

## ESTUDIO ULTRAMICROSCOPICO DE LA NEFROPATIA EN LA SCHISTOSOMIASIS MANSONI EN RATONES

(Reporte Preliminar)

Ana Recagno de ROUSSE (1) y Jesus ROMERO M. (2)

### RESUMEN

Estudios previos en animales de experimentación y en humanos han demostrado que las infecciones con *Schistosoma mansoni* originan lesiones glomerulares. La presencia de depósitos electrón densos de localización subendotelial, subepitelial y mesangial; así como la presencia de gamma globulina y complemento, la caracterizan como una enfermedad a complejos inmunes circulantes. Se describen las lesiones glomerulares en ratones blancos de la cepa CFW infectados experimentalmente con zoocercarias, provenientes de una cepa de origen humano. Se sacrificaron con intervalos de una semana por espacio de dos meses. Las lesiones observadas con el microscopio electrónico fueron focales y locales a partir de la tercera semana. Consistieron en: 1) Engrosamientos subepiteliales localizados de la membrana basal acompañados de pérdida de la laminación normal, tomando una apariencia estriada. 2) Fusión parcial de los pedicelos en aquellas áreas donde se encontraron los depósitos. 3) Edema de las células endoteliales. Las células del epitelio visceral mostraron incremento en el aparato de Golgi, lisosomas, retículo endoplásmico granular.

### INTRODUCCION

Se ha demostrado que un grupo de nefropatías infecciosas y parasitarias, se deben a mecanismos patogénicos, que determinan una reacción antígeno-anticuerpo, con la consecuente producción de complejos inmunes solubles, los cuales se depositan en la pared del capilar glomerular.

Los inmuno complejos circulantes dependen de la formación de anticuerpos por parte del receptor, capaces de reaccionar con antígenos endógenos o exógenos, no glomerulares, con la consiguiente formación de complejos inmunes solubles. La cantidad y la calidad de anticuerpos y/o antígenos, se encuentra

en relación directa al grado de lesión glomerular<sup>7, 11</sup>.

En las infecciones experimentales a *Schistosoma mansoni* se han detectado antígenos en el suero y en la orina de esos animales que aparentemente son elaborados por los vermes adultos<sup>1, 9, 12, 14</sup>.

Por inmunofluorescencia se muestran depósitos granulares de IgG y C'3 en el capilar glomerular.

Los estudios con microscopía electrónica en animales de experimentación infectados con *Schistosoma mansoni*, ponen en evidencia depósitos electrón densos de localización subepitelial, subendotelial y mesangial<sup>5</sup>.

Trabajo presentado en el IX Congreso Latinoamericano de Patología. Realizado en colaboración con el Instituto de Medicina Experimental y el Instituto de Medicina Tropical de la Universidad Central de Venezuela.

- (1) Profesor Agregado de la Cátedra de Clínica Médica "B" del Hospital Universitario de Caracas.
- (2) Profesor Titular de la Cátedra de Parasitología. Instituto de Medicina Tropical. Universidad Central de Venezuela.

El hecho de que los depósitos desaparezcan cuando dichos organismos son eliminados, hace suponer que ellos actúen como antígenos.

La schistosomiasis humana es bastante frecuente en nuestro medio, encontrándose escasamente documentada en lo que se refiere a los aspectos renales aquí tratados.

El propósito de este estudio es el de poner en evidencia los depósitos inmunes circulantes produciendo infecciones masivas con *Schistosoma mansoni* en ratones.

Como reporte preliminar, se trata de determinar si las lesiones renales son progresivas, utilizando distintas dosis de antígeno (cercarias) ya que los ratones mantienen la infección por largo tiempo<sup>10</sup>. Si esto es así, los ratones servirán de modelo experimental para el estudio de la nefropatía de la schistosomiasis mansoni del hombre, dada la similitud que desde el punto de vista ultraestructural presentan con los glomérulos humanos.

#### MATERIAL Y METODOS

Se infectaron 20 ratones blancos entre 18 a 23 g de peso, de la cepa CFW, a razón de 200 cercarias aproximadamente por cada animal; se empleó la técnica de exposición por la cola. Dos ratones no infectados se utilizaron como controles.

Las cercarias utilizadas provenían de caracoles, (*Biomphalaria glabrata*) previamente infectados con una cepa de *Schistosoma mansoni* de origen humano.

Los ratones fueron mantenidos en jaulas metabólicas, alimentados a base de concentrados y agua "ad libitum". Se fueron sacrificando con intervalos de una semana por espacio de dos meses. Los ratones estudiados desde la cuarta semana en adelante mostraron la presencia de grandes cantidades de vermes en el trayecto porta, que en oportunidades ocluían casi completamente la vena. Se contaron entre 30 a 40 vermes en esta localización.

A la octava semana murieron espontáneamente el resto de los ratones; hecho frecuente reportado en infecciones masivas.

Previa anestesia con éter se disecó el abdomen extrayéndose biopsias de la cortical del riñón izquierdo para estudio con microscopio de luz y electrónico.

El tejido para microscopio electrónico se prefijó en glutaraldehído al 2%, se postfijó

en osmio, los fragmentos fueron deshidratados en alcohol etílico en concentraciones crecientes de 50, 75, 95 y 100% e incluidos en Epon.

Cortes gruesos de 2  $\mu$  fueron coloreados con azul de toluidina y vistos al microscopio de luz. Los cortes finos fueron procesados en un ultramicrotomo Reichert OMU<sub>2</sub> y posteriormente fueron observados al microscopio electrónico modelo Siemens Elmiskop IA.

#### RESULTADOS

##### Microscopio de luz

Por el microscopio de luz se observaron lesiones glomerulares variables de acuerdo al tiempo de evolución de la infección.

Desde la segunda semana en adelante se encontró aumento en el tamaño de los glomérulos con oclusión parcial o total de la luz del capilar glomerular por edema e hiperplasia del endotelio y de la matriz mesangial. El espacio urinario se observó ocluido.

##### Microscopio electrónico

Las lesiones observadas fueron variables en severidad y extensión en las diferentes asas glomerulares. Las alteraciones fueron focales y locales consistiendo en:

1) Engrosamientos irregulares de la membrana basal capilar en forma de "jorobas" o "gibas" constituidos por una sustancia de la misma densidad óptica que la membrana basal rodeadas de un halo claro que alteró su estructura normal y que representan proyecciones de la lámina densa con conservación de lámina rara externa (Fig. 1).

La laminación de la membrana basal normal se alteró notablemente no pudiéndose distinguir lámina densa y tomando apariencia estriada en zonas discontinuas (Fig. 2).

2) Invariablemente se observó fusión parcial de los procesos podocitarios o pedicelos en aquellas áreas donde se encontraron los engrosamientos y también en áreas distantes a éstos (Fig. 3).

3) El mesangio mostró incremento de la matriz mesangial por una sustancia similar a la membrana basal (Fig. 4).

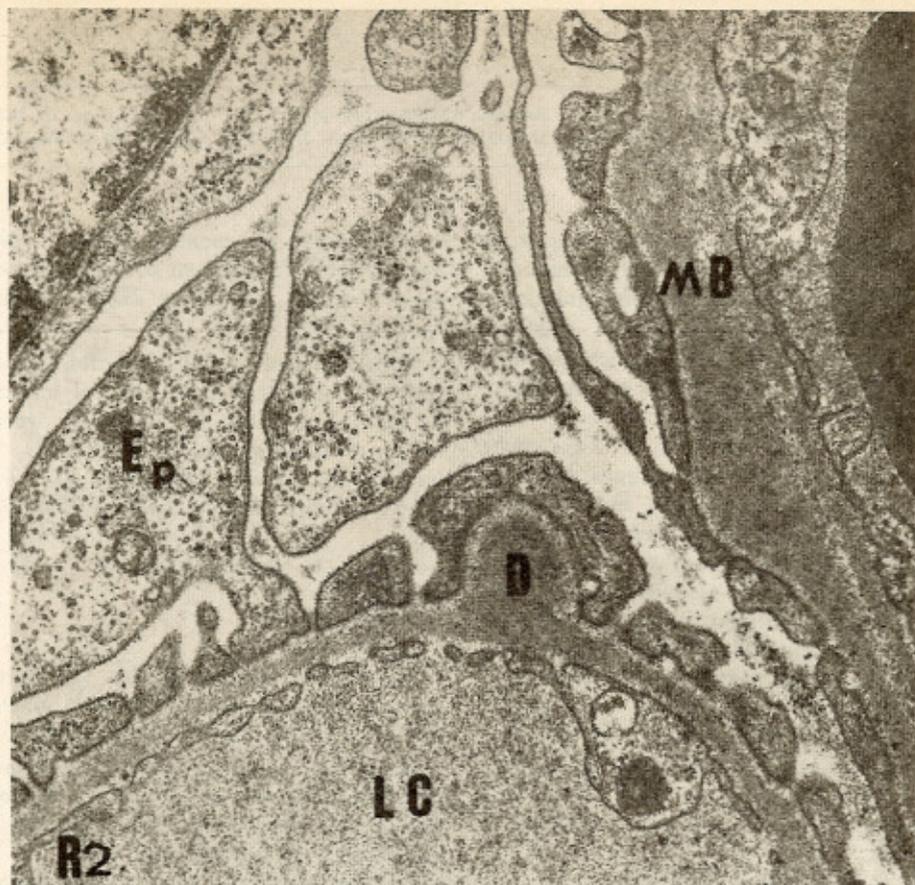


Fig. 1 — Microfotografía electrónica de riñón de ratón. La membrana basal capilar (M.B.) engrosamientos irregulares (D), semejantes a "gibas", de igual densidad óptica que la lámina densa y rodeados por un halo claro que corresponde a la lámina rara externa.

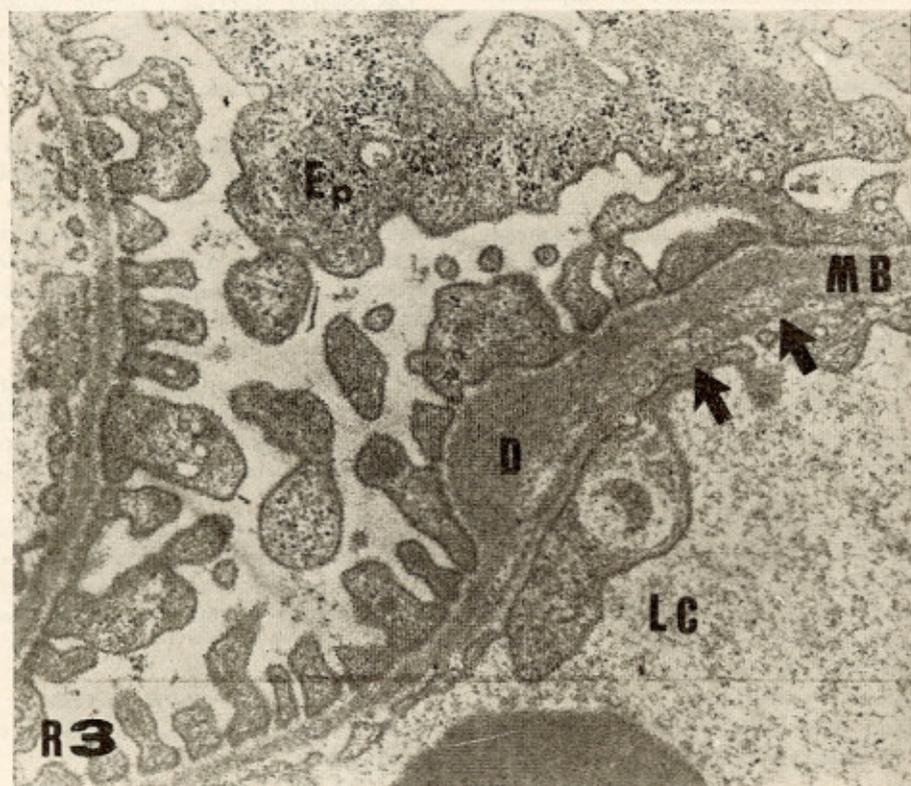


Fig. 2 — Microfotografía electrónica de una porción de un asa glomerular con la membrana basal (M.B.) y engrosamientos irregulares (D). Las flechas indican áreas de rarefacción subendotelial, con desaparición parcial de la laminación normal, tomando una apariencia estriada.

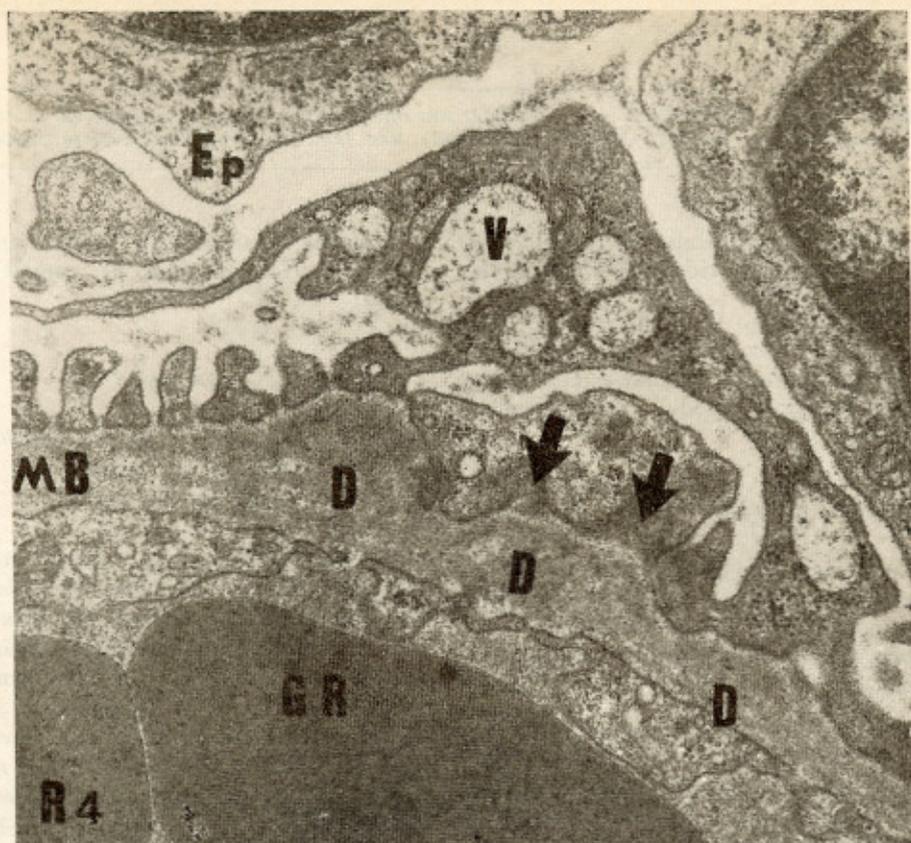


Fig. 3 — Microfotografía electrónica. La membrana basal capilar (MB) con engrosamientos localizados (D) y fusión parcial de los procesos podocitarios sobre las áreas de los engrosamientos (Flechas). La célula del epitelio visceral presenta abundantes vacuolas (V) e incremento del retículo endoplásmico granular.



Fig. 4 — Microfotografía electrónica donde se muestra el incremento en la matriz mesangial (Me) en riñón de ratón a la séptima semana de estar infectado con *Schistosoma mansoni*. Epitelio visceral (Ep).

4) Edema de las células del endotelio y de los podocitos fué evidente después de la sexta semana.

5) Los podocitos mostraron crecimiento en el aparato de Golgi, retículo endoplásmico granular; presencia de abundantes vacuolas y lisosomas.

#### DISCUSION

Se ha demostrado que la Schistosomiasis mansoni en humanos, produce una nefropatía glomerular bien caracterizada por microscopía de luz, electrónica e inmunofluorescencia.

ANDRADE & QUEIROZ<sup>2</sup>, ANDRADE & col.<sup>3</sup>, estudiaron las lesiones renales en un grupo de necropsias con Schistosomiasis hepato-esplénica; encontrando glomerulopatías en más del 90% de los casos y una alta incidencia de glomerulonefritis, mayor que en la población general.

BRITO & col.<sup>4</sup> y DA SILVA<sup>6</sup> seleccionaron un grupo de pacientes con Schistosomiasis mansoni sin evidencia clínica de enfermedad renal y ROCHA & col.<sup>13</sup>, en estudio comparativo de los casos con y sin evidencia clínica de nefropatía; describieron la ultraestructura y la inmunofluorescencia de las lesiones renales. Ambos estudios reportaron depósitos sugestivos de inmunocomplejos circulantes localizados en la membrana basal y en el mesangio, siguiendo un patrón granular y constituídos por IgG y C<sup>3</sup>.

Los estudios experimentales de BRITO & col.<sup>5</sup> realizados en monos muestran lesiones similares a las encontradas en humanos.

Los hallazgos morfológicos observados en el presente estudio demuestran alteraciones en la membrana basal, cambios mesangiales y epiteliales no específicos que guardan alguna semejanza con la glomerulopatía observada en la cirrosis hepática<sup>8</sup>.

Las lesiones glomerulares descritas en ratones, posiblemente tengan un mecanismo patogénico similar al descrito por DIXON<sup>7</sup>, que la caracteriza como una enfermedad a complejos inmunes. Sin embargo falta por precisar con la inmunofluorescencia la calidad de los depósitos inmunológicos ya que la

microscopía electrónica no confirma en forma inobjetable la presencia de complejos inmunes.

#### SUMMARY

#### *Ultrastructural study of kidney schistosomiasis mansoni in mice* (Preliminary report)

Studies in humans and experimental animals have demonstrated that the *Schistosoma mansoni* infections originate glomerular lesions. The subendothelial, subepithelial and mesangial localization of electron dense deposits together with the presence of gamma globulins and their complements have characterized it as an immune complex disease. The glomerular lesions have been described in the white CFW strain mice which were experimentally infected with a zoocercaria strain of human origin. The animals were sacrificed every other week for a period of two months. Lesions were observed with an electron microscope; they were focal and local and their appearance commenced in the second week. They consisted of: 1) Subepithelial engrossments localized in the basal membrane accompanied by the loss of normal lamination which was replaced by a striated appearance. 2) Partial fusion of pedicels especially in the areas of thickening. 3) Edema of the endothelial cells. The visceral epithelial cells demonstrated an increase in the Golgi apparatus, lysosomes and in the granular endoplasmic reticulum.

#### AGRADECIMIENTO

A los Dres. Félix Pifano y Antonio Sanabria por la colaboración prestada en la realización de este trabajo. Los Autores contaron con la cooperación técnica de Eduardo Chollet, Irena Méndez y Gladys Mazrua.

#### REFERENCIAS

1. ANDRADE, Z.A.; PARONETTO, F. & POPPER, H. — Immunocytochemical studies in schistosomiasis. *Amer. J. Path.* 39:589-598, 1961.

2. ANDRADE, A.A. & QUEIROZ, A.C. — Lesões renais na esquistossomose hepatoesplênica. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 10:36-40, 1968.
3. ANDRADE, Z.A.; ANDRADE, S. & SADI-GURSKY, M. — Renal changes in Patients With Hepatoesplenic Schistosomiasis. *Amer. J. Trop. Med.* 20:77-83, 1971.
4. BRITO, T. de; LÓPES, J.D. & SILVA, L.C. da — Kidney biopsy in human Schistosomiasis. An Ultrastructural study. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 11:62-64, 1969.
5. BRITO, T.; GUNJI, J.; CAMARGO, M.E.; CERAVOLO, A. & SILVA, L.C. da — Glomerular lesions of *Schistosoma mansoni* in *Cebus apella* monkeys. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 45:419-422, 1971.
6. DA SILVA, L.D.; BRITO, T.; BONI, D.R.; CAMARGO, M.E.; LOPES, J.D. & GUNJI, J. — Kidney biopsy in the hepatoesplenic form of infection with *Schistosoma mansoni* in man. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 42:907-910, 1970.
7. DIXON, F.J. — The pathogenesis of glomerulonephritis. *Amer. J. Med.* 44:493-498, 1968.
8. FISHER, E.R. & PEREZ-STABLE, E. — Cirrhotic Lobular glomerulonephritis. Correlation of ultrastructural and Clinical features. *Amer. J. Path.* 52:869-890, 1968.
9. GOLD, R.; ROSEN, F.S. & WILLER, T.H. — A specific circulating antigen in hamsters infected with *Schistosoma mansoni*. *Amer. J. Trop. Med.* 18:545-552, 1969.
10. LEE, C.R. & LEWGRT, R.M. — The maintenance of *Schistosoma mansoni* in the laboratory. *J. Infect. Dis.* 99:15-20, 1956.
11. McCLUSKEY, R.L. — The value of immunofluorescence in the Study of Human Disease. *J. Exp. Med.* 134:242-255, 1971.
12. PAGE, C.R. & ETGES, F.J. — Experimental prepatent *Schistosomiasis mansoni*. Quantitative analyses of protein enzyme activity and free amino acids in mouse serum. *Exp. Parasit.* 31:341-349, 1972.
13. ROCHA, H.; BRITO, E.; QUEIROZ, F.P.; ANDRADE, A.A. & SUSIN, M. — Glomerulonephritis in *Schistosoma mansoni* infection. Clinical and pathological characteristics. Resúmenes V Congreso Int. Nefrologia, 1972.
14. SMITHERS, S.R. — Recent advances in the immunology of schistosomiasis. *Brit. Med. Bull.* 28:49-54, 1972.

Recebido para publicação em 12/2/1974.