

OBSERVACIONES SOBRE LA ULTRA
ESTRUCTURA DE LA LARVA
ECHINOCOCCUS OLIGARTHURUS
(DIESING, 1862)

DR. OCTAVIO E. SOUSA, APMC*
LIC. FRANCISCA G. DE SOUSA**
DR. ETHEL BLANCHETTE***

-
- * Jefe del Departamento de Parasitología del Laboratorio Conmemorativo Gorgas y Profesor titular de Parasitología en la Facultad de Medicina de la Universidad de Panamá.
- ** Profesora de Embriología e Histología en la Facultad de Ciencias Naturales y Farmacia de la Universidad de Panamá.
- *** Profesora en la Escuela de Medicina de la Universidad de George Washington, Washington, D.C.

OBSERVACIONES SOBRE LA ULTRA ESTRUCTURA DE LA LARVA *ECHINOCOCCUS OLIGARTHUS* (DIESING, 1862)

Dr. Octavio E. Sousa, APMC
Lic. Francisca G. de Sousa
Dr. Ethel Blanchette

Se demuestran algunas características de la ultra estructura del protoescólex de *E. oligarthrus* y se establecen relaciones con *E. granulosus*. El tegumento del protoescólex de *E. oligarthrus* presenta un arreglo sinicial con extensiones de cubierta, o microtricos, sobre la mayor parte de su superficie. Una zona granular o glucocálix recubre el tegumento no invaginado en la superficie externa de la larva. El citoplasma tegumentario de *E. oligarthrus* demuestra abundantes mitocondrias, vacuolas y elementos fibrilares o reticulares. En la superficie interna del tegumento se observan aperturas, o poros, hacia la zona fibrosa y los espacios intercelulares sub-tegumentarios; tales estructuras no han sido demostradas en *E. granulosus*. Se demuestra el arreglo estructural de las ventosas, las células flamígeras y de los ductos colectores de *E. oligarthrus*.

El estudio de la ultra estructura de las fases larvarias de los

Cestodes ha sido de interés no sólo por sus revelaciones morfológicas, sino que ha tenido significado en la interpretación de la ontogénesis de la larva y sus interrelaciones para con el tejido germinal del cual se origina. Las características de la estructura celular y su función participan en la formación de la cubierta de la larva y de algunos componentes antigénicos que pueden ser de importancia en el proceso de infección y en el establecimiento del parásito en su nuevo hospedero.

Las características de la ultra estructura de la larva de *Echinococcus granulosus* fueron descritas recientemente por Morseth (1) y por Bartoletti y Ferretti (2). La morfología fina de la cubierta del protoescólex de *Echinococcus granulosus* es comparable con la ultra estructura del adulto (3).

Los trabajos recientes de Yarzabal y colaboradores (4 5) y

de Rickard y colaboradores (6) han localizado dos de los antígenos del fluido hidatídico (Antígeno 5 y antígeno B) en diferentes regiones de la larva (protoescoléx) de *E. granulosus* y de *E. multilocularis*.

Davies y colaboradores (7) utilizaron un método inmunocitoquímico para la localización de los antígenos 5 y B en la ultra estructura de la larva de *E. granulosus* y de *E. multilocularis*.

El presente trabajo tiene como objetivo exponer algunos aspectos de la ultra estructura de la larva de *E. oligarthrus* y sus relaciones con *E. granulosus*. *Echinococcus oligarthrus* y *E. vogeli* son especies que ocurren en ciclos silvestres en la América Tropical y presentan posible riesgo de infección al hombre. La infección humana por *E. vogeli* ha sido confirmada (8) y el potencial de infección al hombre por *E. oligarthrus* no ha sido descartado (9). El reciente interés en la caracterización de los antígenos 5 y B, en diferentes especies de *Echinococcus* y su localización en el protoescoléx, nos inducen a estudiar las características ultra estructurales de la larva de *E. oligarthrus*.

Materiales y Métodos

El material de estudio se obtuvo de varios quistes de *E. oligarthrus* experimentalmente inducidos en el agouti, *Dasy-*

procta punctata, después de ingerir los huevos del parásito adulto proveniente de un Puma, *Felis concolor*, capturado en Achioté, Panamá. Los protoescoléx, liberados de los quistes, fueron lavados en salina fisiológica a temperatura ambiente (26-27°C) antes de fijarlos en Glutaraldehído (30 min.). Después de cuatro lavados en solución tampón de fosfatos, el material se expuso a la acción de Tetraóxido Osmico por 2 horas antes de deshidratar en acetona e infiltrar y montar en Epon 812.

Los cortes fueron fotografiados bajo el microscopio electrónico en los laboratorios de la Escuela de Medicina de la Universidad de George Washington, en Washington, D.C., por la Dra. Ethel Blanchette.

El material utilizado para observaciones bajo el microscopio de luz fue fijado en Formalina (10 por ciento) o en una solución de alcohol formol - ácido acético. Los cortes del tejido fueron coloreados con hematoxilina y eosina y PAS.

Resultados

Características Morfológicas del quiste de *E. Oligarthrus*:

Observaciones Macroscópicas:

El quiste hidatídico de *E. oligarthrus* crece en su hospedero intermediario natural, *Dasyprocta punctata*, en forma de

vesículas simples o multiseptadas. Pueden ser quistes uniloculares o multicamerales (Figs. 1 y 4), generalmente pequeños (1 a 2 cms), los que se encuentran con mayor frecuencia en la musculatura somática (Fig. 5). En algunos casos hemos observado quistes de *E. oligarthrus* en la musculatura cardíaca de agoutis silvestres. Los quistes primarios o secundarios demuestran, en las infecciones de laboratorio, una tendencia al crecimiento poliquístico (Figs. 1 y 4), particularmente donde la masa larvaria crece adherida a la serosa abdominal (Fig. 4). Los quistes que resultan de la infección experimental, por inoculación de protoescólex (hidatidosis secundaria) en algunos roedores de laboratorio, pueden ser abundantes y voluminosos. Tal es el caso de la infección en la rata trepadora de Panamá (*Tylomys panamensis*). En este animal, que es muy susceptible a la infección experimental con *E. oligarthrus*, se producen quistes fértiles que ocupan gran volumen en la cavidad abdominal (Fig. 3); algunos de esos quistes llegan a crecer incrustados en los tejidos adyacentes (Fig. 4)

Observaciones al Microscopio Óptico:

Los protoescólex son muy activos y tienden a evaginar rápidamente al salir de la cavidad quística (Fig. 2). Sus dimensio-

nes oscilan entre 112 y 126 μm de largo por 64 a 84 μm de ancho. El rostelo cuenta con 32 a 42 garfios. Los corpúsculos calcáreos son numerosos y se encuentran dispersos en el parénquima del protoescólex.

La pared del quiste está constituida por una cubierta laminar externa, relativamente delgada, de 10–15 μm de espesor y por una capa germinal interna muy fina (7 a 10 μm), pero activa en la proliferación de las cápsulas prolíferas (Fig. 5). La pared de cada cápsula prolífera es capaz de producir múltiples protoescólex (Figs. 5 y 6). La pared germinal es continua con la pared de la cápsula prolífera (Fig. 6) durante su formación y posteriormente se separa (Fig. 7). En ciertas regiones, las paredes germinales se acercan y llegan a fundirse para producir tabiques y septas que subdividen la cavidad principal.

La membrana laminar demuestra mucho mayor grosor en ciertas áreas de la pared quística y se observa como una serie de pliegues y proyecciones digitiformes que se acumulan a manera de múltiples capas (Fig. 8). La característica irregular de la membrana laminar ofrece, en estos casos, la impresión de que la acompaña una fina capa de actividad secretora, posiblemente la región más externa de la membrana germinativa.

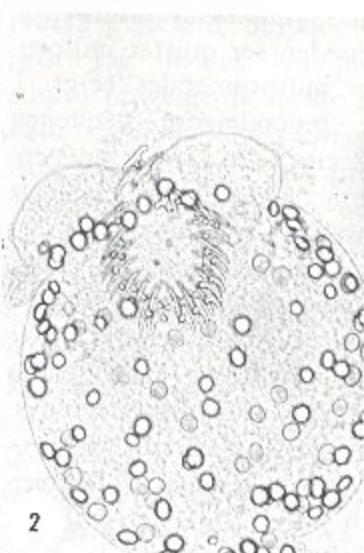
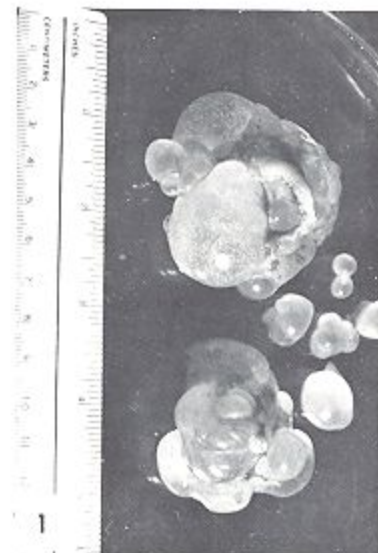


Fig. 1
Quistes de *E. oligarthrus*, Hidatidosis secundaria, en *Meriones* sp.

Fig. 2
Protoescólex de *E. oligarthrus* de una infección experimental en la rata algodónera (*Sigmodon hispidus*). Se observan los garfios del rostelo y los cuerpos calcáreos (X 300).

Fig. 3
Hidatidosis secundaria (*E. oligarthrus*) en la cavidad abdominal de la rata trepadora (*Tylomys panamensis*) (X 1/3).

Fig. 4
El mismo animal, con varias masas poliquísticas en la pared peritoneal (X 1/2).

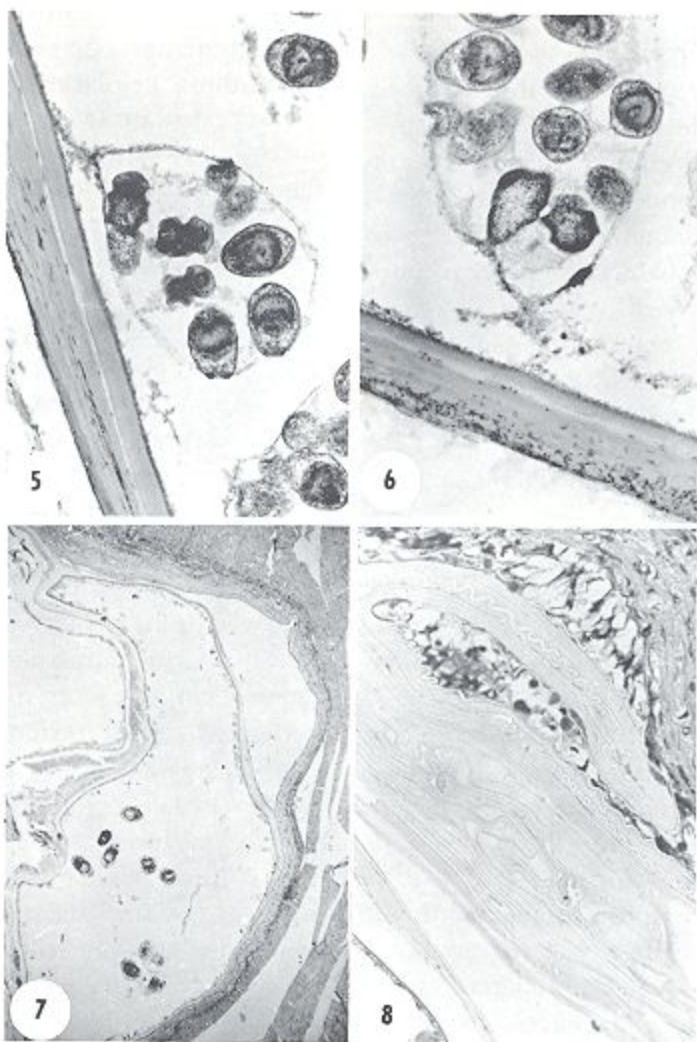


Fig. 5 y Fig. 6

Cápsulas prolíferas del quiste de *E. oligarthrus* con varios protozoocitos en su interior. La pared del quiste está compuesta por una membrana germinativa y la cubierta laminar fina (X 150).

Fig. 7

Quiste de *E. oligarthrus* en infección natural del aguti (*Dasyprocta punctata*). Se observa la organización poliquistica (X 50).

Fig. 8

Extensión irregular de la cubierta laminar del quiste de *E. oligarthrus* en infección natural del aguti (X 100).

Observaciones al Microscopio Electrónico:

El *tegumento* del protoescólex de *E. oligarthrus* demuestra una cubierta sincicial compuesta por un citoplasma distal con abundantes vesículas dentro de las cuales se aprecian unos cuerpos densos (Fig. 9). La superficie externa del tegumento está cubierta con una capa granular o reticular, el glucocálix, sobre la superficie expuesta del protoescólex. En esta región, el tegumento carece de proyecciones o microtricos. La base de los microtricos aparece como cortos abultamientos densos, en la superficie del tegumento cubierto por el glucocálix. Hacia la membrana basal del tegumento se encuentran algunas mitocondrias. Interna a la membrana basal se localiza una zona clara, de estructura fibrilar o zona fibrosa, que separa al tegumento de su musculatura longitudinal y circular, la cual aparece como conjuntos o haces de fibras musculares. Adyacente a los componentes musculares sub-tegmentarios se encuentran extensiones celulares con amplios depósitos de glucógeno y de componentes celulares, con citoplasma denso, que contienen los núcleos de las células tegumentarias. El citoplasma denso de estas células es continuo, por medio de extensiones o de puentes citoplasmáticos, con el citoplasma sincicial del tegumen-

to (Fig. 9). Por dentro del área sub-tegmentaria se encuentra el parénquima celular del excólex y sus estructuras internas: los ductos colectores, las células flamíferas y los cuerpos calcáreos. El tegumento sin microtricos bien desarrollados y sus interrelaciones con las células de citoplasma denso y aquellas de citoplasma claro, abundante en glucógeno, caracterizan a la cubierta externa del protoescólex invaginado.

Es interesante anotar que en la membrana basal del tegumento se encuentran pequeñas regiones de entrada y "poros" que se continúan por uno o más microcanales con características lisas y rugosas de un retículo endoplásmico, que es más denso y evidente en las regiones del tegumento que presentan los microtricos bien desarrollados (Figs. 10 y 11). Estos son más abundantes en la superficie invaginada o anterior del escólex larvario. Las extensiones superficiales del tegumento (los microtricos) son alargados y presentan dos secciones bien definidas, una región basal más ancha, fibrilar y menos densa y una región distal alargada y mucho más densa (Fig. 11). En cortes de áreas del tegumento invaginado del escólex (Fig. 10) se pueden observar múltiples secciones transversales de los microtricos, que exhiben una organización anular doble, con un anillo fibrilar in-



Fig. 9

Tegumento del protoescólex y área sub-tegumentaria (X 30,940).

- | | | |
|-----|---|-------------------------|
| GC | - | Glucocálix |
| CD | - | Citoplasma denso |
| FM | - | Fibras musculares |
| P | - | Poros o microcanales |
| PN | - | Puentes citoplasmáticos |
| G | - | Aparato de Golgi |
| M | - | Mitocondria |
| Gly | - | Glicógeno |

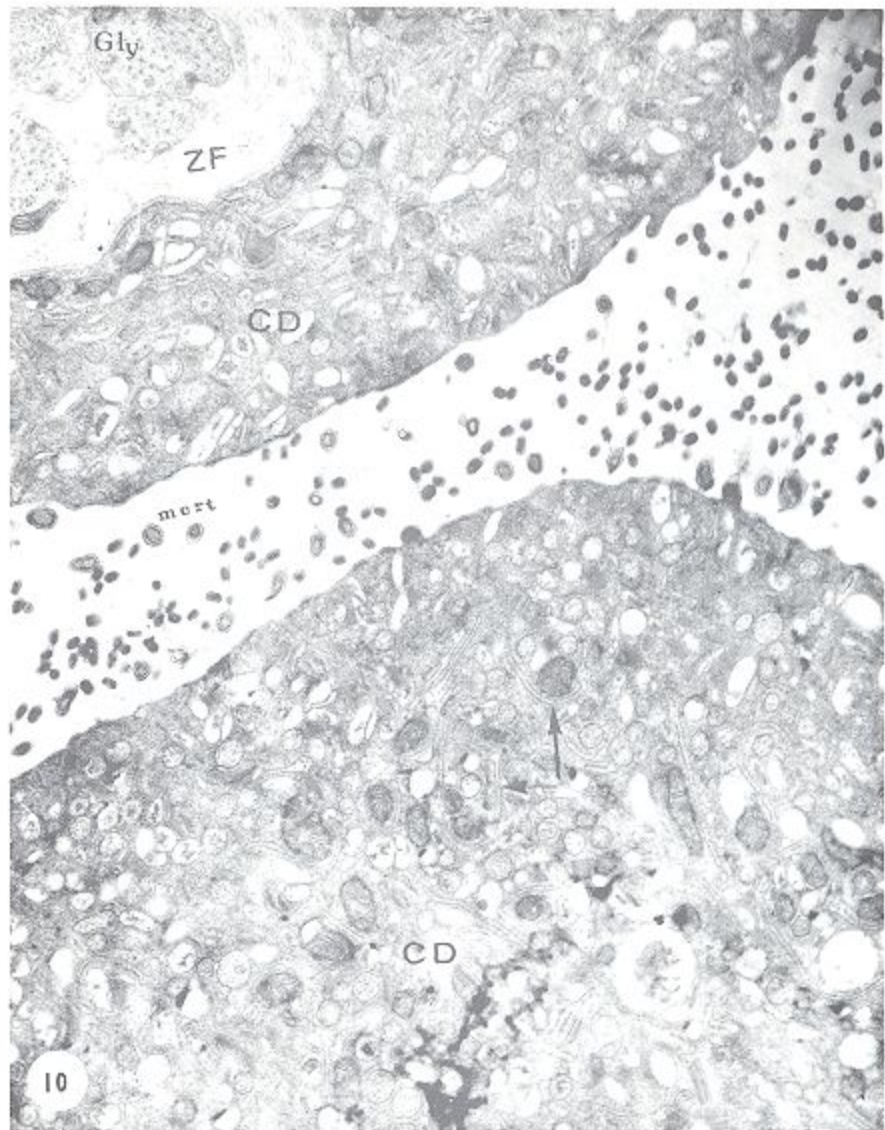


Fig. 10

Tegumento de la región invaginada o anterior del protoescólex (X 30,940).

- CD - Citoplasma denso
- Gly - Glicógeno
- mer - Microtricos
- ZF - Zona fibrilar

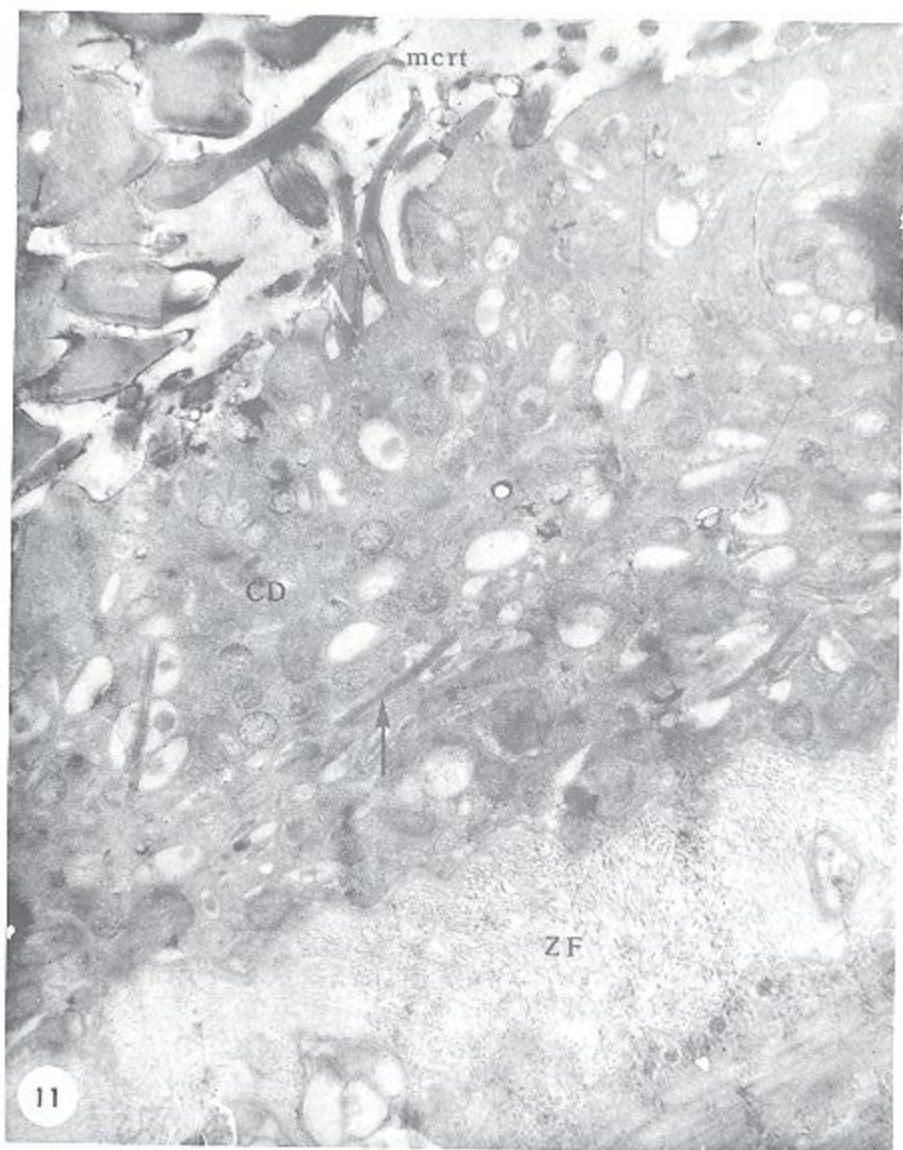


Fig. 11

Tegumento del protoescólex, demuestra la estructura de los microtricos largos, de las vacuolas y de los cuerpos densos (X 45,000).

- CD - Citoplasma denso
 mcr - Microtricos
 ZF - Zona fibrilar

terno más denso. El tegumento en estas áreas incluye una mayor cantidad de mitocondrias en su citoplasma distal o sincicial.

En las áreas anteriores del tegumento expuesto del protoescólex se localizan algunos microtricos alargados y cubiertos por el glucocálix (Fig. 12).

Las *ventosas* presentan una organización muscular bien desarrollada, compuesta de tres regiones o capas de fibras musculares: una musculatura externa, de fibras circulares y longitudinales; una musculatura transversal o cruzada y una musculatura interna, de fibras circulares y longitudinales (Fig. 13). Tanto en la región intermedia como en la subyacente a la musculatura interna se observan células de citoplasma denso y células claras, con citoplasma abundante en glucógeno. La cubierta externa de la ventosa está formada por el tegumento que presenta gran cantidad de microtricos alargados, que se proyectan hacia la cavidad o copa de la ventosa.

El *sistema osmoregulador* del protoescólex incluye a las células flamígeras (Fig. 14) y a los conductos colectores. La pared de estos últimos, en forma típica, demuestra pequeñas proyecciones o evaginaciones de la pared interna que sugieren ser productos de excreción al ocupar el lumen de los ductos (Fig. 15).

Comentarios

Las características de la ultraestructura de la pared germinal del quiste hidatídico y del protoescólex de las especies del género *Echinococcus* Rudolphi 1801, tienen importancia tanto en el estudio de la capacidad proliferativa de la cubierta germinativa, como en el estudio ontogenético de los escólex y de sus productos antigénicos o protectores. Estos antígenos y sustancias protectoras pueden afectar el curso de la infección y del desarrollo del parásito en un nuevo hospedero. Algunos autores (1, 10) favorecen la hipótesis que asigna al glucocálix o cubierta de mucopolisacáridos, una función protectora o de defensa contra las enzimas del huésped.

El tegumento del quiste hidatídico es una región de gran significado en la formación de las cápsulas prolíferas. Se considera que el tegumento de la membrana germinal es continua con la pared de las cápsulas prolíferas y en consecuencia con el tegumento de cada protoescólex (2, 11, 13) Sin embargo, la posición relativa del tegumento en la pared de la cápsula prolífera (interna) es opuesta a la posición que ocupa en la pared del quiste (externa) adyacente con la membrana laminar. Aún cuando el origen de la cápsula no se ha establecido claramente, se considera que este sea conse-

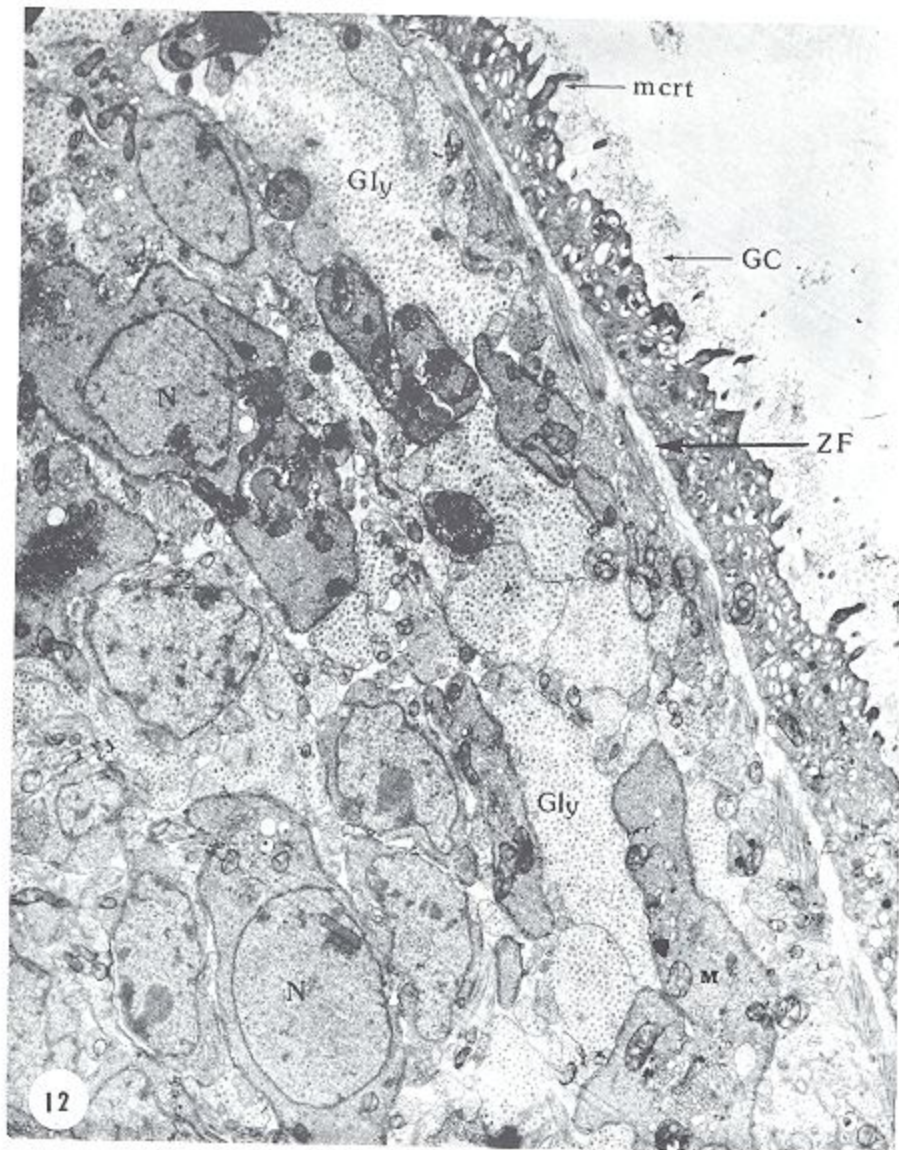


Fig. 12.

Tegumento y parénquima sub-tegumentario (X 13,780).

- GC - Glucocálix
- Gly - Glicógeno
- M - Mitochondria
- mcr - Microtricos
- N - Núcleo
- ZF - Zona fibrosa

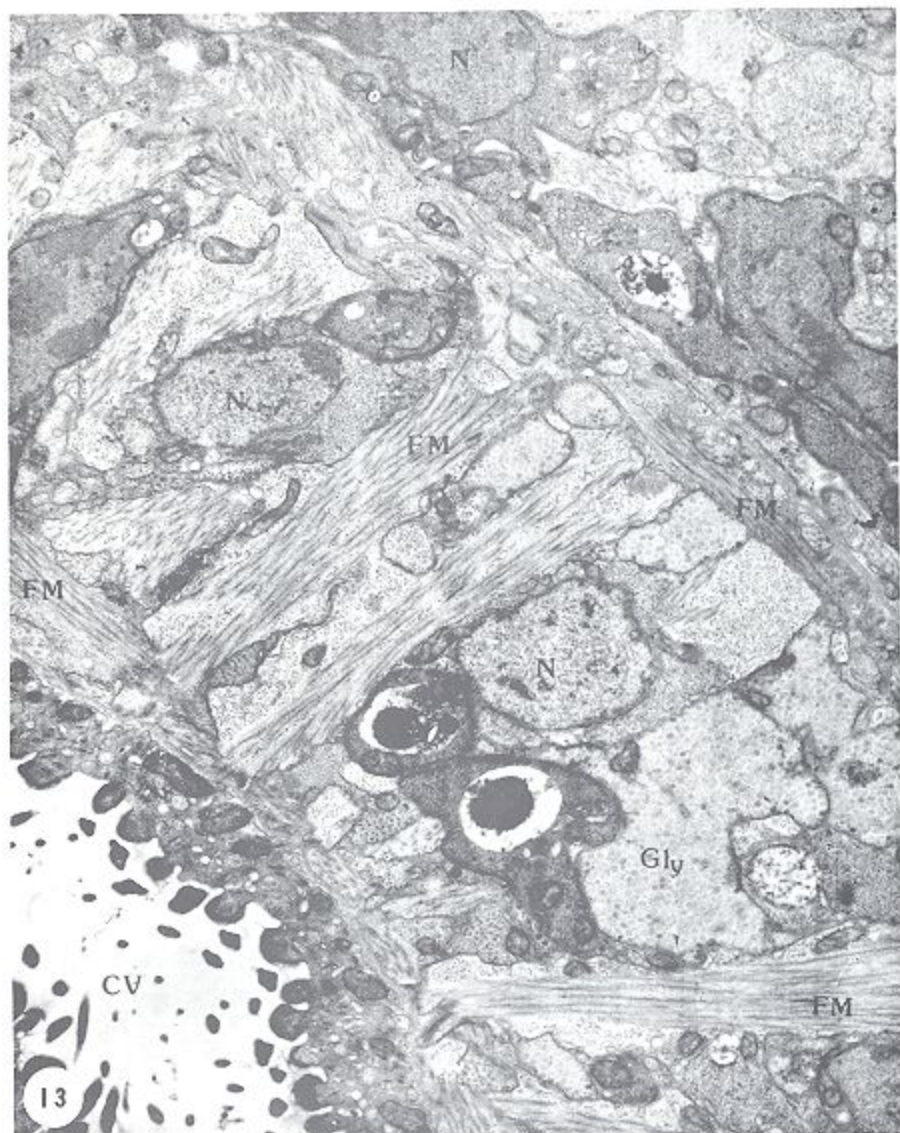


Fig. 13

Pared de la ventosa. Demuestra el arreglo de la musculatura (X 19,630)

- FM - Fibras musculares
- N - Núcleo
- Gly - Glicógeno



Fig. 14

Corte a nivel de una célula flamígera (X 45,500)

- F - células flamígeras
- G - Aparato de Golgi
- N - Núcleo

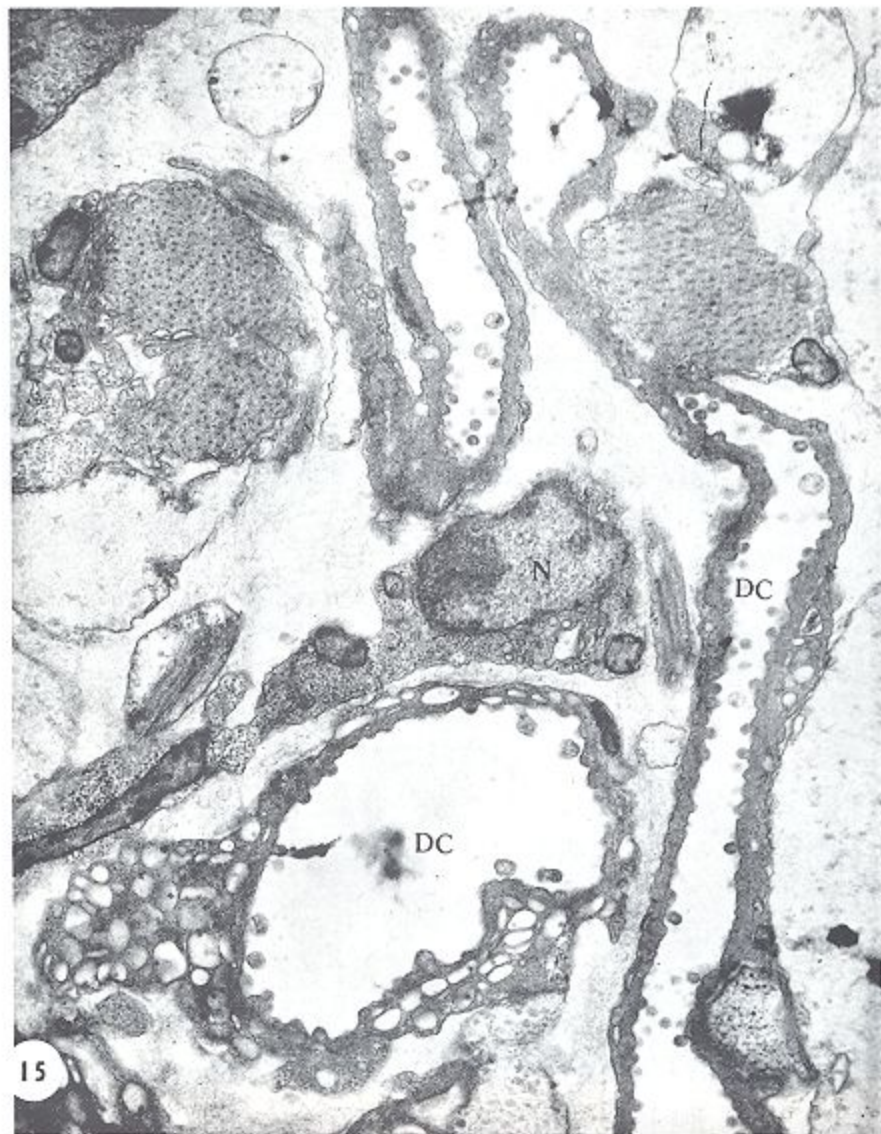


Fig. 15

Ductos colectores del sistema osmoregulador (X 30,940).

DC — Ducto colector