

# HISTOFISIOLOGIA DEL EPITELIO DE LA PARED DEL CUERPO DE PHERETIMA CALIFORNICA KINBERG

Por ARTURO R. MORENO, ZLATKO TOMSIC, MARCOS LEVIN y FERNANDO N. DULOUT

---

## SUMMARY

The authors studied the histological structure and the reactivity with several drugs and stains of the carbohydrates and different secretions of the epithelium of the body wall of *Pheretima californica* Kinberg.

Various methods were used to investigate mucopolysaccharides of the cells.

The morphological structure and the cytoplasmatic configuration of the clitellar zone are described.

Hemos estudiado histológicamente el epitelio de revestimiento de la pared del cuerpo de *Pheretima californica* Kinb., especialmente la naturaleza histoquímica de la secreción mucosa de las células y la reactividad de la cutícula.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Los especímenes fueron anestesiados en una solución acuosa de alcohol al 1 %, aumentándose la concentración paulatinamente, hasta matarlos. Fueron tratados en esta forma a fin de evitar contracciones musculares violentas y evacuación de secreciones. .

Se fijaron inmediatamente en formol al 10 %, y mezclas fijadoras de Bouin-Allen, Stieve y Carnoy. Los mejores resultados se lograron con Stieve y Bouin-Allen; el fijador de Carnoy no llega a insolubilizar totalmente las mucinas.

El material fue incluido en parafina y a las secciones se aplicaron las tinciones siguientes:

- a) Hematoxilina-Eosina.
- b) Tricrómico de van Gieson.

e) PAS, según Hotchkiss-Mc Manus, empleando reactivo de Schiff según Barger y De La Matter.

d) PAS-Hematoxilina, como coloración combinada para control de núcleos. Estos dos métodos últimamente enunciados identifican mucoproteínas y mucopolisacáridos ácidos y neutros.

e) Azul de toluidina tamponado a pH 5.6, para identificación de mucopolisacáridos ácidos y ácidos nucleicos. Las secciones teñidas con esta técnica fueron observadas en fresco y posteriormente, previa deshidratación, montadas en material sintético, para observar metaacromasias alfa, beta y gamma, y metaacromasia alcohol resistente.

f) Extinciones de azul de toluidina y azul de metileno en soluciones amortiguadas y con variaciones de pH entre 3.6 y 5.6.

g) Técnica del hierro coloidal según Hale, variante de Gasie, para identificación de mucopolisacáridos ácidos y, según el autor, específica para sialomucinas. No se emplearon enzimas específicas (neuraminidasas) como control.

h) Azul alcian a pH 2.5 para identificación de mucinas fosfatadas y a pH 0.5 según Spicer, para mucopolisacáridos sulfatados.

i) Alcian Blue-van Gieson, coloración combinada según técnica personal.

## RESULTADOS

De acuerdo al concepto histológico clásico describiremos la estructura del epitelio, en sus dos componentes: dermis y epidermis, o corion y epitelio.

*Corion*: el corion posee escaso tejido conectivo y está ocupado en toda su extensión por fibras musculares. La sustancia intersticial es pobre, las fibras identificadas son de tipo reticular y a mayor profundidad colágenas. Entre las células musculares, principalmente entre las de la capa externa, se encuentran numerosas células pigmentarias. Son elementos grandes, con numerosas prolongaciones citoplásmicas, que transcurren entre los espacios intersticiales. Esta disposición se observa a lo largo de todo el epitelio.

El corion está vascularizado por numerosos vasos capilares con paredes propias y rodeados por células adventicias. La mayoría de estos vasos perforan la membrana basal epitelial y penetran en la epidermis. Se forman arcos capilares que reingresan al corion luego de un corto trayecto. Durante su trayecto epidérmico están rodeados de un espacio perivascular evidente, lo que constituye la modificación más notable que presentan.

Los arcos capilares presentan una basal nítida, positiva con el PAS, y en los recorridos intraepiteliales son desnudos y sin células adventicias.

## Membrana basal

Es una membrana compleja, que se revela continua, PAS y Hale positiva; envía numerosas prolongaciones entre grupos celulares de siete a ocho elementos epiteliales, que llegan en algunos casos a tocar la cutícula y unirse a ella.

## Epidermis

Está constituida por tres tipos celulares: basal, de soporte o principal y caliciforme.

*Células basales*: son pequeñas, piramidales, con núcleos grandes, escaso citoplasma e íntimamente adheridas a la basal. Son las células de reemplazo celular, observándose en algunas figuras de mitosis. Las mitosis ocurren siempre en este tipo celular.

*Células principales o de soporte*: son prismáticas, altas, y ocupan toda la extensión de la epidermis desde la basal hasta la cutícula; el núcleo es central, ovoide, con un nucléolo prominente con el azul de toluidina a pH 5.6 ortocromáticamente, por su elevado contenido en RNA. No se observa zonas de especialización ergastoplásmica en el citoplasma y en el borde apical aparecen escasos gránulos muy pequeños, PAS positivos. Estas características inducen a afirmar que los elementos descritos son células que forman y mantienen el revestimiento cuticular.

*Células mucíparas*: bajo este título involucramos dos tipos celulares: a) las llamadas células albuminosas y b) las células caliciformes.

a) *Células albuminosas*: hemos detectado las reacciones tintoriales siguientes: *Hale*: positivo; *Azul alcian pH 2.5*: positivo; *Azul de toluidina pH 5.6*: metaacromasia alcohol-resistente positiva. *Azul de toluidina pH 5.6 con competencia iónica de cloruro de magnesio*: negativa.

La reactividad de la secreción citoplásmica de este tipo celular corresponde histoquímicamente a la secreción de una mucoproteína ácida, siendo por lo tanto una verdadera célula secretora mucinosa. La débil PAS positividad revela su bajo contenido de hidratos de carbono, así como lo hace la metaacromasia variable de uno a otro elemento. La positividad intensa con azul alcian a pH 2.5 y las pruebas con cloruro de magnesio revelan la existencia de una mucoproteína fosfatada. Estas células suelen estar atiborradas de un solo tipo de secreción histoquímica, o, lo que es más frecuente, mucoproteínas cuya naturaleza corresponde a la de materiales fosfatados o acetilados, o bien sialomucinas.

b) *Células caliciformes*: se presentan como dos variedades morfológicas; unas son las clásicas células caliciformes conocidas por los histólogos; otras son grandes y esféricas. Estas últimas son vacuoladas, con grandes gránulos basófilos distribuidos en el interior de una vacuola perinuclear. Hemos interpretado esta imagen como la de una célula que posee alguna sustancia soluble perdida por la técnica empleada para la fijación o la inclusión. Los gránulos son de naturaleza proteica y pueden estar rodeados por una película de material POS y azul alcian, positiva.

### *Cutícula*

No es tinguible con los métodos de hematoxilina-eosina, siendo intensamente fucsínófila con el van Gieson. Es intensamente PAS-positiva, y con las demás técnicas aplicadas no ofrece reactividad. Estaría constituida por un mucopoisacárido neutro. Es extraordinariamente frágil, y en los cortes realizados se observan dos capas: la externa intensamente PAS-positiva, tiñéndose la interna con menor intensidad. En este aspecto, nuestras observaciones concuerdan con las de otros autores.

### *Clitelo*

Este sector del epitelio debe ser interpretado con una especialización glandular del revestimiento. Está constituido por un epitelio complejo, que asienta sobre una membrana celular poco definida. Se encuentran dos tipos celulares secretores, y entre medio de ellos, abundantes vasos y células pigmentarias.

Las células fundamentales del clitelo son elementos columnares gigantes que van desde la membrana hasta la cutícula. Son de hasta 600 micrones, con un ensanchamiento piriforme a la altura del núcleo, el cual ocupa una posición variable (central, basal o semi-apical).

Otra clase de células son las de elementos cuticulares profundamente transformados, que asumen asimismo una configuración columnar. La diferenciación histológica en otros tipos celulares, sostenida por algunos autores, es a nuestro entender, errónea, pues bien puede haber sido debida a artefactos de fijación o a distintos estados funcionales del epitelio clitelar. Se ha descrito células homogéneas y células granulosas. Las observadas por nosotros son granulosas ambas, con gránulos de secreción de distinta forma y tamaño. La actividad secretora se manifiesta siempre en la porción citoplasmática y supranuclear. El citoplasma se alarga y forma una prolongación gruesa que en todos los casos alcanza la superficie epitelial. Por su afinidad histoquímica puede hablarse de células PAS-positivas y otras PAS débilmente positivas, que por otra parte poseen una afinidad cromática por los colorantes tiazínicos y de-

rivados de las anilinas. El azul alcian es positivo a pH 2.5 y 0.5. No hemos llegado a una conclusión definitiva acerca de la naturaleza del material hidrocarbonado de la secreción clitelar. Es interesante señalar dos hechos, por lo demás: un ergastoplasma extraordinariamente rico y abundante, y la identificación de un complejo de Golgi en posición perinuclear, de conformación anular, muy desarrollado.

### CONCLUSIÓN

Nos limitamos a señalar la reactividad del epitelio de cubierta y de la formación clitelar ante los reactivos empleados para la detección de material hidrocarbonado. Este trabajo es nuestro punto de partida para una investigación sistemática que se llevará a cabo mediante técnicas de cortes ultrafinos y detección enzimática del material de elaboración de las células descriptas.

Fundación e Instituto Miguel Lillo.