NOTA ACERCA DE LAS CELULAS LISIGENAS Y FAGOCITARIAS DE LAS CRISALIDAS DE AEGIALE (ACENTROCNEME) HESPERIARIS KIRBY

Por L. ANCONA H.,
del Instituto de Biología.

COMO complemento del trabajo "Histología de los Gusanitos del Maguey," publicado en el tomo V, Nº 4 de los Anales del Instituto de Biología, la presente nota comprende una serie de observaciones realizadas con orugas adultas que habían alcanzado su completo desarrollo y con crisálidas recién formadas, con el propósito de reconocer los sitios donde se originan las células lisígenas y los elementos fagocitarios que operan la destrucción gradual de los tejidos durante la crisalidación.

Para conocer la orientación general de los planos histológicos, que nos permita señalar los datos complementarios, son los cortes transversales practicados a la altura del segundo y tercer segmentos abdominales, los que proporcionan datos más exactos. En uno de los citados cortes encontramos de afuera hacia adentro las siguientes partes: 1º La cubierta quitinosa; 2º el revestimiento conjuntivo; 3º el cuerpo grasoso; 4º la capa muscular; 5º la túnica propia, y 6º el epitelio cilíndrico. (Figura 1).

La cubierta quitinosa, en lo general, es bastante delgada, aumenta de espesor en la cabeza y en la ceja protorácica. En los cortes puede identificarse fácilmente por su ligero color caoba en las partes engrosadas o por el color que toma con el verde luz en las porciones delgadas. El tejido conjuntivo subyacente constituye una capa uniforme que, en torno a los tubos del sistema traqueal y a las glándulas salivales, se organiza formando tenues membranas peritoneales. El cuerpo grasoso ocupa el espacio intermedio, comprendido entre los músculos longitudinales que rodean al tubo digestivo y el revestimiento conjuntivo; se encuentra formado por células esféricas, prismáticas o cúbicas, que miden 40 micras por término medio; la hematoxilina férrica y la eritrocina muestran el protoplasma vacuolizado y las coloraciones complementarias con Sudán III revelan en su interior materias grasas. En el espesor de este tejido se

encuentran: el vaso dorsal, el sistema ganglionar ventral, las glándulas salivales y los tubos del sistema traqueal; los últimos con las glándulas salivales que recorren la mayor longitud del cuerpo, hasta el séptimo segmento, constituyen una intrincada red que fija los grupos celulares del cuerpo grasoso. Las glándulas salivales, observadas en sección transversal demuestran tubos de amplia luz, bordeados por células cuadrangulares que miden, aproximadamente, doscientas micras de largo por ochenta de anchura, con protoplasma finamente estriado y provisto de escasas vacuolas; los núcleos son metamórficos, con múltiples arborescencias que culminan en variocosidades, reteniendo la cromatina en sus dicotomías.

La cubierta muscular presenta cuatro franjas de músculos longitudinales: dos por la cara ventral, que partiendo de la cabeza llegan al quinto segmento, y otras dos orientadas hacia la cara dorsal, que se desprenden igualmente de la cabeza y alcanzan el noveno; hay, además, tres pares de músculos oblicuos en cada segmento: dos de ellos que se dirigen de la cubierta quitinosa a las pleuritas, algunas de cuyas fibras pasan de largo y se fijan en la cubierta quitinosa del siguiente segmento, y otros dos que siguen una dirección oblicua de los flancos a la cara ventral. En todos ellos, pero muy especialmente en los músculos longitudinales, la hematoxilina férrica de Heidenhain descubre sus fibras con un delicado sarcolema que se adhiere a los discos Z, que son los únicos que se aprecian con claridad; en términos más difusos se distinguen, sin embargo, los discos Q. En torno al tubo digestivo y en contacto directo con el tejido conjuntivo, existe una delgada vaina de músculos lisos.

La túnica propia se encuentra constituída por un tenue revestimiento conjuntivo, que sirve de superficie de implantación a las prolongaciones radiculares del epitelio cilíndrico. La eosina wasserblau de Ochoterena, las tiñe en azul, mientras que las del epitelio toman una coloración rojiza.

La última capa, que es la más interna, forma el epitelio cilíndrico del tubo digestivo, presenta una sola hilera de células prismáticas, que miden, aproximadamente, 80 micras, que por un lado toman inserción fija en la delgada cubierta conjuntiva, y que, por otro, emiten prolongaciones filiformes o pseudopodiales simples o ramificadas, que flotan libremente en la luz del tubo. Las coloraciones con hemalumbre de Meyer, no tiñen esta capa de manera uniforme: mientras unas toman una tonalidad morado-azulosa, las otras se impregnan de un tinte morado-rojizo, entre las últimas se singularizan células caliciformes, que de igual manera envían finos apéndices tubulares hacia la luz del tracto digestivo. Los estudios de Bordas asignan al epitelio, semejante del tubo digestivo de las mariposas, una función secretora; opinión que compartimos parcialmente, puesto que las células caliciformes, de singulares apetitos colorantes, se ven plagadas de abundantes condriocontos; nosotros consideramos, sin embargo, que estas células integran esencialmente un epitelio cilíndrico dotado de propiedades fagocitarias, como lo demuestra el hecho de que nume-

rosas células de la hilera presentan su protoplasma plagado de bacterias. A lo largo del intestino medio pueden notarse tres zonas longitudinales (nidi), donde las células del epitelio cilíndrico proliferan activamente; en la parte más elevada, correspondiendo con ellas, hay tres jirones de células que flotan en la luz del tubo, de donde lentamente se desprenden. En nuestro trabajo anteriormente referido, señalamos el hecho de que, en orugas próximas a transformarse en crisálidas, abundan estas células desprendidas, pudiendo reconocerse en diversos estados de digestión, ocupando las últimas porciones del intestino posterior.

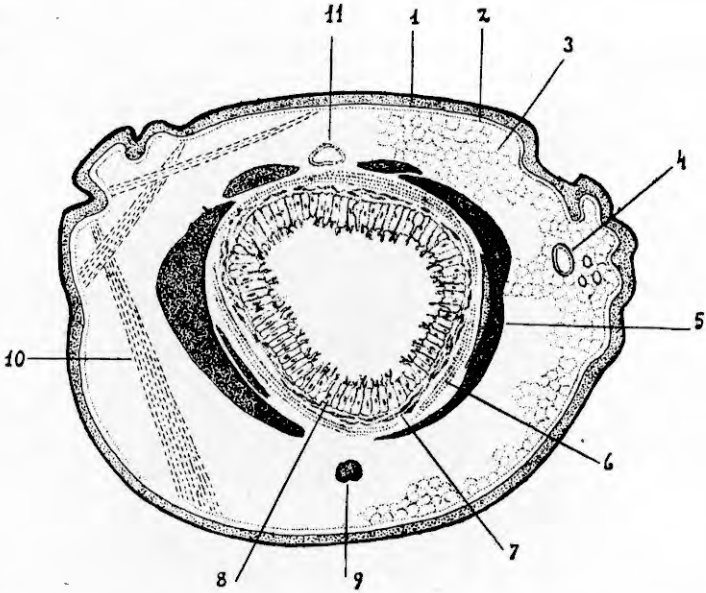

Fig. 1.—Corte transversal de la oruga a nivel del intestino medio; 1, cubierta quitinosa; 2, revestimiento conjuntivo; 3, cuerpo grasoso; 4, sistema traqueal; 5, músculos longitudinales; 6, capa de músculos transversales; 7, túnica propia; 8, epitelio cilíndrico; 9, sistema ganglionar; 10, músculos segmentales; 11, vaso dorsal.

En orugas, que, según nuestros cálculos comparativos, debieran formar sus crisálidas en el curso de algunas horas, los cortes transversales demostraron abundantes células, con formas alargadas, que compararíamos a las que tienen las Euglenas, acantonándose en torno al epitelio cilíndrico; son éstas, verdaderas células lisígenas que inician la labor destructora del propio epitelio, según puede apreciarse por la disolución de los elementos vecinos. El detenido examen de las preparaciones nos demuestra que las células lisígenas se originan, a partir de la delgada cubierta conjuntiva que rodea al tubo digestivo; en

efecto, la sección circular del mismo, se encuentra alterada en sus contornos por diminutas protuberancias orientadas hacia afuera, en las que se alojan células triangulares o piriformes, distintas de los histoblastos de Künckel D'Herculais, que se forman a expensas de células enclavadas en el epitelio cilíndrico. (Figura 2). Las referidas células, en los primeros días de la ninfosis se multiplican activamente y se esparcen, insinuándose en el espesor del cuerpo graso. Los cortes seriados muestran: primero la liberación parcial y posteriormente total, de tales elementos; el examen de los caracteres morfológicos de las células errantes que se distancían del tubo digestivo, permite identificarlas por su tamaño, condrioma vacuolado de gruesas granulaciones y núcleo esférico de cromatina uniforme, que aparece rodeado de una atmósfera de protoplasma granuloso no diferenciado, que le forma una aureola. (Figuras 3 y 4).

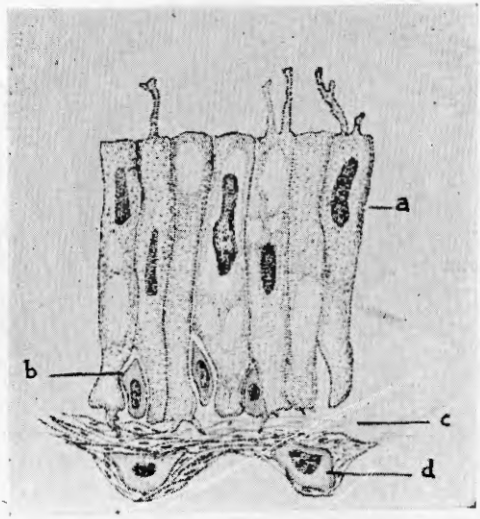

Fig. 2.—Células del epitelio cilíndrico del intestino: a, células epiteliales; b, Histoblastos de Künckel D'Herculais; c, cubierta conjuntiva; d, células formadoras de los elementos lisígenos.

Consideramos que en la liberación de las células lisígenas, muy posiblemente hay una acción bacteriana no del todo despreciable, ya reconocida anteriormente por Karawaiew, Kellog, Henneguy y otros autores, quienes sostienen la teoría de la degeneración de los órganos durante la metamorfosis. Nuestras observaciones demuestran de igual manera el aumento progresivo de la flora bacteriana en la luz del tubo digestivo, desde I. 059,320 por milímetro cúbico, en las orugas del segundo instar, hasta 80.321,070 en las crisálidas del primer día. A esto debe añadirse, como antes hemos indicado, que

las células del epitelio cilíndrico muestran en su protoplasma bacterias incluídas, y que en las orugas del último instar se encuentran con frecuencia en esta hilera núcleos en plena desintegración, tal como ha señalado W. Miller en las células del tracto digestivo de los Tenebriónidos, sin que los cortes en serie demuestren en ellas células lisígenas.

Colaborando en la tarea destructora del tubo digestivo y de los órganos internos, debe considerarse una segunda labor muy importante que inician los fagocitos, células que, al parecer, tienen un origen muy distinto al de los elementos lisígenos. Por el detenido examen de nuestras preparaciones, llegamos a localizar una zona generadora mucho más amplia del área de los discos de Weissman y Viallanes, cuyos contornos se dibujan con claridad en las mis-

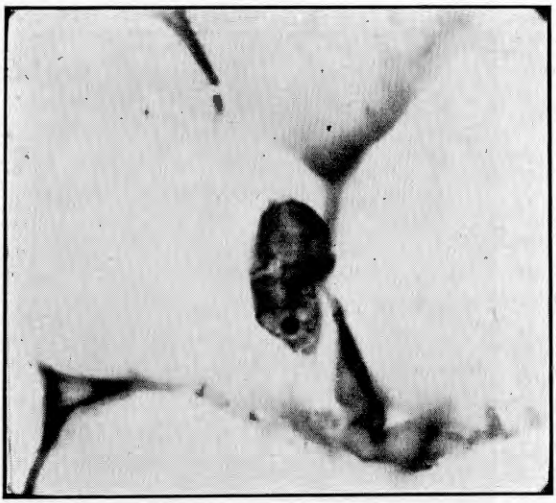

Fig. 3.—Célula lisígena localizada en el cuerpo grasoso.

mas preparaciones. La citada zona forma toda una capa de tejido conjuntivo indiferenciado, en contacto directo con la capa basal de células quitinógenas; en efecto, los cortes longitudinales que levantan apenas la cubierta quitinosa con sus células generadoras, demuestran la porción más superficial del estracto conjuntivo subyacente, formada por células fusiformes, con núcleos voluminosos, que tienen su cromatina diseminada en gránulos. A nivel de los segmentos torácicos y en el primero abdominal los discos de Weissman y Viallanes constituyen acúmulos típicos de ellas, pero en el resto del cuerpo y aun en otras zonas de los propios segmentos, no se aprecian de igual manera, sino arreglados en una capa continua. El examen de los cortes seriados nos hizo

pensar que la legión de fagocitos de Kowalevsky podría originarse, a partir de ella, puesto que las células con idénticos caracteres morfológicos, pudimos reconocerlas a distancia sobre el tejido muscular y rodeando al sistema nervioso, mostrando el aspecto típico que señala don Domingo Sánchez en la metamorfosis de Pieris brassicae. Tratando de llegar a una comprobación experimental, que no dejara duda, y por sugestión de mi estimado maestro, el señor profesor Isaac Ochoterena, procedí a inyectar una solución de azul de Trypan, al 1%, a orugas que iniciaban la ninfosis. Procurando lesionar lo menos posible la superficie externa de la oruga, las inyecciones se practicaron con pipetas capilares de cristal, unas veces en los discos imaginales y otras en distintos lugares del cuerpo. Tres horas después se sacrificaron las orugas, procediendo

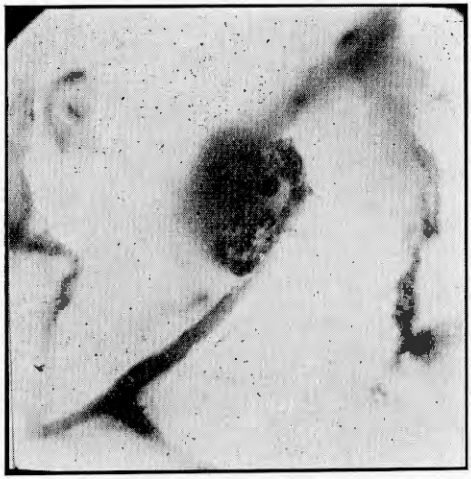

Fig. 4.—Célula lisígena disolviendo la membrana de una célula del cuerpo grasoso. El núcleo presenta su aspecto típico, rodeado por una aureola de protoplasma indiferenciado.

a practicar secciones transversales de tres a diez micras; con ayuda de las técnicas adecuadas se obtuvieron preparaciones en ambos casos, en las que pudieron singularizarse los fagocitos de Kowalevsky, puesto que, gracias a sus propiedades cromopéxicas, habían ingerido las partículas inertes del colorante. Nuevamente repetimos las inyecciones en orugas que principiaban a transformarse en crisálidas y seis días después, ya en pleno estado de histolisis, todavía pudieron reconocerse las referidas células, que invadieron gradualmente las partes profundas hasta confluir en torno al tubo digestivo.

CONCLUSIONES:

1. Las células que destruyen los órganos internos en las orugas de Aegiale (Acentrocneme) hesperiaris Kirby, son de dos tipos: fagocitos de Kowalevsky y células lisígenas. Ambas con lugares de origen muy distintos.

2. En las citadas orugas, los fenómenos de histolisis se operan por una doble acción, que podríamos llamar: centrífuga, por parte de las células lisígenas, y centrípeta, por parte de los fagocitos.

3. Las células lisígenas se originan en los tubérculos de la capa conjuntiva que abraza al tubo digestivo, mientras que las células fagocitarias lo hacen en los discos imaginales de Weissman y Viallanes y, simultáneamente, en la capa de tejido conjuntivo indiferenciado, que se encuentra en contacto directo con la capa basal de células quitinógenas.

SUMMARY

In the present work, after giving the histological structure of the "gusanitos de maguey," a series of observations and experiments are mentioned.

1. The cells that destroy the internal organs of the larvee of *Aegiale herperiaris* are of two types-fagocytes of Kowlevsky and lysigenous cells, both originating in distinct manners.

2. In the above cited larvae the phenomena of histolysis are brought about by an action which we can call centrifugal for the lysigenous cells and centripetal on the part of the fagocites.

3. The lysigenous cells have their origin in the tubercles of the connective layer that surrounds the digestive tube, while that of the fagocites is in the imaginal plate as well as in all of the layer of indifferentiated connective tissue that is found in direct contact witch the chitin producing cells.

BIBLIOGRAFIA

ANCONA, L.—"Histología de los gusanitos del maguey." Anales del Instituto de Biología. T. V. Nº 4. México.

HENNEGUY, F. L.—"Lecons sur la Cellule." Paris. 1895.

IMMS, A. D.—"A General Textbook of Entomology." N. Y. 1934.

KOWALEVSKY, A.—"Beitrage zur Kenntniss der nachembryonalen Entwicklung der Musciden." Zeits. Wiss. Zool. 1887.

PEREZ, C.—"Contributions a l'etude des Métamorphoses." Bull Sci. Fr. et Belge. 1902.