

Las vesículas intranucleares de entamoeba histolytica

Francisco Solís Martínez, Roberto Barrios
Facultad de Medicina, UNAM.

Resumen

Se estudiaron las vesículas intranucleares de la Entamoeba histolytica y se encontraron dos tipos de vesículas que contenían diferente material. Un tipo contenía material granular muy electrodense y material fibrilar, mientras que el otro contenía material nucleoplásmico. Las vesículas intranucleares aparecieron en la división nuclear e incrementaron su número conforme ésta progresó, se les encontró tanto en la periferia como junto al huso mitótico. Se discute el posible papel de las vesículas intranucleares de E. histolytica.

Summary

The intranuclear vesicles of Entamoeba histolytica were studied. Two different types of vesicles were found, each one containing different material. One type of vesicles contained highly electrodense granular material as well as fibrillar material. The other type contained nucleoplasmic material. The vesicles appeared at the beginning of the nuclear division and their number increased during nuclear division. They were located at the nuclear periphery and close to the mitotic spindle. The possible role of intranuclear vesicles of Entamoeba histolytica is discussed.

Introducción

La *Entamoeba histolytica* es un protozooario parásito del hombre que causa la amibiasis, la cual es una enfermedad con una alta incidencia en nuestro país. Los factores que le confieren la patogenicidad al parásito están siendo investigados por un gran número de investigadores. Sin embargo, acerca de la biología del parásito, y en particular acerca del núcleo, se conoce poco. Recientemente ha sido publicado ⁶ un trabajo sobre la división nuclear de este parásito. Sin embargo, no se mencionan los cuerpos intranucleares del parásito y su posible función.

Los cuerpos intranucleares de *Entamoeba histolytica* y

de otras *Entamoeba* han sido descritos por diversos autores ^{3 4 5 7}. Estos trabajos incluyen análisis tanto de microscopía óptica como electrónica. Se ha observado que las vesículas son capaces de salir del núcleo. Las vesículas han sido descritas como esféricas, de 0.1 a 1.5 μ m, algunas veces vacías y en otras ocasiones conteniendo material fibrilar y granular.

Feria-Velasco y Treviño ³ demostraron que las vesículas intranucleares son positivas a la reacción de fosfatasa ácida. Sin embargo, su función no ha sido dilucidada. En este trabajo informamos nuevos datos sobre las vesículas intranucleares, así como evidencias de un tipo diferente de vesículas intranucleares.

Material y métodos

Cultivo de trofozoítos. Los trofozoítos de la clona F1, aislado de la cepa HM1-IMSS-, se cultivaron axénicamente a 37°C en medio TYI-33².

Preparación de muestras para microscopía electrónica. Los trofozoítos de la clona F1 se lavaron 2 veces con solución salina amortiguada con fosfatos (PBS) a 37°C y se fijaron con glutaraldehído al 2.5% en solución amortiguadora de cacodilato de sodio (pH 7.4) por 1 hora a 37°C. Cuando las células fueron tratadas con RNAsa (1 mg/ml), esto se hizo después de la fijación a 37°C por 2 horas. Las células se desprendieron de la caja de cultivo con una espátula de hule, se postfijaron con tetraóxido de osmio al 1% en solución de cacodilato de sodio 0.1 M por una hora y se incluyeron en resina Epon. Se obtuvieron cortes finos que fueron contrastados con acetato de uranilo y citrato de sodio.

Resultados

Las vesículas intranucleares de *Entamoeba histolytica* se encontraron agrupadas y generalmente en la periferia del núcleo. Cuando éstas no estuvieron en la periferia, se encontraron asociadas al material nuclear periférico (Fig. 1).

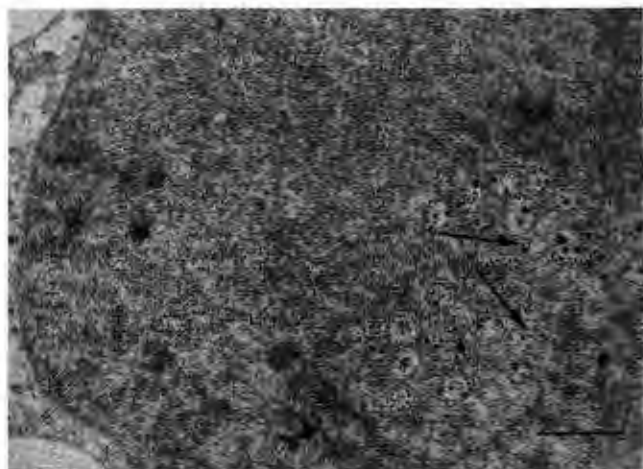


Figura 1.- Las vesículas intranucleares de la *E. histolytica* forman dos grupos. En el centro de uno de ellos se observa una vesícula en formación (flecha). La barra equivale a 1 μ m.

En la Fig. 1 se observa un núcleo amibiano que contiene una gran cantidad de vesículas intranucleares de varios tamaños, esféricas, con superficie irregular. Algunas de ellas muestran discontinuidad de su membrana, la cual es

doble y muy gruesa. En el interior de estas vesículas puede observarse material fibrilar y granular; este último es altamente electrodensito y está distribuido en forma irregular. Este material es de distinto tamaño y número y parece estar asociado a la membrana interna vesicular. Algunas de las vesículas presentan membrana sencilla (Fig. 1, flechas). El material fibrilar, que es menos denso que el granular, se encuentra en el centro de la vesícula.

Cuando las células fueron pretratadas con RNAsa, el material periférico del núcleo disminuyó (Fig. 2). Las vesículas intranucleares se tiñeron intensamente, sobre todo en las membranas. Asimismo, se pudo distinguir otro tipo de vesículas que no se sobretintaron, que eran esféricas, de membrana sencilla y lisa y que parecían contener porciones de material nucleoplásmico (Fig. 2, flechas).

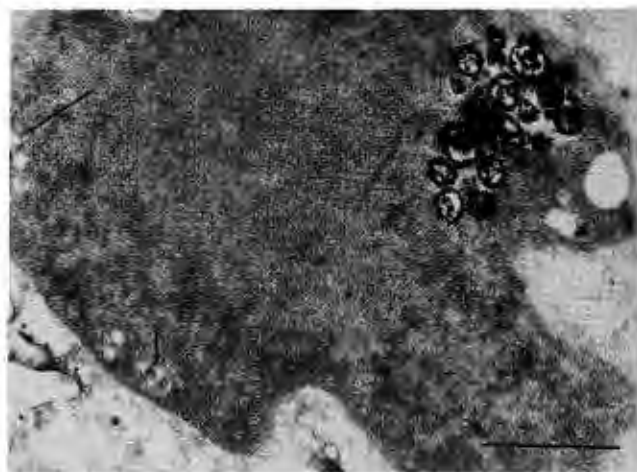


Figura 2.- Se muestran dos tipos diferentes de vesículas intranucleares de la *E. histolytica*: las teñidas intensamente después del tratamiento con RNAsa y las que no se sobretintaron (flechas). La barra equivale a 2 μ m.

En la Fig. 3 se muestra la posible formación de las vesículas intranucleares. Estas muestran discontinuidad en la membrana y parte del material interior se encuentra en el carioplasma (Fig. 3, flechas). En las membranas vesiculares se pueden observar microfibrillas (Fig. 3, puntas de flecha).

En la Fig. 4 se muestra un núcleo de *E. histolytica* en una etapa avanzada de la división nuclear. Se puede observar una gran cantidad de vesículas de doble membrana al lado de una haz de microtúbulos, que probablemente forman parte del huso mitótico.

Discusión

Zaman había informado que las vesículas o cuerpos



Figura 3.- Formación de las vesículas intranucleares. Las vesículas son discontinuas en la membrana y parte del material está en el carioplasma (flechas). En las membranas de algunas de ellas se observan microfibrillas (puntas de flecha). La barra equivale a $0.1 \mu\text{m}$.



Figura 4.- Vesículas en el núcleo en división. El núcleo amibiano se encuentra en una fase avanzada de su división. Un gran número de vesículas está junto a un haz de microtúbulos que forman parte del huso mitótico. La barra equivale a $1 \mu\text{m}$.

AGRADECIMIENTOS

A la C. Silvia Resendiz Pastrana por su apoyo secretarial en la transcripción del presente trabajo.

intranucleares se encontraban en la periferia del núcleo⁷. Nosotros hemos encontrado que las vesículas intranucleares generalmente se encuentran en la periferia del núcleo, sin embargo, se les observó también en el núcleo. Cuando no están en la periferia, se les encontró asociadas al material nuclear periférico, descrito por Albach como el equivalente al nucléolo de células superiores¹. Consideramos que algunas de las vesículas están en formación y no en disolución por las características de su membrana sencilla, así como por el hecho de que en el transcurso de nuestro trabajo sobre la división nuclear las vesículas aparecen al principio de la división nuclear e incrementan su número conforme avanza ésta.

Hemos observado que existen dos tipos distintos de vesículas: unas, que se tiñen frecuentemente después del pretratamiento de los trofozoítos con RNA (Fig.2), y las que no se tiñen tan intensamente después del pretratamiento (Fig.2, flechas). Estas últimas parecen contener en su interior material carioplasmático. Es posible que las vesículas sobreteñidas estén de alguna manera asociadas a RNA y que, al desaparecer éste, las vesículas estén más accesibles a los colorantes.

Creemos que las vesículas intranucleares presentes en *Entamoeba histolytica* pudieran estar jugando algún papel en la división nuclear de este parásito. Son necesarias un mayor número de pruebas para comprobar esta sugerencia.

Referencias

1. Albach, R.; Booden, T.; Boonlayangoor, P.; Downing, S.: Concepts of function of peripheral non-chromatin and endosome in *Entamoeba histolytica*. Archivos de Inves. Med. (México) 11 (supl 1): 63-74, 1980.
2. Diamond, L.; Harlow, D.; Cunnick, C.: A new medium for the axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* and other *Entamoeba*. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 72:431, 1978.
3. Feria-Velasco, A.; Treviño, N.: The ultrastructure of trophozoites of *Entamoeba histolytica* with particular references to spherical arrangements of osmiophilic cylindrical. J. Protozool. 19:200-211, 1972.
4. Lowe, C.; Macgregair, B.: Electron microscopy of *Entamoeba histolytica* in culture. Annals of Trop. Med. and Parasitol. 64:283-291, 1970.
5. Ludvik, J.; Shipstone, A.: The ultrastructure of *Entamoeba histolytica*. Bulletin WHO 43:301-308, 1970.
6. Orozco, E.; Solís, F.; Domínguez, J., Chávez, B.; Hernández, F.: *Entamoeba histolytica*: Cell cycle and nuclear division. Exp. Parasitol. 67:85-95, 1988.
7. Zaman, V.: The intranuclear bodies of *Entamoeba*. Int. J. of Parasitol. 3:243-251, 1973.