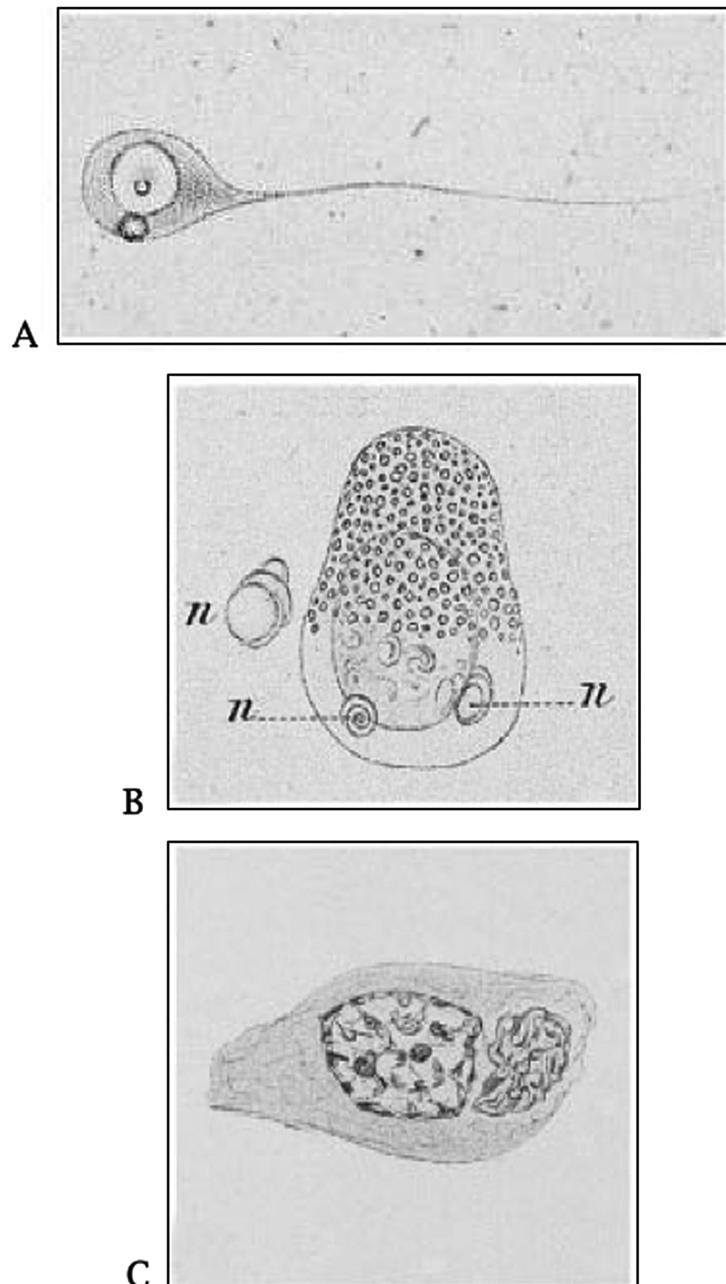


Fig. 4 - Il "Golgi" prima di Golgi? **A.** 1867. Adolphe von La Valette St. George: *Nebenkörper* (corpo laterale) in spermatoziti. **B.** 1882-1883. Moritz Nussbaum e Masanori Ogata: *Nebenkern* (nucleo laterale) in cellule del pancreas. **C.** 1886. Gustav Platner: *Nebenkern* (nucleo laterale) in spermatoziti. (Riprodotto da Droscher A. *Camillo Golgi and the discovery of the Golgi apparatus*. Histochem. Cell Biol. 109: 405-430, 1998).

Adolph von La Valette St. Gorge (1831-1910), studiando in maniera dettagliata l'acrosoma degli spermatozoi identificò un piccolo corpuscolo giustapposto al nucleo che chiama corpo laterale. Pochi anni dopo Gustav Platner ribattezzò il corpuscolo come nucleo laterale e Moritz Nussbaum (1850-1915) ne osserva l'aumento di dimensioni durante il processo secretorio nelle cellule del pancreas esocrino. Nel 1883 Masanori Ogata osservò che il nucleo laterale scompariva nelle cellule sottoposte a un lungo periodo di inedia e che si ampliava durante la nutrizione. Fu merito di Golgi riconoscere che queste strutture costituivano uno specifico organello cellulare distinto dal nucleo¹³.

Una disputa ultradecennale: l'apparato reticolare interno, artefatto o realtà?

La prima controversia che il Golgi affrontò in difesa della sua scoperta fu l'assimilazione dell'apparato reticolare interno al trofospazio di Emil A. Holmgren (1866-1927). Holmgren sosteneva che il trofospazio, un sistema di processi citoplasmatici di aspetto filamentoso o canalicolare che penetravano nel neurone da cellule vicine (trofociti), fosse identico o in comunicazione con le cavità dell'apparato reticolare interno. Golgi sosteneva invece che l'apparato reticolare interno non era connesso ad alcuna struttura extracellularare e, similmente, Cajal negava l'esistenza di collegamenti tra il sistema di cavità interne e la superficie cellulare.

Nei primi decenni del XX secolo, l'apparato reticolare interno, rinominato "apparato del Golgi" da Jozef Nusbaum (1859-1917) nel 1913, catturò l'attenzione dei citologi¹⁴. A partire dal 1910 le ricerche sull'apparato si estesero a svariati tipi cellulari. La questione principale era quella di stabilire se le strutture osservate nelle diverse cellule attraverso le tecniche di impregnazione fossero omologhe a quelle viste nei neuroni poiché a causa del pleiomorfismo dell'apparato i criteri morfologici adottati per il suo riconoscimento non sempre risultavano validi e convincenti. In generale uno dei problemi degli studi sull'apparato del Golgi fu l'incapacità di produrre risultati ripetibili. Forma, volume e localizzazione dell'appa-

rato variavano tra specie diverse, tra tipi cellulari differenti, nei diversi stadi di sviluppo così come negli stati fisiologici e patologici. Si avvertiva la necessità di individuare nuovi parametri di identificazione. Negli anni Venti ai criteri morfologici si aggiunsero il criterio di reazione (risposta al trattamento con fissativi) ed il criterio fisiologico (ruolo nella secrezione).

Nel complesso, si pensava che l'apparato del Golgi rappresentasse una struttura citoplasmatica specializzata che poteva essere modificata in base all'attività cellulare¹⁵.

Relativamente alla struttura interna dell'apparato del Golgi era dibattuto se fosse costituito da canalicoli. Così la pensavano il Cajal e Robert Bensley (1867-1956). Fu Jan Hirschler (1883-1951) a dare la descrizione di un organello membranoso-lamellare di duplice struttura: una membrana esterna cromofila e un contenuto interno cromofobo. Queste osservazioni segnarono il declino della teoria canalicolare e aprirono la questione del modo in cui l'apparato elaborasse i suoi prodotti¹⁶.

Nonostante tutti questi progressi, la controversia maggiore destinata a diventare una disputa ultradecennale riguardava la natura dell'apparato del Golgi. Si arrivò ad affermare che l'apparato fosse un artefatto legato alla preparazione dei campioni citologici. Si riteneva che l'argento o l'osmio potessero depositarsi su strutture vacuolari confluenti artificialmente durante la fissazione o su complessi che si formavano per la gelificazione di componenti citoplasmatiche a causa dei procedimenti utilizzati per fissare e colorare i tessuti¹⁷.

Nel 1928 Maurice Parat utilizzando un colorante, il rosso neutro, osservò che l'apparato del Golgi si costituiva in maniera artefattuale non da una struttura reticolare ma dall'allineamento di granuli che assumevano il colorante. Ulteriore supporto alla teoria dell'artefatto venne dagli studi di George Palade (1912) e Albert Claude (1899-1983). Nel 1949 essi ottennero tipiche strutture reticolari in varie cellule utilizzando etanolo diluito al 40-55% e affermarono che:

I risultati suggeriscono che l'apparato del Golgi sia una figura mielinica o un complesso di figure mieliniche indotte nelle cellule durante la preparazione dei campioni istologici.

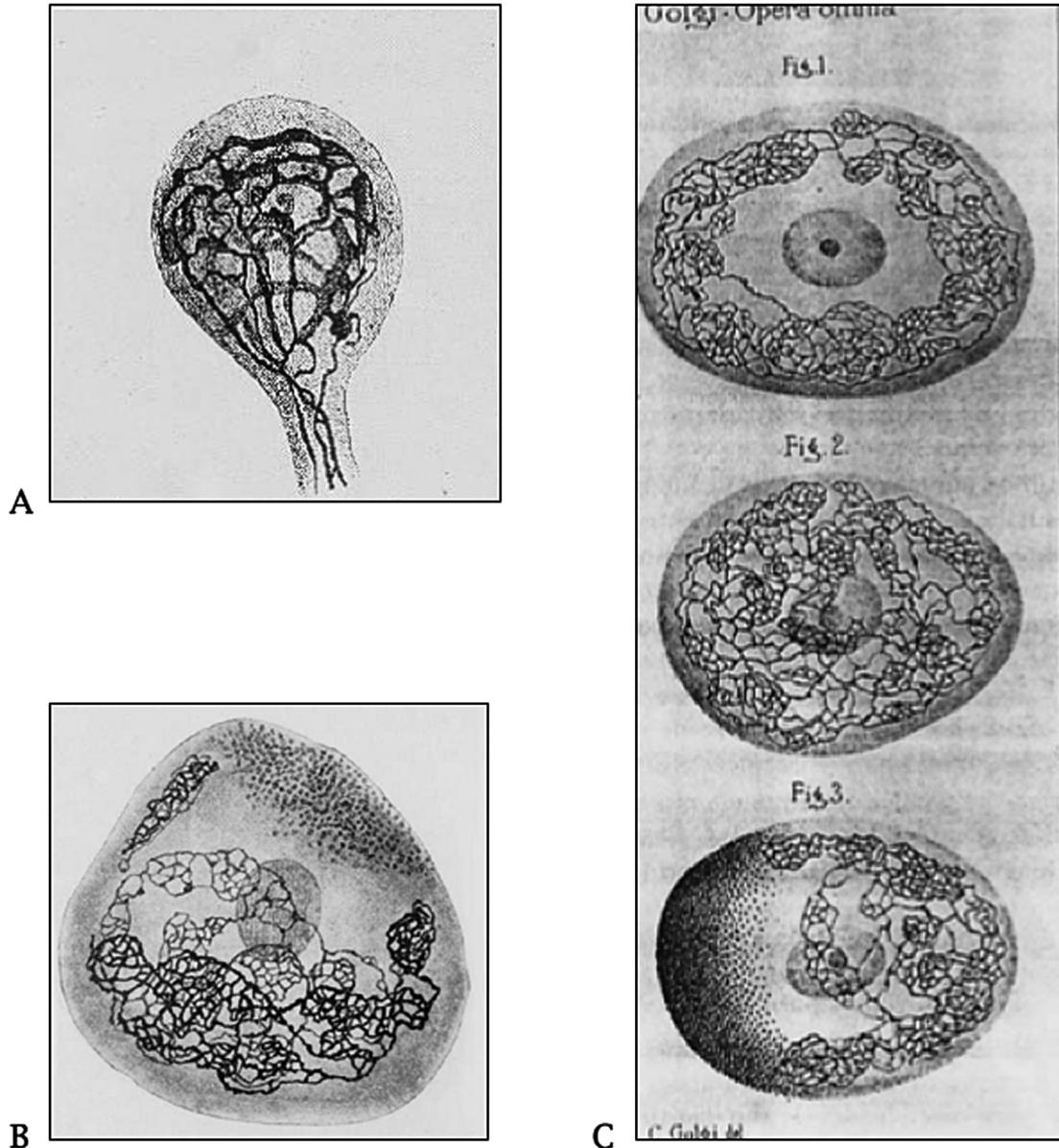


Fig. 5 - Il 19 aprile del 1898 Golgi presenta ufficialmente alla Società Medico-Chirurgica di Pavia la scoperta dell' "Apparato Reticolare Interno", una "sottile" struttura microscopica composta da un intreccio di "filamenti, placche e granuli" che egli aveva identificato nel citoplasma delle cellule del Purkinje. **A.** 1898. Camillo Golgi: *apparato reticolare interno* in cellule del Purkinje. **B e C** 1899. Camillo Golgi: *apparato reticolare interno* in cellule di gangli spinali. (Riprodotto da Camillo Golgi: *Opera omnia*).

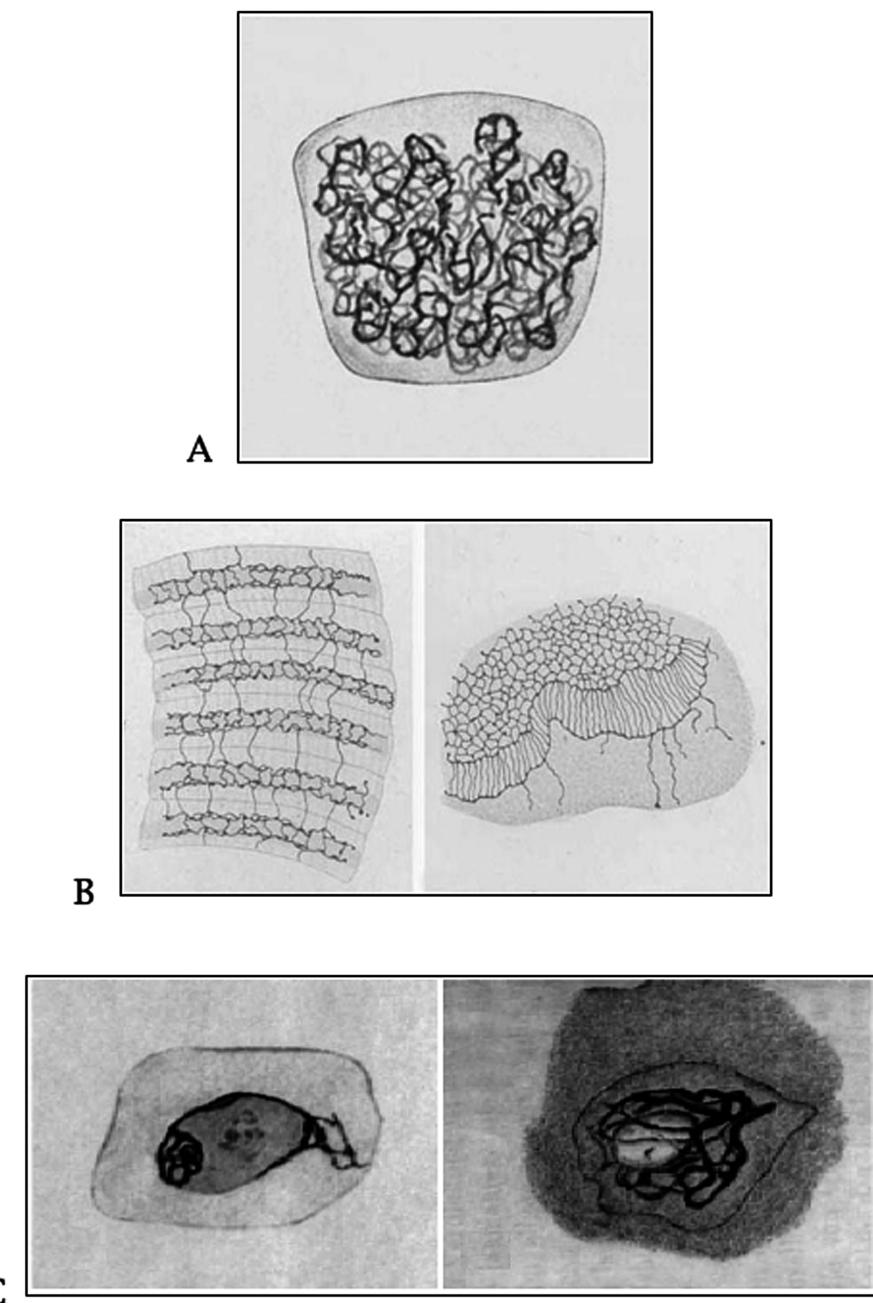


Fig. 6 - Negli anni 1899-1910 si osserva che il “Golgi” è una struttura ubiquitaria nelle cellule eucariotiche e gli studi si estendono a cellule patologiche. **A.** Il “Golgi” in *Lilium candidum*. (Riprodotto da Droscher A. Camillo Golgi and the discovery of the Golgi apparatus. Histochem. Cell Biol. 109: 405-430, 1998). **B.** Il “GOLGI” nel muscolo striato. (Riprodotto da Mazzarello P, Calligaro A, Vannini V, Muscatello U. *The sarcoplasmic reticulum: its discovery and rediscovery*. Nat Rev Mol Cell Biol. 4:69-74, 2003). **C.** Il “Golgi” in cellule tumorali. (Riprodotto da 15.)

Anche gli esperimenti di John R. Baker (1900-1984), condotti *in vivo* utilizzando nuove tecniche istochimiche, diedero supporto all'idea che l'apparato del Golgi fosse un artefatto. Baker nei suoi studi dapprima ritenne l'apparato un artefatto causato da fissativi che precipitavano le proteine e poi sostenne che l'intero apparato era un artefatto causato dalla deposizione di metalli su sferoidi contenenti lipidi chiamati lipocondri. Baker arrivò a sostenere che l'apparato:

prendeva forma reticolare solo perché riempie gli spazi tra altri oggetti strettamente compattati presenti nel citoplasma... Ci sono molti oggetti non relazionati tra loro nella cellula su cui l'osmio o l'argento possano essere depositati mediante le "tecniche del Golgi"... se uno è deciso ad avere un reticolo lo può ottenere¹⁸.

La conferma definitiva della reale esistenza dell'apparato di Golgi si ebbe con l'avvento della microscopia elettronica e lo sviluppo di nuove tecniche di fissazione che segnarono l'inizio dell'era moderna della biologia cellulare.

Nel 1954 la fine struttura lamellare dell'apparato fu riconosciuta e descritta da Albert Dalton e da Marie Felix. Il loro studio dimostrò che la deposizione dell'osmio avveniva nelle componenti lamellari dell'apparato, la cui struttura fine poté essere correlata ai dati ottenuti mediante la microscopia ottica e i metodi di impregnazione metallica.

Dopo una disputa durata 50 anni, l'organello fu riconosciuto:

Infine, probabilmente con sorpresa di molti citologi, l'apparato di Golgi, che è sempre stata la più controversa struttura cellulare, emerge dalle nuvole e appare come un organulo unico, chiaramente riconoscibile strutturalmente e probabilmente con definite funzioni ugualmente uniche¹⁹.

La biologia cellulare: struttura e funzioni dell'apparato del Golgi
Alla fine degli anni Cinquanta, l'apparato di Golgi è un reale

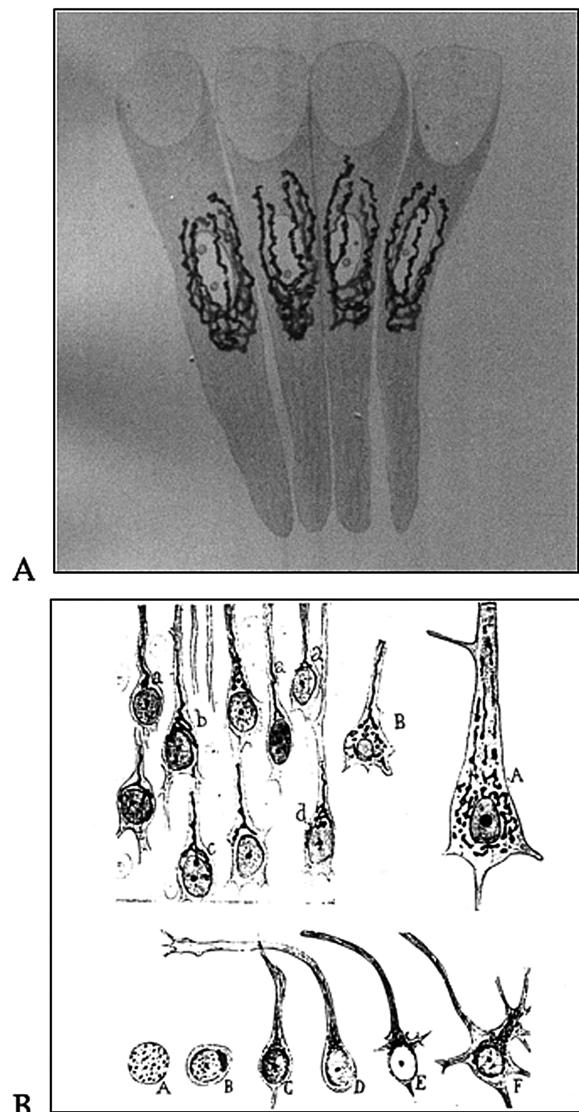


Fig. 7 - Il “Golgi” una struttura dinamica: le prime osservazioni e ipotesi funzionali. Il pleiomorfismo (localizzazione, volume e forma variano in diversi tipi cellulari, in diversi fasi di sviluppo cellulare, in diversi stati funzionali e patologici) ed il ruolo (ruolo fisiologico “nutritivo” in cellule della mucosa gastrica ed intestinale) del “Golgi”. **A.** 1902. Camillo Golgi: apparato reticolare interno in cellule mucinose (Riprodotto da Droscher A. 1998: *the centenary of the discovery of the Golgi apparatus*. Glycoconjugate Journal. 15: 733-736, 1998). **B.** 1914. Ramòn y Cajal: apparato reticolare interno in cellule piramidali e in moto neuroni spinali. Ramòn y Cajal dà una “visione dinamica” del “Golgi” e osserva un cambiamento nelle dimensioni nelle cellule caliciformi dell’intestino. (Riprodotto da 12.).

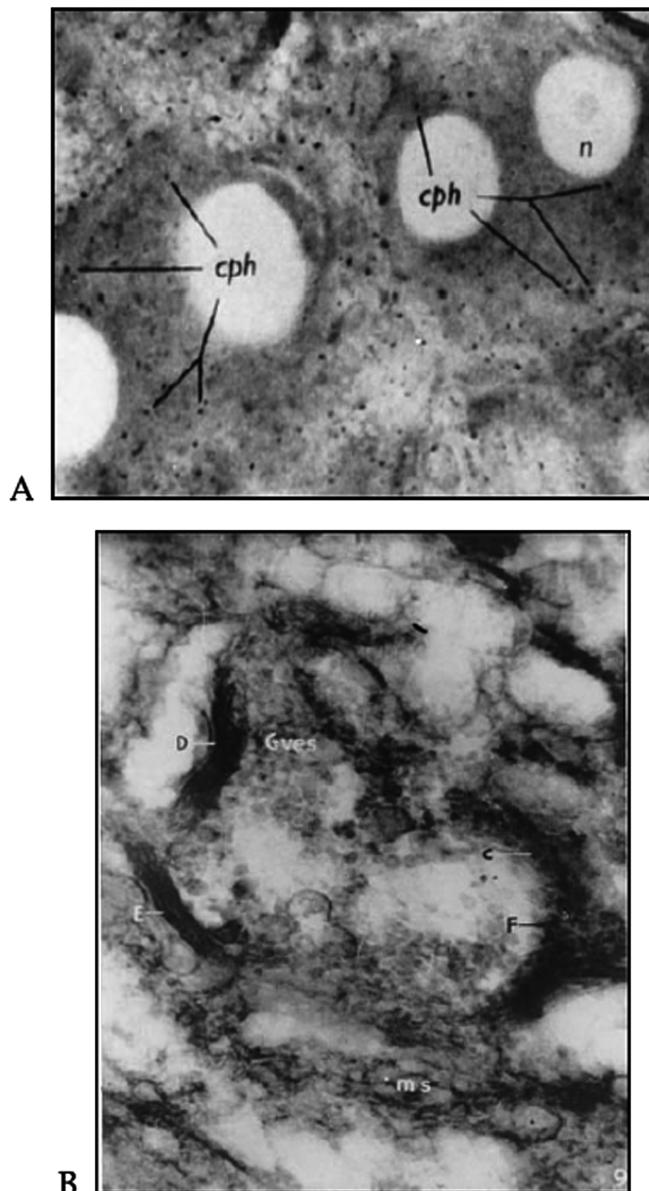


Fig. 8 - Da artefatto a struttura reale della cellula. **A.** 1957. Baker JR: "Frozen section" di neuroni del ganglio celiaco di coniglio colorati con Sudan black. John R Baker utilizza nuove tecniche *in vivo* di fissazione e nuove colorazioni e afferma: "...the Golgi network of nerve-cells is formed by the piling up of silver or osmium..." (*J. R. Microscop Soc.* 1955). **B.** L'utilizzo di tetrossido di osmio tamponato rese evidente l'apparato di Golgi al microscopio elettronico. Nel 1954 Albert Dalton e Marie Felix riportano la prima accurata descrizione dell'apparato. (Riprodotto da 18.)

organello intracellulare e non un artefatto. Rimaneva però da definire la sua funzione. Golgi stesso, mentre cercava di caratterizzare il “modello” d’organizzazione del suo apparato reticolare interno durante le fasi secretorie dell’epitelio della mucosa gastrica, ipotizzò, timidamente, che l’apparato potesse essere coinvolto in funzioni secretorie.

Le ricerche indirizzate a identificare la funzione, o le funzioni, dell’apparato di Golgi costituiscono un paradigmatico esempio di come le indagini di biologia cellulare consentano di verificare e associare specifiche funzioni a specifiche strutture e viceversa. A tal proposito è interessante ricordare che mentre l’apparato del Golgi era una struttura senza una specifica funzione, negli stessi anni una funzione, quella di internalizzare particelle extracellulari (fagocitosi) descritta da Elie Metchnikoff (1845-1916) nel 1887, rimaneva ancora senza una specifica struttura²⁰.

A partire dagli anni Sessanta, le ipotesi funzionali, basate esclusivamente sull’osservazione morfologica, secondo cui l’apparato di Golgi fosse coinvolto nei processi di secrezione, vengono verificate con nuove indagini biochimiche e molecolari. La connessione tra strutture intracellulari e singole funzioni cellulari fu ottenuta sulla base dell’ipotesi “enzima-marcatore”²¹.

Combinando metodiche che consentivano la separazione di diverse componenti cellulari (frazionamento cellulare) con saggi atti a misurare le attività enzimatiche associate a specifiche frazioni cellulari divenne chiaro il coinvolgimento dell’apparato del Golgi nella secrezione e nella glicosilazione delle proteine. Inoltre, osservando la distribuzione di specifici enzimi (ad esempio la fosfatasi acida e la tiamino pirofosfatasi) all’interno dell’apparato di Golgi si iniziò a delineare la suddivisione dell’apparato in compartimenti (*cis* e *trans*).

Negli anni Settanta una più approfondita caratterizzazione del processo di glicosilazione permise di definire la struttura a compartimenti dell’apparato del Golgi attraverso il collegamento con le fasi del processo di glicosilazione stesso. L’utilizzo della marcatura con oro permise di dividere l’apparato in una porzione contenente

gli enzimi delle prime tappe del processo (cis-Golgi) e una contenente quelli delle fasi finali (trans-Golgi). La possibilità di seguire attraverso dei marcatori le diverse proteine che transitavano nel Golgi permise, inoltre, di osservare che alcune proteine si muovevano settorialmente attraverso la cellula dal reticolo endoplasmatico (RE) all'apparato del Golgi, in cui venivano caricate nei granuli secretori e espulse mediante esocitosi²².

Oggi, l'utilizzo e l'integrazione di tecniche di *imaging in vivo*, delle *green fluorescent proteins* e del microscopio elettronico 3D ad alta definizione ha permesso di descrivere l'apparato di Golgi come una struttura orientata complessa e dinamica schematicamente suddivisibile in tre compartimenti principali: la porzione *cis*, che com-

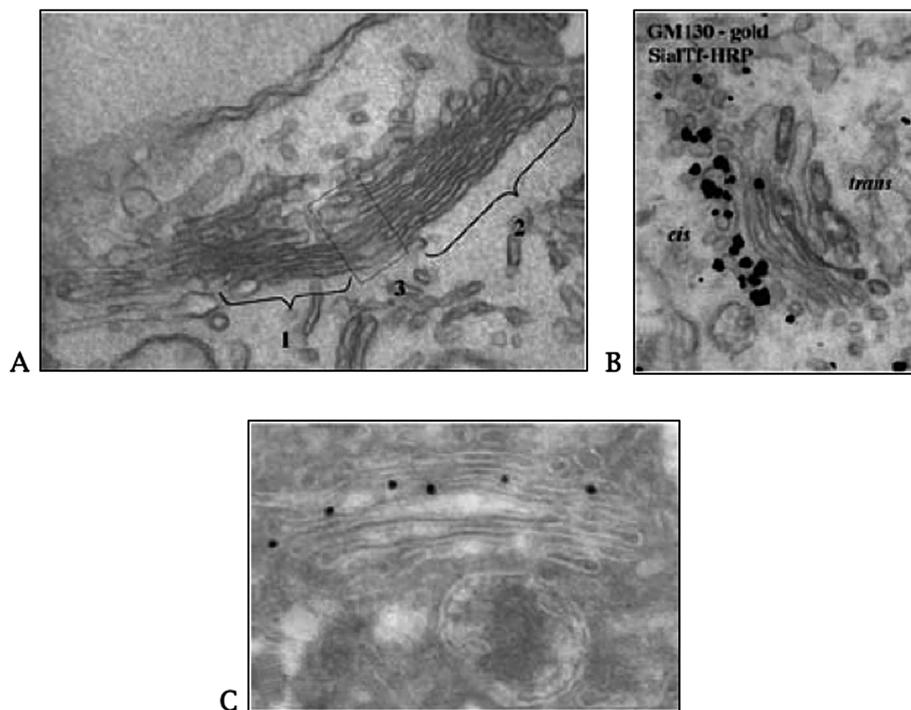


Fig. 9 - Nella metà del XX secolo l'avvento della microscopia elettronica e lo sviluppo di nuove tecniche di fissazione segnano l'inizio dell'era moderna della biologia cellulare. Nel 1975 Christian de Duve e George E. Palade potenziarono la tecnica del frazionamento cellulare con l'ipotesi "enzima-marcatore" e provano l'esistenza nelle cellule eucariotiche di distinti organelli ciascuno con specifiche funzioni. **A.** Ultrastruttura del "complesso di Golgi". **B.** Immunogold staining con *cis*-Golgi marker GM130. **C.** Immunoperossidasi con *trans*-Golgi marker sialitrasferasi. (Riprodotto da 23.)

prende un reticolo di tubuli ramificati connesso ad una cisterna altamente perforata, costituisce il polo di entrata nell'apparato; la porzione mediana costituita da un ammasso di cisterne a forma di disco appiattito; la porzione *trans*, caratterizzata anch'essa da un reticolo di tubuli ramificati, costituisce il polo di uscita dall'apparato²³.

Dalla biologia cellulare alla biologia molecolare: la fisio-patologia dell'apparato di Golgi

L'applicazione di metodiche molecolari ad indagini di biologia cellulare ha consentito di indagare quali meccanismi sono alla base del controllo della funzione, o funzioni, dell'apparato di Golgi e quali controllano la sua stessa formazione.

Attraverso la tecnologia del DNA ricombinante, ad esempio, si è potuto chiarire quale è il meccanismo, se flusso di massa o selezione, che controlla il trasporto delle proteine dal RE all'apparato del Golgi. Alla fine degli anni Novanta, l'isolamento di uno specifico segnale di riconoscimento presente in diverse proteine transmembranarie, ha permesso di dimostrare che il meccanismo di regolazione si basa sul trasporto selettivo delle proteine²⁴. Attraverso indagini di biologia molecolare è stato possibile comprendere come l'apparato del Golgi possa essere assemblato *de novo*, in assenza di qualsiasi struttura preesistente, a partire dal RE. L'assemblaggio sembra dipendere dall'attività sequenziale delle proteine Sar1 e Arf1. Sar1 porta al reclutamento di numerose proteine presso i domini di esportazione del RE, Arf1 determina una differenziazione di queste strutture producendo le nuove membrane dell'apparato del Golgi²⁵.

D'altra parte sulle funzioni e sulla regolazione delle funzioni dell'apparato di Golgi, molti quesiti sono ancora aperti tra cui quelli che riguardano i meccanismi che controllano la funzione di trasporto dell'apparato di Golgi, come ad esempio il riconoscimento di quale è il meccanismo che permette di distinguere le proteine destinate ad essere secrete da quelle residenti nell'apparato del Golgi e quale è il meccanismo alla base del trasporto delle proteine da una sezione all'altra dell'apparato stesso²⁶.

L'integrazione tra indagini molecolari e studi sulla struttura e funzione cellulare ha marcato il passaggio al cosiddetto periodo post-Palade²⁷, periodo in cui l'approccio molecolare e biochimico alla comprensione del trasporto membranario intracellulare, in par-

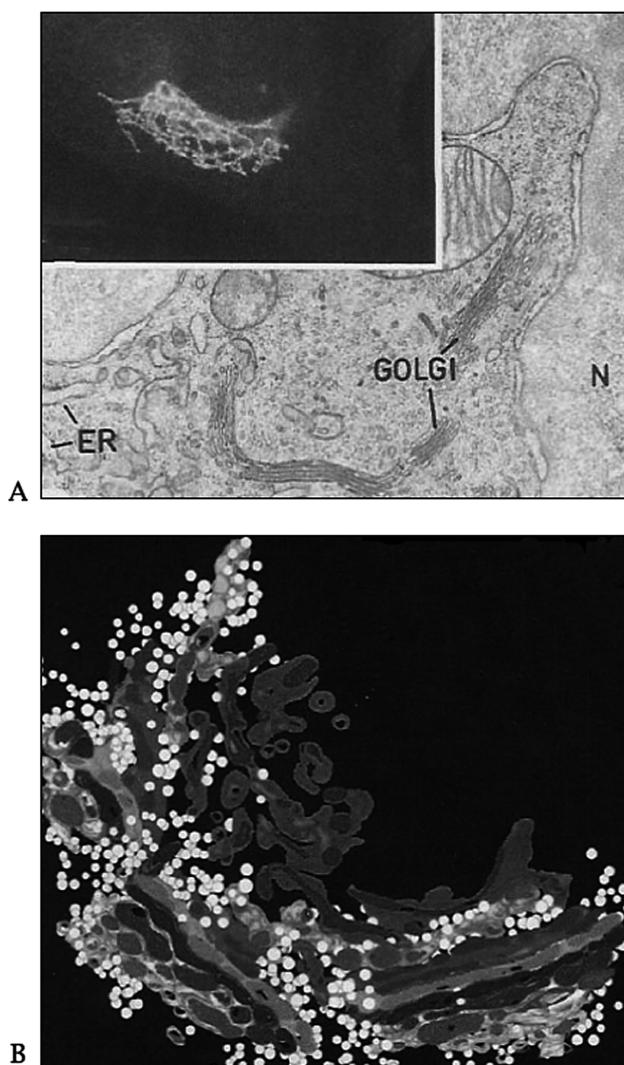


Fig. 10 - La biologia cellulare e la struttura dinamica del “Golgi”. L'utilizzo di tecniche di *imaging in vivo*, delle *green fluorescent proteins* (A.) e del microscopio elettronico 3D ad alta definizione (B.) ha permesso di descrivere la complessa e dinamica natura dell'apparato di Golgi. (Riprodotto da 23.).

ticolare, e delle relazioni struttura-funzione nelle cellule, in generale, è diventato prevalente nello spiegare le basi funzionali non solo di eventi fisiologici ma anche patologici.

Due studi tra la fine degli anni Settanta e la fine degli anni Ottanta, quelli sull'ipercolesterolemia familiare e sulle malattie da accumulo lisosomiale, hanno rappresentato i primi esempi di studi che, svolti combinando tecniche biochimiche e di microscopia elettronica con la genetica, hanno chiarito i meccanismi fisio-patologici implicati nello sviluppo di tali patologie ereditarie²⁸. Recentemente, lo stesso approccio metodologico integrato biologico-molecolare ha permesso di dimostrare che anche l'apparato di Golgi è implicato nella patogenesi di alcune malattie. In particolare si è osservato che alterazioni a carico di proteine localizzate nel Golgi sono alla base di alcune patologie ereditarie. Tra queste, la sindrome di Lowe, caratterizzata da cataratte congenite, ritardo mentale e difetti nel riassorbimento renale di soluti e proteine, è legata a mutazioni a carico del gene *OCRL1*. Il gene *OCRL1* è localizzato nel cromosoma X e codifica per una fosfatasi localizzata nell'apparato del Golgi. In particolare, la proteina OCRL1 è localizzata nel reticolo tubulare nella porzione *trans* dell'apparato del Golgi e sembra essere coinvolta nella regolazione del traffico membranario tra questa porzione e gli endosomi. Mutazioni del gene *OCRL1* causano inattivazione o ridotta stabilità della proteina ma ad oggi non è completamente chiaro come una proteina espressa ubiquitariamente possa dare difetti limitati ai tessuti colpiti dalla sindrome²⁹.

Conclusioni

Ripercorrendo la ricostruzione storica degli eventi che hanno accompagnato la scoperta dell'apparato del Golgi non si può fare a meno di osservare come l'originario “apparato reticolare interno” abbia cambiato nome nel corso del tempo di riflesso ai progressi nella conoscenza dell'organello, della sua struttura e delle sue funzioni.

Dall'iniziale definizione data da Golgi nel 1898 di “apparato reticolare interno” che rifletteva la descrizione delle sue osserva-

zioni al microscopio ottico, si è passati nel 1913 a “*apparato del Golgi*” e quindi “*apparato di Golgi-Holmgren*”, associando la nuova definizione dell’organello intracellulare ai nomi degli scienziati che hanno descritto “altre” strutture intracellulari che mostravano somiglianze con l’apparato descritto da Golgi.

Nel 1956, Dalton e Felix coniano il termine di “*complesso*” del Golgi sottolineando la differenza tra il termine “apparato”, che indica un insieme di strumenti adatti a uno scopo specifico, ed il termine “*complesso*”, che indica un’entità anatomica la cui struttura è costituita da più parti tra loro correlate. Quindi la definizione di “*complesso di Golgi*” per designare l’organello intracellulare descritto da Golgi rendeva evidente la cooperazione funzionale tra le sue componenti³⁰.

Negli ultimi anni nella letteratura scientifica l’espressione “apparato/complesso del Golgi” è stata sostituita da quella più sintetica di “*Il Golgi*” ed è inoltre invalso l’uso in forma aggettivale del termine stesso che, appaiato a termini che si riferiscono a parti o a funzioni dell’apparato, contribuiscono a generare confusione tra l’identità dell’organulo e quella del suo scopritore³¹. Una rapida ricerca condotta in Internet ha permesso di rilevare come la popolarità dell’apparato del Golgi non sia limitata al solo ambito scientifico. Infatti è stato possibile trovare una canzone dal titolo “*Golgi apparatus*” inserita nell’album “Junta” del 1989 di una band statunitense costituitasi nel 1983, i Phish. Ad ispirare la canzone è stato proprio l’apparato del Golgi colto nel momento in cui svolge una delle sue funzioni, inserire un segnale per destinare le proteine ai lisosomi. Le proteine possono accedere al lisosoma se in possesso “della matrice di un biglietto”, così il pubblico, che nei concerti dei Phish, può accedere al palco mostrando la matrice del biglietto e così partecipare all’esecuzione di una canzone³².

In conclusione, la ricostruzione storica degli eventi e delle dispute che hanno accompagnato la scoperta dell’apparato di Golgi permette di affermare che nessuna tecnica è esente da limiti e che le controversie possono essere risolte dalle informazioni che si ricava-no nell’adottare nuovi approcci tecnologici. L’integrazione di meto-

dologie distinte e complementari consente non solo lo sviluppo di nuovi concetti ma anche la re-interpretazione dei “vecchi” dati biochimici e microscopici.

Scoperto più di cento anni fa, l'*apparato di Golgi* è ancora protagonista di intense ricerche e costituisce un eccellente modello di studio non solo per seguire il cammino che ha portato alla nascita della moderna biologia cellulare e all’evoluzione verso la biologia molecolare, ma anche per comprendere l’attuale pensiero scientifico che vede nella biologia molecolare della cellula un approccio metodologico idoneo per comprendere i meccanismi patogenetici alla base delle malattie.

BIBLIOGRAFIA E NOTE

Acknowledgements

Authors wish to thank Professor Paolo Mazzarello for kindly providing useful data for writing this paper and for helpful discussions.

1. MAZZARELLO P., *A unifying concept: the history of cell theory*. Nature Cell Biology 1: E13-E15, 1999. BRINDANI F., *Evoluzione delle conoscenze parassitologiche nell’epoca pre-spallanziana*. 1998.
<http://www.unipr.it/arpa/facvet/annali/1998/brindani/brindani.htm>
2. Cfr op. cit. nota 1; MAZZARELLO P., CORLISS JO., *A salute to Antony van Leeuwenhoek of Delft, most versatile 17th century founding father of protistology*. Protist 2002; 153:177-190,
3. Cfr op. cit. nota 1; BRINDANI F., CAPANNA E., *Lazzaro Spallanzani: at the roots of modern biology*. Journal of Experimental Zoology 285: 178-196, 1999.
4. Cfr BRINDANI F., op. cit. nota 1.
5. Cfr op. cit. nota 1 MAZZARELLO P., COBB M., *Reading and writing The Book of Nature: Jan Swammerdam (1637-1680)*. Endeavour 2000; 24(3): 122-128.
6. Cfr op. cit. nota 1; MAZZARELLO P., ASH C., *Hooke’s microscope*. Trends in Microbiology 1998; 6 (10): 391.
7. Cfr. MAZZARELLO P., op. cit. nota 1.
8. Cfr. MAZZARELLO P., op. cit. nota 1.
9. SCOTT I., LOGAN DC., *The birth of cell biology*. New Phytologist 2004; 163: 7-9. AUBERT G., *Theodor Schwann*. In: AMINOFF M. and DAROFF R.B. (by edited),

Dalla biologia cellulare alla biologia molecolare

Encyclopedia of the Neurological Sciences. San Diego Academic Press, pag. 215-217, 2003.

10. Cfr Mazzarello P., op. cit. nota 1.
11. BENTIVOGLIO M., MAZZARELLO P., *The pathway to cell and its organelles: one hundred years of the Golgi apparatus.* Endeavour 1998a; 22(3): 101-105.
12. BENTIVOGLIO M., MAZZARELLO P., *One hundred years of the Golgi apparatus: history of a disputed cell organelle.* Italian J Neurol. Sci. 1998b; 19: 241-247.
13. Cfr op. cit. nota 11.
14. BENTIVOGLIO M., 1898: *the Golgi apparatus emerges from nerve cells.* TINS 1998; 21: 195-200.
15. DROSCHER A., *The history of the Golgi apparatus in neurones from its discovery in 1898 to electron microscopy.* Brain Research Bulletin 1998; 47(3): 199-203.
DROSCHER A., *From the “apparato reticolare interno” to “the Golgi”: 100 years of Golgi apparatus research.* Virchows Arch. 1999; 434: 103-107.
16. Cfr. DROSCHER A., op. cit. nota 15, 1999.
17. Cfr. op. cit. nota 14.
18. Cfr. DROSCHER A., op. cit. nota 15, 1998, e nota 14.
19. Cfr. op. cit. nota 14.
20. MELLMAN I., WARREN G., *The road taken: past and future foundations of membrane traffic.* Cell 100: 99-112, 2000. MECHNIKOV I., *On the Present State of the Question of Immunity in Infectious Diseases.* Nobel Lecture, December 11, 1908. From *Nobel Lectures, Physiology or Medicine 1901-1921*, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 1967.
21. Cfr. MELLMAN I., WARREN G., op. cit. nota 20.
22. FARQUHAR MC., PALADE GE., *The Golgi apparatus: 100 years of progress and controversy.* Trends in Cell Biology 1998; 8: 2-10.
23. MARSH B.J., HOWELL K.E., *The mammalian Golgi-complex debates.* Nature Reviews, Molecular Cell Biology 2002; 3: 789-795. POLISHCHUK R.S., MIRONOV A.A., *Structural aspects of Golgi functions.* Cell. Mol. Life Sci. 2004; 61: 146-158.
24. Cfr. op. cit. nota 22.
25. ALTAN-BONNET N., SOUGRAT R., LIPPINCOTT-SCHWARTZ J., *Molecular basis for Golgi maintenance and biogenesis.* Current Opinion in Cell Biology 2004;
26. Cfr. op. cit. nota 22.
27. Cfr. MELLMAN I., WARREN G., op. cit. nota 20.
28. Cfr. MELLMAN I., WARREN G., op. cit. nota 20.
29. LOWE M., *Structure and function of the Lowe syndrome protein OCRL1.* Traffic 2005; 6: 711-719.

Mario Falchetti, Ramona Lupi, Laura Ottini

30. Cfr. op. cit. nota14.
31. FABENE PF., BENTIVOGLIO M., 1898-1998: *Camillo Golgi and “the Golgi”: one hundred years of terminological clones*. Brain Research Bulletin 1998; 47(3): 195-199.
32. www.phish.net/faq/golgi.html

Correspondence should be addressed to:

Laura Ottini, Department of Experimental Medicine, University “La Sapienza”, Viale Regina Elena 324, 00161, Rome, Italy. email: laura.ottini@uniroma1.it