

investigación ultramicroscópica de la membranólisis de *e. histolytica* producida por suero inmune

NORBERTO TREVIÑO-GARCÍA MANZO
MARGARITA CASTAÑEDA
AGUSTÍN CHÉVEZ

Norberto Treviño-García Manzo. Servicio de Gastroenterología, Hospital General, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Margarita Castañeda. Sección de Microscopía Electrónica, Departamento de Investigación Científica, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Agustín Chévez. Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Patología Experimental, Departamento de Anatomía Patológica, Instituto Nacional de Cardiología.

Solicitud de sobretiros (Requests for reprints): *Dr. Norberto Treviño García Manzo.* Departamento de Investigación Científica, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social. Apdo. Postal 73-032, México 7, D. F.

Los estudios realizados con cinematografía microscópica han permitido demostrar que el suero humano inmune anti*amibiano* produce alteraciones importantes en los trofozoítos con los cuales se pone en contacto. Dichas alteraciones se inician con inmovilización y transformación esferoidal de los trofozoítos y terminan con la desintegración de los mismos. El presente experimento consistió en poner en contacto dicho suero con trofozoítos, durante 2, 4, 5 y 7 minutos y permitió observar, a nivel ultraestructural, las alteraciones que sufre el parásito y en especial su membrana en los momentos iniciales, inclusive antes de la inmovilización. Los cambios consistieron en "desnaturalización" de la membrana con pérdida parcial de la "unidad de membrana", que primero fue segmentaria y después más generalizada, transformándose en una zona amorfa, finamente granular. A los cinco minutos de acción se apreció, además de lo anterior, mayor número de vacuolas, así como aumento en el tamaño de las mismas. A este tiempo se observó en algunos de los parásitos ruptura de la membrana. A los siete minutos, además de lo ya mencionado, casi la mayoría de los trofozoítos contenían gran cantidad de vacuolas, algunas de gran tamaño que "herniaban" la membrana y terminaban por romperla [Arch. Invest. Méd. (Méx.) 5, Supl. 2: 325, 1974].

El efecto del anticuerpo y el complemento contra la membrana del glóbulo rojo, obtenido de un caso de anemia hemolítica y contra la membrana externa de *Shiguella shigae* de un anticuerpo contra el antígeno somático "O", fue demostrado por Dourmashkin *et al.*¹ En ambos casos se observaron lesiones membranales en forma de pequeñas pérdidas de sustancia circulares, distribuidas en la superficie del hematíe y la bacteria. En nuestro medio, el efecto amibolítico del suero inmune obtenido de pacientes que sufrieron ami-

biasis invasora, ha sido demostrado por Chévez y Sepúlveda por medio de la cinematografía microscópica.^{2, 3} El objeto del presente estudio fue investigar con el microscopio electrónico cuáles son las alteraciones iniciales que suceden en el trofozoíto de *E. histolytica* cuando se pone en contacto con dicho suero.

Material y método

Para el presente experimento se empleó suero inmune de un paciente con absceso hepático amibiano que por medio de la contra-inmunolectroforesis⁴ dio títulos altos de anticuerpos, y cuyo efecto membranólítico había sido comprobado por medio de microscopía óptica. Dicho suero se puso en contacto con trofozoítos de *E. histolytica*, cepa HM2: IMSS desarrollados en medio monoxénico, siguiendo la técnica de fijación e inclusión *in situ* diseñada por Martínez Palomo *et al.*⁵ La acción del suero inmune se detuvo a los 2, 4, 5 y 7 minutos, empleándose para tal efecto glutaraldehído al 2.5% en amortiguador de cacodilatos, pH 7.4, 0.1 M, que además actuó como fijador y detuvo la acción del suero inmune sobre los trofozoítos. Con cortes semifinos se localizaron los parásitos a cada uno de los tiempos mencionados, y posteriormente se hicieron cortes finos que se depositaron en rejillas de cobre y se tiñeron con acetato de uranilo y citrato de plomo para ser observados y fotografiados con el microscopio electrónico Philips EM-300.

Resultados

Los trofozoítos que estuvieron en contacto con el suero inmune durante 2 y 4 minutos conservaron su morfología normal, a excepción de algunos que mostraron pequeñas zo-

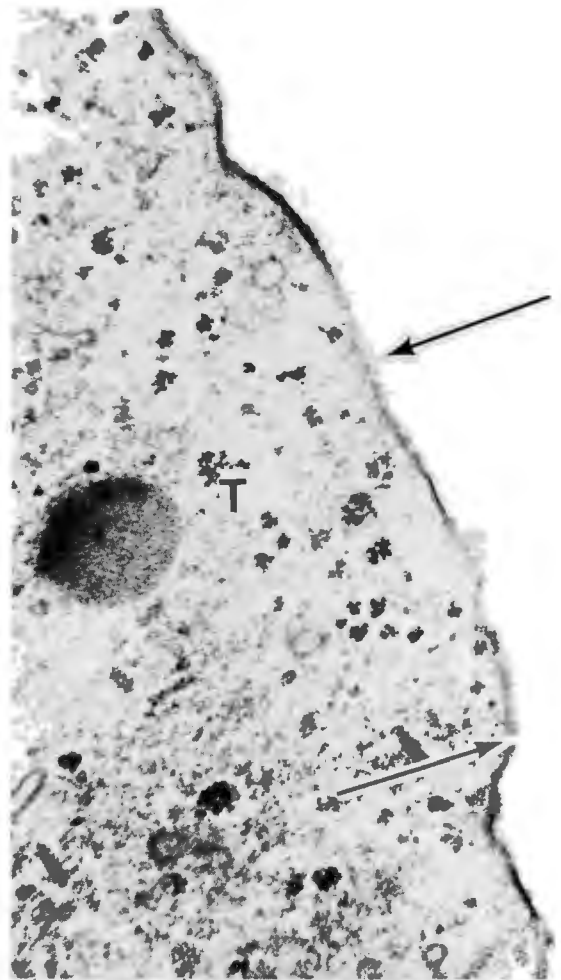


FIG. 1. Electromicrofotografía que muestra un trofozoíto (T) expuesto durante 2 minutos al suero inmune, que es normal. Únicamente se observan en algunas zonas de la membrana desaparición de su "unidad" (flechas). $\times 19,400$.

nas de la membrana plasmática en los que la unidad de la misma se perdía (Fig. 1), y se transformaba en una zona amorfa finamente

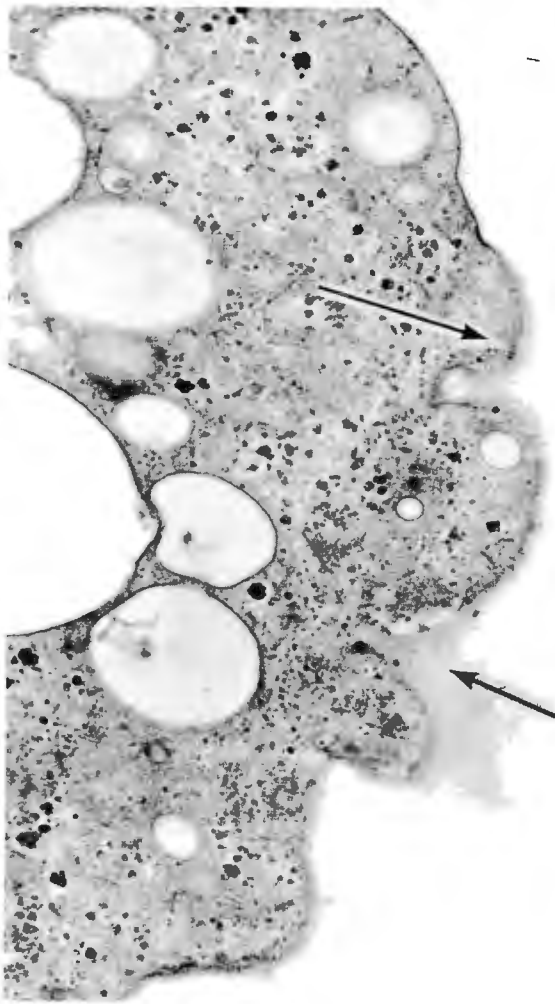


FIG. 2. A los 4 minutos de acción del suero inmune, la "desnaturalización" de la membrana era mayor y se transformaba en una zona finamente granular (flechas). $\times 13,200$.

granular, que por su osmiofilia probablemente era de naturaleza lipídica y que empezaba a desprenderse hacia el exterior (Fig. 2). A

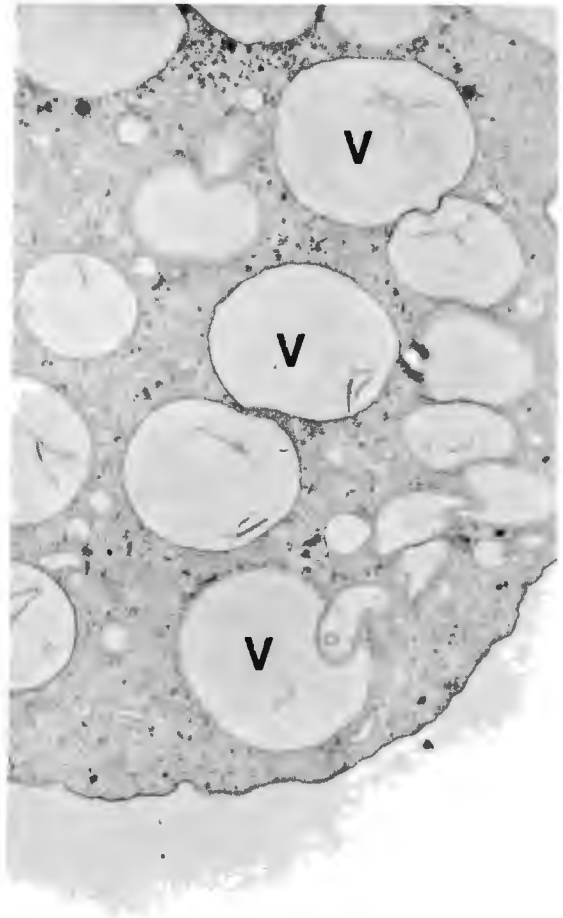


FIG. 3. En esta fotografía se muestra que a los 5 minutos la gran mayoría de los trofozoítos estudiados mostraban gran cantidad de vacuolas (V). $\times 9,600$.

los cinco minutos de acción del suero inmune, además de lo anterior, se apreció que en algunos trofozoítos aumentaba el número de va-

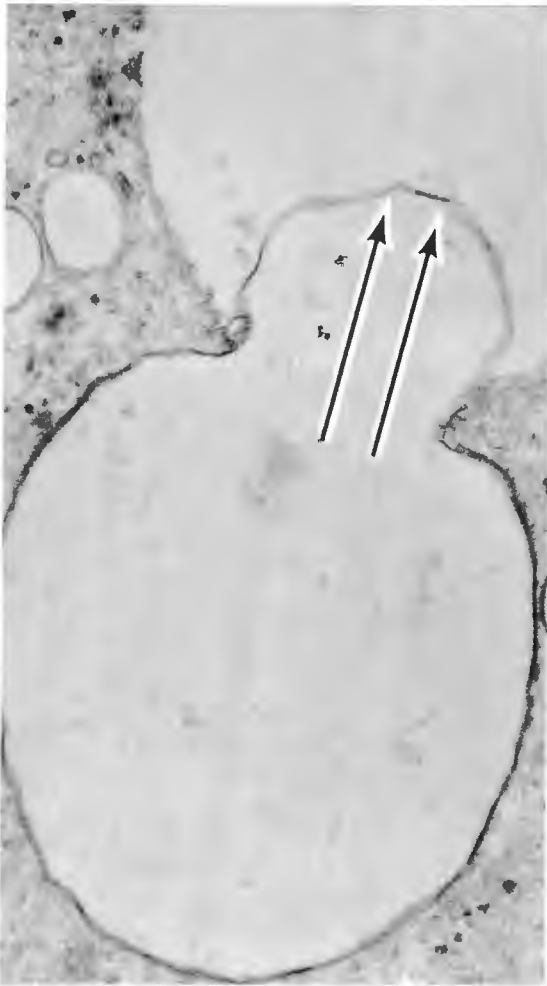


FIG. 4. En algunos trofozoítos se observó que además se fundían unos con otros por coalescencia y aumentaban de tamaño (flechas) $\times 28,000$.

cuolas (Fig. 3), que por otro lado crecían de tamaño por coalescencia (Fig. 4). Además, en otros parásitos se observó en algunas zonas una definitiva solución de continuidad que con toda probabilidad facilitaba la salida de material citoplásmico al exterior, y la entrada de elementos del medio de cultivo hacia el

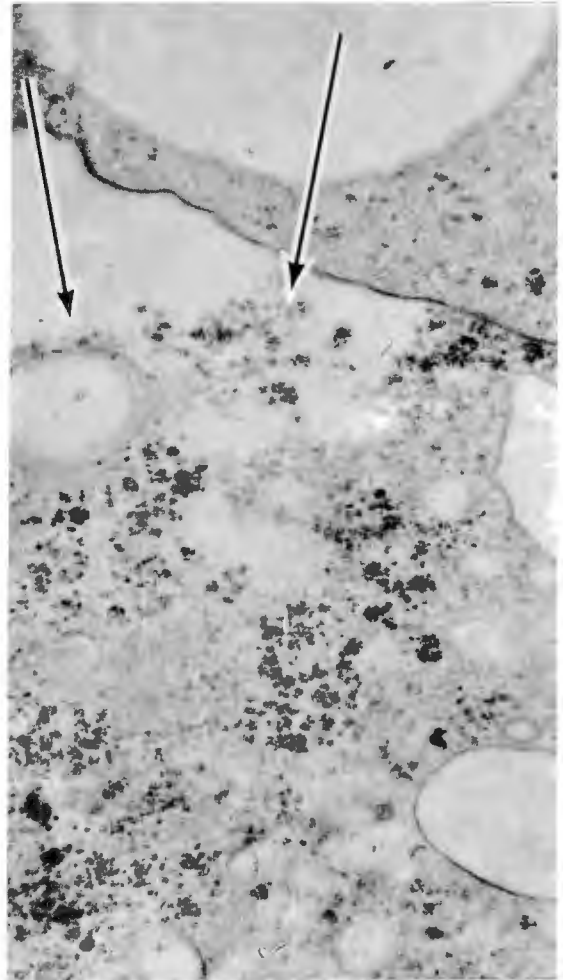


FIG. 5. También a los 5 minutos de acción del suero inmune, se observaron algunos trofozoítos (flechas) con solución de continuidad de su membrana. $\times 14,600$.

interior (Fig. 5). Por último, en los trofozoítos estudiados a los siete minutos se observó, además de lo anterior que buen número de ellos contenían gran cantidad de vacuolas, algunas de gran tamaño que materialmente "herniaban" la membrana y terminaban por romperla (Fig. 6).

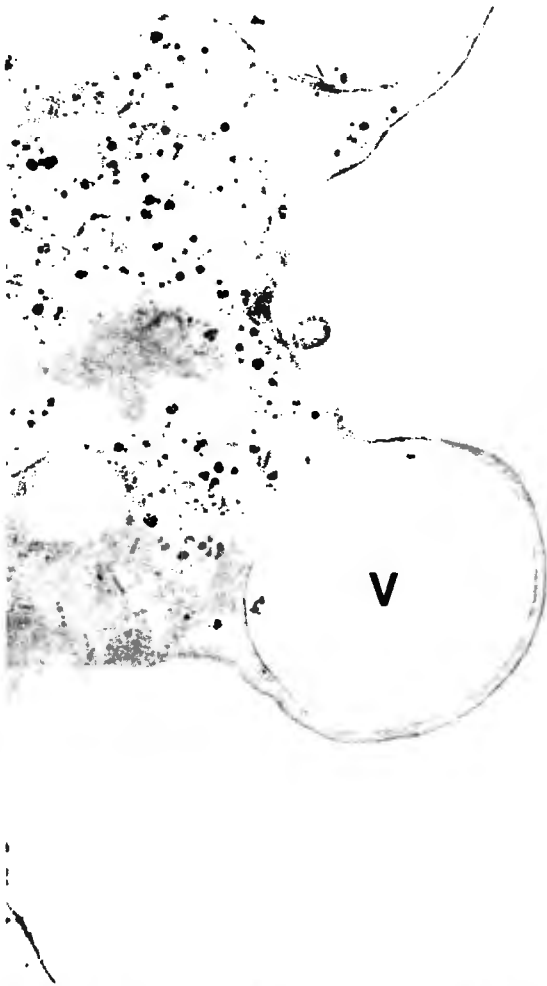


FIG. 6. A los 7 minutos, la mayoría de los parásitos mostraban vacuolas de gran tamaño (V), que "herniaban" la membrana y terminaban por romperla. $\times 14,600$.

Discusión

La observación del efecto del suero inmune sobre los trofozoítos de *E. histolytica* revela las lesiones iniciales que aparecen en el parásito, tanto a nivel de su membrana como en sus vacuolas citoplásmicas. Parece ser que, lo

que primeramente es una "desnaturalización" de la membrana que probablemente le hace perder su función normal. Si la acción del suero inmune continúa, da lugar a alteraciones en la permeabilidad de la membrana y a formación de mayor número de vacuolas que al unirse unas con otras aumentan de tamaño y favorecen el incremento de la presión por dentro de la membrana.

Se reconoce que los complejos antígeno-anticuerpo son capaces de producir muerte o lisis celular, en base a la acción que ejercen sobre la membrana. Por otro lado, se sabe que el suero humano inmune antiamebiano² produce alteraciones importantes en los trofozoítos que se inician con inmovilización y transformación esferoidal de los mismos. Con este experimento se confirma lo anterior y además se demuestra la lesión membranar que puede ser secundaria a un proceso inmunológico que dañe la membrana y que traiga como consecuencia aumento en la presión osmótica del trofozoíto, con desorganización del sistema vacuolar y ruptura de lisosomas con la consecuente liberación de sus enzimas. Dichas enzimas también pueden contribuir a la autodigestión tanto citoplásmica como membranar. Parece ser que la "desnaturalización" inicial se debe a alteraciones en la capa de lípidos de la unidad de membrana con probable formación de micelas.

Abstract

ULTRAMICROSCOPIC STUDY OF MEMBRANOLYSIS INDUCED BY IMMUNE SERUM IN *E. HISTOLYTICA*. Studies undertaken employing cinematography have been successful in showing that antiamebic immune human serum produces important alterations on trophozoites with

which it comes into contact. Such alterations start with the immobilization and spheroidal transformation of trophozoites and end up in their destruction. The experiment consisted in putting trophozoites in contact with the above said serum during 2, 4, 5 and 7 minutes in order to observe under electron microscope, the ultrastructural changes undergone by the parasite, even before its immobilization. Changes consisted in "denaturation" of the membrane with partial loss of the "membrane unit", segmentary at the beginning and generalized afterwards, and turning later on into an amorphous, finely granular zone. At five minutes, added to the previous alterations, vacuoles larger in number and in size appeared. At this time, in some trophozoites, the membrane is ruptured. At seven minutes, besides the already mentioned alterations, most trophozoites contained a large number of vacuoles, some of them very large, "herniating" through the membrane and ultimately bursting through it.

Referencias

1. HUMPHREY, J. H. y WHITE, R. G.: Complement and other auxiliary factors. En: Immunology for Students of Medicine. Oxford Blackwell Scientific Publications. 1971, p. 191.
2. CHÉVEZ, A.; ITURBE-ALESSIO, I.; SEPÚLVEDA, B.; SEGURA, M., y ORTÍZ-ORTÍZ, L.: Respuesta morfodinámica de los trofozoítos de *E. histolytica* a la acción del suero humano inmune correspondiente. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 4, Supl. 1: 71, 1973.
3. SEPÚLVEDA, B.; CHÉVEZ, A.; ITURBE-ALESSIO, I. y ORTÍZ-ORTÍZ, L.: Efecto de la gammaglobulina inmune antiambiiana sobre el trofozoíto de *E. histolytica*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 4, Supl. 1: 79, 1973.
4. SEPÚLVEDA, B.; AUBANEL, M.; LANDA, L. y VELÁZQUEZ, G.: Avances en la técnica de contra-inmunolectroforesis para el estudio serológico de la amibiasis. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 3, Supl. 2: 363, 1972.
5. MARTÍNEZ-PALOMO, A. y GONZÁLEZ-ROBLES, A.: Fijación e inclusión *in situ* de *E. histolytica*: Aplicaciones en estudios de morfología y citofísica ultramicroscópicos. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 5, Supl. 2, 279, 1974.