

## Ultraestructura del quiste hidatídico

DALL'ORSO, L.M.\*; CABRERA, G.\*; VILLENA, F.\*\*; PINILLA, N.\*; PARRA, G.\*

(\*) Departamento de Microbiología.

(\*\*) Departamento de Histología y Embriología.

Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales.  
Universidad de Concepción. Casilla 2407. Concepción. Chile.

### Summary

The ultrastructure of pulmonary and hepatic hydatid obtained from swine was studied by means of optic, scanning and transmission electron microscopy. Results had indicated differences in the amount and size microtrichiae between fertile and sterile cysts. At the time, large amount of secreting vesicles have been seen in the samples. This fact suggests that some kind of active transport might exist in the cyst which produces the release of secretions from the germinative layer into the cyst cavity.

**Key Words:** Hydatid, Ultrastructure, swine.

### Resumen

Se estudia la ultraestructura de quistes hidatídicos pulmonares y hepáticos provenientes de cerdos, mediante microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido y de transmisión. Los resultados demuestran que existen diferencias en la cantidad y tamaño de microtrichias entre quistes fértiles y no fértiles. Asimismo, se observa gran cantidad de vesículas secretoras en las diferentes muestras, lo que permite suponer que habría liberación de secreciones desde la capa germinativa hacia la cavidad quística, es decir un proceso de transporte activo.

**Palabras Clave:** Quiste hidatídico, Ultraestructura, cerdo.

### Introducción

La parasitosis producida en el hombre por el estado larval de *Echinococcus granulosus* constituye un importante problema de Salud Pública en Chile.

La hidatidosis alcanza en este país una prevalencia de 210 casos por 100.000 habitantes con una incidencia clínica de 700 a 800 casos por año, Ramírez<sup>11</sup>. Al mismo tiempo la mortalidad chilena por esta enfermedad es una de las más altas del mundo, Medina<sup>7</sup>. En zonas como Aysén ésta es cuatro veces más alta que Uruguay, país que presenta la mayor tasa global del mundo. Ramírez<sup>12</sup>.

Se han realizado algunos estudios sobre la morfología del parásito Morseth<sup>9, 10</sup>, Borto-

letti y Ferretti<sup>1, 2</sup>, Lascano y col.<sup>5</sup>, Richards y col.<sup>13</sup>, López-Campos y col.<sup>6</sup>.

Hemos considerado de interés el contribuir al conocimiento de la estructura de quistes tanto fértiles como estériles.

### Material y Métodos

Se examinaron 20 quistes, de los cuales 12 fueron hepáticos y 8 pulmonares provenientes de cerdos sacrificados en el matadero de la ciudad de Concepción. De éstos, 12 correspondieron a quistes fértiles y 8 a quistes estériles.

### MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION

Las muestras se fijaron en glutaraldehído, Sabatini y col.<sup>14</sup>, se post-fijaron en

tetróxido de osmio al 2% Millonig<sup>8</sup> y se contrastaron con acetato de uranilo. La inclusión se realizó en resina, Spurr<sup>16</sup>, los cortes en ultramicrotomo MT2 Porter Blum y las observaciones y fotografías se realizaron en Philips 200 M.

#### MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO

Las muestras se fijaron en solución de aldehído en tampón cacodilato, 1.25% glutaraldehído y 1% paraformaldehído, pH 7.3, modificado en Karnovsky<sup>4</sup>. Se deshidrataron en etanol, se secaron en punto crítico con CO<sub>2</sub> Smith y Finke<sup>15</sup> y se metalizaron con oro. El examen y fotografía se hizo en Autoscan Siemens.

#### Resultados

No se observó diferencia morfológica entre los quistes de distinta localización ya sea pulmonar o hepática. Pero sí existen notorias diferencias entre los quistes fértiles y estériles.

#### QUISTES FERTILES

*Microscopía de barrido.* En estos quistes se observa la superficie de la membrana germinativa totalmente cubierta de cuerpos esféricos, de dimensiones variables, con un diámetro que oscila entre 20 µm para los más grandes y 0,5 µm para los más pequeños (Fig. 1). Dichos cuerpos se presentan tanto libres como semiadheridos a la pared. Algunos de ellos se observan incluidos en el espesor de ella, parcialmente cubiertos por una estructura de apariencia membranosa.

#### *Microscopía de transmisión.*

—*Capa o estrato laminar:* Presenta igual estructura tanto en quistes fértiles como estériles.

Su estructura interna se presenta como bandas que se van alternando (Fig. 2). La ultraestructura está dada por un material amorfo de densidad diferente que en sectores presenta partículas finas de alta densidad electrónica; el otro se dispone en retículo menos denso, que forma un fondo homogéneo en la zona donde las bandas son más oscuras (Fig. 3).

—*Membrana germinativa:* En esta capa se han encontrado grandes diferencias entre los quistes fértiles y estériles.

La capa basal consiste en un sincitio de escaso grosor (1-2 µm) cuya membrana plasmática limitante emite hacia el estrato laminar una serie de proyecciones digitiformes (microtrichias) y un citoplasma vacuolado, en el cual no observamos núcleos. En los quistes fértiles esta membrana es ancha con microtrichias de grosor y largo considerable, se presentan en gran cantidad, posee un citoplasma sumamente vacuolado (Fig. 4).

La capa proliferativa en los quistes fértiles es gruesa, presentando diversidad de tipos celulares (Fig. 4). Hemos observado 3 tipos celulares uno de ellos se caracteriza por poseer un núcleo esférico u oval, de contornos regulares y cromatina dispersa (Fig. 5), el otro presenta un núcleo alargado, de contorno muy irregular y con su cromatina en masas adosadas a la membrana nuclear lo que da un aspecto, en general más denso (Fig. 5), y el tercer tipo de célula posee un núcleo de forma regular con la cromatina concentrada y adosada en parte a la membrana nuclear (Fig. 6).

El primer tipo celular descrito tiene abundante cantidad de mitocondrias<sup>7</sup> y presenta inclusiones lipídicas y cuerpos lamelares concéntricos (Fig. 8).

—*Contenido de la cavidad quística:* En ella existen numerosos elementos de origen celular, entre otros, se pueden reconocer una cierta cantidad de vesículas secretoras de variados tamaños que conservan la membrana plasmática y que muestran un contenido de aspecto granuloso. Muchas de ellas se han abierto y entregado su contenido al medio circundante (Fig. 9), también se observaron muchos trozos celulares altamente vacuolizados y mitocondrias (Fig. 10), cuerpos lamelares (Fig. 11) y gotas de lípidos (Fig. 12).

#### QUISTES ESTERILES

*Microscopía de barrido.* Se observan en la superficie de la membrana germinativa los mismos cuerpos esféricos pero en menor



Fig. 1: Superficie libre de la membrana germinativa. Algunos cuerpos esféricos se observan libres y otros parcial o totalmente cubiertos por una estructura de aspecto membranoso. Quiste fértil (880x).

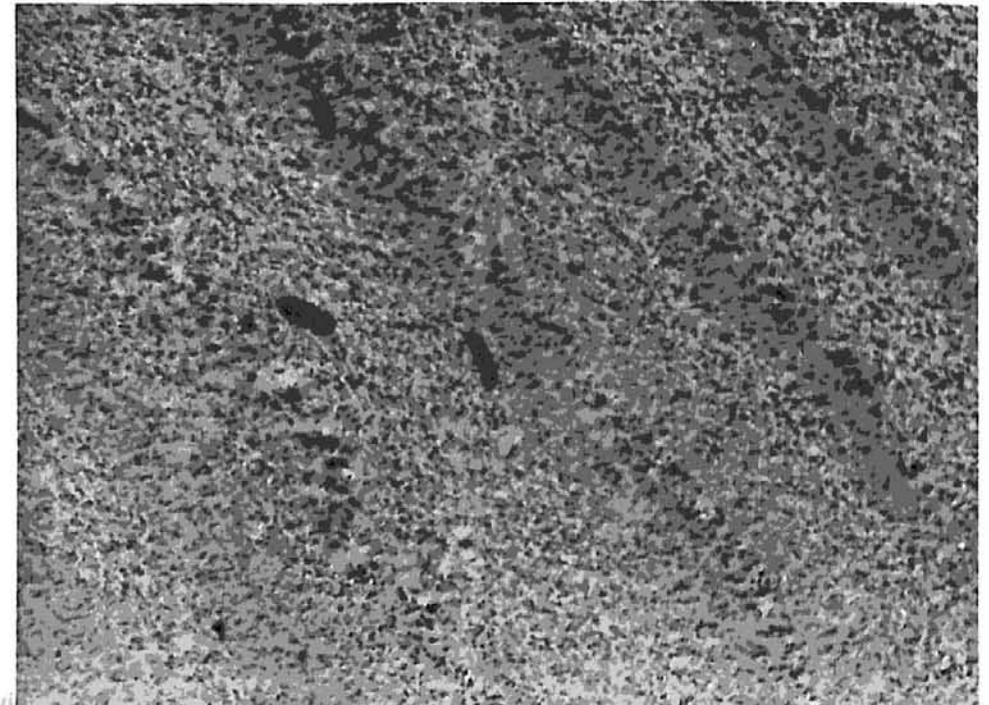


Fig. 2: Estrato laminar. Estructuras laminares (750x).

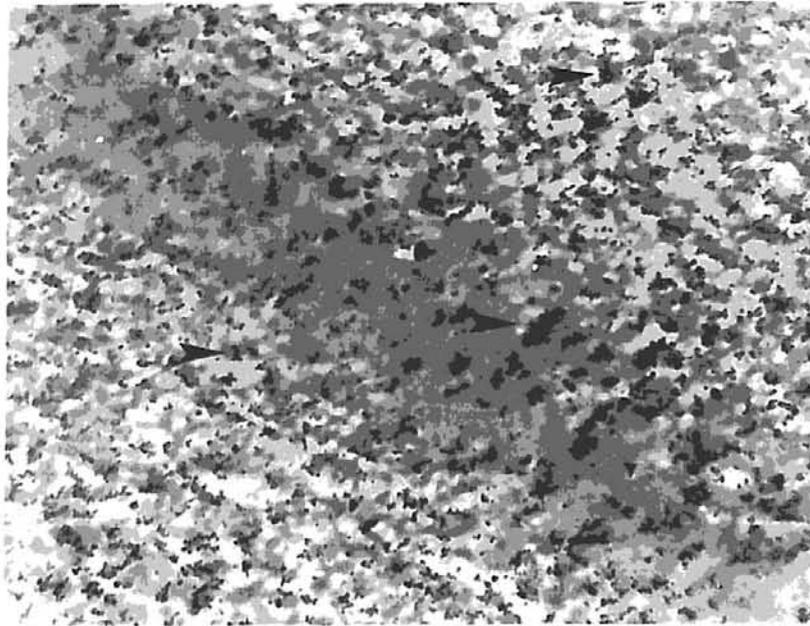


Fig. 3: Estrato laminar. Aspecto de una banda oscura y de dos claras que la delimitan. Presencia de partículas finas de alta densidad electrónica (flecha) (3.950x).

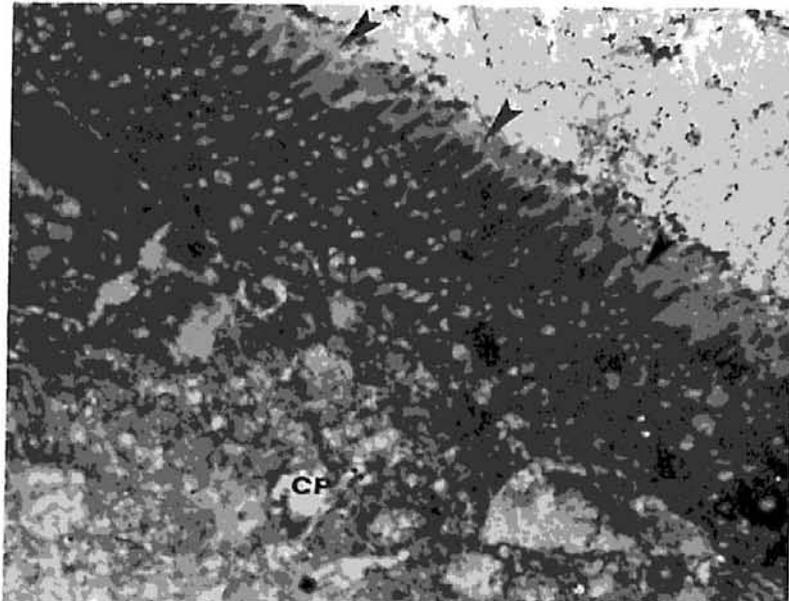


Fig. 4: Quiste fértil. Microtrichias del sincitio basal (flecha) citoplasma vacuolado, (CV), proliferativa gruesa (CP) (3.000x).

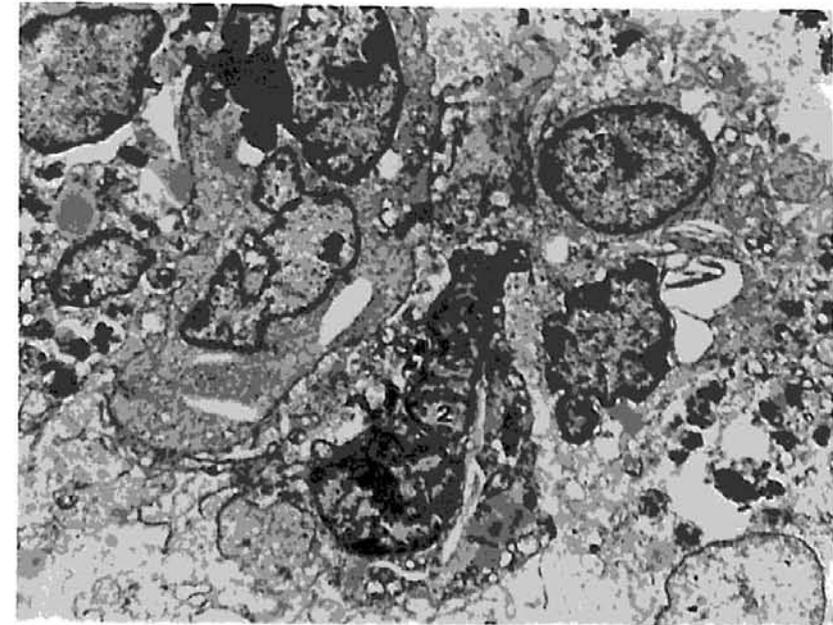


Fig. 5: Capa proliferativa de la membrana germinativa (1.050x).  
Célula de núcleo esférico y contorno regular (1)  
Célula de núcleo alargado y contorno irregular (2).

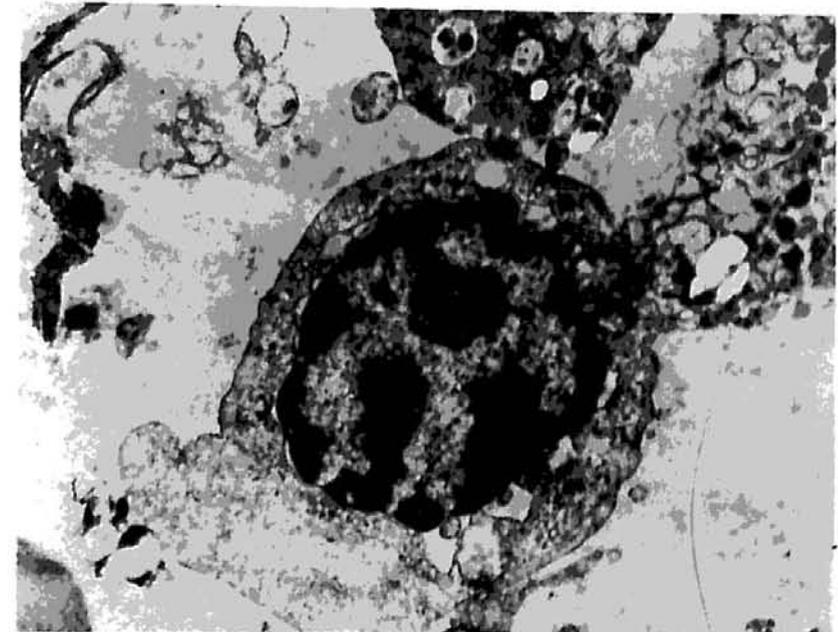


Fig. 6: Tercer tipo celular en la capa proliferativa (1.430x).

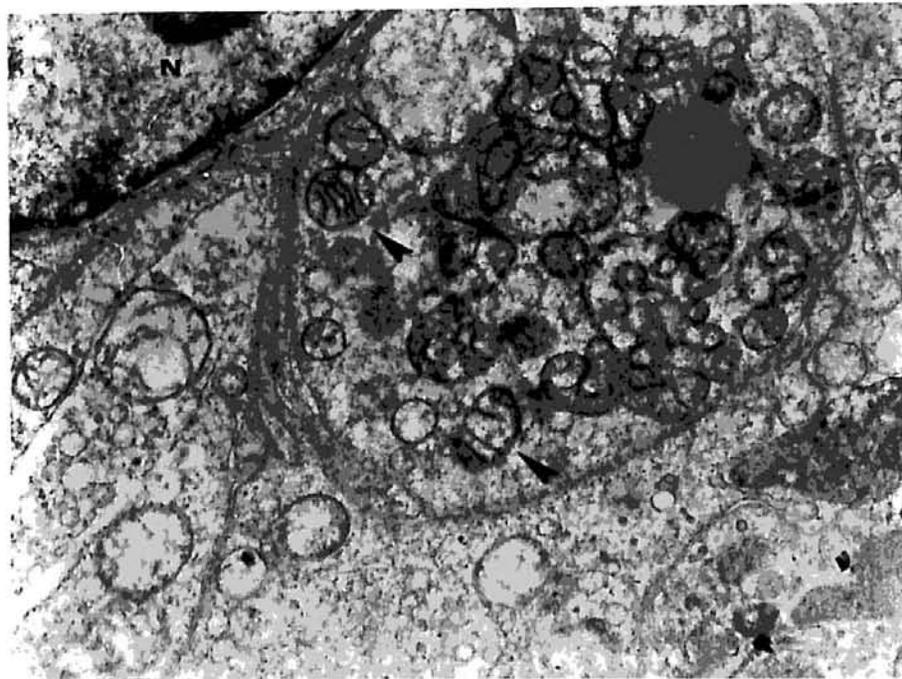


Fig. 7: Primer tipo celular descrito con abundante cantidad de mitocondrias (flechas), N = núcleo (5.000x).

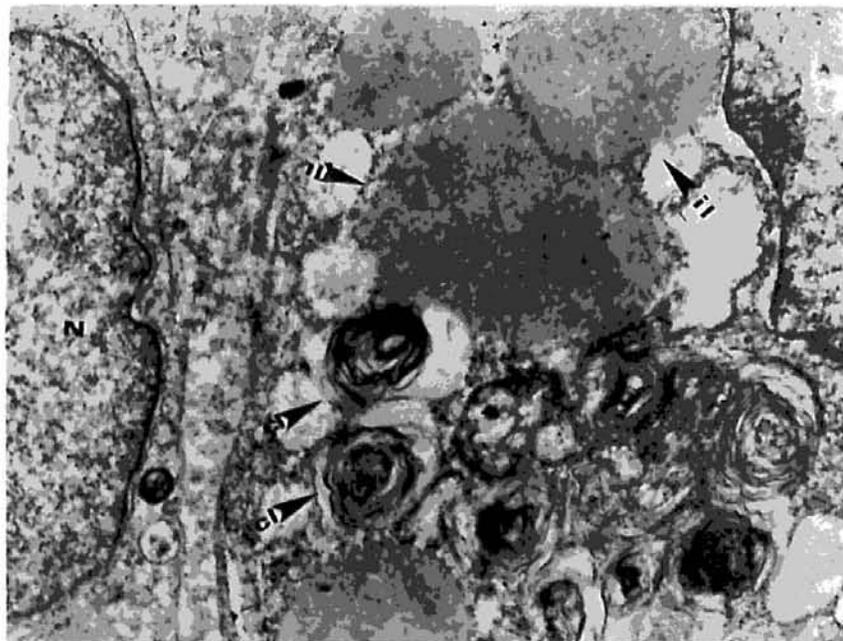


Fig. 8: Primer tipo celular descrito con inclusiones lipídicas (il) y cuerpos lamelares concéntricos (cl) (flechas) (5.000x), N = núcleo.

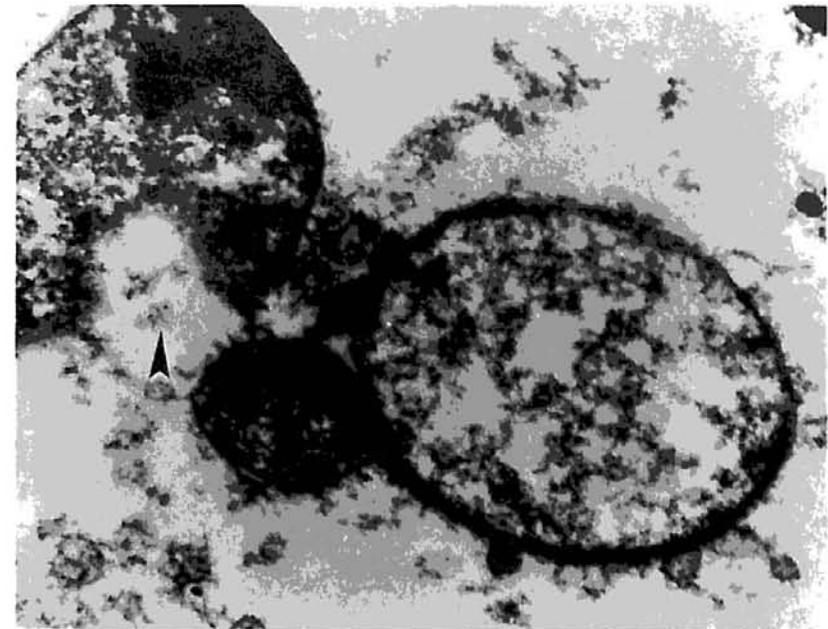


Fig. 9: Vesículas de secreción en la cavidad quística (3.000x).  
Vesícula rota y entregando su contenido al medio (flecha).

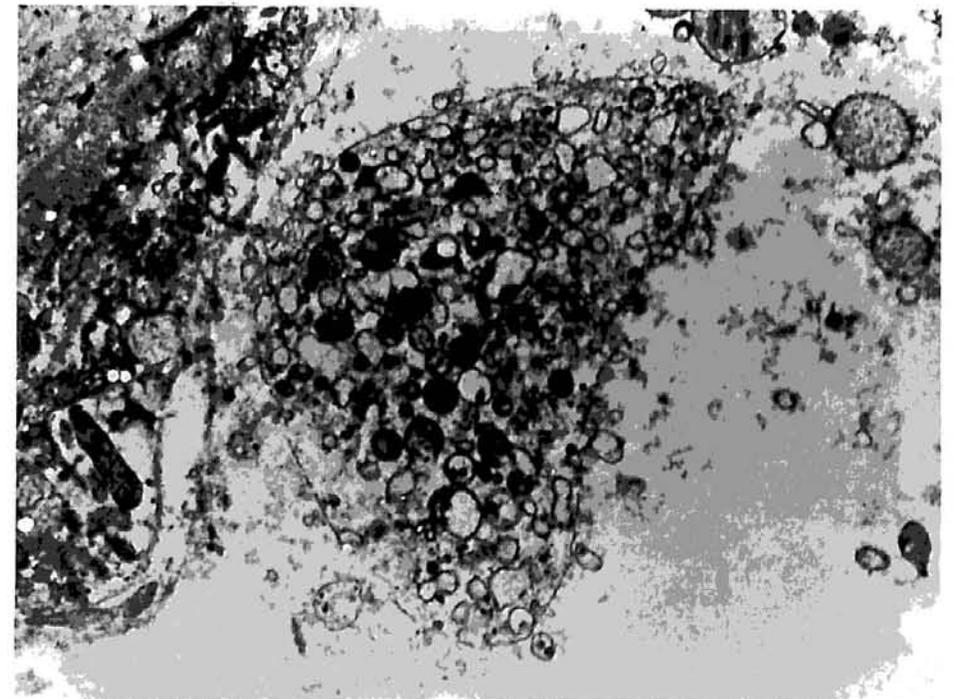


Fig. 10: Trozos celulares altamente vacuolizados (3.000x).

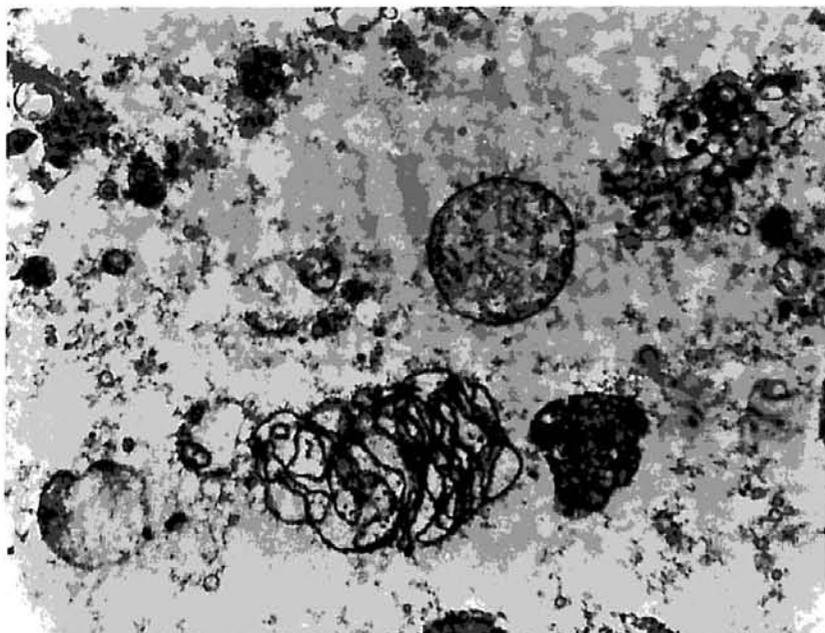


Fig. 11: Cuerpos lamelares en la cavidad quística (3.000x).



Fig. 12: Gotas lipídicas en la cavidad quística (3.950x).

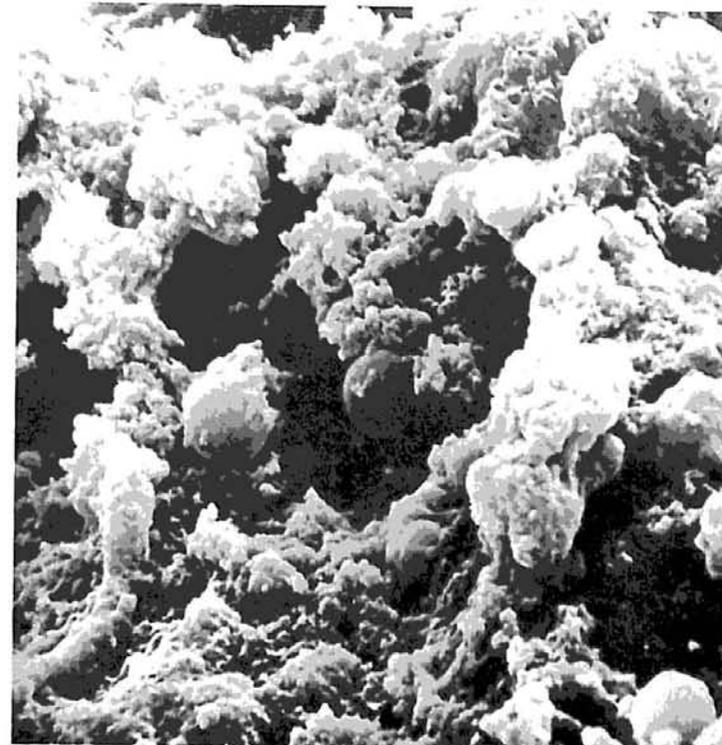


Fig. 13: Superficie libre de la membrana germinativa en quiste estéril. Se observa escasa cantidad de cuerpos esféricos libres y otros parcialmente cubiertos por una estructura de aspecto membranosa (880x).

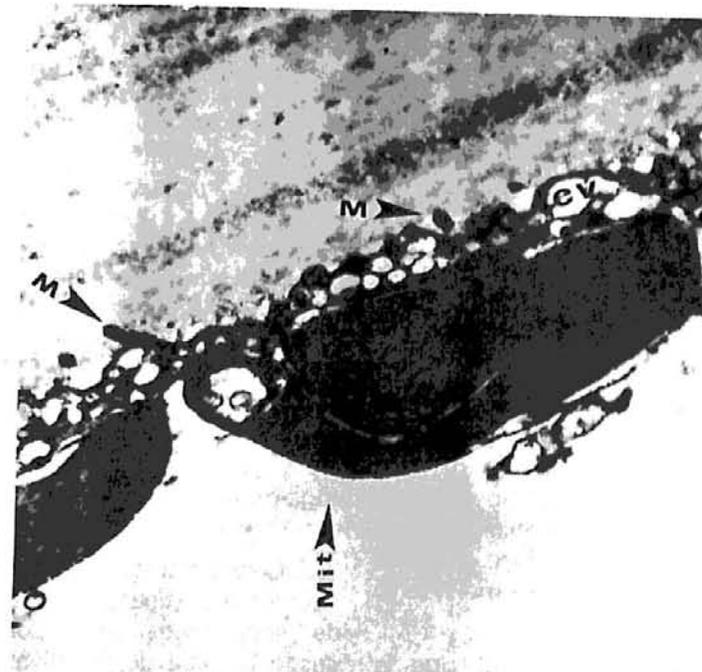


Fig. 14: Quiste estéril. Microtrichias escasas y cortas M = flecha. Citoplasma vacuolado (CV). Mitochondrias (Mit) (Flecha)(3.950x).

cantidad (Fig. 13) aunque manteniendo el mismo tamaño.

**Microscopía de transmisión.** La capa o estrato laminar en estos casos es semejante a la de los quistes fértiles.

—**Membrana germinativa.** En la capa basal las microtrichias en este tipo de quiste son escasas y de mucho menor longitud que en el quiste fértil (Fig. 14). El citoplasma de esta capa es vacuolada pero de menor grosor que en el quiste fértil.

En la capa proliferativa de los quistes estériles nos ha llamado la atención la proliferación de grandes cuerpos densos, que según algunos autores Bortoletti y Ferretti<sup>2</sup>, son mitocondrias aún cuando no tienen características típicas de tales (Fig. 14).

Esta capa es de menor grosor que en los quistes fértiles y posee una menor diversidad de células.

### Discusión

Los cuerpos esféricos observados con el microscopio de barrido en la superficie de la capa germinativa que también han llamado la atención de otros autores como Weisberg y col.<sup>17</sup> son de tan diversas magnitudes y cada uno de ellos de forma y superficie tan regular que su aspecto podría no corresponder al de componentes estructurales sino a posibles alteraciones ocasionadas por cambios físicos producidos durante la preparación del material.

La diferente altura y número de las microtrichias observadas entre quistes fértiles y estériles sugiere que ellas juegan un papel importante en el metabolismo, actuando como superficie de intercambio (aumentada en el caso de los fértiles) entre el medio interno del quiste y el medio externo que lo rodea.

Esta hipótesis obliga a pensar que la capa laminar debería ser un producto generado a través de las microtrichias y que ella

debería participar, de alguna forma en el citado intercambio.

Con el objeto de estudiar la superficie externa de las microtrichias mediante microscopía de barrido, tratamos de desprender, por medios mecánicos, la capa germinativa de la capa laminar, lo que no fue posible. Esto en cierto modo reafirma la idea que la capa laminar es producto de la germinativa. Por lo tanto, sería de interés determinar, en el futuro, si existe una relación entre la altura de las microtrichias y el grosor de la capa laminar, tanto en elementos fértiles como en los estériles.

Con respecto a la presencia de mitocondrias, Weinbach y Von Brand<sup>18</sup> han demostrado que en helmintos hay estructuras equivalentes a mitocondrias en mayor o menor grado de desarrollo, incluso en *Taenia taeniaeformis* se han descrito mitocondrias típicas.

Destacamos el hecho de que en este trabajo se observó abundante cantidad de mitocondrias en el primer tipo celular descrito.

Por otro lado, Coltorti y Varela Díaz<sup>3</sup>, han demostrado que las macromoléculas pueden atravesar la capa laminar, quedando retenidas por la germinativa. Esta puede ser la responsable de la regulación de la entrada de macromoléculas al interior del quiste hidatídico. Además, estos autores han detectado IgG en la capa laminar de quistes de origen ovino, observando que había diferencias en las concentraciones tanto de IgG como de albúmina entre el suero del hospedador y el líquido hidatídico del orden de 1.000 a 10.000, esto último, también sugiere que la capa germinativa es la que regula la penetración de macromoléculas. El mecanismo por el cual penetran no está descrito. Investigadores como, Coltorti y Varela Díaz<sup>3</sup> sugieren que sería por un daño previo de la germinativa.

Consideramos de interés señalar que en nuestra investigación se observó liberación de secreciones producidas por vesículas desde la capa germinativa hacia la cavidad, por lo que indudablemente se trataría de un proceso activo de transporte.

### Agradecimientos

Agradecemos la valiosa cooperación del Dr. Eugenio Merello T., Médico-Veterinario de la planta faenadora de carnes de la Empresa Lechera Ñuble de Coronel, VIII Región, como asimismo de los señores René Sanzana, Edmundo Hidalgo y todo el personal de la empresa, sin cuya ayuda este trabajo no habría podido realizarse.

Agradecemos la cooperación del Departamento de Microscopía Electrónica de la Universidad de Concepción y en especial a los señores Raúl Alarcón, Julio Pugin y Hugo Pacheco.

### Referencias

1. Bortoletti, G.; Ferretti, G.—Investigation on larval forms of *Echinococcus granulosus* with Electron Microscope. *Riv. Parassitol.*, 34, 1973, 89-110.
2. Bortoletti, G.; Ferretti, G.—Ultrastructural aspects of fertile and sterile cysts of *Echinococcus granulosus* developed in hosts of different species. *Int. J. Parasitol.*, 8, 1978, 421-431.
3. Coltorti, E.; Varela Díaz, V.M.—*Echinococcus granulosus*: penetration of macromolecules and their localization on the parasite membranes of cysts. *Exp. Parasitol.*, 35, 1974, 225-231.
4. Karnovsky, M.J.—A Formaldehyde-glutaraldehyde fixation of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, 27, 1965, 137A-138A.
5. Lascano, E.F.; Coltorti, E.A.; Varela Díaz, V.M. Fine structure of the germinal membrane of *Echinococcus granulosus* cysts. *J. Parasitol.*, 61, 1975, 853-860.
6. López Campos, J.L.; Linares, J.; Alonso, J. Aneiros, J.; Díazflores, L.—Study of lamellar layer, Germinative Membranes and Tegumento of *Echinococcus granulosus* protoscolex in its Human Localization. *Morfología-Normal y Patología Sección B Anatomía Patológica*. 1978.

7. Medina, E.—La hidatidosis, un problema de salud pública. *Bol. Chil. Parasitol.*, 30, 1975, 83-86.
8. Millonig, G.—Advantages of phosphate buffer for  $O_5O_4$  solution in fixation. *J. Appl. Phys.*, 32, 1961, 1637.
9. Morseth, D.—Fine structure of the tegument of adult *Echinococcus granulosus*, *Taenia hydatigena*, and *Taenia pisiformis*. *J. Parasitol.*, 52, 1966, 1074-1085.
10. Morseth, D.—Fine structure of the hydrated cyst and protoscolex of *Echinococcus granulosus*. *J. Parasitol.*, 53, 1967, 312-325.
11. Ramírez, R.—Algunos aspectos bioestadísticos de la hidatidosis humana en Chile. *Bol. Chil. Parasitol.*, 26, 1971, 84-88.
12. Ramírez, R.—Aspectos estadísticos de la hidatidosis humana en Chile (1970-1974). *Bol. Chil. Parasitol.*, 31, 1976, 8-11.
13. Richards, J.S.; Rogan, M.T.—Surface ultrastructure of a strobilate form of the horse strain of *Echinococcus granulosus* cultured in a monophasic medium. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 80, 1986, 267-268.
14. Sabatini, D.D.; Bensch, K.; Barnett, R.J.—Cytochemistry and electron-microscopy: The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. *J. Cell. Biol.*, 17, 1963, 19-58.
15. Smith, M.E.; Finke, E.H.—Critical point Drying of soft biological material for the scanning electron microscopy. *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* 11, 1972, 127-132.
16. Spurr, A.R.—A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.*, 26, 1969, 31.
17. Weisberg, L.S.; Carlisle, S.; Bentley, A.G.—*Schistosoma mansoni*: Evaluation of selected preparative procedures for transmission and scanning electron microscopy. *J. Parasitol.*, 69, 1983, 335-345.
18. Weinbach, E.C.; Von Brand T.—*Biochem*, 1, 39, 1970.

(Recibido el 8 de septiembre de 1986; aceptado el 14 de mayo de 1987).