

ULTRAESTRUCTURA DE LA PARED CORPORAL DE *PROTOSTRONGYLUS RUFESCENS*

ACOSTA-GARCÍA, I.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, S.; MARTÍNEZ-GÓMEZ, F.

Departamento de Parasitología y Enfermedades Parasitarias
Facultad de Veterinaria
Córdoba

(Recibido el 7 de Junio de 1984)

SUMMARY

We studied the ultrastructure of the body wall of *Protostrongylus rufescens*. The cuticle is very thin (0.349-0.465 μm) and it is composed of three layers: A electron-dense cortex layer (18-25 nm) with fingerlike protuberances, a light, homogeneous median layer (120-130 nm), and a basal layer formed by three sublayers of fibres. The hypodermis is formed by eight hypodermal chords: one ventral, two subventrals, and two laterals. In the latter chords we found the excretory canals and a less electron-dense apical region with mitochondria, fibrillar bundles, and two dense bodies. The muscle layer is of polimyarian and coelomyarian types. The contractile part, containing thin (4.5 nm) and thick myofilaments (15 nm), is arranged in the form of bands.

Key Words: *Protostrongylus rufescens*, ultrastructure, body wall, cuticle, hypodermis, musculature.

RESUMEN

Se estudia la ultraestructura de la pared corporal de *Protostrongylus rufescens*. La cutícula es muy delgada (0,349-0,465 μm) y está constituida por tres capas: cortical, electrodensa y con digitaciones (18-25 nm), media, homogénea y adieletrónica (120-130 nm) y basal (160-190 nm) subdividida en

tres estratos fibrosos. La hipodermis presenta ocho cordones hipodermiales: uno dorsal, dos subdorsales, uno ventral, dos subventrales y dos laterales. En estos últimos destaca la presencia de los canales excretores y de una zona apical de hialoplasma claro, con mitocondrias y haces fibrilares, así como dos cuerpos pequeños electrodensos. La musculatura es polimiar- celomiaria y en la región contráctil presenta miofilamentos finos (4,5 nm) y gruesos (15 nm) que se disponen formando bandas.

Palabras Clave: *Protostrongylus rufescens*, ultraestructura, pared corporal, cutícula, hipodermis, musculatura.

INTRODUCCION

Existen muy pocos trabajos relacionados con la ultraestructura de los nematodos protostrongilinos, en casi todos los casos referidos a la musculatura (Zmoray y Guttekova^{11, 12}; Guttekova y Zmoray⁴). De la bibliografía consultada se deduce que no se ha investigado la ultraestructura de la cutícula, la hipodermis, o los aparatos digestivo y reproductor de ningún protostrongilino.

En este trabajo, primero de una serie de ellos dedicado al estudio de *Protostrongylus rufescens*, describimos la ultraestructura de los componentes de la pared corporal, cutícula, hipodermis y capa muscular.

MATERIAL Y METODOS

Se estudian diversos ejemplares de *Protostrongylus rufescens* (Leuckart, 1865) Kamensky, 1905, obtenidos vivos del pulmón de ovejas, *Ovis aries*, naturalmente parasitadas y sacrificadas en el Matadero Municipal de Córdoba. La identificación «in vivo» del parásito se realiza mediante la observación al microscopio de ejemplares lavados y montados en solución salina fisiológica.

La fijación de los ejemplares seleccionados para su estudio se realiza en glutaraldehído al 2,5 %, seccionando los extremos apical y caudal a fin de facilitar la penetración del fijador. Estos ejemplares se refijan en tetróxido de osmio al 2 %.

En cada individuo se estudian las estructuras de su pared corporal a tres niveles, anterior, medio y posterior, para lo cual se trocean en tres porciones de igual longitud.

La inclusión de estas porciones se realiza en resina Spurr. De cada una de ella se efectúan cortes semifinos que se tiñen con azul de toluidina, y ultracortes que se contrastan con acetato de uranilo y citrato de plomo.

La observación de los ultracortes se realiza en un microscopio Philips 300, en el Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Córdoba.

RESULTADOS

1. Cutícula

La cutícula de *P. rufescens* es muy delgada y no ofrece variaciones morfológicas ni estructurales a lo largo del cuerpo. En cortes transversales presenta un grosor de 0,34-0,46 µm, lo que supone la 1/369 parte en relación con el diámetro del cuerpo.

Está constituida por tres capas que de fuera a dentro son: cortical, media y basal (Fig. 3). La primera está formada por una fina lámina de material electrodensito de 18 a 25 nm de espesor. La capa media, de 130 a 230 nm, está formada por material homogéneo de escasa densidad electrónica. Por último la capa basal, de 160 a 190 nm, es de naturaleza fibrosa y se halla subdividida en tres estratos. En cortes transversales, el primero y el último están formados por fibras circulares y paralelas, mientras que las del segundo forman con las anteriores un ángulo de 45°.

La superficie cuticular se caracteriza por presentar digitaciones más o menos largas e irregulares formadas por las capas cortical y media, mientras que la basal permanece uniforme en su recorrido (Figs. 4 y 5).

2. Hipodermis

Está situada debajo de la cutícula y su grosor medio es de 365 nm. En ella se observan mitocondrias y algunos haces fibrilares que la recorren en sentido oblicuo, uniendo la cutícula con la musculatura.

La hipodermis conforma, además, ocho cordones hipodermiales distribuidos de la siguiente manera: dos laterales, uno ventral, uno dorsal, dos subventrales y dos subdorsales (Fig. 1). De todos

ellos los laterales son los de mayor tamaño, alcanzando en su región distal un diámetro de hasta 30 μm . En ellos se distinguen numerosas mitocondrias polimórficas, agrupadas preferentemente en la región apical, retículo endoplásmico liso, ribosomas libres y algunas gotas de lípidos. En la parte media de la región de cada cordón lateral destaca la presencia de una zona ovalada de escasa densidad electrónica en la que se observan numerosas mitocondrias y en su centro, un grupo de haces fibrilares que convergen hacia dos pequeños cuerpos electrodensos de sección circular (Fig. 5). Estos cuerpos densos se sitúan próximos a la cutícula y tienen un diámetro mayor de 0,6 μm . En algunas secciones puede observarse un gran núcleo elipsoide con uno o dos nucleolos electrodensos.

Las paredes de los canales excretores, que discurren por los cordones hipodermes laterales, están constituidos por canaliculos y vesículas adieletrónicas que desembocan en su luz central, tapizada por material electrodense (Fig. 5). Esta morfología no es constante a lo largo del cuerpo, ya que en la región caudal la luz se hace más regular y desaparece la estructura canalicular de las paredes (Fig. 7).

Los cordones hipodermes ventral y dorsal, así como los subventrales y subdorsales son iguales entre sí en cuanto a estructura, diferenciándose sólo en el tamaño, siendo los submedianos los más pequeños. En todos ellos se observan mitocondrias, retículo endoplásmico liso y gotas de lípidos (Fig. 4). Es de destacar que en ellos no hemos observado axones nerviosos.

3. *Musculatura*

Está constituida por células celomarias en número de 72 por corte transversal. Se caracterizan por tener una región contráctil no muy desarrollada y otra sarcoplásmica muy dilatada en algún punto de su longitud.

La región contráctil consta de ocho a quince miofibrillas que se disponen formando una «U» invertida (Fig. 6). Las miofibrillas están separadas por invaginaciones del sarcolema asociadas con un material muy electrodense (Fig. 3). En cada miofibrilla se distinguen dos tipos de miofilamentos: gruesos, de 15 nm, y finos, de 4,5 nm de diámetro (Fig. 2). Estos miofilamentos se distribuyen originando tres bandas: una central muy ancha formada por

miofilamentos gruesos rodeados por finos y dos laterales muy estrechas constituidas únicamente por miofilamentos finos (Figuras 2 y 3).

En el sarcoplasma se distingue un gran número de mitocondrias próximas a las miofibrillas, retículo endoplásmico rugoso, algunas gotas de lípidos y gran cantidad de glucógeno repartido uniformemente por el citoplasma. El núcleo es muy voluminoso y se sitúa en la zona sarcoplásmica más dilatada (Fig. 6). En la región posterior del cuerpo las células musculares poseen una gran vacuola clara que ocupa gran parte del citoplasma celular (Figura 4).

DISCUSION

1. *Cutícula*

No existe, que conozcamos, ningún trabajo sobre la cutícula de *P. rufescens* ni de ningún otro protostrongilino.

Esta cutícula es una de las más delgadas de las descritas en los nematodos parásitos, tanto por su grosor absoluto como por la relación entre el grosor de la cutícula y el diámetro corporal.

Como rasgo característico señalamos sus prolongaciones cuticulares irregulares, comparables, aunque menos desarrolladas, a las de *Capillaria hepatica* (Wright¹⁰). Ambos parásitos están morfológica y taxonómicamente muy alejados entre sí, pero tienen en común el estar en íntimo contacto con el tejido que parasitan. Podría pensarse que la cutícula de *P. rufescens* no representa una fuerte barrera ante el medio que la rodea, el tejido pulmonar, sino que se trata de un fino revestimiento que permite un fácil intercambio de sustancias entre el parásito y el medio.

Por otra parte, la simplicidad de las capas cortical y media y el carácter adieletrónico de esta última, debido a su gran contenido hídrico, podrían dotar a la cutícula de una gran plasticidad, permitiéndole la formación de prolongaciones y digitaciones superficiales. Wright¹⁰ observa en *C. hepatica* que el número de elevaciones o crestas cuticulares varía según el proceso de fijación y deshidratación a que se somete el nematodo.

2. Hipodermis

La hipodermis de *P. rufescens* se diferencia claramente de la mayoría de los nematodos parásitos en que posee mayor número de cordones hipodermiales. Sin embargo, en otros nematodos como los mermítidos y diotofimatoideos el número de cordones es también ocho y están distribuidos de la misma manera que los de *P. rufescens* (Chitwood y Chitwood²).

En cuanto a la zona ovalada en los cordones laterales, constituye una estructura que no ha sido descrita en ninguno de los nematodos estudiados hasta ahora al microscopio electrónico. Los dos pequeños cuerpos densos situados inmediatamente debajo de la cutícula aparecen de forma constante en todos los ultracortes estudiados, por lo que consideramos que corresponden a secciones transversales de sendas barras longitudinales. Estos cuerpos son comparables, aunque de menor diámetro, a las estructuras electrodensas que recorren los cordones laterales de otros nematodos tales como *Haemonchus placei* (Smith y Harness⁸), *H. contortus* (Navarrete y col.⁶) y *Dipetalonema gracilis* y *Ancylostoma caninum* (Chitwood y Lichtenfels³). Su función podría ser la de actuar como elementos de soporte. De igual manera, los haces fibrosos presentes en el subcordón vendrían a reforzar la función esquelética de las barras longitudinales.

Los canales excretores de *P. rufescens* presentan las mismas características estructurales de los descritos en otros nematodos como *Stephanurus dentatus* (Waddell⁹), *Heterakis* sp. (Lee y Atkinson⁵) y *Haemonchus contortus* (Navarrete y col.⁶). Queremos resaltar, sin embargo, las diferencias morfológicas que existen entre los tramos anterior y caudal del parásito, que a nuestro entender reflejan diferencias funcionales. En las primeras porciones podría realizarse una función doble de filtración y reabsorción, y en las posteriores una función primordial de reabsorción.

3. Musculatura

La musculatura somática de *P. rufescens* ha sido estudiada al microscopio electrónico por Zmoray y Guttekova¹². Nuestros resultados son en todos coincidentes con los de estos autores, si bien aportamos algunos detalles que vienen a ratificar que la organi-

zación de las células musculares de los nematodos presenta una serie de elementos comunes en la mayoría de las especies. Entre ellos, la distribución en bandas de los miofilamentos gruesos y finos (Rosenbluth⁷) y el almacenamiento del glucógeno, del que Bird¹ dice que "el cuerpo celular es esencialmente un saco de glucógeno que contiene el núcleo".

REFERENCIAS

1. Bird, A. F.—*The structure of nematodes*. Academic Press. London, 1971.
2. Chitwood, B. G.; Chitwood, M. B.—*Introduction to Nematology*. University Park Press. London, 1950.
3. Chitwood, M. B.; Lichtenfels, J. R.—Identification of parasitic metazoa in tissue sections. *Exp. Parasitol.*, 32, 1972, 407-519.
4. Guttekova, A.; Zmoray, I.—Comparative study of ultrastructure of muscle cells in meumohelminthes. *Helminthologia (Bratislava)*, 15, 1974, 585-604.
5. Lee, D. L.; Atkinson, H. J.—*Physiology of Nematodes*. The McMillan Press Ltd., London, 1976.
6. Navarrete, I.; Acosta, I.; Martínez-Gómez, F.; Gutiérrez-Palomino, P.; Hernández, S.—Ultraestructura de *Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongyloidea). *Rev. Ibér. Parasitol. Vol. Extra*, 1982, 71-81.
7. Rosenbluth, J.—Ultrastructural organization of obliquely striated muscle fibers in *Ascaris lumbricoides*. *J. Cell Biol.*, 25, 1965, 495-515.
8. Smith, K.; Harness, E.—The ultrastructure of the adult stage of *Trichostrongylus colubrififormis* and *Haemonchus placei*. *Parasitology*, 64, 1972, 173-179.
9. Waddell, A. H.—The excretory system of the kidney worm *Stephanurus dentatus* (Nematoda). *Parasitology*, 58, 1968, 907-919.
10. Wright, K. A.—The fine structure of the cuticle and interchordal hypodermis of the parasitic nematode, *Capillaria hepatica* and *Trichuris myocastoris*. *Can. J. Zool.*, 46, 1968, 173-179.
11. Zmoray, I.; Guttekova, A.—The ultrastructure of muscle cells in *Cystocaulus ocreatus* (Nematoda). *Biologia (Bratislava)*, 28, 1973, 361-369.
12. Zmoray, I.; Guttekova, A.—*Protostrongylus rufescens*, The ultrastructure of muscle cells of the body wall. *Biologia (Bratislava)*, 28, 1973, 661-664.

ABREVIATURAS

- B. Capa basal
 CC. Capa cortical
 CD. Cuerpos densos
 CE. Canal excretor
 CM. Capa media
 F₁ y F₂. Miofilamentos gruesos y finos
 FI. Haces fibrilares
 G. Glucógeno
 H. Hipodermis
 HD. Cordón hipodermal dorsal
 HL. Cordón hipodermal lateral
 HV. Cordón hipodermal ventral
 I. Intestino
 L. Lípido
 M. Musculatura
 MF. Miofibrilla
 MI. Mitocondria
 N. Núcleo
 V. Vacuola.

EXPLICACION DE FIGURAS

Figura 1.—Sección transversal de un macho de *Protostrongylus rufescens*.

Nótese la existencia de ocho cordones hipodermes.

Figura 2.—Detalle de la disposición de los miofilamentos gruesos y finos.

Figura 3.—Sección transversal de la pared corporal.

Figura 4.—Cordón hipodermal ventral.

Figura 5.—Cordón hipodermal lateral en la porción anterior del cuerpo. En posición apical se observa una región ovalada con haces fibrilares y en la basal el canal excretor.

Figura 6.—Detalle de una célula muscular en la que se distingue una región miofibrilar apical y otra sarcoplásmica muy dilatada en la que se sitúa el núcleo.

Figura 7.—Cordón hipodermal lateral en la porción posterior del cuerpo. Detalle del canal excretor y del núcleo.



