

MUSCULATURA INTRÍNSECA DE L'EPIDÍDIM DE *Dina lineata* (O.F. Müller, 1774) (Hirudinea, Erpobdellidae)

Sergi Bonet i Marull i Marisa Molinas de Ferrer

Departament de Biologia. Col·legi Universitari de Girona. C/ Hospital, 6. 17071 Girona. Spain.

RESUM

En aquest article s'estudien l'estructura i ultraestructura de la musculatura intrínseca de l'epidídim de *Dina lineata*. Per sota l'epiteli d'aquest conducte trobem una beina músculo-conjuntiva molt potent integrada, bàsicament, per quatre a sis capes de cèl·lules musculars d'estriació obliqua i de disposició helicoidal. Es tracta de fibres mononucleades en les que el nucli, oval i allargat, ocupa una posició central, voltat d'un reduït sarcoplasma. La regió contràctil, situada sota el sarcolemma, ocupa la zona ectoplasmàtica deixant un reduït sarcoplasma central i una delicada pel·lícula sarcoplasmàtica perifèrica. En el citoplasma axial i perinuclear trobem, fonamentalment, mitocondries bacil·lars, granets de glicogen, ribosomes lliures i cisternes del reticle endoplasmàtic rugós. El material contràctil presenta una ordenació periòdica en sarcòmers. Els sarcòmers es disposen obliquament dintre la fibra. En secció transversal es veuen separats radialment en sectors. Cada sector conté una banda A central limitada per dues bandes I en contacte amb les línees denses Z i els túbuls T, disposats de forma radial.

RESUMEN

En este trabajo se estudian la estructura y ultraestructura de la musculatura intrínseca del epidídimo de *Dina lineata*. Debajo del epitelio glandular del conducto, nos encontramos con una vaina músculo-conjuntiva muy potente integrada, básicamente, por cuatro a seis capas de fibras musculares mononucleadas de estriación oblicua y de disposición helicoidal. La región contráctil, situada bajo el sarcolema, ocupa la zona ectoplasmática de la célula dejando un escaso sarcoplasma central y una delicada película sarcoplasmática periférica. El núcleo es oval, alargado y muy electrodense. En el citoplasma central y perinuclear encontramos, fundamentalmente, mitocondrias bacilares, granos de glicógeno, ribosomas libres y cisternas del retículo endoplasmático rugoso. El material contráctil presenta una ordenación periódica en sarcómeros. Los sarcómeros se disponen oblicuamente en la fibra y, en una sección transversal de ésta, aparecen separados en sectores muy característicos. Cada sector contiene una banda A central limitada por dos bandas I en contacto con las líneas Z y túbulos T, orientados en sentido radial.

ABSTRACT

The authors study the optical and electron microscopy of the intrinsic muscle layer in the epididymis of *Dina lineata* (O.F. Müller, 1774). The epididymal fibers are fusiform, flattened and mononucleated. They form a bundle four to six cells wide around the duct. The myofilaments are peripherally located leaving the nucleus and the perinuclear sarcoplasm in an axial central position.

The nucleus is oval and flattened with a very neat nuclear envelope. The chromatin is condensed in fine scattered chromatinic granules. The nucleolus looks compact.

The perinuclear sarcoplasm is very rich in mitochondria, rough endoplasmatic cisternae and glycogen granules.

Seen in cross section, the fiber shows characteristic zonal arrangement due to the helical or oblique path of the myofilaments. Each zone is limited by transversal tubes T and contains the elements of a sarcomer limited by Z line.

Key words: Muscle; epididymis; leeches; hirudinea.

INTRODUCCIÓ

Dina lineata (O.F. Müller, 1774) és una sangonera hermafrodita, proteàntrica, i amb fecundació traumàtica hipodèrmica.

L'aparell genital masculí es pot dividir en tres regions anatòmicament ben definides: regió testicular, epidídim i atri (Fig. 1). La regió testicular es troba en la part caudal, entre els metàmers XXIV i XX, i conté dues cadenes de sacs testiculars disposats helicoidalment i comunicats per un

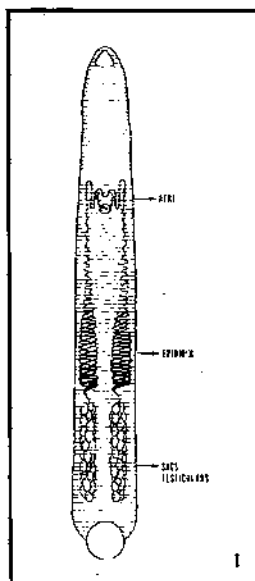


Figura 1. Esquema que mostra les diverses regions que presenta l'aparell genital masculí de *D. lineata*.

petit conducte eferent amb sengles canals deferents que puguen seguint un trajecte rectilini. A l'arribar al metàmer XIX, els conductes deferents s'engruixeixen sobtadament, prenen una disposició helicoidal, i es converteixen en el que anomenem epidídims (epi = per damunt, dydym = bessons). Els epidídims s'uneixen, anteriorment, en una cambra comú o atri, responsable de la síntesi de les parets de l'espermatòfor, que s'obra a l'exterior pel gonoporus masculí.

L'epidídium s'extén del metàmer XIX al XI; a continuació, es replega per formar una nansa fins el metàmer XII i torna a pujar fins connectar amb la banya atrial, en el metàmer XI. És un conducte, estructuralment, homogeni format per un epitelí pseudoestratificat glandular amb una beina músculo-conectiva molt potent que serà objecte de descripció en aquest treball. Té per funció recollir, amagatzemar i conduir als espermatozoides des de la regió testicular a l'atri. Ha estat descrit amb els noms de vesícula seminal per Van Damme (1974) en *Erpobdella octoculata*, i canal ejaculador per Brumpt (1900) i Damas (1968) en *Glossiphonia complanata*. Nosaltres hem optat per anomenar-lo epidídium basant-nos en el significat etimològic del mot, en la naturalesa glandular de l'epitelí que el revesteix i en la gran unitat que presenta tota la seva longitud a nivell d'anatomia microscòpica i d'ultraestructura.

MATERIAL I MÈTODES

Exemplars sexualment madurs han estat anestesiats amb aigua de Seltz durant 30 minuts.

Per a microscòpia òptica el material ha estat fixat en formol al 5 % pH 7,2. Inclòs en Glicol Metacrilat (GMA) (Bonet i Molinas, 1983) s'han obtingut seccions semifines que han estat contrastades tot seguint algunes tècniques habituals de coloració adaptades a aquest material d'inclusió: Blau de Metilè-Fuxina bàsica, Reacció de P.A. Schiff, i Impregnació argèntica de Gomori. (Bonet i Huguet, 1985).

Per a microscòpia electrònica de transmissió les mostres han estat fixades amb el líquid de Karnovsky, postfixades amb tetraòxid d'Osmi al 1 %, i incloses en Spurr de la forma habitual. Les seccions ultrafines han estat contrastades amb acetat d'uranil-citrat de plom i observades amb un Hitachi HV 12A del Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat Autònoma de Barcelona.

RESULTATS

Microscòpia òptica

La beina muscular intrínseca de l'epidídium de *D. lineata* està formada per quatre a sis capes de fibres musculars mononucleades, d'estriació obliqua i

disposades helicoidalment. Cada fibra està voltada d'un endomisi ric en reticulina i el conjunt per un perimisi poc conspicuu (Fig. 2).

La longitud de les fibres és variable i sol oscil·lar a l'entorn dels 150 micròmetres. Són afusades i deprimides amb uns diàmetres transversos major i menor de 10 i 5 micròmetres respectivament.



Figura 2. Secció transversal del conducte de l'epidídim. Observeu la presència de l'endomisi que circunda a cada fibra muscular; gràcies a la seva argirofília hom pot posar-la de manifest mitjançant la tècnica d'impregnació argèntica de Gomori. (160X).

És característica la disposició del material contràctil en una banda perifèrica contínua, d'aproximadament 1,5 micròmetres de gruix, que, en secció transversal, mostra una estriació radial deguda a l'especial orientació helicoidal dels sarcòmers. Aquesta peculiar disposició dels sarcòmers dóna a aquesta modalitat de fibra muscular el nom de fibres d'estriació obliqua, espiral o helicoidal.

El nucli ocupa la posició central axial de la fibra. És oval i també deprimat amb una longitud d'uns 12 micròmetres i uns diàmetres major i menor de 6×2 micròmetres respectivament. La cromatina forma granulacions fines i hi ha un únic nucleol visible.

El citoplasma, disposat perinuclearment, presenta un aspecte retículo-granular molt característic. La presència d'un reticle basòfil serà identificat per la microscòpia electrònica com cisternes del reticle endoplasmàtic rugós. La reacció positiva que presenten algunes granulacions amb el reactiu de Schiff (tècnica de Bauer) demostra la presència abundant de glicogen en el citoplasma central, perinuclear.

Microscòpia electrònica

El microscopi electrònic permet constatar la presència d'una fina pel·lícula citoplasmàtica perifèrica, situada entre el sarcolemma i la zona ocupada pels miofilaments, que comunica amb el citoplasma axial perinuclear per

finíssims canaliculs que transcorren paral·lels al costat dels anomenats túbuls transversos o túbuls T (Fig. 3).

El nucli, molt allargat, presenta un únic nucleol associat, generalment, a la membrana interna de l'envolcall nuclear. En el nucleoplasma trobem zones de condensació heterocromatínica molt conspicues (Figs. 4 i 6).

El citoplasma axial es força electrodens. Hi abunden, fonamentalment, mitocòndries bacil·lars, granets de glicogen, ribosomes lliures, i cisternes del reticle endoplasmàtic rugós (Fig. 5).



Figura 3. Secció transversal d'una fibra muscular. Observeu la disposició del material contràctil i del sarcoplasma axial, perifèric i radial. (4800X)

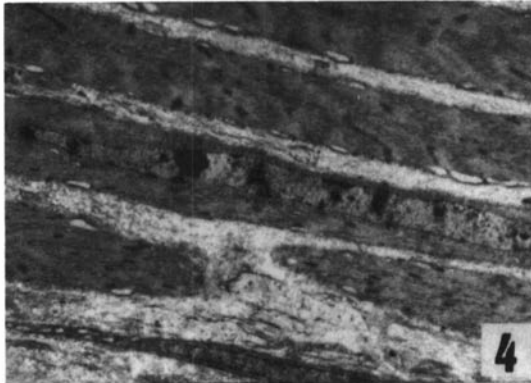


Figura 4. Secció longitudinal d'una fibra muscular. Observeu la longitud del nucli, la posició del nucleol i la textura del nucleoplasma. (6000X)

La regió contràctil està integrada, bàsicament, pel material miofibril·lar, els túbuls T, les línees Z, i les finíssimes pel·lícules citoplasmàtiques que uneixen el sarcoplasma perifèric amb el sarcoplasma axial (Fig. 7).

Els miofilaments, situats en la zona perifèrica de la cèl·lula, formen una banda contínua en la que no es reconeixen fibril·les ni microfibril·les però sí una ordenació en sarcòmers. Els sarcòmers segueixen una trajectòria

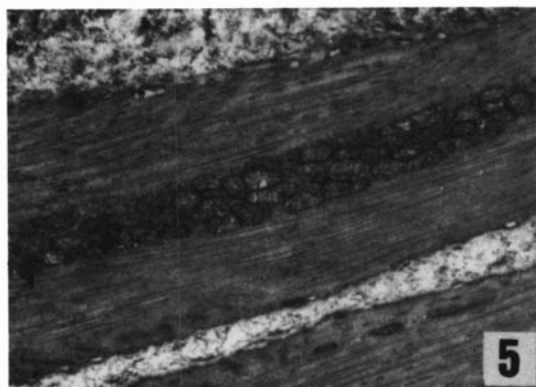


Figura 5. Secció longitudinal d'una fibra muscular. Observeu la disposició del material contràctil i del sarcolema central. (6000X)

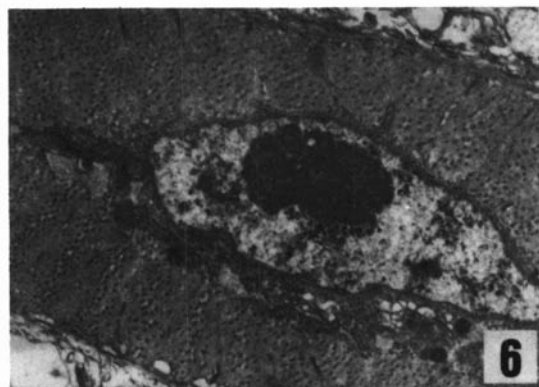


Figura 6. Secció transversal d'una fibra muscular. El citoplasma perinuclear, molt electrodens, es troba pràcticament ocupat per un condrioma molt desenvolupat. (9000X)

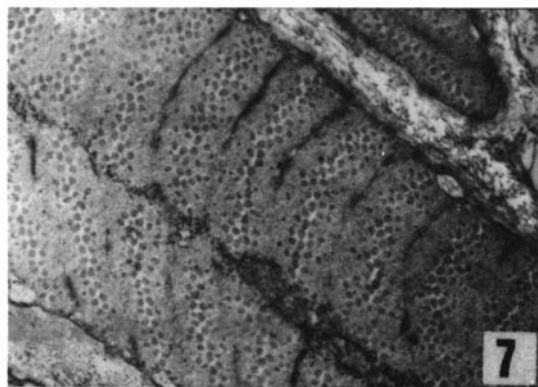


Figura 7. Secció transversal d'una fibra muscular. Observeu la periodicitat dels sarcòmers i la presència de les diverses bandes (A, I i H), els tubs T, les vesícules sarcoplasmàtiques i les línees Z. (17.000X)

obliqua o espiral en la fibra que per si mateixa està orientada helicoidalment sobre un conducte espiralat (Fig. 9). En una secció transversal de la fibra, el material contràctil apareix dividit radialment pels túbuls T i per les línees electrodenses Z, en diversos sectors (cada sector és un sarcòmer en secció transversal) en els que podem observar, de forma correlativa, l'aspecte de les diverses bandes del sarcòmer en secció transversal (Fig. 8).

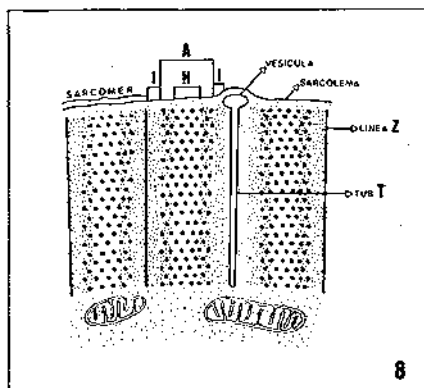


Figura 8. Esquema que mostra, en secció transversal, la disposició dels diversos elements en un sarcòmer.

Cada sarcòmer està format per bandes isòtropes (I), anisòtropes (A), zones H i línees Z. En la banda A hi ha filaments gruixuts de miosina, i prims d'actina. En la zona H solament hi ha filaments gruixuts. En la banda I tenim únicament filaments prims. Donada la trajectòria obliqua dels sarcòmers, en les seccions transversals, les línees Z es veuen disposades radialment separant sectors en els que hi ha una banda A central de 0,2 micròmetres limitada per dues bandes I de 0,1 micròmetres (Figs. 8 i 9). Seguint la idea de Rosenbluth (Garcia-Más, 1981), hem representat els miofilaments en tres plans: transversal o XY, longitudinal radial o YZ i longitudinal tangencial o XZ. El pla longitudinal tangencial permet apreciar la disposició obliqua de l'estriació. El pla longitudinal radial és molt difícil d'observar al microscopi, a causa de la crítica orientació dels talls, i permet observar a les línees denses Z com estructures fibril·lars en les que s'encoren els miofilaments més prims.

Disposats radialment s'observen uns túbuls d'uns 50 nanòmetres de diàmetre que, per analogia amb els de les fibres esquelètiques i cardíaques dels vertebrats, anomenem túbuls transversos o tubs T. A la part més perifèrica i provocant una debil sinuositat del sarcòlema, cada tub T es dilata originant una petita vesícula, d'uns 150 nanòmetres de diàmetre, anomenada vesícula sarcoplasmàtica (Figs. 8 i 9).

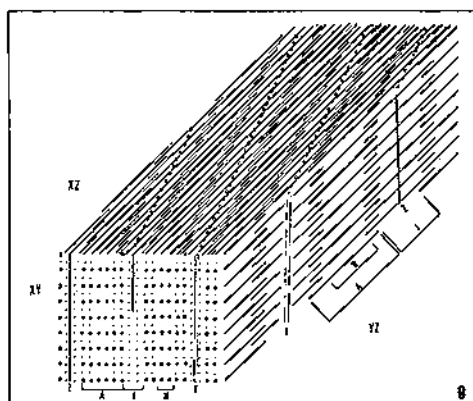


Figura 9. Representació tridimensional de l'ordenació del material miofibril·lar respecte als tres plans de Rosenbluth (Pla transversal o XY, Pla longitudinal radial o YZ, i Pla longitudinal tangencial o XZ).

El Pla longitudinal tangencial ens ofereix l'obliquïtat tan característica d'aquest tipus d'estriació. Les bandes A es corresponen amb les estries visibles al microscopi òptic i les bandes I amb els interespais situats entre dues estries consecutives.

El Pla longitudinal radial ens mostra la distribució periòdica dels sarcòmers. Per aconseguir veure aquesta imatge cal orientar el tall en l'angle just; d'aquí que sigui molt difícil aconseguir imatges en que tots els elements estiguin representats com en aquest esquema.

Els miofilaments es distribueixen de manera contínua sense que s'observi entre ells formacions equivalents a les cisternes del reticle sarcoplasmàtic de la fibra estriada dels vertebrats. Els canalets que comuniquen el citoplasma perifèric amb el central són molt fins, 100 nanòmetres de diàmetre, i no tenen orgànuls al seu interior.

El sarcolemma limita amb una làmina basal d'aspecte homogeni que no supera els 60 nanòmetres de gruix.

DISCUSSIÓ

L'estudi de la musculatura intrínseca de l'epidídim permet constatar algunes particularitats diferencials en relació amb la musculatura corporal o del tracte digestiu.

Les fibres musculars dels hirudínids (Mann, 1962; Lanzavechia, 1976; i Garcia-Más, 1981) són mononucleades d'estriació obliqua però amb una proporció miofilaments/citoplasma menor que la de les fibres de l'epidídim. El gruix de la banda de miofilaments es manté sempre igual, a l'entorn de 1,5 micròmetres, però els diàmetres transversos de les cèl·lules són més grossos; en els individus madurs són superiors a 15 i 8 micròmetres.

Una altra diferència és la major densitat relativa del citoplasma de les fibres epididimàries especialment en referència als ribosomes lliures. Les

fibres de l'epidídim es desenvolupen i es fan més conspicues en el curs de la maduració sexual. És probable que l'arribada de les ones espermatogèniques estimuli la síntesi del material contràtil; això explicaria la gran abundància de ribosomes lliures.

Les fibres musculars d'estriació obliqua són freqüents en els invertebrats (turbel·laris, nematodes, moluscs i annèlids). Per alguns autors (Paniagua i Nistal, 1983) la disposició helicoidal dels sarcòmers afavoreix la intensitat de la contracció. En animals tan contràctils com les sangoneres pot ser una característica important.

L'epidídim magatzema l'esperma fins el moment en que, probablement per un estímul neuro-hormonal, sofreix una contracció espasmòdica que condueix l'esperma cap a la cavitat atrial per tal de formar els espermatòfors.

Bibliografia

- BONET, S. i MOLINAS, M. 1983. Utilitat del Glicol Metacrilat (GMA) en l'obtenció de talls semifins per a histologia. *Ann. Sec. Cien. Col. Univ. Girona (UAB)* 9: 21-29.
- BONET, S. i HUGUET, G. 1985. Tècniques senzilles de coloració per a seccions semifines de material inclòs en Glicol Metacrilat (GMA). *Scientia gerund.* 10 (en premsa).
- BRUMPT, E. 1900. Reproduction des hirudinées. *Mém. Soc. Zool. de Fr.* 13: 286-430.
- DAMAS, D. 1968. Histochemie des canaux éjaculateurs de *Glossiphonia complanata* L. (Hirudinée. Rhyncobdelle). *Ann. Histochem.* 13: 111-122.
- GARCIA-MÁS, I. i ALVARADO, R. 1981. Histological and ultrastructural study of the intrinsic muscles of the digestive tract *Dina lineata* (O.F. Müller, 1774) (Hirudinea, Erpobdellidae). *Morfología normal y Patológica* 5: 87-96.
- LANZAVECHIA, G. i EGULEOR, M. 1976. Studies on the helical and paramyosinic muscle. V. Ultrastructural morphology and contraction speed of muscular fibers of *Erpobdella testacea* (Annelida, Hirudinea). *J. Submicr. Cytol.* 8: 69-81.
- MANN, K.H. 1962. *Leeches: their structure, physiology, ecology and embryology.* Pergamon press.
- PANIAGUA, R. i NISTAL, M. 1983. *Introducció a la histologia animal comparada. Atlas-libro de la estructura microscòpica de los animales.* Ed. Labor.
- VAN DAMME, N. 1974. L'organogénèse de l'appareil génital chez la sangsue *Erpobdella octoculata* L. (Hirudinée, Pharyngobdelle). *Arch. Biol. (Bruxelles)* 85: 373-397.