

Estudio histoquímico e histoenzimático del quiste hidatídico

PINILLA, N.*; CABRERA, G.*; FLORES, G.**; ANDREWS, E.*; DALL'ORSO, L.M.**; WRBKA, R.**; 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

Histological, histochemical, and histoenzymatical studies on pulmonary and hepatic hidatic cysts from swine, sheep, bovine, and humans were carried out staining with hematoxylin-eosin, Masson, Van Gieson, Orcein, P.A.S. Schiff, Alcian Blue, Keratin and Sudan III. At the same time, methods to investigate enzymatic activity of acid and alkaline phosphatases, lactic succinic dehydrogenases and ATPase were used.

Results showed quantitative differences between enzymatic activities and between histochemical aspects of the various structures of the hydatide. However, samples from different hosts generally exhibited similar results.

Key Words: Hydatid cysts. Histologic. Histochemical. Histoenzymatic.

Resumen

Se estudiaron aspectos histológicos, histoquímicos e histoenzimáticos de quistes hidatídicos pulmonares y hepáticos provenientes de cerdos, ovinos, bovinos y humanos.

Se efectuaron las coloraciones de hematoxilina-Eosina, Masson, Van Gieson, Orceina, P.A.S. Schiff, Azul de Alcian, Queratina y Sudan III. Al mismo tiempo se aplicaron las técnicas para detectar fosfatasa ácida y alcalina, Láctico deshidrogenasa, Succino deshidrogenasa y ATP'asa.

Los resultados demostraron diferencias cuantitativas en la actividad enzimática y aspectos histoquímicos de las diferentes estructuras de las hidátides. En general, sin embargo, las muestras provenientes de los distintos hospedadores presentaron resultados similares.

Palabras Clave: Quiste Hidatídico. Histológico, Histoquímico. Histoenzimático.

Introducción

La hidatidosis es una de las zoonosis de mayor importancia en nuestro país, por su gravedad y frecuencia. Presenta una tasa de cerca de 7 a 8 por cada 100.000 habitantes a nivel nacional. En la VIII Región (Ñuble, Concepción, Bío-Bío y Arauco), las estadísticas señalan una tasa de prevalencia aproximada de 4 a 5 por 100.000 habitantes^{9, 11, 12}.

La mayoría de las investigaciones se refieren, principalmente, al diagnóstico de la enfermedad^{5, 6, 7, 16}, como al estudio de la es-

tructura y ultraestructura del quiste como del gusano adulto^{4, 10}.

Pocos autores han descrito la distribución enzimática e histoquímica del quiste. Existen algunos trabajos de gran interés acerca del metabolismo larvario del parásito, que proporcionan información sobre los posibles efectos farmacológicos de las drogas que interferirían en dicho metabolismo^{13, 17}.

Esta investigación pretende aportar información relacionada con el aspecto histoquímico y la composición histoenzimológica del quiste hidatídico obtenido de diferentes hospedadores.

Material y Métodos

Se estudiaron 20 quistes hidatídicos de cada especie, procedentes de cerdos, vacunos y ovinos, de la Planta Faenadora de Carnes de la EMPRESA LECHERA ÑUBLE en Coronel, VIII Región (Chile). Además, 5 muestras procedentes de humanos, de intervenciones realizadas en el HOSPITAL CLÍNICO REGIONAL "Guillermo Grant B." de Concepción, VIII Región (Chile).

De cada quiste y muestra se obtuvieron 3 trozos en forma aséptica. Uno de ellos se fijó en Formalina al 10% otro en solución de Bouin y otro se sometió a la acción de Nitrógeno líquido. Los dos primeros se utilizaron en el estudio histológico e histoquímico; incluidos en parafina se confeccionaron cortes de 6 micrones de grosor. Se efectuaron las coloraciones de Hematoxilina-Eosina (H.E.)¹⁴, Masson³, Van Gieson³, Orceína¹⁵, P.A.S. Schiff¹⁶, Azul de Alcian¹⁶, Queratina¹⁴ y Sudan III¹⁵.

El último trozo se mantuvo en un arca de congelación a -60°C y se confeccionaron cortes de 8 micras de grosor en un criótomo Harris International a -20°C . En ellos se realizaron las técnicas para detectar fosfatasa ácida y alcalina¹⁸, Láctato deshidrogenasa (L.D.H.)¹⁸, Succinato deshidrogenasa (S.D.H.)¹⁸ y ATP'asa¹⁸.

Resultados

1.A. ASPECTO HISTOLÓGICO

Con la H.E. (Fig. 1) se observaron quistes hidatídicos provenientes de parénquima hepático y pulmonar, tanto fértiles como infértiles.

Este parénquima orgánico se encontraba normal, con una ligera fibrosis en la zona limítrofe con el parásito, como lo demostraron las tinciones de Van Gieson (Fig. 2) y de Masson (Fig. 3). También fue posible determinar la presencia de adventicia, y capas cuticulares y germinativas, además de los protoescólices. Debido a que las muestras provenientes de humanos fueron obtenidas a través de intervención quirúrgica no fue

posible obtener adventicia. Mediante la Orceína se demostró ausencia notable de fibras elásticas en todas las estructuras.

1.B. ASPECTO HISTOQUÍMICO E HISTOENZIMÁTICO

En todas las muestras examinadas tanto las fosfatasa alcalinas (Fig. 4) como las ácidas (Fig. 5) se presentaron fuertemente positivas a nivel de las capas germinativas, cuticular y también en protoescólex. La LDH (Fig. 6) y SDH (Fig. 7) en cambio, fueron positivas solamente en germinativa y protoescólices, no detectándose actividad a nivel cuticular. La actividad ATPásica se demostró asimismo a nivel de germinativa y protoescólices.

En relación al aspecto histoquímico destaca la capa cuticular por la presencia de hidratos de carbono (PAS-Schiff) (Fig. 8). La cantidad de mucopolisacáridos fue apreciable también a nivel de cuticular y protoescólices. Los lípidos se manifestaron por medio de Sudán a nivel de germinativa y adventicias (Fig. 9). No hubo reacciones positivas en las técnicas para demostrar queratina. Se observa, además en capa cuticular la presencia de colágeno.

Discusión

Se puede apreciar que en el aspecto histológico no hubo variación en las diferentes hidátides provenientes de cerdos, bovinos, ovinos y humanos. Asimismo, no se registró gran daño al parénquima hepático y pulmonar del hospedador. Hay que señalar que todos los quistes estudiados eran viables, es decir, no rotos ni infectados.

La presencia de colágeno a nivel de cuticular se explica por cuanto se ha establecido que en *E. granulosus* aparece ornitina en diferentes estructuras, la cual puede transformarse a prolina e hidroxiprolina, precursores del colágeno².

La existencia de mucopolisacáridos se observó en nuestro trabajo a nivel de cuticular y protoescólices. Kiligian y col.⁸ han encontrado en el estado larvario de *E. granu-*

losus, mucopolisacáridos formados por galactosa, glucosamina y galactosamina. La cuticular contiene un polisacárido rico en galactosamina, mientras que los protoescólex y el líquido hidatídico contienen polisacáridos pobres en esta última. La presencia de mucopolisacáridos es de importancia porque estos pueden tener capacidad antigénica.

La LDH y SDH se manifestaron positivas a nivel de germinativa y protoescólex, al respecto Agosin y col.¹, 1963, han demostrado que en el estado larvario de *E. granulosus* existe un ciclo de Krebs completo. La distribución de estas enzimas a ese nivel demuestra actividad metabólica, lo que no ocurriría a nivel de cuticular. Lo mismo demuestra la actividad atepéasica al mismo nivel de estructuras.

En general podemos decir que se detectó actividad metabólica a nivel de germinativa y protoescólex. La membrana cuticular por presentar mucopolisacáridos en su estructura sería importante desde el punto de vista de la antigenicidad.

Por otro lado, se observó actividad fosfatásica a nivel de germinativa, protoescólex y también de cuticular, esta actividad fosfatásica ha sido asociada con la actividad celular acelerada y con la transferencia de sustancias fosforiladas.

Dejamos constancia de que en las muestras correspondientes a los distintos hospedadores los resultados fueron similares, tanto desde el punto de vista histoquímico, como histoenzimático, lo que demostraría que el parásito se desarrolla en igual forma en cualquiera de ellos.

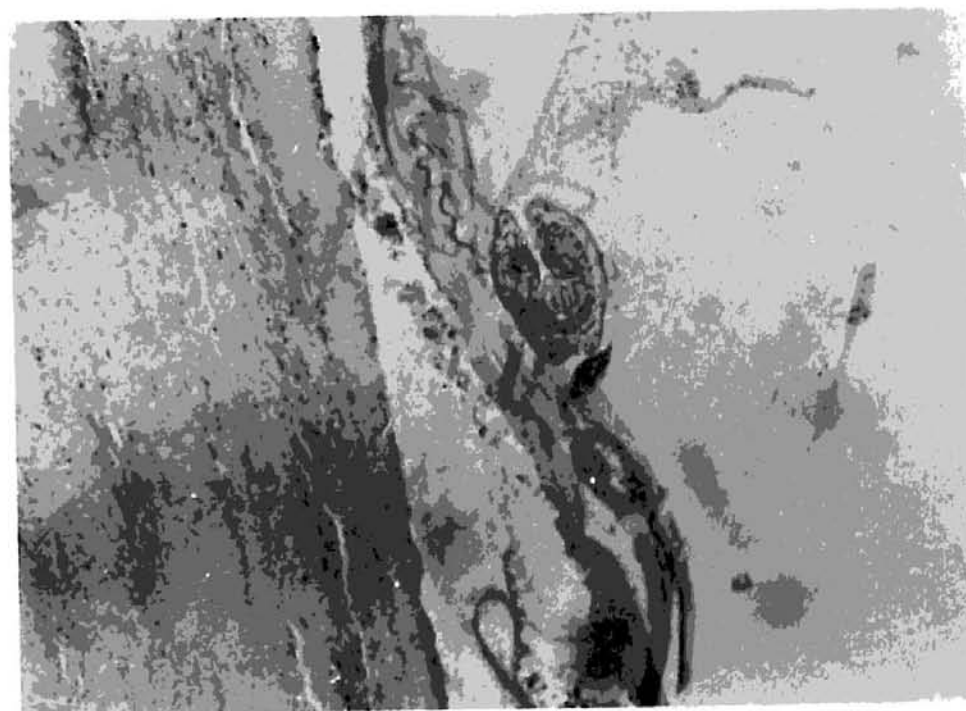


Fig. 1. Quiste hidatídico. Hematoxilina-eosina.



Fig. 2. Quiste hidatídico. Van Gieson.



Fig. 3. Escólices y membranas adventicias y cuticular. H.F. Masson.

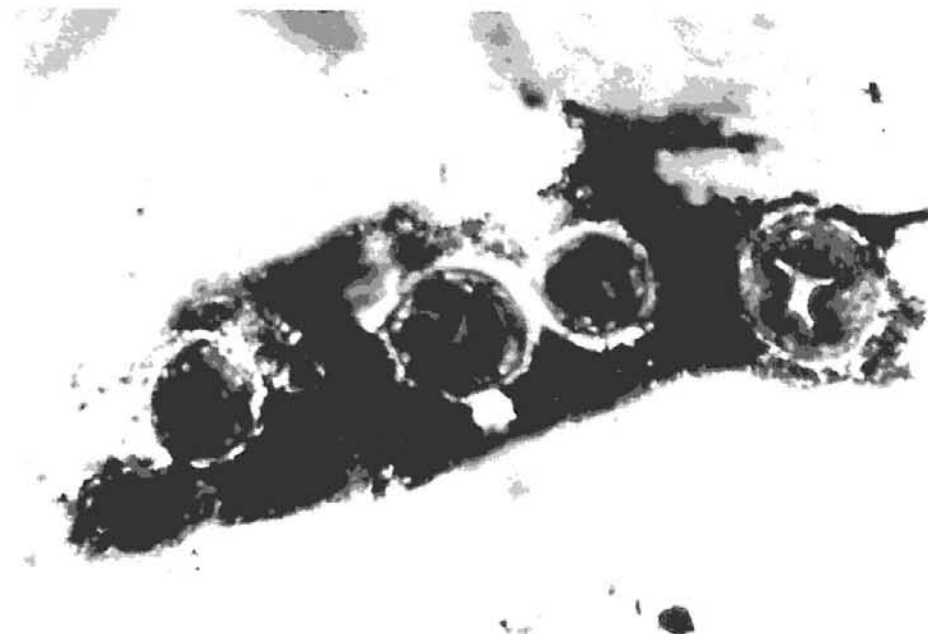


Fig. 4. Quiste hidatídico: Membrana germinativa y escólices. Fosfatasas alcalina.

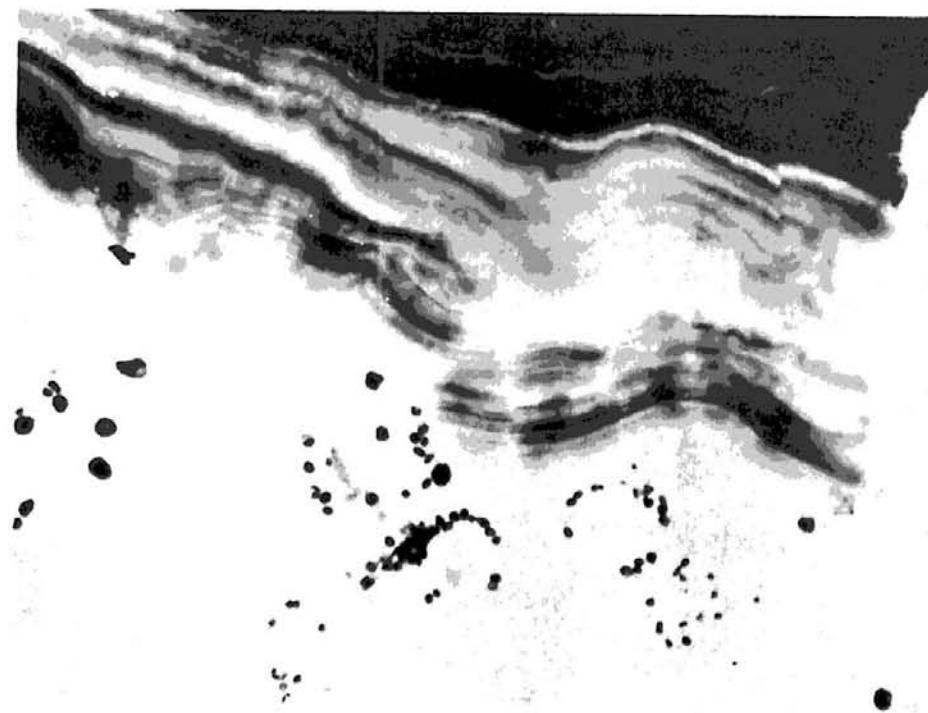


Fig. 5. Quiste hidatídico: Membrana cuticular, germinativa y escólices. Fosfatasas ácidas.

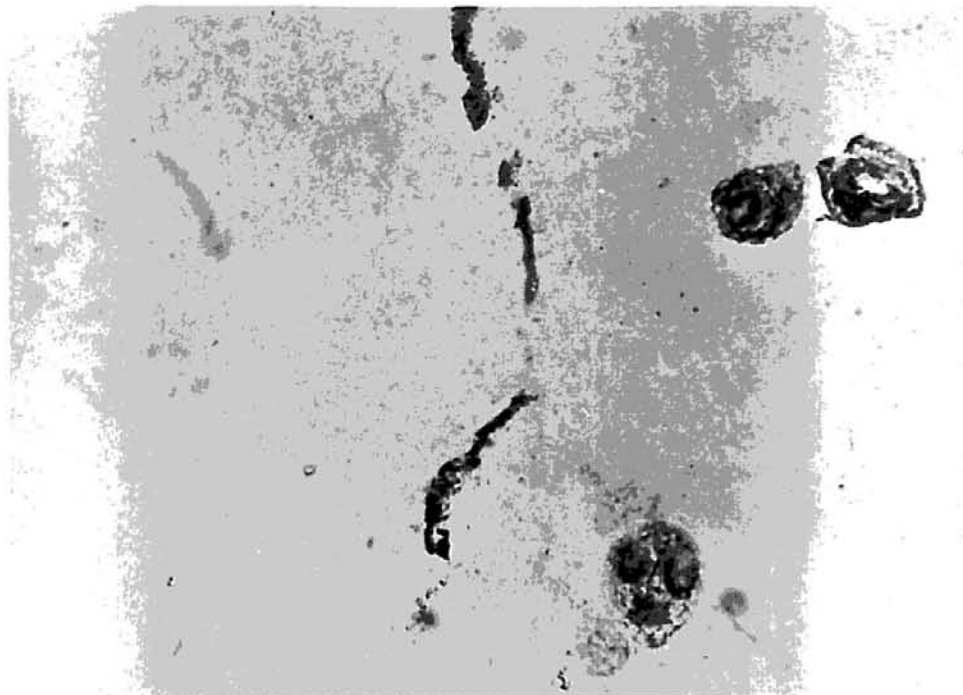


Fig. 6. Quiste hidatídico. Membrana germinativa y escólices. Láctico deshidrogenasa.

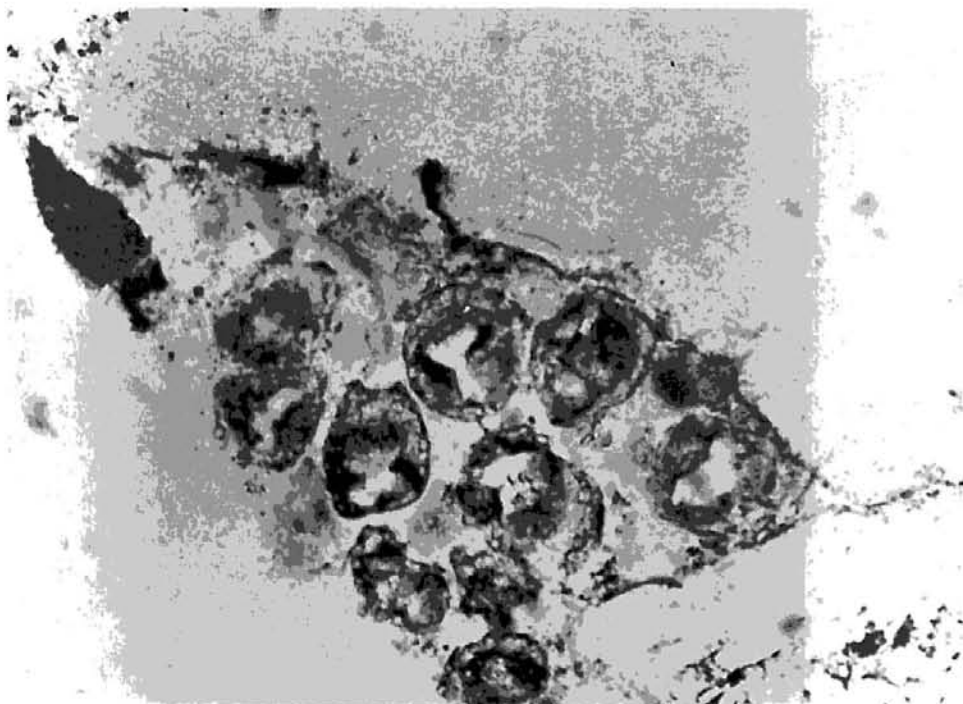


Fig. 7. Membrana germinativa y escólices. Succino deshidrogenasa.

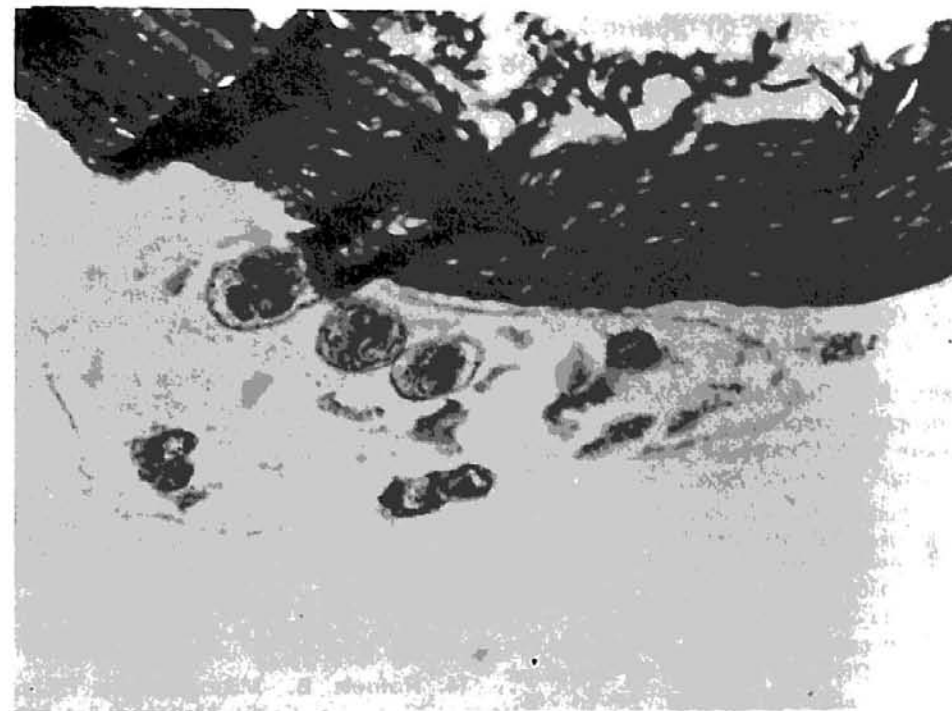


Fig. 8. Membrana cuticular y escólices. P.A.S. Mac Mannus (Schiff).

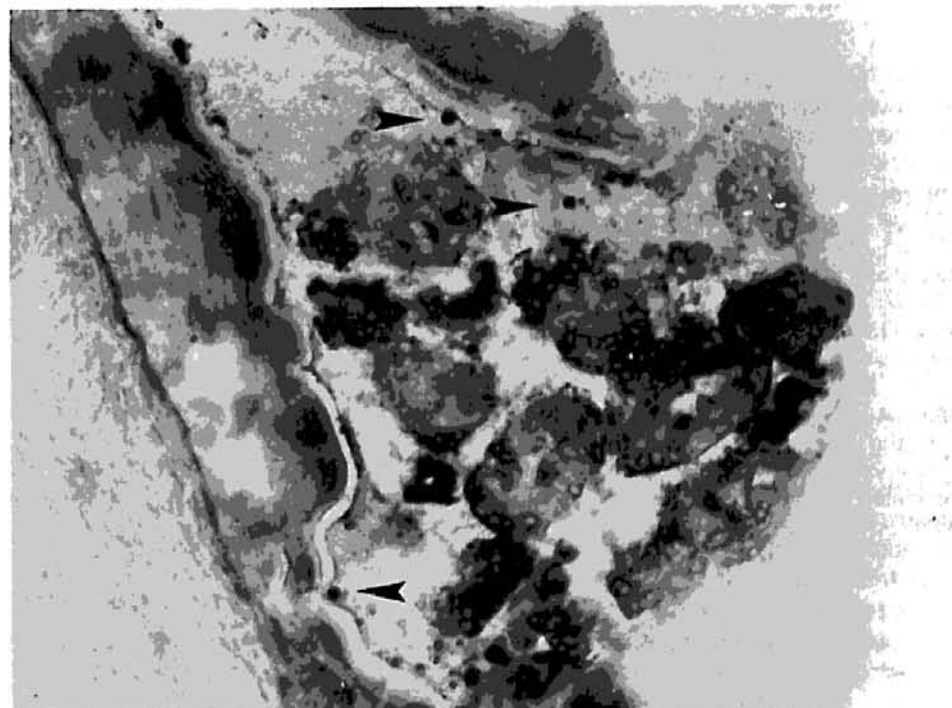


Fig. 9. Lípidos (flechas) en la zona germinativa. Sudan III.

Agradecimientos

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

Referencias

1. Agosin, M.; Repetto, J.—Metabolism of *Echinococcus granulosus* VIII. Pathway to Succinate in *Echinococcus granulosus* scolices. *Comp. Biochem. Phys.*, 14, 1975, 199-309.
2. Atías, A.; Neghme, A.—*Parasitología Clínica. Bioquímica de Parásitos* (Moisés Agosin), 2º ed. Publicaciones Técnicas, Mediterráneo, Santiago de Chile, 1984.
3. Armed Forces Institute of Pathology the Blakiston Division.—*Manual of histologic and special staining technics*. 2ª ed. Mc. Graw-Hill Book Company, Inc., 1949, Van Giessen p. 62, Masson p. 63, Bouin p. 3.
4. Bortoletti, G.; Ferretti, G.—Investigation on larval forms of *Echinococcus granulosus* with electron microscope. *Riv. Parassit.* 34(2), 1973, 89-110.
5. Contreras, M.; Knierim, F.—Estudio comparativo entre reacciones de inmuno precipitación y hemaglutinación en hidatidosis. *Bol. Chil. Parasit.*, 29, 1974, 12-17.
6. Guisantes, J.A.; Varela Díaz V.M.—Las pruebas de aglutinación del Latex y doble difusión en gel en el inmunodiagnóstico de la hidatidosis humana. *Bol. Chil. Parasit.*, 30, 1975, 54-57.
7. Kagan, I.G.—A review of serological test for the diagnosis of hydatid disease. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 39, 1968, 25-37.
8. Kilegian, A.; Schwabe, C.W.—Polysaccharides of the *Echinococcus granulosus* cyst, with observation on a possible mechanism for laminated membrane formation. *Comp. Biochem. Phys.*, 40B, 1971, 25-36.
9. Medina, E.—La hidatidosis, un problema de Salud Pública. *Bol. Chil. Parasit.*, 30, 1975, 83-86.
10. Morseth, D.J.—The fine structure of the tegument of adult *Echinococcus granulosus*, *Taenia hydatigena* and *Taenia pisiformis*. *J. Parasitol.*, 52, 1966, 1.074-1.085.
11. Ramírez, M.; Macaya, J.; Rojas, A.; Scozia, A.; Schenone, H.; Rodríguez, F.; Díaz, L.; Hess, J.C.—Encuesta epidemiológica sobre hidatidosis humana en un área de alta endemia hidatídica. *Bol. Chil. Parasit.*, 26, 1971, 63-64.
12. Ramírez, R.—Algunos aspectos bioestadísticos de la hidatidosis humana en Chile durante los años 1969 y 1970. *Bol. Chil. Parasit.*, 26, 1971, 84-88.
13. Reissenweber, N.J.; Vercelli-Retta, J.; Siri, A.M.; Lozano, W.—Histochemistry and Histochemistry of the Hidatid cyst (*Echinococcus granulosus*, Batsch 1786). II Scolices and Brood Capsules. Hospital de Clínicas, Fac. de Medicina, Montevideo, *Z. Parasitenk.*, 48, 1975, 25-33.
14. Romeis, B.—*Mikroskopische Technik*. 1948. *Queratina*: Según Mallory N.º 1.486, p. 344. *Orceína*: Según (Taenzer) Unna N.º 1.556, p. 362. *Hematoxilina-Eosina*: N.º 651, p. 155.
15. Spannhof, L. 1966: *Histología Práctica*.
16. Varela-Díaz, V.M.; Coltorti, E.A.—*Hidatidosis humana. Técnica para el diagnóstico inmunológico*. Centro Panamericano de Zoonosis. Ofic. Sanit. Panamer. OPS/OMS, 1974, Monografía N.º 7.
17. Vercelli-Retta, J.; Reissenweber, N.J.; Lozano, W.; Siri, A.M.—Histochemistry and Histochemistry of the hidatid Cyst (*Echinococcus granulosus* Batsch, 1786). I the germinal Membrane. Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Montevideo. *Z. Parasitenk.*, 48, 1975, 15-23.
18. Wegmann, R.—*Métodos de detección en Histoquímica*. Institut D'Histochimie Médicale. Facultad de Medicine. París.

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