

Estudio morfológico del parénquima renal (sistema tubular y tejido intersticial) de ratas Wistar en el shock provocado por infección experimental de *E. coli*

A. MENDEZ SANCHEZ*, M. A. SIERRA PLANA*, A. J. FERNANDEZ RODRIGUEZ*, L. CARRASCO OTERO* y J. GOMEZ BERMUDO**

*Departamentos de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.

**Servicio de Urología. Hospital Provincial de Córdoba. Córdoba. España.

Resumen.—En el presente trabajo hemos estudiado las modificaciones estructurales y ultraestructurales que se presentan en el parénquima renal (sistema tubular y tejido intersticial) de ratas Wistar inoculadas con una suspensión de gérmenes *E. coli* en solución salina.

Hemos utilizado 64 ratas Wistar, divididas en dos grupos: al grupo A se les administró por vía oral 2 ml. de la citada suspensión que contenía $9,5 \times 10^{10}$ *E. coli* «0» grupo 26, núm. 351 de la Colección Española de Cultivos Tipo, y al grupo B se les inoculó por vía intraperitoneal 1 ml. de idéntica suspensión que al grupo anterior.

Estructuralmente observamos tubulonefrosis, edema intersticial y un infiltrado celular constituido por linfocitos, histiocitos y células inmaduras que se inicia a mediados de la experiencia.

Con el microscopio electrónico observamos que hacia la mitad existe en los túbulos contorneados proximales desorganización de las microvellosidades, e incluso pérdida de algunas de ellas, junto con una tumefacción mitocondrial y necrosis celular simple. En el tejido intersticial se aprecia edema y un infiltrado celular constituido por linfocitos, histiocitos, células inmaduras y lo que es más significativo, fibroblastos y fibras de colágenos en los últimos lotes, que nos indica el inicio de una nefritis intersticial crónica.

Palabras clave: Riñón. Rata. Shock. *E. coli*. Morfopatología.

Summary.—The present study analyzed the structural and ultrastructural changes observed in the renal parenchyma (tubular system and interstitial tissue) of Wistar rats inoculated with *E. coli* bacteria suspended in saline solution.

For the study, we divided 64 Wistar rats into 2 groups. Two ml. of the suspension containing $9,5 \times 10^{10}$ *E. coli* «0» group 26 no. 351 from the Spanish Collection of Culture Types were given to the rats in group A via the oral route. Rats in group B were inoculated intraperitoneally with 1 ml. of the same suspension.

Correspondencia:

A. MENDEZ SANCHEZ.
Departamentos de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas.
Facultad de Veterinaria.
14005 Córdoba. España.

Trabajo recibido el 8 de febrero de 1987.

Structurally we observed tubulonephrosis, interstitial edema and a cell infiltrate comprised of lymphocytes, histiocytes, and immature cells appearing halfway through the experiment.

Electron microscopy revealed a disorganization of the microvilli in the proximal convoluted tubules (some of these were even missing), mitochondrial swelling and simple cell necrosis. In the interstitial tissue we observed edema and a cell infiltrate comprised of lymphocytes, histiocytes, immature cells, and most significant of all, fibroblasts and collagen fibers were observed in the last batches, indicating the onset of chronic interstitial nephritis.

INTRODUCCION

Los estudios histopatológicos sobre shock endotóxico con la aplicación de las técnicas de microscopía electrónica fueron iniciados en 1970 por SLEYL. A partir de estos estudios se han sucedido las investigaciones morfológicas sobre shock de diferente etiología (traumática, séptica, posthemorrágica, etc.) preferentemente sobre el shock endotóxico, como los de SCHIMMELPHENING (14), DROMMER (2, 3, 4), GAZQUEZ y colaboradores (7) y séptico como los de RONCERO (11) y FERNANDEZ (5).

Según SACK y cols. (13) el 70 por 100 de las infecciones renales suelen ser producidas por *E. coli*, motivo por el que nosotros hemos estudiado las lesiones que se producen experimentalmente en un proceso de shock séptico en el riñón de ratas Wistar inoculadas con gérmenes de *E. coli* y la descripción de las alteraciones histopatológicas de los componentes del sistema tubular y tejido intersticial de la nefrona, utilizando técnicas de microscopía óptica y electrónica, y en el que tratamos de encontrar paralelismo entre vía oral y peritoneal de inoculación, considerando de gran interés la aportación que los resultados obtenidos pueden tener en enfermedades humanas (complicaciones postoperatorias, toxiinfecciones alimentarias, autointoxicaciones, etc.), en que está presente este germen.

MATERIAL Y METODOS

En el presente estudio hemos utilizado 64 ratas Wistar macho, de ciento cincuenta días de edad, exentas de toda enfermedad infecciosa o parasitaria.

Las ratas se distribuyen en dos grupos: A y B, de 32 animales cada uno, inoculadas por vía oral e intraperitoneal respectivamente, formándose lotes de cuatro animales cada uno para su tiempo de sacrificio según se indica en las tablas I y II.

La dosis utilizada, en solución salina fisiológica, fue de 2 ml. al grupo A y 1 ml. al grupo B, de una concentración de gérmenes de $9,5 \times 10^{10}$ por mililitros *E. coli* «0» grupo 26, CECT (Colección Española de Cultivos Tipo), núm. 351.

Los animales se sacrificaron por decapitación y las muestras para el estudio microscópico se obtuvieron inmediatamente fijándose en formol al 10 por 100 y en glutaraldehído al 2 por 100 para la microscopia de luz y electrónica.

RESULTADOS

Grupo A: Modificaciones del parénquima renal en los animales sometidos a la administración de *E. coli* por vía oral.

TABLA I: GRUPO A: INOCULACION ORAL

Lotes	Animales inoculados con <i>E. coli</i>	Animales control	Tiempo de sacrificio
I.....	3	1	6 h.p.i.*
II.....	3	1	12 h.p.i.
III.....	3	1	1 d.p.i.**
IV.....	3	1	2 d.p.i.
V.....	3	1	3 d.p.i.
VI.....	3	1	4 d.p.i.
VII.....	3	1	5 d.p.i.
VIII.....	3	1	10 d.p.i.

* Horas postinoculación.

** Días postinoculación.

TABLA II: GRUPO B: INOCULACION INTRAPERITONEAL

Lotes	Animales inoculados con <i>E. coli</i>	Animales control	Tiempo de sacrificio
I.....	3	1	6 h.p.i.*
II.....	3	1	12 h.p.i.
III.....	3	1	1 d.p.i.**
IV.....	3	1	2 d.p.i.
V.....	3	1	3 d.p.i.
VI.....	3	1	4 d.p.i.
VII.....	3	1	5 d.p.i.
VIII.....	3	1	10 d.p.i.

* Horas postinoculación.

** Días postinoculación.

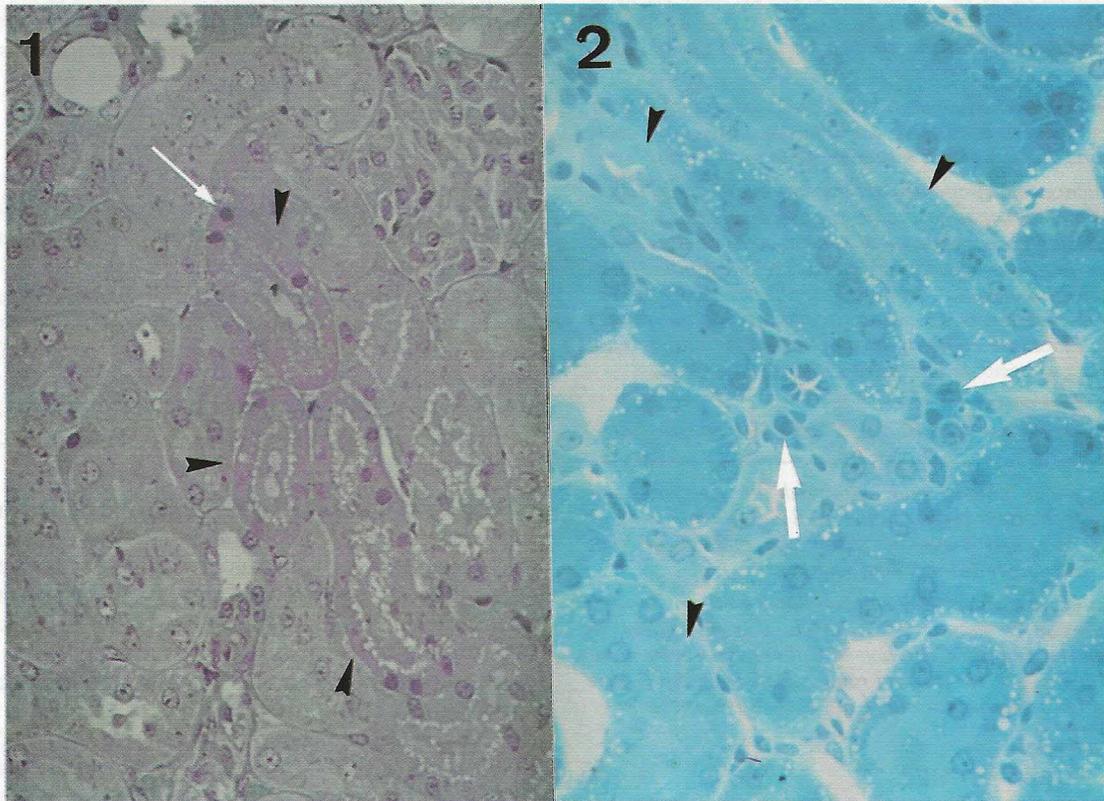


FIG. 1.—Lotes III, IV y V. Tabulonefrosis en túbulos contorneados proximales con destacada picnosis nuclear (350 x).

FIG. 2.—Lotes III, IV y V. Degeneración vacuolar en células epiteliales de los túbulos contorneados proximales y distales (-). Infiltrado intersticial mononuclear (-) (650 x).

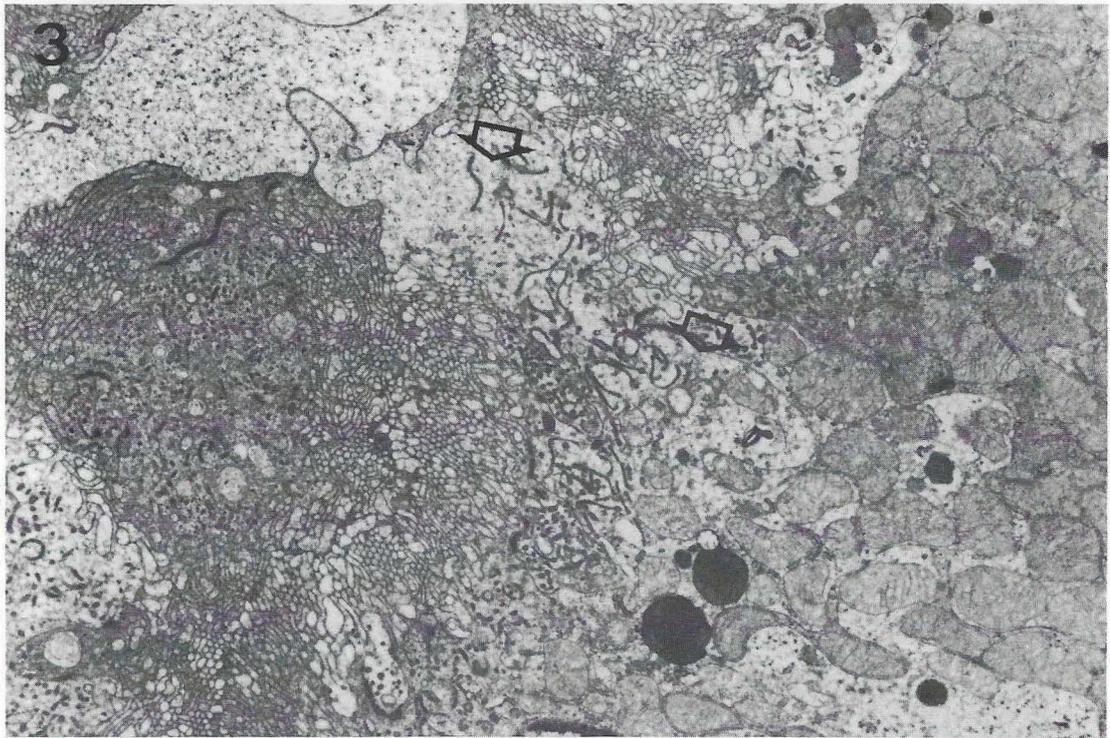


FIG. 3.—Lotes III, IV y V. Túbulo contorneado proximal con desorganización progresiva de las microvellosidades, formación de cisternas electrodensas y tumefacción mitocondrial (16.700 x).

En los primeros lotes de la experiencia, el sistema tubular de la nefrona presenta modificaciones en algunos túbulos contorneados proximales: ligera dilatación de las luces tubulares, y degeneración parcial del

epitelio tubular cuyas células muestran un citoplasma homogéneo y muy eosinófilo (fig. 1). Con el microscopio electrónico esta degeneración está representada por dilatación de las cisternas del retículo endoplásmi-

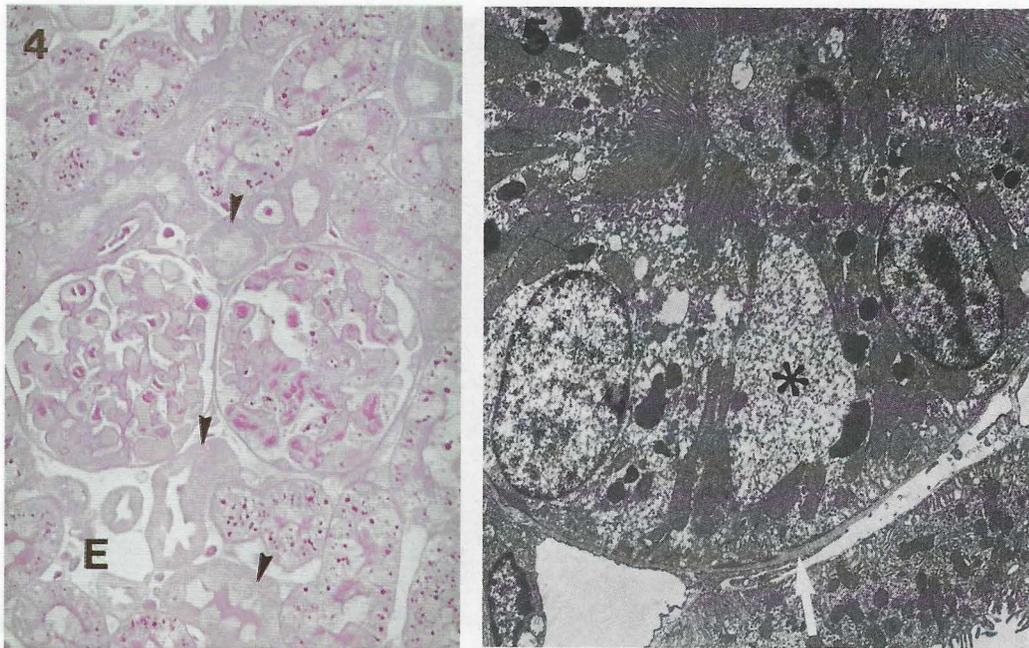


FIG. 4.—Lotes III, IV y V. Estructura de riñón con edema intersticial (E), tubulonefrosis (--) (350 x).

FIG. 5.—Lotes VI y VII. Túbulo contorneado proximal con numerosos lisosomas en células y algunas zonas citoplasmáticas libres de organoides (--) (5.500 x).

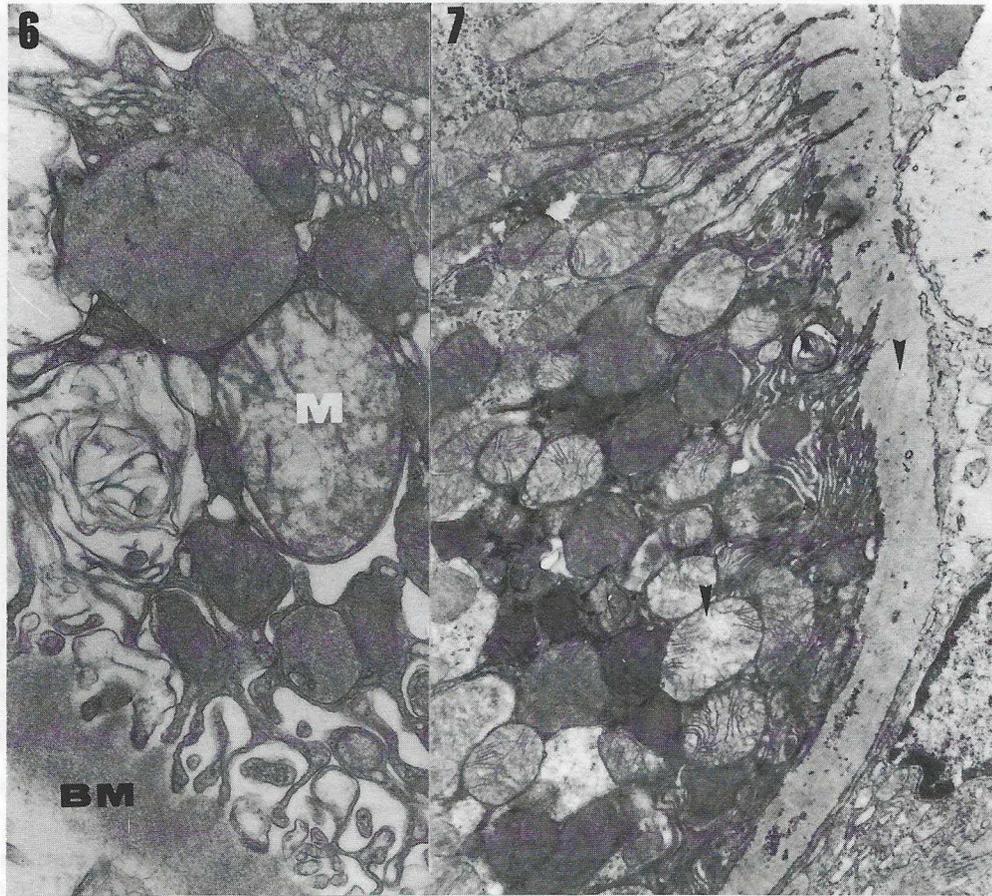


FIG. 6.—Lotes VI y VII. Zona basal de la célula epitelial con clara tumefacción mitocondrial (m) y pérdida de las crestas; incremento de las invaginaciones de la membrana citoplasmática en la zona basal epitelial (32.500 x).

FIG. 7.—Lote VIII. Degeneración mitocondrial (--) membrana basal significativamente engrosada (30.500 x).

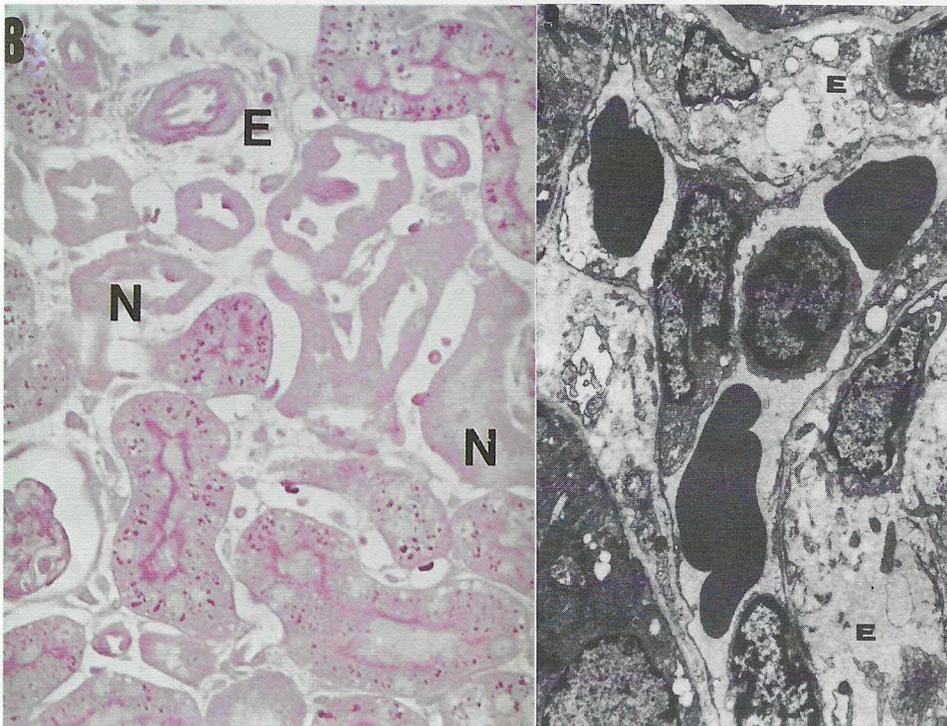


FIG. 8.—Lotes VI y VII. Edema intersticial y necrosis de los túbulos contorneados (350 x).

FIG. 9.—Lote VIII. Abundante edema intersticial (E) y efecto de adherencia de linfocitos (8.700 x).

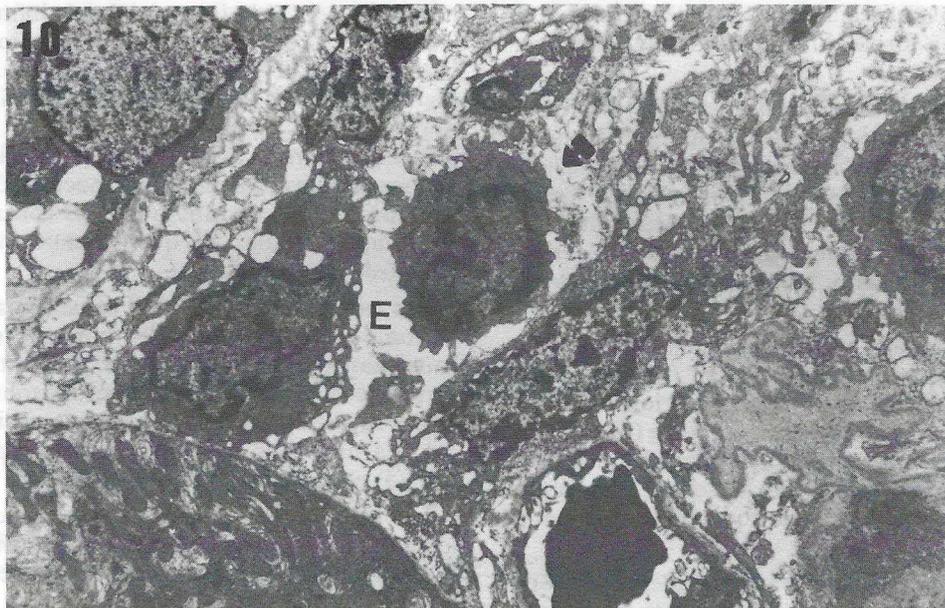


FIG. 10.—Lote VIII. Edema intersticial e infiltrado celular (8.700 x).

co rugoso y del espacio perinuclear. En el tejido intersticial hay ligero edema.

En los lotes III, IV y V, las modificaciones del sistema tubular son más acusadas que en los lotes anteriores, pues en el lote V, incluso el epitelio de algunos túbulos distales presentan degeneración (fig. 8) y sus luces dilatadas con un contenido eosinófilo (fig. 1).

El edema (fig. 4) a nivel intersticial es más manifiesto y presenta células mononucleares, tanto histiocitos como linfocitos, que a veces forman agrupación mayor o menor número de elementos (fig. 2).

Las alteraciones ultraestructurales de los túbulos proximales son muy manifiestas, presentando tubulonefrosis (fig. 3), tumefacción mitocondrial (figs. 6 y 7), pérdida de la disposición paralela de las microvellosidades (fig. 3) y dilatación de las cisternas del retículo endoplásmico rugoso.

En el lote VII, la tubulonefrosis (fig. 8) es muy marcada, encontrándose células de citoplasma fuertemente eosinófilo y núcleos picnóticos; el contenido de la luz tubular es más o menos homogéneo y eosinófilo y el espacio intersticial presenta un infiltrado de células histiocitarias y linfocitarias (fig. 10), en medio de abundante edema.

Ultraestructuralmente se siguen observando las mitocondrias muy tumefactas, de forma alargada y matriz electrodensa en la que las crestas apenas si se aprecian (fig. 7) o algunas se han perdido (fig. 6). En las células epiteliales encontramos gran cantidad de lisosomas y en el borde apical vemos vesículas dilatadas, existiendo a la vez zonas de citoplasma libres de organoides (fig. 5).

El tejido intersticial presenta edema (fig. 8) e infiltrado celular de linfocitos e histiocitos, así como fibroblastos no muy numerosos, pero con un citoplasma muy

activo y abundantes haces de fibras colágenas próximos a los fibroblastos.

En el lote VIII existen las mismas modificaciones que en el lote VII, pero con mayor incremento del infiltrado celular intersticial. El microscopio electrónico nos muestra en la mayoría de las células epiteliales proximales, abundante tumefacción mitocondrial (figura 7), gran cantidad de invaginaciones irregulares de la membrana citoplasmática de la zona basal (figura 6), engrosamiento de la membrana basal (fig. 7), aumento de lisosomas y, sobre todo, zonas de citoplasma con escasa cantidad de organoides.

El tejido intersticial se observa infiltrado por linfocitos e histiocitos (fig. 9), a veces encontramos células blásticas inmaduras y fibroblastos en cuyas proximidades existen fibras de colágeno más o menos estructuradas.

Grupo B: Modificaciones del parénquima renal en los animales sometidos a inoculación de *E. coli* por vía intraperitoneal.

En los lotes I y II encontramos túbulos contorneados dilatados irregularmente, que muestran signos de degeneración y tubulonefrosis focal; el citoplasma de las células del epitelio es homogéneo.

En el tejido intersticial se aprecia edema con ligero infiltrado de células mononucleadas y redondas. Los túbulos contorneados proximales presentan focalmente, bien células epiteliales con tumefacción mitocondrial, o bien células con gran cantidad de invaginaciones en las que se presentan numerosas mitocondrias y lisosomas.

Lotes III y IV y V, aquí existe una acusada tubulonefrosis (fig. 1) y, sobre todo, un edema intersticial (figura 4), además de histiocitos y linfocitos, y en el lote V, algunos fibroblastos. El infiltrado celular, si bien suele

ser focal, ya que se aprecian agrupaciones celulares, se presentan de una forma difusa entre los túbulos contorneados.

Los túbulos proximales muestran células epiteliales con claros signos de degeneración: numerosas mitocondrias con densificación de la matriz y tumefacción, aumento de los lisosomas y la existencia de zonas exentas de organoides (fig. 5). Junto a estas células se localizan otras de hialoplasma muy electrodensito, retículo endoplásmico dilatado, mitocondrias tumefactas y presencia de lisosomas (fig. 5).

La necrosis tubular es más acusada en los lotes VI y VII, con infiltración celular y edema (fig. 4). En los túbulos proximales se observa tumefacción mitocondrial (fig. 7), zonas exentas de organoides (fig. 5) y en la zona apical, vacuolización; pero lo más característico está en las zonas basales, que presentan gran cantidad de invaginaciones que se introducen en una membrana basal (fig. 6).

En el espacio intersticial se aprecia edema (fig. 8) y un infiltrado celular caracterizado por linfocitos, macrófagos y restos de fibras de colágeno; también se puede observar, en estas zonas de infiltración, desorganización de las membranas basales, tanto de los vasos sanguíneos intersticiales como de los túbulos contorneados (fig. 8).

En el último lote de la experiencia se presenta una necrosis tubular en la mayoría de los túbulos proximales, significada por células con tumefacción mitocondrial, abundantes invaginaciones de la membrana citoplasmática de la zona basal, aumento de lisosomas y, sobre todo, zonas de escasa cantidad de organoides. Existe engrosamiento de la membrana basal (fig. 7).

En el tejido intersticial observamos un infiltrado similar a los lotes anteriores, histiocitos y linfocitos y a veces células inmaduras; igualmente pueden observarse algunos fibroblastos (fig. 10) y fibras de colágeno.

DISCUSION

Basándonos en las investigaciones de ZOLLINGER (14), que expone que los gérmenes *E. coli* son nefrotóxicos, y en los de SACK y cols. (13), que citan que el 70 por 100 de las infecciones renales suelen ser producidas por *E. coli*, hemos realizado experimentalmente la administración por las vías oral e intraperitoneal de gérmenes de *E. coli*, con el fin de determinar la mayor o menor actuación del germen por una u otra vía y su repercusión en medicina humana, comprobando que se producen en ambas vías procesos alterativos en el parénquima renal, similares a los que se producen por inoculación de neurotoxinas de *E. coli*, como describe ROSENBRUCH (12) y GAZQUEZ (7), o por inoculación de gérmenes de *E. coli*, como indican RONCERO (11) y FERNANDEZ (5), pero más acusado vía intraperitoneal.

Tanto en la administración por vía oral como intraperitoneal se produce un cuadro lesional caracterizado por modificaciones a nivel del sistema tubular de la

nefrona y del tejido intersticial del riñón. Las diferencias entre una experiencia y otra son sólo de tipo cuantitativo, siendo el cuadro lesional similar al estudiado por ROSENBRUCH (12) y por DROMMER (4) y que encuadran como un proceso de shock renal. Asimismo se presenta en ambas experiencias, pero más significativo en los animales sometidos a la inoculación intraperitoneal, un proceso de tubulonefrosis con necrosis tubular simple, similar al que ROBBINS (10) denomina «necrosis tubular aguda».

Las modificaciones, a nivel del sistema tubular de la nefrona, están caracterizadas por una tubulonefrosis, como han señalado ZOLLINGER y MIHATSCH (16), que, como dice ROBBINS (10), en procesos sobreagudos puede dar lugar a la que él denomina necrosis tubular aguda, o a una necrosis simple, como expone FERNANDEZ (5) en adenohipofisis de pollo.

Las células del epitelio tubular, principalmente de los túbulos contorneados proximales, presentan tumefacción mitocondrial y engrosamiento de la membrana basal. Asimismo existe un aumento de los lisosomas en dichas células epiteliales que para ZOLLINGER y MIHATSCH (16) son típicas en procesos de shock por septicemia, junto con la presencia de fagosomas.

De los fenómenos alterativos que se presentan en el tejido intersticial, el edema se instaura desde los primeros lotes en ambas experiencias, y coincidimos con GAZQUEZ (7), RONCERO (11) y FERNANDEZ (5) en que dicho exudado es una consecuencia de la alteración del endotelio vascular, produciéndose a veces microhemorragias, como indica FERNANDEZ (5), y que facilita la proliferación celular. RIEDE (9), RONCERO (11) y FERNANDEZ (5) observan el edema en las fases iniciales del shock y disminuye a medida que transcurre el proceso, siendo reemplazado por un infiltrado celular, hecho que detectamos nosotros a partir del III y IV lotes en ambos grupos.

La proliferación celular, principalmente de histiocitos, linfocitos y células blásticas, observada por nosotros en el tejido intersticial intertubular, es uno de los hechos alterativos más significativos del shock renal, coincidiendo con ROSENBRUCH (12), BOHLE y cols. (1) y DROMMER (2); señalando BOHLE y cols. (1) que realmente se instaura una nefritis intersticial aguda, pero con tendencia a la cronicidad, proliferación que aparece también en pulmón descrito por RONCERO (11) y en adenohipofisis, como describe FERNANDEZ (5).

La presencia de fibroblastos en las muestras de los últimos lotes de ambas experiencias, aunque más significativa en la segunda, se debe, como describe MITTERMAYER (8), a factores estimulantes linfáticos, y para DROMMER (3) a factores plasmáticos aún no demostrados. Pero en lo que sí están de acuerdo todos los autores, y que coincide con lo descrito por nosotros, es que los procesos de fibrosis y aumento de fibroblastos ocurren a partir del décimo día en adelante o tras varias inoculaciones de gérmenes de *E. coli*, como indica FERNANDEZ (5).

La presencia de células blásticas en nuestra experiencia puede deberse, según RIEDE (9), DROMMER (4),

GAZQUEZ y cols. (7), RONCERO (11) y FERNANDEZ (5), a una activación de la médula ósea aunque los factores estimulantes no han sido demostrados todavía, siendo para dichos autores una característica de los procesos de shock endo o neurotóxicos y por gérmenes nefrotóxicos.

BIBLIOGRAFIA

1. BOHLE, A.; MACKENSEN, S.; GRUND, K. E.; CHRIST, H.; KNOPFLE, E., y SCHELLHOR, S.: «Shock kidney». *Pathol. Res. Pract.*, 1979; 212, 1979.
2. DROMMER, W.: «Alterations of connective tissue by shock and disturbance of permeability». En: «Pth. a medical speciality». U. P. Merten y J. Lindner (eds.), pp. 178-184. Proc X Trienal World Congr. Anat. Clin. Pathol. Rio de Janeiro, 1978.
3. DROMMER, W.; VELTMAN, E., y SCHULZ, L. C.: «Histometric and fine-structural analysis of pigs glomeruli after experimental prostrated shock». *Path. Res. Pract.*, 169: 3, 341, 1980.
4. DROMMER, W., y cols.: «Mesenchymal cell proliferation and fibrosis in prostrated shock». *Advan. Path.*, 2: 112, 1982.
5. FERNANDEZ, A. J., y cols.: «Morphopathology of the adenohipophysis of chickens in shock induced by *E. coli*». *Avian Diseases*, 30, 2: 247, 1986.
6. FERNANDEZ, A. J., y cols.: «Ultrastructural modifications of the cavities formed by folliculostellate cells in chicken adenohipophysis under septic shock conditions». *Cell Structure and Function*, vol. 11, 1986.
7. GAZQUEZ, A., y cols.: «Estudio estructural y ultraestructural de las glándulas adrenales de ratas Wistar sometidas a inoculaciones de neurotóxicas de *E. coli*». *Morfología Normal y Patológica*, sección B, vol. 6: 313, 1982.
8. MITTERMAYER, Ch.; HASSENTEIN, J., y RIEDE, U. N.: «Is shock-induced lung fibrosis reversible. A report on recovery from shock-lung». *Pathol. Res. Pract.*, 162: 73, 1978.
9. RIEDE, U. N.; SANDRITTER, W., y MITTERMAYER, C.: «Circulatory shock: A review». *Pathology*, 13: 2, 1981.
10. ROBBINS, S. L., y COTRAN, R. S.: «Patología estructural y funcional». Ed. Interamericana. México, 1984.
11. RONCERO, V.: «Morfopatología del pulmón de rata Wistar inoculada con *E. coli* enteropatógeno». Tesina. Facultad Veterinaria, Universidad de Córdoba, 1984.
12. ROSENBRUCH, M.: «Nierenveränderungen beim experimentellen neurotoxin-shock der ratte». *Vet. Med. Dissertation Tierärztliche Hochschule. Hannover*, 1979.
13. SACK, K.; HENKEL, W., y COMMICHAN, R.: «Chronische interstitiellen nephritis (*coli*-pyelonephritis) im tierexperiment». *Virchows Arch. Pathol. Anat.*, 355: 4, 1977.
14. SCHIMMELPFENING, H. H.: «Zur neutralisation des neurotoxin von *E. coli*. I. Mitteilung: Die neutralisation des toxins *in vitro*». *Zentralbl. Veterinarimed. (B)*, 18: 622, 1971.
15. ZOLLINGER, H. U.: «Morphologische nosologie der glomerulonephritiden». *Beir. Pathol.*, 143: 395, 1971.
16. ZOLLINGER, H., y MIHASTCH, T.: «Renal pathology in biopsy (histology of normal kidney tissue)». Springer-Verlag. Berlin, New York, 1978.

Forma de pago

Contra reembolso (envío gratis) (78)
 Adqu coasta nominal m

Envío a

Nombre y Apellidos

Domicilio

Código Postal

País

Tel.

LIBRERIA GARRI, S. A.

Carreter 17 - 28028 Madrid

Tel. 266 04 00

RUFDO NE REPARTIR LAS SIGUIENTES OBRAS:
