

JUAN M. JIMÉNEZ CARDOSO*
ELIZABETH MRAYKO M.*
LUIS TERÁN**

SINDROME NEFROTICO DE LA RATA PARASITADA POR PLASMODIUM BERGHEI.

ESTUDIO AL MICROSCOPIO ELECTRONICO

EL PALUDISMO es una infección aguda causada por protozoarios del género *Plasmodium* y transmitida por mosquitos del género *Anopheles*, es frecuente y grave en los países tropicales y subtropicales. Hay cuatro especies de parásitos del paludismo humano: 1. *Plasmodium vivax*, 2. *Plasmodium falciparum*, 3. *Plasmodium malarie* y 4. *Plasmodium ovale*.

El estudio de los efectos, tratamiento y profilaxis del *Plasmodium* ha sido extenso por numerosos investigadores^{7,12,14,15,23,24} tanto que existe la Organización Mundial de la Salud para combatir a esta enfermedad, ya que ha desempeñado un papel importante en la historia de las naciones, todavía es común y constituye un obstáculo al desarrollo de algunos pueblos.

El paludismo humano no es habitualmente transmisible a los animales inferiores; en la actualidad

cerca de 50 especies de plasmodios del paludismo son capaces de provocar la enfermedad en los animales, como el *P. Knowlesi*, el *P. Kochi*, el *P. Fallax*, el *P. Gallinaceum*, el *P. Berghei*, y otros^{1,2,3,4,5,6,17,19,20,21}.

En este trabajo tratamos de aclarar la patogenia del síndrome nefrótico de la rata parasitada por el *Plasmodium berghei* por medio de un estudio de biopsias renales observadas mediante los microscopios de luz, electrónico y de inmunofluorescencia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los *Plasmodium berghei* se obtuvieron de cepas del departamento de patología experimental de la Universidad de Birmingham, Inglaterra. Se introdujeron por vía intraperitoneal a un Hamster y a 24 ratas albinas de ambos sexos. Posteriormente se les administró isocianato de fluoresceína previa preparación de los animales por medio de las técnicas de inmunofluorescencia^{8,9,10}. La metodología y resultados serán objeto de otra publicación. Se sacrificaron cuando manifestaron albuminuria y/o hematuria que

* Sección de Microscopía Electrónica. Centro Hospitalario "20 de Noviembre" I. S. S. S. T. E. México, D. F.

** Laboratorio de Inmunología. Centro Hospitalario "20 de Noviembre" I. S. S. S. T. E. México, D. F.

osciló entre 10 y 21 días; inmediatamente se tomaron porciones de riñón, fueron congeladas y cortadas por medio de un cristato para su estudio al microscopio de fluorescencia en el laboratorio de inmunología, otras porciones de riñón se fijaron en solución de formol al 10% para su estudio mediante el microscopio de luz, fragmentos más pequeños se colocaron en glutaraldehido y posteriormente se post-fijaron en solución a base de tetróxido de osmio, se incluyeron en araldita-epon, se polimerizaron en tres diferentes estufas a 37°C (24 horas) a 45°C (12 horas) y a 60°C (24 horas), se cortaron con cuchillas de vidrio en un ultramicrotomo Porter-Blum MT-2 y se observaron con un microscopio electrónico A E I 801. Igualmente se procesaron diez riñones de ratas normales que sirvieron de testigos.

RESULTADOS

Al microscopio de fluorescencia en los riñones testigo la detección de anticuerpos fue negativo, en cambio en los riñones de animales parasitados fueron localizados anticuerpos fluorescentes en la membrana basal del capilar glomerular.

Al microscopio de luz en los riñones testigos y en 15 de los riñones de los animales parasitados no se observaron alteraciones. En los otros diez casos se encontraron lesiones similares a la de una glomerulonefritis membranosa, las cuales variaron de glomérulo a glomérulo.

Al microscopio electrónico en los casos control los corpúsculos renales se encontraron formados por la capa parietal de la cápsula de Bowman y su capa visceral que cubre a los capilares glomerulares. El tallo de cada capilar se encontró formado por una zona que se extiende desde el pedículo vascular hasta las asas capilares, a esta porción se le llama mesangio o tercera célula del glomérulo (Fig. No. 1).

La pared del capilar se encontró formada por una capa de células endoteliales cuyo citoplasma contiene mitocondrias y partículas de ribonucleoproteínas. La membrana basal con un espesor de 3,200 Å se encontró formada por tres capas: La central densa entre las otras dos menos densas, actúa como principal barrera en la filtración para impedir el paso de proteínas y de otras macromoléculas, de las células epiteliales de la capa visceral emanan prolongaciones citoplásmicas a la membrana basal, por su



Fig. 1. Porción de un glomérulo normal; se observa la célula mesangial (C) en el centro. 4,000 X

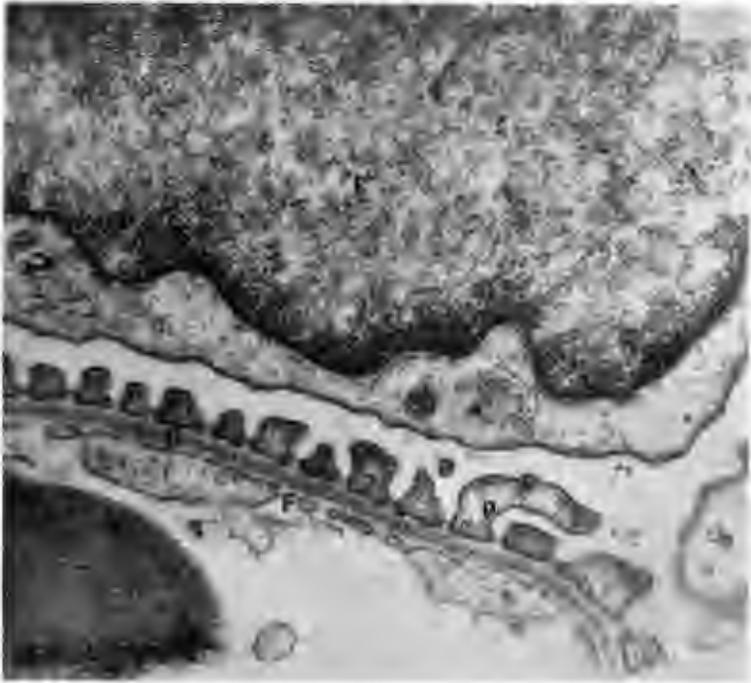


Fig. 2. Se observa la célula epitelial (E) de la cápsula de Bowman, numerosos podocitos (p), membrana basal del capilar glomerular formada por tres capas, la central más densa (D), el endotelio del capilar con numerosas fenestraciones (F). 16,000 X.

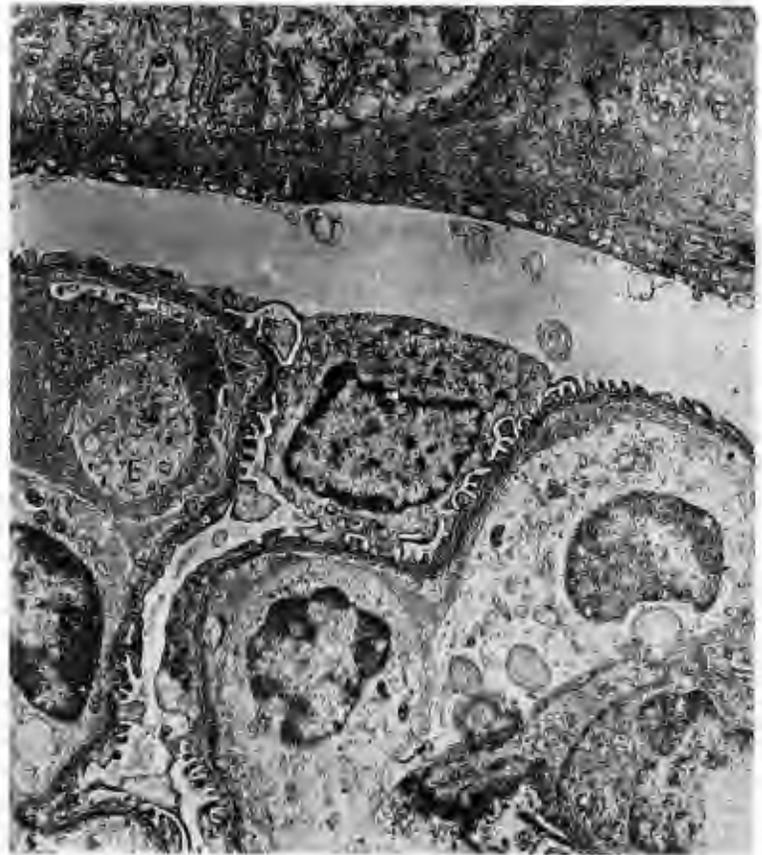


Fig. 3. Porción de un glomérulo, en un capilar glomerular se encuentra un eritrocito parasitado por un esquizonte (E). 4,000 X.

Fig. 4. A mayor aumento se observa el esquizonte caracterizado por el citoplasma esférico, el núcleo (n), vacuolas (v), ribosomas (r) y merozoitos (z). Los podocitos se encuentran aplanados y con depósitos electrodensos. 6,300 X.

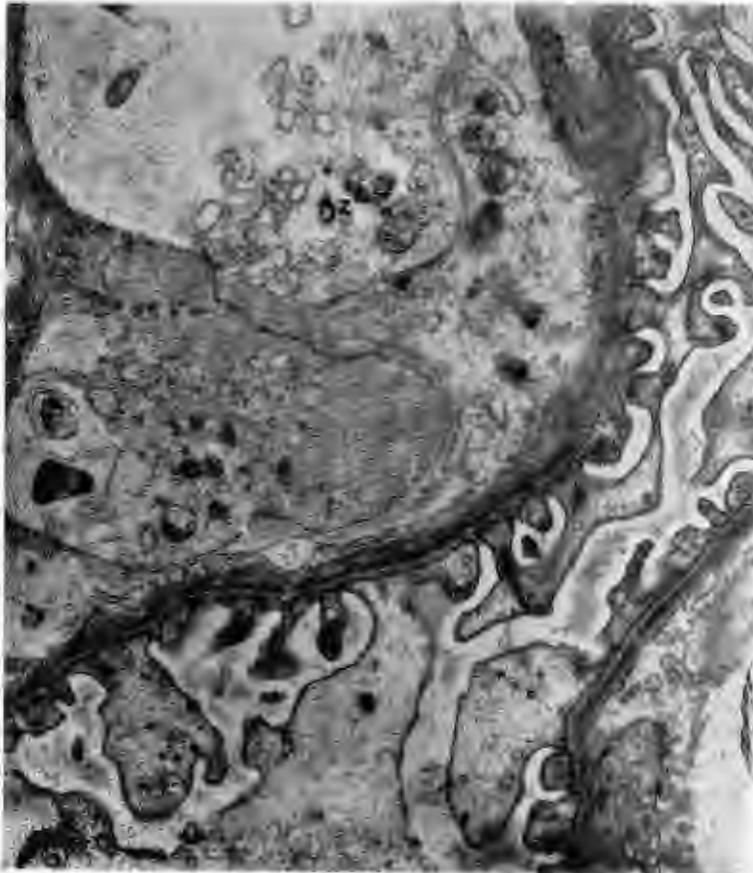


Fig. 5. Capilar glomerular con el eritrocito roto y libres los merozoitos (z). 10,000 X.

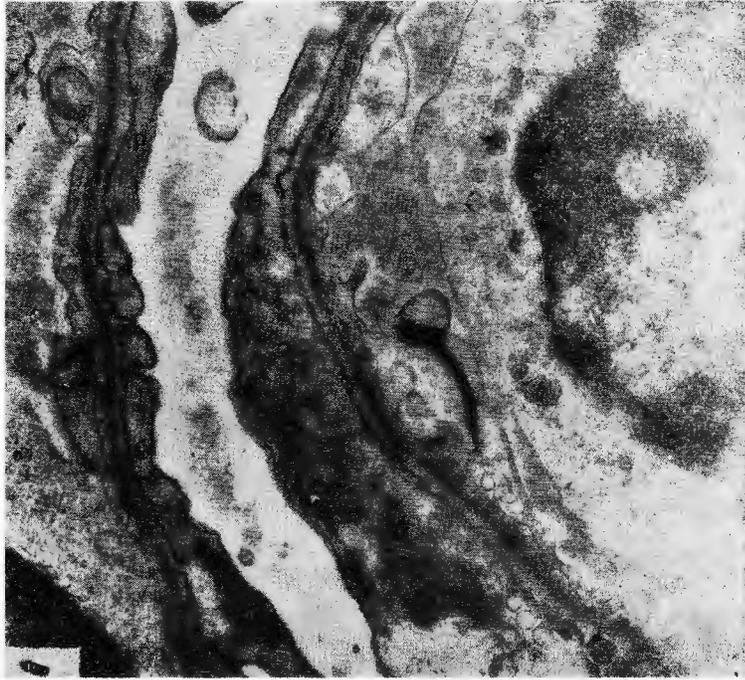


Fig. 6. Fracción de un capilar glomerular con los podocitos aplanados y fusionados (p) y depósitos (D) electrodensos. 16,000 X.

forma se les llama podocitos entre ellos hay espacios regulares por los que fluye el filtrado glomerular, recobrando las macromoléculas que hayan podido pasar (Fig. No. 2).

En todos los animales parasitados se encontró en los capilares glomerulares eritrocitos con *plasmodium* en forma de trofozoitos y de esquizontes, estos últimos presentaron el citoplasma esférico con núcleo, mitocondrias, retículo endoplásmico, ribosomas, vacuolas y estructuras esféricas y ovals que las interpretamos como merozoitos (Figs. No. 3 y 4). Al final del proceso de merulación encontramos eritrocitos destruidos y los merozoitos libres en el plasma sanguíneo (Fig. No. 5). En todos los casos observamos aplanamiento y fusión segmentaria de los podocitos con depósitos electrodensos (Fig. No. 6).

COMENTARIO

El estudio experimental del paludismo en animales tiene importancia para comprender mejor problemas importantes acerca de las vías de transmisión, diagnóstico, patogénesis, tratamiento y profilaxis.

Los hallazgos histológicos, de inmunofluorescencia y ultraestructurales, correlacionados con la albuminuria que presentaron los animales parasitados nos indica que existe una relación directa entre el síndrome nefrótico con el paludismo ya que encontramos al microscopio electrónico aplanamiento de los podocitos con depósitos electrodensos, los cuales fueron positivos a los estudios de inmunofluorescencia, esto nos sugiere que consisten en anticuerpos que tienen afinidad por la membrana basal del capilar glomerular. También creemos de importancia el haber observado parásitos en diferentes formas de evolución en el interior de los capilares glomerulares, explica la coagulación intravascular acelerada que ocurre con la consecuente trombosis y hemorragias en diferentes órganos^{11, 13, 16, 18}.

La ventaja del uso del microscopio electrónico es que podemos detectar lesiones tempranas aún no visibles con el microscopio de luz. La identificación de anticuerpos por medio de la inmunofluorescencia ha sido un gran avance al aclarar la constitución de los depósitos electrodensos. Creemos que en la actualidad el diagnóstico de las diferentes nefropatías debe ser un conjunto de los datos clínicos, histológicos, inmunológicos, histoquímicos y ultraestructu-

rales, para poder comprender con mayor precisión la génesis de las enfermedades y combatirlas adecuadamente.

RESUMEN

Se introdujeron por vía intraperitoneal *Plasmodium berghei* a un hamster y a 24 ratas albinas cepa Wistar de ambos sexos. Se sacrificaron cuando manifestaron albuminuria y/o hematuria, inmediatamente se tomaron fragmentos de riñón para hacer un estudio comparativo de los hallazgos histológicos, de inmunofluorescencia y ultraestructurales.

Los resultados nos indican que hay una relación directa entre el síndrome nefrótico con los animales parasitados de *plasmodium* por la formación de an-

ticuerpos afines a la membrana basal del capilar glomerular con fusión y aplanamiento de los podocitos.

La ventaja del uso del microscopio electrónico es que podemos detectar lesiones aún no visibles con el microscopio de luz. Pero es indispensable complementar estos estudios morfológicos con los de inmunofluorescencia para identificar la naturaleza de las lesiones encontradas.

NOTA:

Agradecemos la colaboración que prestaron en la realización de este trabajo al Dr. W. Bryant, Srita. M. Domone del departamento de patología experimental, así como también al profesor D. B. Brewer de la Universidad de Birmingham, Inglaterra.

REFERENCIAS

- 1 Aikawa, M.; Beaudoin, R.L.: **Effects of chloroquine on the morphology of the erythrocytic stages of Plasmodium gallinaceum.** Am. J. Trop. Med. Hyg. 18:166-181, 1969.
- 2 Aikawa, M.; Hepler, PK; Huff, C.; Sprinz, H.: **The feeding mechanism of avian malarial parasites.** J. Cell. Biol. 28:355-373, 1966.
- 3 Aikawa, M.; Huff, C.; Sprinz, H.: **Comparative feeding mechanism of avian and primate malarial parasites.** Milit. Med. 131:969, 1966.
- 4 Aikawa, M.; Huff, C.; Sprinz, H.: **Comparative fine structure study of the gametocytes of avian, reptilian, and mammalian malarial parasites.** J. Ultrastruct. Res. 26:316, 1969.
- 5 Aikawa, M.; Huff, C.; Sprinz, H.: **Fine structure of the asexual stages of Plasmodium elongatum.** J. Cell. Biol. 34:229, 1967.
- 6 Blackburn, W.; Vinyaikul, K.: **Experimental mammalian malaria. The asexual development of Plasmodium berghei. Trophozoites in Inbred mice.** Lab. Inv. 22:417, 1970.
- 7 Brooks, M.; et al: **Pathophysiology of Acute Falciparum Malaria: I. Correlation of Clinical and Biochemical Abnormalities.** Amer. J. Med. 43:735-744 (Nov.) 1967.
- 8 Collins, W.; Jeffery, G.; Guinn, E.; Skinner, J.: **Fluorescent antibody studies in human malaria. II. Cross reactions between human and simian malaria.** Am. J. Trop. Med. Hyg. 15:11-15, 1966.
- 9 Collins, W.; Skinner, J.; Coifman, R.: **Fluorescent antibody studies in human malaria. V. Response of sera from Nigerians to five Plasmodium antigens.** Am. J. Trop. Med. Hyg. 16:568-571, 1967.
- 10 Collins, W.; Skinner, J.; Guinn, E.: **Antigenic variations in the plasmodia of lower primates as detected by immuno-fluorescence.** Am. J. Trop. Med. Hyg. 15:483-485, 1966.
- 11 Conrad, M.: **Pathophysiology of malaria. Hematologic observations in human and animal studies.** Ann. Intern. Med. 70:134, 1969.
- 12 Diggs, C.; Sadun, E.: **Serological cross reactivity between Plasmodium vivax and Plasmodium falciparum as determined by a modified fluorescent antibody test.** Exp. Parasitol. 16:217-223, 1965.
- 13 George, J.; Stokes, E.; Wicker, D.; Conrad, M.: **Studies of the mechanism of hemolysis in experimental malaria.** Milit. Med. 13 (Suppl.):1217, 1966.
- 14 Guilles, H.; Hendrickse, H.: **Nephrosis in Nigerian children. Role of plasmodium malarie and effect of antimalarial treatment.** Brit. Med. Journ. 2:27, 1963.
- 15 Hepler, P.; Huff, C.; Sprinz, H.: **The fine structure of the exoerythrocytic stages of Plasmodium fallax.** J. Cell. Biol. 30:333, 1966.
- 16 Jordan, W.; Prouty, R.; Heinle, R.; Dingle, J.: **The mechanism of hemolysis in paroxysmal cold hemoglobinuria. III. Erythrophagocytosis and leukopenia.** Blood. 7:387, 1952.

- 17 Knisely, M.; et al: **Knowlesi Malaria in Monkeys: I. Microscopic Pathologic Circulatory Physiology of Rhesus Monkeys During Acute Plasmodium knowlesi Malaria.** J. Nat. Malar. Soc. 4:285-300 (Dec) 1945.
- 18 Kreier, J.: **Mechanism of erythrophagocyte destruction in chicken infected with Plasmodium gallinaceum.** Milit. Med. 134 (Special issue): 1203, 1969.
- 19 Ladda, R.: **Morphologic observations on the effect of antimalarial agents on the erythrocytic forms of Plasmodium berghei in vitro.** Milit. Med. 131:993, 1966.
- 20 Macomber, P.; O'Brien, R.; Hahn, F.: **Chloroquine: Physiological basis of drug resistance in Plasmodium berghei.** Science. 152:1374-1375, 1966.
- 21 Macomber, P.; Sprinz, H.; Tousimis, A.: **Morphological effects of chloroquine on Plasmodium berghei in mice.** Nature, 214:937-939, 1967.
- 22 McGregor, I.; Williams, K.; Voller, A.; Billewicz, W.: **Immunofluorescence and the measurement of immune response to hyperendemic malaria.** Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 59:395-414, 1965.
- 23 Peters, W.: **Penetration of a mouse erythrocyte by a merozoite of Plasmodium berghei as revealed by electron microscopy.** Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 57:269, 1963.
- 24 Ris, H.; Plaut, W.: **Ultrastructure of DNA-containing areas in the chloroplast of Chlamydomonas.** J. Cell. Biol. 13:383, 1962.