

## ESTRUCTURA I ULTRASTRUCTURA DE LES CÈL·LULES EPITELIALS DE *Dina lineata* (O.F. Müller, 1774), (Hirudinea)

G. Huguet Blanco i M.LL. Molinas de Ferrer

Departament de Biologia. Col·legi Universitari de Girona (UAB). Hospital, 6. 17071-Girona.

---

### RESUM

L'epidermis està formada per una capa monostratificada de cèl·lules epitelials columnars caracteritzades per una gran cohesió interna i per la importància de les unions amb la cutícula i la làmina basal. Les cèl·lules columnars mostren una activitat de secreció proteica important polaritzada cap al pol apical i que es relaciona amb la síntesi de material cuticular. Es constata la presència d'un tipus cel·lular lleugerament menys electrodens i més voluminós. No s'observen cèl·lules basals ni figures mitòtiques.

### RESUMEN

La epidermis está formada por una capa monoestratificada de células epiteliales columnares caracterizadas por una gran cohesión interna y por la importancia de las uniones con la cutícula y la lámina basal. Las células columnares muestran una actividad de secreción proteica importante, polarizada hacia el polo apical que relacionamos con la síntesis de material cuticular. Se constata la presencia de un tipo celular ligeramente menos electrodenso y más voluminoso. No se observan células basales ni figuras mitóticas.

### ABSTRACT

The paper describes the epidermal cells of *Dina lineata* (O.F. Müller, 1774), (Hirudinea, Erpobdellidae).

The columnar epithelial cells form a monostratified layer characterized by a strong inner cohesion and by important junctions with the cuticle and the basement membrane. The cytoplasm shows a zonal distribution with the typical features of an intense synthetic activity. The apical region of the cell is filled with small secretory vesicles, and some of these can also be seen on the outside of the cell below the cuticle. Cytochemical tests suggest protein secretion. It is reported the presence of some more voluminous cells and with a lower synthetic activity. We note the absence of mitotic figures and of basal cells.

---

**Key words:** Hirudinea, *Dina lineata*, histochemistry, integument, morphology, epidermis.

## INTRODUCCIÓ

Aquest treball és el segon d'una sèrie iniciada en l'article «Estructura i ultraestructura del revestiment cuticular de *Dina lineata* (O.F. Müller 1774)», (1985), en la qual les autores inicien una descripció de la morfologia del tegument d'aquesta espècie.

El tegument de *Dina lineata* està constituït per tres capes: la cutícula de naturalesa fibrosa, l'epidermis monostratificada glandular i la dermis connectiva.

L'epidermis està formada per una capa monostratificada de cèl·lules columnars entre les quals es troben nombroses glàndules unicel·lulars mucoses de dos tipus: piriforms i tubulars. En aquest treball es fa una descripció de la morfologia de les cèl·lules columnars mentre que els elements glandulars seran tractats en un proper article.

L'epidermis dels hirudínids ha estat poc estudiada. Berchtold *et al.* (1985) la descriuen en *Hirudo medicinalis* en relació de la síntesi proteica durant el cicle de muda cuticular i Cornec (1984), en *Helobdella stagnalis*, en el context dinàmic dels processos de regeneració. En oligoquets, ha estat estudiada extensament per Burke (1974 a,b) i per Burke i Ross (1975).

## MATERIAL I MÈTODES

Els exemplars de *Dina lineata* utilitzats en aquest treball provenen de rius i rierols pròxims a Girona.

La metodologia emprada tant en microscòpia òptica com en microscòpia electrònica de transmissió i d'escandallatge és la descrita per Huguet i Molinas (1985).

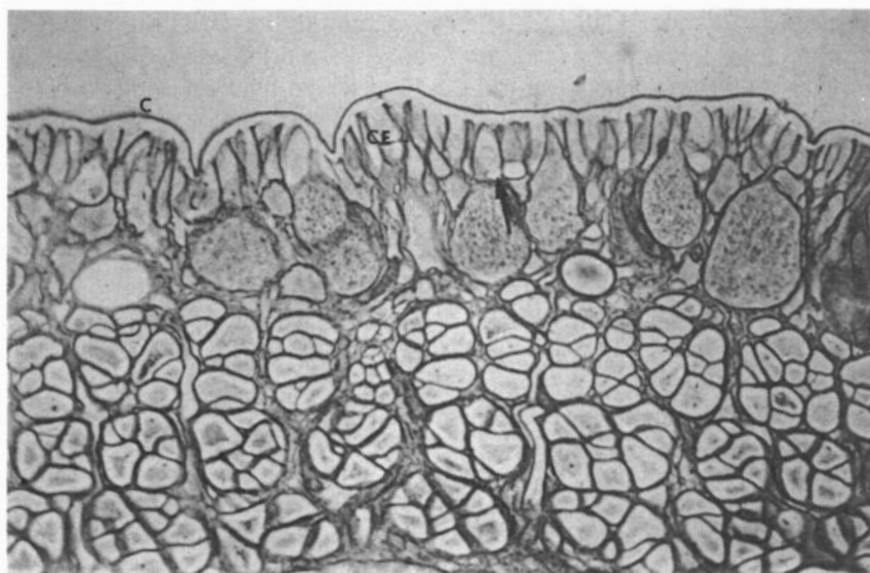
Les proves histoquímiques realitzades per a la detecció de proteïnes són la reacció tanno-fèrrica de Salazar (Gabe, 1968), la reacció de la ninhidrina-Schiff (Humason, 1967) i la del blau de Coomassie (Bradford, 1976, modificat Huguet i Molinas, 1985); i, per a la detecció de fibres connectives, la impregnació argèntica de Gomori (Bonet i Huguet, 1985).

## OBSERVACIONS I RESULTATS

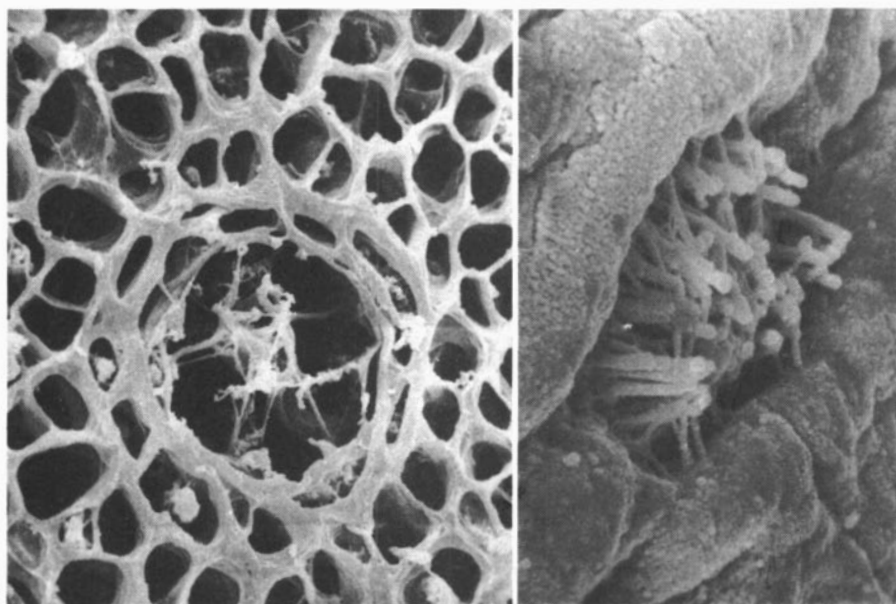
Les cèl·lules epitelials columnars són cilíndriques, lleugerament eixamplades en la porció apical per formar caps pentagonals. Es troben íntimament unides per una banda apical d'uns 3 micròmetres de gruix. El cos queda limitat per la làmina basal, visible per impregnació argèntica (Fig. 1). La dermis penetra entre les parets laterals en forma de trabècules connectives.

Són cèl·lules d'aproximadament 12,5 micròmetres de longitud en les quals el diàmetre varia lleugerament: a la regió apical és d'uns 8 micròmetres, 6 micròmetres immediatament per sota de la banda apical d'unió i a la regió nuclear torna a eixamplar-se lleugerament fins a uns 7 micròmetres.

S'han obtingut algunes imatges de la superfície epitelial amb microscò-



**Figura 1.** Impregnació argèntica de Gomori que permet apreciar la làmina basal de les cèl·lules epitelials. (CE) cèl·lula epitelial, (C) cutícula, (→) làmina basal.



**Figura 2.** El tegument després d'arrencar l'epidermis juntament amb la cutícula. S'observa la trama connectiva dèrmica en forma de cel·les pentagonals.

**Figura 3.** Superfície del tegument mostrant una papil·la sensitiva.

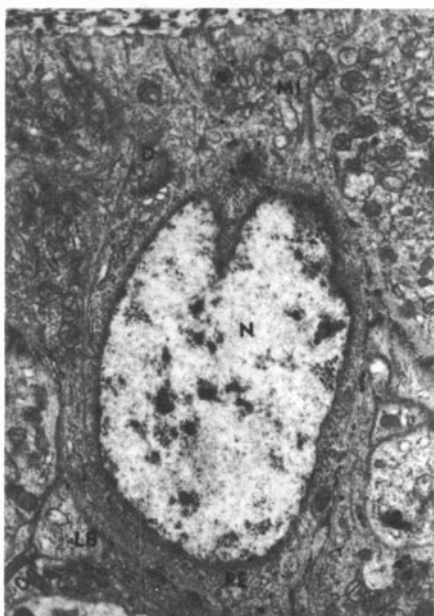
pia electrònica d'escandallatge, de mostres que s'havien fracturat després de la dessecació sota punt crític, produint-se l'arrencament de les cèl·lules epitelials juntament amb la cutícula. S'hi observen unes estructures en forma de «cel·les» pentagonals en les quals el diàmetre major té uns 5 micròmetres. Sovint es veuen unes estructures circulars al voltant de les quals s'estructuren aquestes «cel·les» (Fig. 2) que corresponen a la ubicació de papil·les sensibles (Fig. 3).

El nucli de caràcter marcadament àcid, oval, de  $5,5 \times 4,5$  micròmetres, està situat basalment. La cromatina és finament dispersa amb alguns grànuls associats a l'envoltura nuclear (Fig. 4). Sovint es veuen nuclis bilobats i, en algunes imatges, es pot veure un nucleol d'1 micròmetre de diàmetre a la part basal del nucli.

El citoplasma d'aquestes cèl·lules és molt abundant i mostra les característiques d'una activitat sintètica important. La disposició dels orgànuls és zonal, amb predomini del reticle rugós a la zona perinuclear, seguit per una regió golgiana, una regió mitocondrial i una regió apical en la qual abunden petites vesícules (Fig. 5).

La regió basal conté el nucli i un citoplasma amb nombroses vesícules dilatades del reticle rugós i abundants ribosomes lliures (Fig. 4).

La zona Golgi, supranuclear, està ben representada amb dictiosomes varis, d'una longitud aproximada d'1,1 micròmetres i un gruix de 0,3. En la



**Figura 4.** Cèl·lula epitelial columnar. Notar distribució zonal dels orgànuls. (RE) reticle endoplasmàtic rugós, (D) dictiosoma, (MI) mitocondri, (LB) làmina basal.

cara cis s'observen vesícules electrodenses d'uns 0,05 micròmetres de diàmetre i en la cara trans vesícules de contingut poc electrodens d'uns 0,2 micròmetres de diàmetre (Fig. 4).

Segueix una zona mitocondrial que conté nombrosos mitocondris de crestes ben desenvolupades, i matriu clara, les dimensions mitges de les quals són d'1 micròmetre de longitud per 0,4 de diàmetre (Fig. 4).

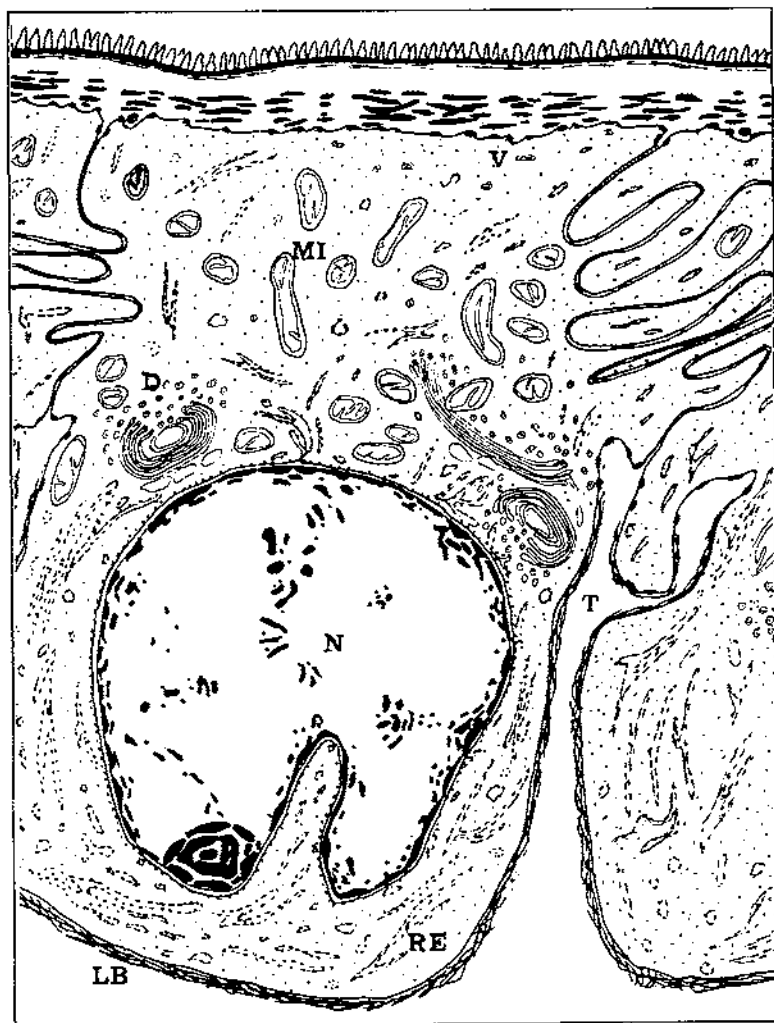
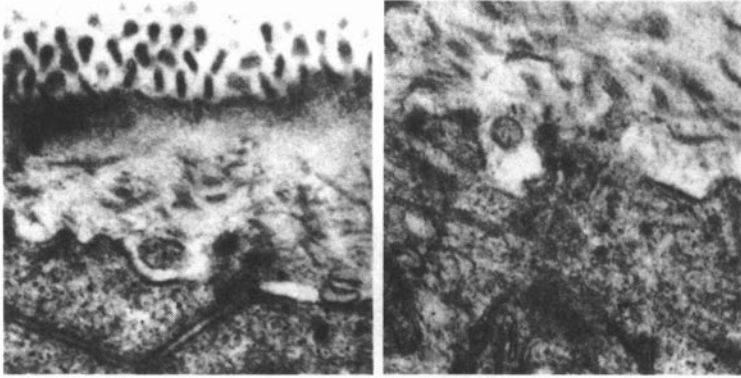


Figura 5. Esquema de la cèl·lula epitelial columnar. El nucli (N) basal voltat de reticle rugós (RE), la zona golgiana supranuclear (D), la zona mitocondrial (MI) i la zona apical rica en vesícules secretores (V). Les cèl·lules es mantenen unides pel complex d'unió, mentre el cos cel·lular limita amb la làmina basal (LB). Les cèl·lules veïnes estan separades per penetracions de la dermis en forma de trabècules connectives (T).

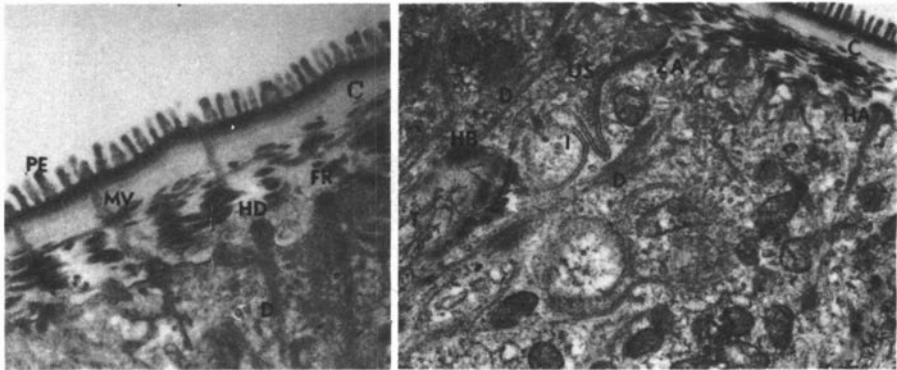
La regió apical està ocupada per petites vesícules secretores de contingut dens. Algunes d'aquestes vesícules es poden veure també fora de la cèl·lula, a la base de la cutícula (Fig. 6).

Aquest citoplasma és positiu en les proves per a proteïnes, especialment a la zona apical.

La membrana plasmàtica forma algunes microvellositats que ja han estat descrites en un treball anterior (Huguet i Molinas, 1985). Són molt esparses i estan distribuïdes irregularment, penetrant en la cutícula i aflorant entre les projeccions amb un aspecte semblant al d'aquestes però més curtes i



**Figura 6.** Regió apical en la qual es poden apreciar algunes vesícules secretades a l'exterior.



**Figura 7.** Superfície apical que mostra les unions que manté amb la cutícula (C). (HD) hemidesmosomes, (D) desmofilaments, (FR) fibrils de col·làgena, (MV) microvellositats, (PE) projeccions epicuticulars.

**Figura 8.** Es pot apreciar la naturalesa de les unions amb la cutícula (C) pels hemidesmosomes apicals (HA), amb les trabècules connectives de la dermis (T) pels hemidesmosomes basals (HB) i amb les cèl·lules veïnes: zonula *adherens* (ZA), unions septades (US) i inerdigitacions (I). Observi's la presència de desmofilaments (D) que uneixen els hemidesmosomes apicals i basals.

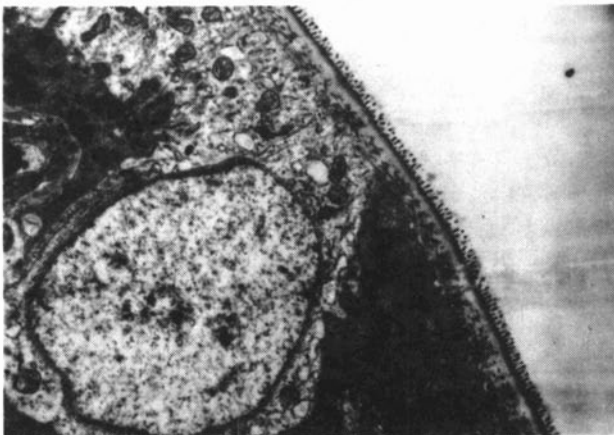
gruixudes. Fan aproximadament 840 nm, de llargària total, on 99 nm sobresurten per fora la cutícula; l'amplària és de 57 nm. a l'interior de la cutícula, 95 nm a l'exterior a la base i 47 nm a l'exterior a l'àpex. Les microvellositats són més electrodenses que la matriu amorfa de la cutícula i lleugerament més electrodenses que el citosol de les cèl·lules epitelials de les quals provenen (Fig. 7).

El complex d'unió de la banda apical està format per una zònula *adherens* de 0,14 a 0,4 micròmetres de longitud, seguida d'una unió septada i un conjunt d'interdigitacions profundes entre les cèl·lules veïnes. La unió septada, característica dels invertebrats, té septes que mantenen una periodicitat de 7 per cada 0,5 micròmetres (Fig. 8).

S'observen nombrosos hemidesmosomes en contacte amb la cutícula i amb la làmina basal. Els apicals són ovals, de 0,17 micròmetres de diàmetre major, lleugerament protuberants i en la cutícula es poden veure petites fibrilles d'uns 90 nm de llargària disposades perpendicularment a la cara externa de la membrana plasmàtica (Fig. 8). Els que estan en contacte amb la làmina basal són menys protuberants i es distribueixen preferentment en la part superior de les trabècules connectives dèrmiques. En la dermis no s'observa cap formació fibril·lar però sí un lleuger enfosquiment. Un potent citosquelet de desmofilaments uneix els hemidesmosomes apicals i basals (Fig. 8).

S'observen algunes cèl·lules columnars caracteritzades per unes mides lleugerament superiors, 13 de llargària per 8,6 de diàmetre, i un citoplasma més clar al microscopi òptic o menys electrodens al microscopi electrònic (Fig. 9).

El nucli d'aquestes cèl·lules és també gros, 8,6 per 7 micròmetres, i ocupa una posició més central. El citoplasma és més pobre en vesícules del reticle rugós i en ribosomes lliures.



**Figura 9.** Cèl·lula epitelial columnar caracteritzada per la seva menor electrodensitat.

## DISCUSSIÓ

L'epiteli columnar es caracteritza per una gran cohesió interna i per la importància de les unions amb la cutícula i amb la làmina basal. En animals de gran contractibilitat com les sangoneres és un tret remarcable.

És aquesta gran cohesió interna i amb la cutícula, juntament amb la menor importància de les unions amb la dermis, allò que facilita l'arrenca-ment de la capa de cèl·lules epitelials juntament amb la cutícula i explica les imatges en forma de «cel·les» observades en microscòpia electrònica d'es-candallatge que interpretem com a la matriu connectiva dèrmica que envolta les parts basals de les cèl·lules epitelials.

Els hemidesmosomes apicals i basals, als quals diferenciem lleugerament en la seva morfologia, també són diferents en el seu contacte amb l'exterior. En els apicals, en el contacte amb la cutícula s'observen uns petits filaments, que probablement corresponen a fibril·les de col·làgena, i com a tals han estat descrits per altres autors en diversos tipus d'epitelis (De Robertis i De Robertis, 1983), i que en els basals no es poden distingir, encara que el lleuger enfosquiment de la zona podria ser una formació equivalent a aquests petits filaments.

Les cèl·lules columnars són cèl·lules amb activitat secretora, tal com es desprèn de la morfologia del citoplasma i, especialment, per la presència de vesícules secretores, no citades anteriorment, i dels resultats citoquímics, els quals evidencien la síntesi dels elements cuticulars per part d'aquestes cèl·lules. Burke i Ross (1975), per als oligoquets, demostren que les cèl·lules epitelials són responsables de la síntesi de la col·làgena cuticular i Berchtold i col. (1984) per *Hirudo medicinalis* apunten aquesta mateixa hipòtesi.

Les cèl·lules columnars són secretores amb un tipus de secreció constitutiva polaritzada cap al pol apical, és a dir, no magatzemen els productes sinó que les vesícules de transport tenen vida curta.

Constatem la presència d'algunes cèl·lules més voluminoses i amb un citoplasma amb menor activitat de síntesi proteica. La interpretació és dubtosa, sense que es pugui descartar que es tracti dels estadis inicials de les glàndules piriforms.

Destaca l'absència de figures mitòtiques, fet característic de l'epiteli dels anèl·lids (Meglitsch, 1978) i de cèl·lules basals.

## Bibliografia

- BERCHTOLD, J.P. SAUBER, F. i REULAND, M. (1985). Étude ultrastructurale de l'évolution du tégument de la sangsue *Hirudo medicinalis*. L. (Annélide, Hirudinée) au cours d'un cycle de mue. *Int. Journal of Inv. Repr. and Develop.* 8: 127 - 138.
- BONET, S. i HUGUET, G. (1985). Tècniques habituals de coloració per a seccions semifines de material inclòs en glicol metacrilat (G.M.A.). *Scientia gerundensis* 10: 23-32.
- BRADFORD, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of



- microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- BURKE, J.M. (1974). Wound healing in *Eisenia foetida* (Oligochaeta) I. Histology and <sup>3</sup>H-Thymidine radioautography of the epidermis. *Exp. Zool.* 188: 49-63.
- BURKE, J.M. (1974). Wound healing *Eisenia foetida* (Oligochaeta) II. A fine structural study of the role of the epidermis. *Cell. Tiss. Res.* 154: 61-82.
- BURKE, J.M., i ROSS, R. (1975) A radioautographic study of collagen synthesis by earthworm epidermis. *Tissue and Cell* 7: 631-650.
- CORNEC, J.P. (1984). Modifications ultrastructurales après amputation dans le territoire de régénération postérieure de *Anat. Micros.* T 73, n.º 4: 269-289.
- DE ROBERTIS, E.P.D. i DE ROBERTIS, E.M.F. (1983). *Biología celular y molecular*. Ed. El Ateneo. Barcelona.
- GABE, M. (1968). *Techniques histologiques*. Masson et cie. Paris.
- HUGUET, G. i MOLINAS, M.LL. (1985). Estructura i ultraestructura del revestiment cuticular de *Dina lineata* (O.F. Müller, 1774) (Hirudinea). *Scientia gerundensis* 11: 39-59.
- HUMASON, G.L. (1967). *Animal Tissue Techniques*. W. H. Freeman and Company, USA.
- MEGLITSCH, P.A. (1978). *Zoología de Invertebrados*. H. Blume Ed. Madrid.