

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**  
Departamento de Anatomía Patológica e Histología



TESIS DOCTORAL

**Alteraciones anatomopatológicas observadas en bazo, hígado  
y riñón en el curso de la leishmaniosis visceral, experimental,  
en cricetos**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**José Luis González Arribas**

Madrid, 2015

José Luis González Arribas

TP  
1981  
192



x-53-111242-9

ALTERACIONES ANATOMOPATOLOGICAS OBSERVADAS EN BAZO, HIGADO  
Y RIÑON EN EL CURSO DE LA LEISHMANIOSIS VISCERAL,  
EXPERIMENTAL, EN CRICETOS

Departamento de Anatomía Patológica e Histología  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Complutense de Madrid  
1981



BIBLIOTECA

© José Luis González Arribas  
Edita e imprime la Editorial de la Universidad  
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía  
Noviciado, 3 Madrid-8  
Madrid, 1981  
Xerox 9200 XB 480  
Depósito Legal: M-31084-1981

Autor: JOSE LUIS GONZALEZ ARRIBAS

TITULO DE LA TESIS DOCTORAL:

ALTERACIONES ANATOMOPATOLOGICAS  
OBSERVADAS EN BAZO, HIGADO Y RIÑON  
EN EL CURSO DE LA LEISHMANIOSIS VISCERAL,  
EXPERIMENTAL, EN CRICETOS.

Director: EDUARDO GALLEGO GARCIA

Catedrático y Director del Departamento

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Veterinaria

Departamento de Histología y Anatomía

Patológica

Año 1981



A mis padres



I N D I C E

	<u>Pág.</u>
I. INTRODUCCION ... ..	1
II. REVISION BIBLIOGRAFICA ... ..	11
III. MATERIAL Y METODOS ... ..	25
IV. RESULTADOS ... ..	31
V. DISCUSION ... ..	66
VI. CONCLUSIONES ... ..	77
VII. RESUMEN ... ..	80
SUMMARY ... ..	81
VIII. BIBLIOGRAFIA ... ..	82
IX. AGRADECIMIENTO ... ..	95
X. ICONOGRAFIA	



## I. INTRODUCCION

Con el nombre general de Leishmaniosis se designa un grupo de enfermedades, tanto del hombre como de los animales domésticos, originadas por parásitos protozoarios del género Leishmania.

De acuerdo con la clasificación recomendada por un comité especial de la Sociedad de Protozoólogos (HONIGBERG et al., 1964) y posteriormente modificada por LEVINE (1970) (citados por CHENG, 1976), el género Leishmania pertenece a la familia Trypanosomatidae, orden Kinetoplastida, clase Zoostigophorea, superclase Mastigophora, subfylum Sarcomastigophora, fylum Protozoa.

A su vez dentro de este género Leishmania existen 4 especies distintas, agrupadas de la siguiente manera:

### 1º) Complejo Leishmania donovani:

Produce la Leishmaniosis visceral o Kala-azar. Subespecies:

- a) Leishmania donovani donovani:  
responsable del kala-azar indio.  
El hombre representa el único reservorio.
- b) Leishmania donovani chinensis:  
origina el Kala-azar chino.  
Es una enfermedad común tanto al hombre como al perro.
- c) Leishmania donovani chagasi:  
provoca el Kala-azar sudamericano.  
Afecta al hombre, perro y carnívoros salvajes.
- d) Leishmania donovani archibaldi:  
agente del Kala-azar africano.  
Interesa principalmente al hombre, encontrando algunos casos de carnívoros y roedores salvajes infectados.

- e) *Leishmania donovani infantum*:  
responsable del kala-azar mediterráneo.  
Afecta principalmente a los niños, actuando como reservorios el perro y carnívoros salvajes.

2º) Complejo *Leishmania trópica*:

origina la Leishmaniosis cutánea o Botón de Oriente.

Se distribuye geográficamente por Africa del Norte y Tropical, Europa Meridional y Oriente Medio.

Padecen la enfermedad tanto los niños menores de 3 años, como los adultos. Constituyendo los perros un reservorio importante. Subespecies:

- a) *Leishmania trópica minor*:  
produce el denominado "botón seco".  
Afección eminentemente urbana.  
Se reparte por la región mediterránea, Oriente Medio y Norte de India.
- b) *Leishmania trópica major*:  
produce el "botón húmedo".  
Afección rural.  
Se extiende por Asia Central y Sur de Rusia.  
Diversos roedores actúan como importantes reservorios.

3º) Complejo *Leishmania mexicana*:

responsable de lesiones cutáneas.

Afecta principalmente a los animales salvajes y con menor frecuencia al hombre. Subespecies:

- a) *Leishmania mexicana mexicana*:  
distribuida por el Sur de México y Guatemala.
- b) *Leishmania mexicana amazonensis*:  
difundida por la cuenca del Amazonas.

- c) *Leishmania mexicana pifanoi*:  
localizada en Venezuela.

4º) Complejo *Leishmania brasiliensis*:

provoca en el hombre lesiones muco-cutáneas. Subespecies:

- a) *Leishmania brasiliensis brasiliensis*:  
la enfermedad que origina se denomina "espundia".  
Actúan como reservorios los roedores silvestres, pe  
rro y gato.  
Se encuentra en Brasil, Paraguay y Norte de Argenti  
na.
- b) *Leishmania brasiliensis guyanensis*:  
extendida por Panamá, Costa Rica, Guayanas, Venezue  
la y Brasil.
- c) *Leishmania brasiliensis panamensis*:  
en Panamá y Costa Rica.

Desde un punto de vista clínico podemos clasificar la Leishmanio-  
sis en 2 tipos:

- a) Leishmaniosis visceral.
- b) Leishmaniosis tegumentaria, con 2 variantes:
  - forma exclusivamente cutánea
  - forma mucocutánea

La Leishmaniosis visceral es una zoonosis producida por la *Leish-*  
*mania donovani*, que afecta al hombre, perro y diversos animales salva  
jes, en la cual se observan alteraciones, preferentemente en órganos  
ricos en células integrantes del sistema retículo endotelial.

En relación con el ciclo biológico del parásito (*Leishmania dono-*  
*vani*), clásicamente se ha venido designando, como *Leishmania*, la fase  
intracelular en el hospedador vertebrado y leptomona, la fase extra-  
celular en el insecto vector.

HOARE y WALLACE (1966) realizan una modificación en la nomenclatura, basada en una característica morfológica y evolutiva esencial: la situación del flagelo (mastigote) respecto al cuerpo protozoario. Así adoptan el término amastigote para la forma intracelular y promastigote para la forma libre.

La fase infectante o promastigote, según RONDANELLI, presenta un cuerpo alargado, núcleo central y un flagelo libre de pequeño tamaño localizado en el extremo anterior del cuerpo.

La fase patógena o amastigote tiene forma redondeada u oval, de pequeño tamaño (1,5-4  $\mu$  de diámetro), observándose en las preparaciones coloreadas a base de las mezclas Romanovsky (fig. 1) un núcleo redondeado y proporcionalmente grande, un cinetoplasto y un flagelo reducido a una fina fibrilla totalmente incluida en el citoplasma y situado dentro de la bolsa flagelar.

Ultraestructura de la forma amastigote (fig. 140): presenta un núcleo en disposición central o dirigido hacia el polo caudal, con uno o dos nucleolos y cromatina condensada en la periferia.

El cuerpo protozoario está revestido por el periplasto, constituido por una membrana trilaminar de 70-100 Å de espesor (plasmalema) a la cual se encuentra adosado un monoestrato de microtúbulos (200-300 Å de diámetro) en sentido longitudinal, del polo caudal al cefálico, ausente a nivel de la pared interna de la bolsa flagelar (invaginación del periplasto que engloba al flagelo).

En la actualidad diferentes autores efectúan como método diferenciativo de especies, el recuento numérico de microtúbulos. Así GARDENER et al. (1977) estiman para la *Leishmania donovani*, un número aproximado entre 77 y 81, diferente a los valores obtenidos para la *Leishmania mexicana*, que varían entre 114 y 118. GARCOVICH et al. (1976) señalan 90 microtúbulos para la *Leishmania trópica*.

El plasmalema realiza un papel de transporte activo para el agua e iones, así como para el paso rápido por difusión del oxígeno, nitrógeno y anhídrido carbónico. En cuanto a los microtúbulos se les atribuye una función citoesquelética.

En el citoplasma encontramos retículo endoplásmico liso y rugoso, mitocondrias, complejo de Golgi, ribosomas libres, lisosomas y vacuolas digestivas.

Tiene gran importancia en la morfología de la *Leishmania donovani*, el aparato cineto-flagelar, localizado en el polo apical y constituido por el cinetoplasto y el blefaroplasto o gránulo basal, del cual nace el flagelo.

El blefaroplasto, localizado en la base del flagelo, aparece representado por una estructura cavernosa cilíndrica de 200-250 nm de diámetro y 600-700 nm de longitud, constituida por 9 tripletes de microtúbulos dispuestos circularmente.

El flagelo propiamente dicho o axonema, revestido por una fina envoltura citoplásmica, está compuesto de una estructura cilíndrica en la cual se observan 9 pares de microtúbulos en disposición circular y un par ocupando el eje central (9+2).

Próximo al blefaroplasto se encuentra el cinetoplasto, dispuesto perpendicularmente respecto al eje longitudinal del complejo flagelar. Esta estructura representa una expansión mitocondrial provista de crestas y con una matriz rica en ADN (banda filamentosa electrónicamente densa) y ARN en forma de finos gránulos; presentando, por tanto, una autonomía metabólica ligada a la presencia de enzimas de la cadena respiratoria y un sistema genético extranuclear integrado en la actividad de síntesis proteica.

En cuanto a los orígenes de la enfermedad fueron LEISHMAN y DONOVAN (1903), quienes comprueban por primera vez la presencia de un pequeño corpúsculo ovoide (que interpretaron como parásito) en células esplénicas procedentes de un soldado enfermo. En ese mismo año LAVERRAN y MESNIL (1903) (citados por DEDET, 1976) denominan a esta forma parasitaria *Leishmania donovani* en honor a sus descubridores.

Unos años más tarde NICOLLE y COMTE (1908) en Túnez, describen el primer caso de Leishmaniosis visceral canina, advirtiendo la presencia de parásitos en la médula ósea, bazo e hígado del animal enfermo.

A partir de aquel momento el perro es considerado un eslabón importante en el mecanismo de contagio, observándose con el transcurso de los años el valioso papel que desempeña este animal en la transmisión de la enfermedad.

En la actualidad se considera la Leishmaniosis canina como una forma viscerocutánea, en la que predominarían según los casos, las alteraciones cutáneas o las viscerales.

Según DEDET (1976) la Leishmaniosis visceral se encuentra distribuida geográficamente entre el paralelo 30 latitud sur y el paralelo 45 latitud norte (fig. 2). Afecta a cuatro continentes (Europa, Asia, Africa y América), en los que aparece repartida en una serie de focos donde la enfermedad evoluciona según el siguiente esquema epidemiológico:

a) Foco indio:

es endémica en la zona este del subcontinente indopakistaní (Madrás, Bangladesh, etc.), mientras que aparecen casos esporádicos en regiones del oeste y del norte (Bombay, Cachemira, etc.).

El hombre representa el único reservorio.

b) Foco chino:

se encuentra en las provincias del norte del Yank Tse Kiang.

El perro constituye un importante reservorio.

c) Foco de Asia central:

de forma endémica en el sur de Rusia, extendiéndose al Próximo Oriente (Irán, Turquía, Irak) donde entra en contacto con el foco mediterráneo.

Actúan como hospedadores el hombre, perro y carnívoros salvajes (lobo y chacal).

d) Foco este-africano:

localizado en Sudán y Kenia. Con menor extensión aparece en Etiopía, Somalia y Uganda.

Afecta preferentemente al hombre, aun cuando se encuentran algunos casos de carnívoros y roedores salvajes infectados.

e) Foco sudamericano:

aparece endémica en el nordeste de Brasil y norte de Argentina. Esporádicamente en casi todos los países de América del sur y América central, Antillas y México.

El perro y carnívoros salvajes juegan un papel importante - tanto en el mantenimiento de la enfermedad como en su transmisión al hombre.

f) Foco mediterráneo:

se distribuye por los países de la ribera mediterránea: Argelia, Túnez, Turquía, Grecia, Malta, Yugoslavia, Italia, Francia y España. El autor incluye también a Portugal y cita así mismo la aparición de casos esporádicos en Rumanía, Bulgaria y Hungría, aunque geográficamente no sean mediterráneos.

La enfermedad afecta principalmente a los niños, actuando -

como importantes reservorios el perro y los carnívoros salvajes.

La difusión de la Leishmaniosis visceral canina en nuestro país, desde sus primeras observaciones debidas a PITTALUGA (1913) (citado por ZAMARRO DE ANTONIO, 1965) y TRIGO MEZQUITA (1916) (citado por CARDA APARICI, 1949), hasta el momento actual, ha ido en aumento debido en parte al mayor número de perros afectados cada año.

ZAMARRO DE ANTONIO (1965) realiza una distribución geográfica de la Leishmaniosis canina, describiendo las provincias afectadas y comprobando su concordancia con la extensión topográfica del Kala-azer. Este autor señala como exentas de la enfermedad, la zona norte (Galicia, Asturias, Santander, País Vasco y Navarra), parte de Castilla la Vieja (Burgos, Soria, Segovia y Avila), Albacete, Cuenca, Zaragoza y Teruel.

Con relación al área de Madrid, hay que indicar la presencia de un foco endémico, reseñado con anterioridad por RIVERA BANDRES (1933) (citado por ZAMARRO DE ANTONIO, 1965), SANCHEZ BOTIJA (1936), CARDA APARICI (1949), GONZALEZ ROMERO (1955) y que en la actualidad se mantiene e incluso ha incrementado.

La importancia de la Leishmaniosis radica principalmente en su aspecto sanitario, ya que constituye una zoonosis y por tanto un proceso morboso en el que existe relación hombre-animal y viceversa, bien sea directamente o a través de reservorios y vectores.

Considerable significación tiene en nuestros días esta enfermedad, al no estar incluida entre las de declaración obligatoria (según el reglamento de epizootias), ya que no existe una normativa para su control o erradicación. Así podemos comprobar cómo los métodos de lucha, bien sea frente a los reservorios (carnívoros salvajes, roedores y ps

rrro) o vectores intermediarios (flebotomo y demás ectoparásitos), resultan poco eficaces.

Tiene particular interés en el mantenimiento y difusión de la Leishmaniosis, el incremento de la población canina a nivel de grandes urbes, así como su traslado de unas zonas a otras, principalmente del interior a la costa mediterránea.

La realización del estudio experimental de la enfermedad en cricetos viene justificada por una serie de factores a tener en cuenta, como son: la posibilidad de seleccionar grupos homogéneos y representativos de animales, con una serie de caracteres comunes (edad, peso, raza, etc.), que se complementa con la facilidad en el manejo y en la utilización de medios materiales.

Por otra parte según indica CHENG (1976), el criceto es el animal predilecto en la Leishmaniosis experimental, ya que presenta una gran receptividad y no desarrolla, con la edad, resistencia a la infección. Además de no adquirir inmunidad natural aun cuando las inoculaciones no se realicen con éxito.

Mediante este procedimiento experimental podemos observar la evolución de las lesiones, desde los primeros estadíos hasta el final de la enfermedad. Evitando la dificultad que entraña el estudio de la Leishmaniosis natural.

La finalidad del presente trabajo radica en el estudio estructural y ultraestructural de las lesiones que se advierten en bazo, hígado y riñón en el curso de la Leishmaniosis experimental. La elección de estos órganos está fundamentada, por un lado, en la importancia que tienen tanto el hígado como el bazo en el desarrollo de la

enfermedad, ya que poseen gran número de células pertenecientes al - S.R.E. y, por otro, la especial atención a la patología renal en este proceso, por parte de distintos autores, en estos últimos años.

En consecuencia, el objetivo que pretendemos con esta tesis, radica en realizar una auténtica valoración de los resultados experimentales basados en el dominio y aplicación de las técnicas histológicas junto a una interpretación de las lesiones observadas, más detenidamente elaborada.

## II. REVISION BIBLIOGRAFICA

Hemos creído oportuno, para una mejor interpretación de los resultados obtenidos por los diferentes autores, realizar la revisión bibliográfica correspondiente a cada uno de los órganos objeto de estudio, de manera independiente; para obtener de esta forma una visión más clara y concreta del problema.

En consecuencia procederemos a un profundo y detallado análisis de los aspectos histopatológicos abordados por los diversos patólogos y de todas aquellas cuestiones que nos interesen y pueden conducirnos a resultados científicamente válidos.

### 1. Bazo

La primera descripción histopatológica de la Leishmaniosis visceral en personas que presentaban una esplenomegalia, se debe a CHRISTOPHERS (1904). Observa este autor la presencia y multiplicación del parásito en células fagocíticas, así como la proliferación intracitoplásmica de las leishmanias, produciéndose finalmente la rotura celular y consecuente liberación de las formas parasitarias.

LAVERAN (1917) comprueba como en casi todos los casos positivos - observados, bien sea en el hombre o en el perro, el bazo se encuentra afectado.

Años más tarde, YOUNG et al. (1924) efectúan la primera experiencia con hamsters variedad china, inoculando intraperitonealmente formas aflageladas de *Leishmania donovani*, observando la susceptibilidad de estos animales para la infección.

En un estudio histopatológico comparativo de la enfermedad realizado por MELENEY (1925), advierte en el bazo de cricetos infectados, la presencia de unas células fagocitarias cargadas de parásitos, a -

las que denomina clasmatocitos. Estas a medida que avanza el proceso, adquieren mayor tamaño y ocupan prácticamente toda la pulpa, reemplazando parcialmente los folículos linfoides.

DONATIEN y LESTOGUARD (1929) observan en el bazo de perros afectados con Leishmaniosis visceral, la presencia de grandes células - blancas mononucleares frecuentemente parasitadas.

Con posterioridad GELLHORN et al. (1946) estudian en hamsters, - la amiloide depositada alrededor de los corpúsculos de Malpighi y en el interior de la pulpa roja, rodeando las células fagocitarias que contienen parásitos.

El engrosamiento de la cápsula y reblandecimiento de la pulpa es plénica, en fases avanzadas del proceso, son reseñados por SANTIAGO LUQUE (1948) en un estudio sobre Leishmaniosis canina.

Alteraciones esenciales observadas en estados crónicos por SEN - GUPTA et al. (1951), son la proliferación de clasmatocitos parasitados en pulpa roja, dilatación de los sinusoides conteniendo gran cantidad de hematies y macrófagos, presencia de linfocitos y células - plasmáticas, atrofia de los corpúsculos de Malpighi y engrosamiento de la cápsula y trabéculas constituidas casi exclusivamente por tejido fibroso.

En un estudio sobre la patogeneidad e histopatología de la infección del hamster dorado, por la Leishmania donovani, LUPASCO et al. (1961) describen un estado inicial caracterizado por hiperplasia de elementos retículo-endoteliales de los sinusoides, aumento de células plasmáticas en pulpa roja e hipertrofia de los corpúsculos de - Malpighi. En estados avanzados encuentra una hiperemia acentuada, células reticulares voluminosas conteniendo gran cantidad de parásitos, atrofia acusada de los corpúsculos de Malpighi y un moderado engrosamiento de la cápsula esplénica.

En el mismo año, CHADLI et al. (1961) exponen la importancia del sistema retículo histiocitario en el curso de la Leishmaniosis visceral; concretamente en el bazo se produce una hiperplasia e hipertrofia de las células reticulares llegando a adquirir estas un carácter histiocitario con función macrofágica. Estos elementos parasitados son a menudo de gran tamaño, presentan un contorno más o menos neto, citoplasma vacuolar y un núcleo ovoide.

CAZAL et al. (1962) indican la presencia de infiltrados histiocitarios en los cordones de la pulpa roja, que corresponde a la fase virulenta en la cual el parásito se multiplica abundantemente. Al mismo tiempo observan formaciones granulomatosas linfo-plasmocitarias en relación con reacciones de tipo inmunitario.

Un estudio morfológico de 13 casos con Kala-azar realizados por ANDRADE et al. (1966), permite observar 3 tipos fundamentales de alteraciones:

- a) proliferación macrofágica difusa o focal, infiltración linfocitaria y plasmocitosis.
- b) Depósito de material hialino que muestra positividad al rojo Congo y al PAS, localizado en folículos linfoides.
- c) Proliferación y tumefacción de células endoteliales en los sinusoides del bazo.

Trabajos más recientes efectúan CONROY et al. (1970), en un zorro con Leishmaniosis, donde describen una hiperplasia reticuloendotelial junto a una deplección de linfocitos maduros. Así mismo WINSLOW (1971) destaca en los procesos crónicos de la enfermedad en el hombre, fibrosis y degeneración hialina en el bazo.

Una breve descripción de la Leishmaniosis visceral canina realizan LENNOX et al. (1972), confirmando las observaciones hechas con anterioridad por RAFYI et al. (1968) y BORDOSKI et al. (1970), indican-

do un incremento de proteínas totales y  $\gamma$  globulinas séricas así como un descenso en la fracción albúmina. Histológicamente observan la proliferación de histiocitos y células reticulares parasitadas, linfocitos y plasmocitos.

VERESS et al. (1974) advierten en los folículos esplénicos el acúmulo de un material extracelular homogéneo, eosinófilo, PAS +, que sin embargo es negativo al rojo Congo y no metacromático. Su origen puede estar en un incremento de la permeabilidad vascular, debido a una vacuolización y tumefacción de las células endoteliales como consecuencia de una reacción antígeno-anticuerpo.

Continúan las investigaciones morfológicas por parte de diferentes autores, ya sea ratificando resultados obtenidos con anterioridad, DIEBOLD (1974), PAMPIGLIONE et al. (1974), RANQUE et al. (1974) y MILLIN et al. (1975) o aportando nuevas observaciones, tal es el caso de GILES et al. (1975) que comprueba en el bazo de un perro, la presencia de focos granulomatosos diseminados, constituidos por células gigantes, macrófagos y algunos polimorfonucleares. Asimismo, QUENUM et al. (1976) afirman que los granulomas producidos por la Leishmania donovani consisten en fenómenos de necrosis, reacciones tipo histiocitario y macrófagico, junto a una eosinofilia tisular.

Un importante avance en el conocimiento de la enfermedad, llevan a cabo GEORGE et al. (1976) y CORBEIL et al. (1976) estudiando en perros con Leishmaniosis visceral, la presencia de amiloide en pulpa blanca (bazo en sagó), pulpa roja y rodeando arterias y arteriolas esplénicas. En cuanto al origen de esta sustancia, CORBEIL et al. ratifican las teorías emitidas con anterioridad por TEILUM (1964), quien afirma que su producción se debe a células reticuloendoteliales pironinófilas incluyendo plasmocitos. FRANKLIN et al. (1972) opinan que una hiperestimulación del sistema inmunitario conduce a la -

formación de amiloide, apareciendo fibrillas intracitoplasmáticas, - cerca del complejo de Golgi en células reticuloendoteliales, monocitos y células plasmáticas. GLENER et al. (1973) comprueban cómo ciertos estímulos antigénicos producen inmunoglobulinas alteradas que conducen a la producción de sustancia amiloide, señalando la presencia de un material fibrilar con un espesor entre 80 y 100 Å, localizado en el interior de células plasmáticas.

Recientemente VERESS et al. (1977) en un estudio morfológico del bazo, sobre 20 casos analizados en el hombre, revelan una marcada reducción de linfocitos en pulpa blanca, acompañada de proliferación histiocitaria y de plasmocitos; mantienen 2 mecanismos en cuanto al origen de esta disminución linfocitaria, por un lado la aparición de un anticuerpo antilinfocítico y por otro el exceso en el organismo de un antígeno leishmanial que interferiría la respuesta inmunocelular, manifestándose morfológicamente por el acúmulo de sustancia hialina extracelular.

Finalmente hay que hacer particular mención a las investigaciones realizadas en el estudio de la Leishmaniosis visceral canina por TRYPHONAS et al. (1977) y ANDERSON et al. (1980), advirtiendo alteraciones a nivel de pulpa roja, caracterizadas por un aumento de macrófagos cargados de parásitos y hemosiderina; escasa densidad celular en pulpa blanca junto a una hialinosis intrafolicular y engrosamiento de la cápsula que presenta infiltrados histiocitarios con formas parasitarias intracelulares.

## 2. Hígado

Las primeras observaciones de las alteraciones hepáticas en el curso de la Leishmaniosis visceral, se deben a CHRISTOPHERS (1904), quien sostiene la teoría de que los cambios observados en el tejido

hepático se deben principalmente a la presencia y multiplicación del parásito en las células endoteliales del hígado.

Será MELENEY (1925) quien realice el primer estudio histopatológico profundo, tanto en animales de experimentación como en el hombre. En el hamster observa a los 6 días de la infección algunas células de Kupffer conteniendo un pequeño número de parásitos; 4 meses después - aparecen células endoteliales parasitadas en mayor cantidad y macrófagos con leishmanias en los espacios porta. Transcurridos 455 días, la arquitectura lobulillar del órgano es confusa, las células hepáticas muestran distintos grados de degeneración e incluso de parasitación; en algunas áreas, prácticamente, no quedan hepatocitos apreciándose un tejido compuesto casi exclusivamente por células endoteliales hipertrofiadas con gran cantidad de parásitos que "flotan como globos" en los grandes espacios sanguíneos.

Este mismo autor comprueba cómo en el hombre aparece una masiva infiltración grasa, sobre todo alrededor de las venas centrolobulillares; las células de Kupffer se encuentran tumefactas y parasitadas, no mostrando los espacios porta infiltración celular.

Continuando con el estudio experimental de la enfermedad en hamsters variedad dorado, GELLHORN et al. (1946) verifican cómo a medida que avanza el grado de infección, el depósito de amiloide aumenta - guardando íntima relación con el descenso de albúmina plasmática e - incremento de la fracción globulina. Esta sustancia se depositaría - debajo del endotelio y venas portas, alrededor de fagocitos cargados de parásitos y ocasionalmente dentro del parénquima hepático.

Años más tarde GLEISER et al. (1957) indican la presencia de infiltrados linfocitarios y células plasmáticas junto con células de Kupffer repletas de hemosiderina. No observan zonas de necrosis, pe-

ro sí procesos degenerativos en los hepatocitos, demostrables por la diferente afinidad tintorial a los colorantes.

Siguiendo la línea de trabajo experimental, llevada a cabo por - anteriores investigadores, LUPASCO et al. (1961) infectan un lote de 46 hamsters estudiando la patogeneidad frente a la *Leishmania donovani*. Sus resultados son los siguientes: durante la fase inicial, cuando los parásitos no son detectables tanto en secciones como en imprints, las modificaciones histopatológicas se caracterizan por una hiperplasia moderada de las células de Kupffer, discreta vasodilatación de capilares sinusoides y ligera proliferación de histiocitos, linfocitos y plasmocitos en espacios portas.

En un estado más avanzado, hay un incremento en número y tamaño - de las células de Kupffer, vasodilatación acentuada, aumento en espacios Kiernan de elementos histiocitarios, linfocitos y células plasmáticas, así como alteraciones citoplásmicas de los hepatocitos, caracterizadas por vacuolizaciones alrededor de la vena centrolobulillar y más raramente en torno a la vena porta. Advierten la presencia de parásitos en histiocitos, células de Kupffer e incluso dentro de las células parenquimatosas hepáticas.

Simultáneamente CHADLI et al. (1961) y RODRIGUES DA SILVA et al. (1961) comprueban, en el hombre, una serie de cambios parenquimatosos caracterizados por degeneración hidrópica y atrofia en pequeños grupos celulares, esteatosis en algunos casos y al menos con la técnica de PAS no evidencian descenso del glucógeno. Asimismo aprecian modificaciones mesenquimatosas definidas por una hiperplasia e hipertrofia de las células de Kupffer, infiltración portal de linfocitos, - histiocitos y plasmocitos, proliferación de colágeno rodeando algunos grupos celulares y formación de granulomas.

Opinan CAZAL et al. (1962) que el granuloma histio-linfo-plasmocitario se encuentra habitualmente en el conjuntivo portal y con menor frecuencia se observan pequeños nódulos granulomatosos intralobulillares, entre las trabéculas hepáticas.

MIWA y TANIKAWA (1965) advierten en un joven de 14 años con Kala-azar, una marcada hipertrofia de las células de Kupffer con leishmanias en su interior. Con M/E. comprueban el deterioro de estas células así como las alteraciones de los hepatocitos próximos que presentan una atrofia de las microvellosidades y una tumefacción mitocondrial.

ANDRADE et al. (1966) describen una marcada infiltración plasmocitaria intraparenquimatosa difusa, formación de granulomas dispersos y discreta fibrosis portal acompañada de elementos histiocitarios, plasmocitarios y linfocíticos. Al mismo tiempo advierten el depósito de sustancia amiloide, positiva al rojo Congo, en los espacios de Disse.

RAFYI et al. (1968) en un estudio histopatológico de un perro con Leishmaniosis visceral, muestran la presencia de agregados celulares focales procedentes del S.R.E. conteniendo parásitos.

La presencia de células inflamatorias junto con macrófagos y algún eosinófilo en espacios portas, es puesta de manifiesto por WINSLOW (1971), indicando la posible formación de un estasis biliar. En el mismo año DENESBOD (1971) describe la ausencia de células gigantes en el proceso alterativo del hígado por la *Leishmania donovani*.

En un breve estudio de los aspectos ultraestructurales del hígado en el curso de la enfermedad en el hombre, TANIKAWA (1971) explica la presencia de células de Kupffer hipertrofiadas con las mitocondrias deformadas, retículo endoplásmico alterado y rupturas focales de la -

membrana celular. Los hepatocitos están en mayor o menor grado de degeneración, mostrando mitocondrias muy densas, retículo endoplásmico desordenado y aplanamiento de la membrana celular que contacta con - el espacio de Disse.

Observaciones posteriores efectuadas por VERESS et al. (1974) sobre 32 autopsias en hombre, ponen de manifiesto una vacuolización o - degeneración de las células de Kupffer e histiocitos del espacio porta, debido a una masiva parasitación. En algunos casos aparecen áreas de necrosis asociadas con un éstasis venoso. PAMPIGLIONE et al. (1974) ratifican estos resultados, afirmando que los focos necróticos, debidos al proceso alterativo y degenerativo del hepatocito, son más extenso.

Diversas alteraciones hepáticas en el curso de la Leishmaniosis - visceral canina son descritas sucesivamente por diferentes autores: - GILES et al. (1975) y MILLIN et al. (1975) destacan una infiltración plasmocitaria a nivel de la vena centrolobulillar y en el espacio porta. SANCHIS et al. (1976) evidencian una degeneración más o menos amplia del hepatocito. CORBEIL et al. (1976) observan en el interior de los sinusoides dilatados, células plasmáticas, linfocitos y neutrófi- los; en el espacio de Disse aparece depósito de amiloide que provoca una compresión y atrofia de los hepatocitos; las células de Kupffer - presentan en su citoplasma formas parasitarias junto a pigmento de - hemosiderina y los espacios portas contienen escasos macrófagos con - leishmanias y algún plasmocito ocasional.

Amiloidosis subcapsular con atrofia de trabéculas hepáticas y congestión generalizada, aparece en un perro de 2 años con Leishmaniosis, según un informe reseñado por GEORGE et al. (1976).

Simultáneamente NAIK et al. (1976) estudian 2 casos de Kala-azar en el hombre, observando la formación de granulomas nodulares en el -

hígado. QUENUM et al. (1976) describen en estos nódulos granulomatosos, reacciones de tipo macrofágico e histiocitario, fenómenos de necrosis y eosinofilia tisular.

Con posterioridad, RAVISSE (1978) señala la presencia en el parénquima hepático de un proceso inflamatorio de tipo medular, acompañado de una fibrosis intralobulillar discreta y esteatosis.

Antes de finalizar esta revisión relativa al hígado, consideramos interesante destacar los trabajos de TRYPHONAS et al. (1977) y ANDERSON et al. (1980) relativos a las modificaciones histopatológicas observadas en perros con Leishmaniosis visceral; comprueban la presencia de infiltrados linfo-plasmocitarios, congestión vascular, degeneración grasa y formación de granulomas constituidos por macrófagos parasitados que comprimen el parénquima hepático adyacente. Es característico la ausencia en estos granulomas de necrosis, células gigantes y tejido conjuntivo proliferado.

### 3. Riñón

Fue MELENEY (1925) quien realiza los primeros estudios anatomopatológicos en el riñón. Observa en hamsters que llevan 455 días infectados, procesos degenerativos en las células de los túbulos proximales junto a infiltrados clasmocitarios cargados de leishmanias en el tejido intersticial. Los glomérulos aparecen normales, salvo alguna distensión ocasional de la cápsula de Bowman, y los tubos colectores de la médula se encuentran en unas zonas dilatadas y en otras ocluidos.

Este autor señala, en los casos estudiados en el hombre, por un lado, la presencia de células parasitadas en la luz de los capilares glomerulares y por otro un contenido hemático en el interior de los

túbulos proximales.

Continuando con la Leishmaniosis experimental en hamsters, GELLHORN et al. (1946) demuestran mediante la técnica del rojo Congo, el depósito de amiloide entre el endotelio y la membrana basal del capilar glomerular. Asimismo advierten la presencia de pequeños acúmulos entre las células epiteliales y la membrana basal del epitelio tubular.

Los primeros informes sobre complicaciones glomerulares en Kala-azar humano, se deben a UEBEL (1951) y posteriormente BOGLIOLLO (1956) (citados por BRITO en 1975), quienes describen cambios glomerulonefróticos caracterizados por un engrosamiento irregular de la membrana basal, debido a una imbibición de material proteico.

GLEISSER et al. (1957) comprueban, en un perro de 4 años importado a Estados Unidos, la presencia de infiltrados linfocitarios tanto en la zona cortical como medular del riñón.

Breves descripciones realizadas por LUPASCO et al. (1961) en hamsters y CHAOLI et al. (1961) en el hombre, ponen de manifiesto la presencia de parásitos en células del S.R.E. durante la fase final de la infección. CAZAL et al. (1962) evidencian infiltrados plasmocitarios junto a histiocitos parasitados en el tejido conjuntivo intersticial.

Con posterioridad HINGLAIS et al. (1964) en hamsters infectados y sacrificados la 13ª semana, observan con M/E engrosamientos nodulares de pequeño tamaño en la membrana basal, junto a una hipertrofia de los espacios intercapilares debida a depósitos de sustancia amiloide que forman masas fibrilares situadas bajo el endotelio y entre las células intercapilares.

Un estudio histológico en 13 personas con Kala-azar, realizado por ANDRADE et al. (1966), les permitió advertir alteraciones glome-

culares representadas por una proliferación y tumefacción de las células endoteliales, simulando engrosamiento hialino de la membrana basal glomerular. Los túbulos, sin estar dilatados, contienen frecuentemente cilindros hialinos.

Tienen gran importancia en cuanto a la patogénesis de la amiloidosis renal, los trabajos previos efectuados por SHIRAMURA y SORENSON (1966), implicando a las células mesangiales como responsables en la formación de amiloide en el glomérulo y los de SHIBLET et al. (1967), suponiendo que en el espacio intersticial, entre los capilares y membranas basales de los tubos, se encuentran fibroblastos de elevada actividad secretora que intervendrían en la producción de dicha sustancia.

Particular significación tienen los estudios llevados a cabo, dentro de la Leishmaniosis visceral canina, por THERAN et al. (1967), indicando el depósito de amiloide entre la membrana basal y el endotelio glomerular y RAFYI et al. (1968) en un perro de 5 años, señalando un proceso de nefritis intersticial crónica.

En un detallado examen sobre la nefropatía del Kala-azar, ANDRADE e IABUKI (1972) describen alteraciones glomerulares caracterizadas por un espesamiento homogéneo y fibrilar del mesangio, sin modificaciones tanto en la membrana basal como en la población celular del glomérulo. Los capilares aparecen generalmente dilatados.

ROJAS AYALA (1973) estudia las alteraciones renales en la Leishmaniosis canina, comprobando en unos casos a nivel del glomérulo un espesamiento mesangial difuso, que se acompaña en otras ocasiones por una hiper celularidad generalizada del mesangio. Los túbulos contorneados proximales aparecen con un aspecto granular, conteniendo también vacuolas en el interior de las células epiteliales. Los tubos colecto

res presentan un material amorfo eosinofílico en su luz y en el tejido conjuntivo intersticial, tal como reseñaron LENOX et al. (1972), se aprecian infiltrados plasmohistiocitarios junto con linfocitos.

En el hombre y sobre 32 casos observados, VERESS et al. (1974) señalan la proliferación de células epiteliales del glomérulo, cuyo citoplasma aparece más o menos homogéneo y eosinófilo. El espacio mesangial se encuentra engrosado por el acúmulo de un material ácido y la membrana basal se manifiesta ocasionalmente hipertrófica. Asimismo mencionan la aparición de pielonefritis aguda y crónica en alguno de los casos examinados.

DE BRITO et al. (1975), a partir de biopsias renales obtenidas de 3 pacientes con Kala-azar, indican una ligera hipertrofia e hiperplasia de las células mesangiales sin alteración de la membrana basal. Con M/E detectan la presencia de unos depósitos electrodensos (inmunocomplejos) generalmente localizados en la membrana basal cerca de las células mesangiales y sobre la matriz del mesangio. Las células epiteliales de los túbulos proximales muestran abundantes estructuras ovals o redondeadas, electrónicamente densas.

Con respecto a las lesiones halladas en perros durante estos últimos años, MILLIN et al. (1975) y SANCHIS et al. (1976) indican la existencia de trastornos renales caracterizados por una glomerulonefritis membranosa. GEORGE et al. (1976) evidencian en un perro de 2 años, el depósito de amiloide tanto en los túbulos como en el glomérulo originándose una distensión de la cápsula y una marcada atrofia glomerular. Estas observaciones son corroboradas por CORBEIL et al. (1976), que a su vez advierten la presencia de cilindros proteicos en el interior de los túbulos. Por último TRYPHONAS et al. (1977), en un perro de 6 años, evidencian un engrosamiento de la cápsula de Bowman y una ligera hiperplasia de las células mesangiales; degene-

ración vacuolar en las células epiteliales de los túbulos proximales, acúmulo de material amorfo eosinófilo en la luz tubular y fibrosis intersticial unida a una proliferación de linfocitos y algún plasmocito.

Como colofón a todas estas investigaciones WEISENGER et al. (1978), mediante biopsia renal practicada a un joven de 19 años, observan con microscopía óptica la proliferación de células mesangiales e incremento de la matriz del mesangio, con obliteración de algunos capilares; la membrana basal aparece intacta. El intersticio muestra un incremento del tejido conectivo, especialmente alrededor del glomérulo y vasos sanguíneos. Con M/E detectan un espesamiento irregular de la membrana basal con depósitos electrodensos subendoteliales e intramembranosos y sobre algunas zonas de la matriz mesangial.

Para complementar esta revisión hemos consultado una serie de libros actuales tanto de Medicina humana como de Veterinaria; sin embargo, debido por un lado a la brevedad de sus descripciones y por otro a que sus observaciones coincidan con la mayor parte de los estudios efectuados con anterioridad por otros autores, creemos conveniente, por su escasa significación para nuestros propósitos, incluirlos tan sólo en la bibliografía final.

### III. MATERIAL Y METODOS

#### Animales de experimentación

Se utilizaron para la experiencia cricetos variedad dorada o de Siria (*Mesocricetus auratus*), con una edad aproximada entre 10-12 semanas y un peso medio de 100 gr.

El número de animales fue 76, de los cuales el 50 % fueron machos y el otro 50 % hembras.

Los cricetos se mantuvieron en el vivero del Departamento, acondicionado convenientemente, en jaulas transparentes, con bebederos y comederos independientes y regulación térmica controlada.

La alimentación consistió en pienso comercial Sanders, para roedores, y dieta complementaria a base de lechuga, zanahoria y semillas de girasol; agua de bebida ad libitum.

Los animales de experimentación se distribuyeron en 3 lotes diferentes, con objeto de inocular a los componentes de un lote con dosis de concentración baja, lote A; un segundo lote de cricetos destinados a infección con concentración alta (lote B) y un tercer lote en calidad de testigo (lote C).

#### Material infectante

El material de inoculación fue preparado a partir de un fragmento de bazo, de un perro que previamente se había diagnosticado como positivo de Leishmaniosis, mediante punción biopsica medular. Tras la homogeneización del mismo en solución salina fisiológica, se determinó la cantidad total de parásitos del inóculo, utilizando el método de STAUBER (1955), revisado por GIANNINI (1974) y SMPKOVSKI (1977). Esta

ESQUEMA DE LA EXPERIENCIA

Lotes	Grupos	Nº animales	Concentración amastigotes inoculados	Sacrificio (días)	Grupos estudio histopatológico
A	A-1	5	2 x 10 <sup>3</sup>	15	A-1
	A-2	5	2 x 10 <sup>3</sup>	30	A <sub>1</sub> A-2
	A-3	5	2 x 10 <sup>3</sup>	60	A-3
	A-4	5	2 x 10 <sup>3</sup>	120	A <sub>2</sub> A-4
	A-5	5	2 x 10 <sup>3</sup>	240	A <sub>3a</sub> A-5
	A-6	5	2 x 10 <sup>3</sup>	320-340*	A <sub>3b</sub> A-6
B	B-1	5	1 x 10 <sup>5</sup>	15	B-1
	B-2	5	1 x 10 <sup>5</sup>	30	B <sub>1</sub> B-2
	B-3	5	1 x 10 <sup>5</sup>	60	B <sub>2</sub> B-3
	B-4	5	1 x 10 <sup>5</sup>	120	B-4
	B-5	5	1 x 10 <sup>5</sup>	150	B <sub>3a</sub> B-5
	B-6	5	1 x 10 <sup>5</sup>	170-185*	B <sub>3b</sub> B-6
C (testigo)	---	16	-----	2 animales por grupo de sacrificio	

\* Sacrificados, en el plazo que se indica, por encontrarse en situación clínica muy grave.

valoración fue estimada mediante la fórmula siguiente:

$$N T P = \frac{\text{n}^\circ \text{ de parásitos (amastigotes)}}{\text{n}^\circ \text{ de células nucleadas}} \times \text{peso órgano} \times 200.000$$

(mg.)

N T P= número total de parásitos

La relación número de parásitos (amastigotes)/número de células nucleadas se obtuvo tan pronto como uno de los dos recuentos llegase a mil.

#### Inoculación

A los animales del lote A se les administró 1 ml. del material infectante por vía intraperitoneal, con una concentración de  $2 \times 10^3$  amastigotes.

El lote B fue infectado con dosis de 1 ml., vía intraperitoneal, que contenía  $1 \times 10^5$  amastigotes.

#### Sacrificio

Con anterioridad al sacrificio se realizó una toma de sangre, en el seno orbitario, de todos y cada uno de los animales, utilizando capilares no heparinizados de microhematocrito.

El suero se obtuvo por centrifugación a 11.000 rpm. durante 10 minutos. A partir del suero se determinaron proteínas totales por refractometría óptica y se llevó a cabo la electroforesis de las proteínas séricas, según técnica convencional. La lectura fue realizada en un densitómetro óptico.

Los animales de los distintos lotes, fueron sacrificados mediante

decapitación, previa anestesia general con éter etílico anestésico.

Todos los sacrificios se realizaron entre las 16-17 h. del día correspondiente.

#### Toma de muestras

Una vez sacrificados los animales se procedió inmediatamente a realizar la necropsia de acuerdo con la técnica clásica; se seleccionaron los órganos objeto de estudio.

A continuación obtuvimos las piezas correspondientes, cuyas dimensiones oscilaron entre 0,5-1 cm. de grosor.

Las muestras destinadas a microscopía electrónica, tomadas de distintas zonas y constituidas por fragmentos de 2 mm. de espesor, aproximadamente, se extrajeron con la rapidez requerida.

#### Fijación

##### Microscopía óptica:

Las muestras de hígado, riñón y bazo, se sometieron a un proceso de prefijación con formol al 4 %, durante 24 horas. Una vez transcurrido este tiempo se introdujeron en formol al 10 %, manteniéndose aquí hasta su posterior inclusión. También se utilizaron como fijadores, alcohol 96° y líquido de Bouin.

##### Microscopía electrónica:

Las muestras obtenidas, tal como se indicó anteriormente, fueron troceadas y talladas en fragmentos más pequeños y fijadas en Buffer-Millonig-glutaraldehído al 3 %, refijándose en tetróxido de osmio, según técnica convencional.

### Inclusión y obtención de cortes

#### Microscopía óptica:

Las piezas se incluyeron en Paramat, con punto de fusión entre 56° y 57°, utilizando el procesador de tejidos automático Shandon-Elliot - modelo Bench SCE 0400.

Los cortes se realizaron con un microtomo tipo Minot de Leitz y su espesor osciló entre 3 y 5  $\mu$ . Las secciones en congelación, de 10  $\mu$ , se obtuvieron en un microtomo de congelación Leitz.

#### Microscopía electrónica:

Las piezas fueron incluidas en Epon-Araldita, según técnica convencional. Los cortes se efectuaron con ultramicrotomo LKB III, siendo el espesor aproximado de 400-500 Å.

### Tinción

#### Microscopía óptica:

Como métodos de tinción generales se emplearon las técnicas de:

Hematoxilina-eosina

Método de Gallego (IV-variante)

Método tricrómico de Masson

Las técnicas específicas utilizadas fueron:

Método Sudán III

Método Carmin de Best

Método Azul Prusia

Método Rojo Congo

Método PAS

Método Plata Metenamina

Método May Grünwald-Giemsa

Método azul de metileno (para cortes semifinos de  $1\mu$  de espesor)

Microscopía electrónica:

Los cortes ultrafinos se contrastaron con citrato de plomo y acetato de uranilo, según técnica convencional.

#### Observación de las preparaciones

En microscopía óptica se observaron en un microscopio Ortoplan de Leitz, acoplado el sistema para luz polarizada.

El microscopio electrónico utilizado fue el modelo Jeol 100 B del servicio de Microscopía Electrónica de la Facultad de Veterinaria de Madrid.

#### Iconografía

Para la realización de fotografías macroscópicas se utilizó una máquina modelo Minolta.

Las microfotografías se obtuvieron en un microscopio Ortoplan provisto de cámara Orthomat transistorizada.

Las micrografías electrónicas fueron realizadas en un microscopio electrónico Jeol 100 B provisto de un sistema fotográfico con placas de 6 x 9 cm. y película rígida especial para M/E.

#### IV. RESULTADOS

Como ya se expuso en el capítulo de Material y Métodos, hemos realizado dos experiencias, con diferentes dosis de inoculación en cada una de ellas, que corresponden a los lotes A y B.

##### Experiencia con dosis de inoculación baja:

- grupo A<sub>1</sub> : animales poco afectados
- " A<sub>2</sub> : animales medianamente afectados
- " A<sub>3a</sub> : animales notablemente afectados
- " A<sub>3b</sub> : animales muy afectados (presentaban decaimiento general, inmovilidad notable y una ascitis muy marcada).

##### Experiencia con dosis de inoculación alta:

- grupo B<sub>1</sub> : animales poco afectados
- " B<sub>2</sub> : animales medianamente afectados
- " B<sub>3a</sub> : animales notablemente afectados
- " B<sub>3b</sub> : animales muy afectados (Fig. 3 ) (mostraban decaimiento general, inmovilidad notable y una ascitis muy marcada).

Por otra parte, el orden de exposición de los resultados, se establecerá por órganos, siguiendo los mismos pasos que se utilizan en la revisión bibliográfica.

#### BAZO

##### Grupo A<sub>1</sub>:

el estudio anatomopatológico del bazo tanto macroscópico como histológico no revela la presencia de alteraciones dignas de reseñarse (Fig. 6 ).

##### Grupo A<sub>2</sub>:

macroscópicamente se observa una esplenomegalia manifiesta.

El estudio histológico revela alteraciones en los corpúsculos de Malpighi, destacando la presencia de pequeñas zonas claras en la pulpa blanca, en los cortes teñidos con H.E.; tales zonas corresponden a focos de hiperplasia de elementos reticulares con muy escasos linfocitos; debe destacarse la presencia de amastigotes en el citoplasma de las células reticulares. En el corpúsculo de Malpighi aparecen también algunos eosinófilos y plasmocitos (Fig. 7 ).

En la pulpa roja se encuentran ciertas agrupaciones linfo-histio-plasmocitarias y algún leucocito eosinófilo (Figs. 8, 9); aparecen también macrófagos y células gigantes multinucleadas, conteniendo Leishmanias intracitoplásmicas ambos tipos celulares (Fig. 10 ).

Con la técnica del rojo Congo se observa una positividad muy discreta en algunas zonas periféricas de la pulpa blanca.

#### Grupo A<sub>3a</sub>:

macroscópicamente se mantiene la esplenomegalia observada en el grupo anterior.

Histológicamente destaca la existencia de una amiloidosis muy notable tanto en la pulpa roja como en la zona periférica de la pulpa blanca, donde también penetra discretamente en el interior de los corpúsculos (Fig. 11 ); la técnica del rojo Congo y luz polarizada evidencia claramente estos aspectos.

Se comprueba en pulpa blanca la atrofia de los corpúsculos de Malpighi (Fig. 12 ) y la disminución de elementos linfocitarios junto a una hiperplasia de células reticulares (Fig. 13 ).

La pulpa roja, además de la presencia de sustancia amiloide, se muestra muy pobre en células nucleadas y contiene un gran número de glóbulos rojos (Fig. 14 ); los elementos macrofágicos de la pulpa roja presentan Leishmanias en su citoplasma. Se observan algunos infil-

trados linfo-histio-plasmocitarios y leucocitos eosinófilos.

Apreciamos en este grupo, una periesplenitis focal, en cuyos focos inflamatorios, dispuestos sobre la cápsula, encontramos linfocitos y macrófagos cargados de parásitos (Fig. 15 ).

Las improntas obtenidas de los bazos, teñidas por la coloración de May Grünwald-Giemsa, muestran claramente la presencia de Leishmanias dentro del citoplasma de los macrófagos (Fig. 16 ).

#### Grupo A<sub>3L</sub>:

el bazo muestra un mayor grado de esplenomegalia que en los grupos anteriores.

En la observación microscópica de los cortes, destaca el notable predominio de la pulpa roja, sobre una pulpa blanca disminuida, limitada a corpúsculos de diámetro reducido. Se advierte una amiloidosis notablemente más intensa que en las fases anteriores, que ocupa la pulpa roja, rodea la pulpa blanca y se sitúa en su zona periférica penetrando, en parte, en el interior de los corpúsculos de Malpighi (Fig. 17 ).

Las células reticulares, tanto en la pulpa blanca como en la roja muestran parásitos en su citoplasma, siendo más abundantes en la pulpa roja donde aparecen grandes cantidades de ellos, incluso en localización extracelular (Fig. 18 ). También en la pulpa roja se observan infiltrados linfo-histio-plasmocitarios (Fig. 19 ) y hemosiderosis evidente demostrable con la técnica del Azul de Prusia.

Finalmente destaca la existencia de nódulos inflamatorios sobre la cápsula esplénica, que en algunos casos confluyen en una amplia zona de periesplenitis, integrados por linfocitos, histiocitos, plasmocitos, algún eosinófilo y evidentes neovasos (Fig. 20 ).

Grupo B<sub>1</sub>:

el bazo presenta ya, en el primer sacrificio, una discreta esplenomegalia.

Histológicamente se observa un predominio muy notable de la pulpa roja sobre la pulpa blanca; en la primera destacan la presencia de abundantes glóbulos rojos entre las mallas de la pulpa y la formación de estructuras nodulares integradas por células reticulares (Fig. 21 ); por otra parte en la pulpa blanca se observan zonas claras que corresponden a la hiperplasia focal de células reticulares (Fig. 22 ).

A mayor aumento se advierten parásitos en el interior de los citoplasmas de macrófagos y células reticulares en ambas pulpas, aunque con mayor abundancia en pulpa roja.

En la pulpa blanca se detecta una discreta hemosiderosis y la presencia de plasmocitos y leucocitos eosinófilos (Fig. 23 ). En pulpa roja hay una cierta disminución de los elementos nucleados.

Se observa un depósito de sustancia amiloide, en pequeña cantidad, en la periferia de los corpúsculos de Malpighi y en parte en el interior de los mismos.

Existe una periesplenitis más difusa que focal con presencia de linfocitos, histiocitos, plasmocitos e incluso hematies. Los macrófagos contienen parásitos en su citoplasma.

Grupo B<sub>2</sub>:

en principio se observa una cierta alteración arquitectural, en el sentido de una disminución volumétrica de la pulpa blanca en favor de la pulpa roja, proporcionalmente incrementada; los corpúsculos de Malpighi aparecen discretamente deformados y con una menor densidad cromática a causa de cierta disminución del número de linfocitos (Fig. 24 ).

Con la técnica del rojo Congo se comprueba un depósito en banda de sustancia amiloide en la periferia de los corpúsculos de Malpighi y en algunas zonas dicha sustancia aparece rescuebrajada con hendiduras muy evidentes; una pequeña parte de la amiloide penetra también dentro del corpúsculo (Fig. 25 ).

En la pulpa roja se observa una considerable cantidad de sustancia amiloide; aparecen elementos reticulares aislados y en regresión acompañados de detritus celulares, así como linfocitos, plasmocitos y leucocitos eosinófilos (Fig. 26 ).

Se encuentran numerosos parásitos intracelulares y extracelulares tanto en la pulpa roja, donde se acumulan en gran cantidad, como en la pulpa blanca, donde se observan en menor número.

En la cápsula se advierten algunos nódulos inflamatorios de una periesplenitis nodular con macrófagos, conteniendo Leishmanias, linfocitos y plasmocitos.

#### Grupo B<sub>3</sub>:

macroscópicamente se observa una esplenomegalia considerablemente más marcada que en los grupos anteriores.

Con el microscopio óptico se advierte, en principio, una regresión muy notable de la pulpa blanca, que aparece representada por escasos corpúsculos de Malpighi atrofiados y alterados estructuralmente, por disminución de células reticulares y linfocitos (Fig. - 27 ). Encontramos abundante sustancia amiloide constituyendo una banda irregular alrededor de los corpúsculos y depósitos menos espesos en el interior de los mismos. Aparecen parásitos libres y otros en el citoplasma de las células reticulares.

La pulpa roja es muy pobre en células nucleadas pero aparecen bastantes hematias (Fig. 28 ) y abundante sustancia amiloide disper

sa por toda la pulpa (Fig. 29 ); se encuentran numerosas Leishmanias tanto libres como intracitoplasmáticas en las escasas células reticulares observadas (Figs. 30, 31 ); las trabéculas esplénicas son escasas y delgadas.

Se evidencia histológicamente una periesplenitis nodular focal - con presencia de infiltrados linfocitarios, macrófagos repletos de parásitos y neovasos (Fig. 32 ).

Grupo B<sub>3</sub>L:

macroscópicamente se observa una esplenomegalia muy considerable, con una longitud entre 3-4 veces mayor que en los testigos, mostrando la superficie pequeñas eminencias nodulares rojo oscuras (Fig. 5 ).

Histológicamente destaca ante todo una desorganización arquitectural muy evidente; la pulpa blanca está casi ausente, observándose tan solo restos de algunos corpúsculos de Malpighi, en los que han desaparecido gran número de elementos linfoides (Fig. 33 ). Encontramos sustancia amiloide predominantemente en la periferia, parásitos libres, escasas células reticulares parasitadas y en vías de degeneración así como elementos plasmocitarios.

En la pulpa roja predomina también el cuadro de desorganización, - apareciendo abundante sustancia amiloide, en gran parte resquebrajada, muy escaso número de células nucleadas, numerosos parásitos libres e intracitoplasmáticos (Fig. 34 ) y algunas células reticulares dispersas mostrando una auténtica regresión. (Fig. 35 ).

Con rojo Congo (Figs. 36, 37 ) evidenciamos claramente las imágenes de amiloidosis esplénica que afecta a la pulpa roja y también a la pulpa blanca, aunque con una intensidad menor en esta última. La luz polarizada, confirma especialmente la intensa amiloidosis, apareciendo la sustancia amiloide verde-amarillenta (Fig. 38 ).

La periesplenitis focal con neovasos, infiltrados linfocitarios y macrófagos cargados de Leishmanias, también es evidente en este grupo (Fig. 39 ).

En resumen, las lesiones que predominan son: una marcada esplenomegalia, intensa amiloidosis predominantemente en la pulpa roja y notable abundancia de amastigotes.

#### Observaciones ultraestructurales.

En la primera fase del lote A, como ya se advirtió, no se observan alteraciones a nivel de M/O; con el M/E, no hemos encontrado tampoco lesiones significativas; sin embargo este análisis de las estructuras resulta útil, en principio, como base para reconocer en otras fases modificaciones notables.

Se ha realizado un estudio cuidadoso tanto de la pulpa blanca como de la pulpa roja; sin advertir alteraciones de interés. Así, en la Fig. 141, podemos observar tanto los cordones de Billroth, como los senos, - con presencia de células reticulares, linfocitos pequeños y grandes, - hematias y acúmulos de plaquetas evidentes en los senos.

En una fase más avanzada, grupo A<sub>2</sub>, donde existen infiltrados mixtos de plasmocitos, linfocitos, histiocitos y eosinófilos, la M/E demuestra la identidad de cada uno de estos elementos y revela que las abundantes células plasmáticas presentan dilataciones del RER (Fig. - 142).

En las últimas fases del primer lote, la M/E pone en evidencia la presencia de abundante sustancia amiloide depositada en los cordones de Billroth, entre los senos esplénicos; el depósito provoca una atrofia de las células cordonales. Se observan grupos de elementos reticulares rodeando los sinusoides, provistos de escaso citoplasma, en el cual se encuentran figuras de mielina. Algunos macrófagos contienen -

amastigotes bien visibles en su citoplasma. Aparecen macrófagos con restos de hematies fagocitados (Fig. 143).

En el estudio con M/E de las muestras de animales del lote B, se revela el desarrollo de las lesiones observadas en el lote A, aunque con mayor intensidad. Así, en la última fase de este grupo, B<sub>3b</sub>, se advierte la existencia de una amiloidosis muy intensa, con atrofia - de los elementos de los cordones de Billroth. Por otra parte, los macrófagos presentan en su citoplasma abundantes amastigotes con las características ultraestructurales propias de la *Leishmania donovani*, ya descritas anteriormente; la parasitación es muy masiva, de forma - que las organelas muestran signos de regresión (Fig. 144).

En los cortes ultrafinos, a causa de la intensa amiloidosis, puede observarse detenidamente la ultraestructura de la sustancia amiloide, con su aspecto fibrilar y la característica alternancia de microperiodos electrolúcidos y electrodensos (Fig. 145).

#### HIGADO

##### Grupo A<sub>1</sub>:

en estos animales sacrificados entre 15-30 días después de la inoculación, el hígado no presenta lesiones anatomopatológicas macroscópicas dignas de reseñar. Por el contrario son evidentes lesiones histopatológicas; merece la pena destacar la presencia de infiltrados focales, de forma redondeada que semejan pequeños granulomas, los cuales se distribuyen por todo el parénquima (Fig. 40). En el seno del espacio porta se aprecia, a veces, un discreto edema y la presencia constante de un infiltrado inflamatorio histológicamente inespecífico (Fig. 41).

Se advierte que las venas centrolobulillares y especialmente los sinusoides, aparecen dilatados.

Por otra parte en algunas zonas de los lobulillos, y empleando el método del Tricrómico de Masson, se observa un aspecto finamente granuloso de los citoplasmas de los hepatocitos (Fig. 42 ).

En cuanto a los hepatocitos, debe indicarse que muestran clara positividad con la técnica del Carmin de Best en las zonas centrolobulillar y sensible de Nöel, mientras que en la zona periférica de los lobulillos se observa una reacción, en general, negativa frente al mismo colorante (Fig. 43 ). La coloración con Sudan III resulta evidentemente negativa.

En una observación a pequeños aumentos de un grupo de lobulillos teñidos mediante H-E, es notable la aparición de algunos hepatocitos que presentan un citoplasma más oscuro y retraído, destacando de las demás células parenquimatosas; se localizan en la periferia del lobulillo y en los alrededores del espacio porta (Fig. 44 ); Posiblemente se trata de alteraciones citoplásmicas regresivas.

Indicaremos, finalmente, que con la técnica de Azul Prusia, destacan algunos macrófagos provistos de hemosiderina en los espacios porta (Fig. 45 ).

#### Grupo A:

en los animales considerados integrantes de este grupo, sacrificados entre los 60 y 120 días postinoculación, se hacen más evidentes los infiltrados difusos, encontrando imágenes semejantes a la de una hepatitis inespecífica difusa. Destaca de manera notable la aparición de formaciones con aspecto granulomatoso, de forma redondeada u oval, - constituidas por hepatocitos en regresión y rodeadas e infiltradas - por linfocitos, plasmocitos e histiocitos (Fig. 46 ).

En los espacios porta se advierte la presencia de infiltrados inflamatorios de células redondas más extensos que en los animales se-

crificados anteriormente (grupo A<sub>1</sub>) y con una nueva característica, la presencia de algunos leucocitos eosinófilos (Fig. 47 ).

Llama la atención la existencia de abundantes sinusoides claramente dilatados.

El empleo de la coloración con Carmin de Best, revela que el glucógeno solamente se encuentra en los hepatocitos más centrolobulillares, mientras que los periféricos se comportan negativamente (Fig. - 48 ). La coloración con Sudán III tan solo es positiva en algún macrófago aislado de los espacios porta.

Por otra parte se observan algunos hepatocitos en la periferia - de los lobulillos con citoplasma denso, retraído y eosinófilo.

#### Grupo A<sub>3a</sub>:

histológicamente destaca, en primer lugar, el importante desarrollo - de los infiltrados inflamatorios de células redondas que ofrecen imá- genes perivasculares densas con difusión periférica intertrabecular - notable (Figs. 49 , 50 , 51 ). Se encuentra también un número mayor - de granulomas; pero más evolucionados, con imágenes de hepatocitos en regresión muy marcada (Fig. 52 ), restos de los mismos, presencia de linfocitos, plasmocitos, algún leucocito eosinófilo y macrófagos; es- tos últimos con Leishmanias muy evidentes en su citoplasma (Fig. 53 ); se advierte la aparición de células gigantes multinucleadas, provis- tas de citoplasma basófilo y granuloso (Fig. 54 ). Las Leishmanias apa- recen también en las células de Kupffer; hecho no observado en los ani- males de grupos anteriores.

Por otra parte, junto a los infiltrados inflamatorios, aparece una sustancia amorfa, eosinófila y acelular que es positiva con la técnica de coloración del rojo Congo y muestra refringencia amarillo verdosa - con luz polarizada (Fig. 55 ). Consideramos que esta sustancia debe -

identificarse como amiloide y el proceso como una amiloidosis hepática.

Los hepatocitos presentan procesos regresivos, observándose en su citoplasma imágenes propias de la degeneración hidrópica, con vacuolas evidentes en algunos elementos (Fig. 56 ).

Utilizando la técnica de PAS se confirma la clara disminución del glucógeno hepático, que queda limitado predominantemente a los hepatocitos centrolobulillares y alguna que otra célula parenquimatosa aislada (Fig. 57 ).

En conjunto se asiste a una disminución del parénquima hepático - por la progresión de los infiltrados inflamatorios inespecíficos, la presencia de granulomas y el depósito de sustancia amiloide.

#### Grupo A<sub>3b</sub>:

macroscópicamente muestran un color pardo-amarillento.

Histológicamente la desorganización arquitectural es bastante manifiesta en este grupo. El órgano aparece con infiltrados inflamatorios muy abundantes (Fig. 58 ) y extensas formaciones granulomatosas (Fig. 59 ) junto a depósitos más extensos de sustancia amiloide claramente rojo Congo positiva (Fig. 60 ).

La atrofia del parénquima hepático es más manifiesta que en el grupo A<sub>3a</sub>, la degeneración vacuolar, los procesos regresivos en general de los hepatocitos y las imágenes de células deformadas comprimidas, son evidentes (Fig. 61 ).

La técnica de PAS es tan solo positiva en un escaso número de células parenquimatosas aisladas (Fig. 62 ).

Conviene señalar que en los infiltrados inflamatorios abundan - las células plasmáticas más que en los casos anteriores; por otra -

parte se encuentran macrófagos con hemosiderina que dan francamente positiva la reacción del azul de Prusia (Fig. 63 ).

En cuanto al parásito hay que indicar que se encuentra en cantidad notable en los macrófagos del infiltrado inflamatorio (Fig. 64 ) y en las células de Kupffer que hacen prominencia en la luz de los sinusoides (Fig. 65 ).

La coloración con Sudán III tan solo es positiva en algunas células de Kupffer y elementos almacenadores de grasa (Células Ito); pero no se fija en los hepatocitos (Fig. 66 ).

#### Grupo B<sub>1</sub>:

los animales de este grupo (sacrificados entre 15-30 días después de la inoculación), no presentan alteraciones hepáticas macroscópicas de interés.

Histológicamente destacamos la presencia de infiltrados inflamatorios de células redondas en el espacio porta (Fig. 67 ). Las formaciones inflamatorias focales denominadas tipo granuloma, no aparecen bien estructuradas.

En algunas zonas los hepatocitos se presentan tumefactos con el citoplasma en imagen apolillada, que puede interpretarse como una de generación hidrópica, y claramente vacuolar en algunos elementos (Fig. 68 ). La técnica de revelación de grasa, Sudán III, es negativa; la coloración del PAS es positivo sobre todo en los elementos pa renquimatosos localizados en las zonas sensible de Nöel y centrolobulillar.

#### Grupo B<sub>2</sub>:

destaca un abundante infiltrado linfo-histio-plasmocitario en los espacios porta que penetra hacia el interior del lobulillo entre las trabéculas de Remak (Fig. 69 ).

En el seno del infiltrado localizado en el espacio de Kiernan, y a su alrededor, se observa ya, en estos animales, la presencia de una sustancia amorfa, acelular y eosinófila, positiva al rojo Congo (Fig. 70 ); se trata, pues, de una amiloidosis focal.

En la zona periférica de los lobulillos adyacente a los infiltrados, se encuentran hepatocitos que destacan por presentar un grado - evidente de atrofia y densificación de su citoplasma que se tiñe en tono más oscuro que los restantes.

Las formaciones granulomatosas son muy abundantes en el seno del parénquima hepático y en ellas se evidencian claramente, además de - sus elementos habituales, macrófagos cargados de Leishmanias (Fig. 71 ) y algún leucocito eosinófilo.

Los sinusoides aparecen dilatados y en sus paredes observamos células de Kupffer tumefactas con el citoplasma repleto de parásitos; se trata por tanto de una hepatitis difusa con abundantes infiltrados en espacio porta y presencia de formaciones tipo granuloma, en - el seno del parénquima.

Los parásitos se localizan por lo tanto en las células de Kupffer y en los macrófagos de los granulomas.

En cuanto a los hepatocitos, estos muestran signos evidentes de - degeneración hidrópica y vacuolar, apareciendo el citoplasma más claro y encontrándose en algunas células vacuolas evidentes (Fig. 72 ).

Con la técnica de PAS para revelar glucógeno se advierte que la - coloración es positiva en un número de hepatocitos reducido, encontrándose estos irregularmente distribuidos, sin una localización concreta especial (Fig. 73 ).

Grupo B<sub>3a</sub>:

macroscópicamente el hígado aparece medianamente hipertrófico y muestra un color rojo parduzco.

Histológicamente aparecen abundantes infiltrados en los espacios porta, asimismo se encuentra en esta zona sustancia amiloide, evidente con rojo Congo (Fig. 74) y luz polarizada (Fig. 75).

Junto a estas lesiones, en localización perilobulillar se advierte la existencia de hepatocitos que aparecen atróficos, retraídos y con un citoplasma de color más denso y de tendencia acidófila (Fig. 76).

En los bordes de los infiltrados inflamatorios observamos con la técnica de Sudán III, pequeñas gotas de grasa, localizadas en su mayoría en el citoplasma de los macrófagos y algunas, muy escasas, dentro de hepatocitos periféricos en regresión (Fig. 77).

Las formaciones granulomatosas son más abundantes en este grupo (Fig. 78) que en el grupo B<sub>2</sub>, en ellas resultan muy evidentes las células plasmáticas así como los parásitos alojados en el interior de macrófagos (Fig. 79).

Llama la atención la presencia de células de Kupffer en número superior al habitual. Asimismo en los sinusoides dilatados, se advierte que bastantes de las células estrelladas aparecen tumefactas, con citoplasma repleto de Leishmanias y prominente en la luz vascular (Fig. 80).

La coloración del PAS (Fig. 81) revela una considerable disminución del glucógeno en el parénquima; tan solo aparecen algunos hepatocitos o pequeños grupos de hepatocitos aislados, PAS positivos, sin una localización especialmente determinada.

Grupo B<sub>3b</sub>:

macroscópicamente el hígado muestra algunos lóbulos atróficos y su color es rojo-pardo-amarillento (Fig. 5 ).

En conjunto las imágenes histológicas en esta fase revelan que el proceso inflamatorio, que comenzó siendo focal y casi limitado a los espacios de Kiernan, se ha ido extendiendo progresivamente hacia un cuadro de hepatitis difusa.

En los lóbulos atróficos se advierte histológicamente una gran desorganización arquitectural; no se observan estructuras lobulillares definidas, ya que los infiltrados aparecen extendidos difusamente por amplias zonas del lóbulo (Fig. 82 ). En algunos puntos hay condensaciones focales de células del infiltrado; aparecen restos de pequeños grupos de hepatocitos diseminados entre los elementos del infiltrado inflamatorio (Fig. 83 ). Estas células hepáticas muestran un citoplasma retraído que se tiñe con bastante intensidad (Fig. 84 ).

La técnica del rojo Congo revela la existencia de sustancia amiloide que se extiende entre las células constituyendo una especie de espesa malla, siendo la amiloidosis más difusa que en los casos anteriores (Figs. 85 , 86 , 87 ). En los intersticios de esta malla se distinguen restos de hepatocitos, macrófagos repletos de parásitos, restos de macrófagos en regresión, parásitos extracelulares, linfocitos y plasmocitos (Fig. 88 ).

La coloración del azul de Prusia pone de manifiesto una hemosiderosis focal, macrófagos de la periferia de los infiltrados, en contacto con los hepatocitos periféricos, muestran pigmento en su citoplasma (Fig. 89 ).

En los lóbulos hepáticos que macroscópicamente no aparecen atróficos, el estudio histológico pone de manifiesto lesiones y estructuras muy semejantes a las descritas en el caso B<sub>3a</sub>.

Observaciones ultraestructurales.

El estudio ultraestructural del hígado en animales del grupo A<sub>2</sub>, revela la existencia de núcleos de hepatocitos provistos de evaginaciones y depresiones en su contorno, en contraste con los núcleos redondeados típicos de la célula hepática normal.

En el citoplasma (Fig. 146) destacamos en principio las mitocondrias de matriz densa, que aparecen en un número algo más reducido de lo normal, en esta célula; se aprecia un discreto proceso regresivo con desaparición de crestas. Hay una disminución muy marcada de gránulos glucogénicos, apareciendo tan solo algunas partículas  $\beta$  (según Rhodin); se aprecia en algunas células, pequeñas gotas lipídicas. El retículo endoplásmico predominantemente liso, presenta dilataciones en algunas zonas del citoplasma, que pueden variar en intensidad de unos hepatocitos a otros.

En el grupo A<sub>3</sub> se observan alteraciones más manifiestas (Fig. - 147); las mitocondrias se encuentran en número más reducido, su matriz es densa y sus crestas y microtúbulos se observan muy raramente y con dificultad. Por otra parte aparece una evidente dislocación de las estructuras intracitoplasmáticas con aumento de espacios electrolíticos sin estructura, en la matriz citoplásmica, que desplazan organelas, retículo endoplásmico rugoso y partículas de glucógeno tipo  $\beta$ .

Las imágenes se interpretan como propias de una tumefacción celular con degeneración hidrópica marcada.

En el grupo A<sub>3</sub> se observan con M/E (Fig. 148), lesiones que corresponden a las advertidas con M/O, confirmando las alteraciones descritas. Los hepatocitos muestran signos evidentes de degeneración hidrópica, con dilataciones de las cisternas del retículo endoplásmico

liso y de los espacios perinucleares; los núcleos muestran signos de procesos regresivos con pérdida del carácter redondeado del contorno, que presenta eminencias y depresiones marcadas.

Lo más llamativo es la presencia de abundante sustancia amiloide localizada entre los hepatocitos y las células endoteliales y de Kupffer; las finas fibrillas de la amiloide se identifican claramente a grandes aumentos.

Las células estralladas de Kupffer contienen numerosas Leishmanias en su citoplasma.

En el estudio ultraestructural de las muestras de animales del grupo B, advertimos como a partir del grupo B<sub>2</sub> comienzan a observarse alteraciones evidentes a nivel de M/E.

Las mitocondrias son más electrodensas de lo normal, con matriz oscura y crestas apenas visibles. En algunas zonas aparecen figuras mielínicas.

Se observan las primeras fases de una degeneración hidrópica, localizada preferentemente en la periferia celular, en donde se encuentra el retículo endoplásmico liso muy dilatado, con un contenido electrolúcido, y dislaceración de membranas retículo-endoplásmicas con transparencia de la matriz citoplásmica.

Advertimos la ausencia casi total de gránulos de glucógeno; sin embargo aparecen algunas vacuolas electrolúcidas de grasa. La fig. 149 es bien demostrativa al respecto.

En fases más avanzadas de las lesiones hepáticas, grupos B<sub>3a</sub> y B<sub>3b</sub>, los hepatocitos muestran signos muy marcados de tumefacción celular con las alteraciones propias de una auténtica degeneración hidrópica y vacuolar; en esta lesión participan el retículo endoplásmi

co, las mitocondrias y la matriz citoplásmica. Se encuentran amplias dilataciones del retículo endoplásmico y se advierte degranulación del retículo endoplásmico rugoso; las mitocondrias aparecen tumefactas con incremento muy notable de su diámetro, y aclaramiento de su matriz. En algunos campos las mitocondrias se encuentran prácticamente rodeadas de vacuolas electrolíticas; el espacio perinuclear también aparece dilatado y electrolítico.

El aspecto general de la célula hepática es en su conjunto criboso (Fig. 150). En esta misma micrografía se evidencia el depósito de sustancia amiloide en el espacio de Disse, que se pone aún más de manifiesto en la fig. 152, donde se observa un material finamente fibrilar típico, que corresponde a la sustancia amiloide, la cual parece rodear una célula endotelial.

En los mismos grupos ( $B_{3a}$  y  $B_{3b}$ ), se encuentran zonas donde la degeneración hidrópica menos desarrollada, afecta más claramente a estructuras membranosas lisas; el proceso parece más localizado en la periferia celular, con desplazamiento de las mitocondrias que se encuentran menos afectadas por la tumefacción. Se advierte, en cierta medida, un colapso de los canaliculos biliares próximos. Todo esto es bien demostrativo en la fig. 151.

La presencia de parásitos en el hígado es comprobada definitivamente con M/E. En el caso de la fig. 153, encontramos Leishmanias junto a gotas lipídicas, fagocitadas por una célula de Kupffer. En las inmediaciones de la célula parasitada aparecen los hepatocitos con su típica degeneración hidrópica (en este caso se encuentra afectado predominantemente el retículo endoplásmico liso).

En la fase final de la enfermedad, grupo  $B_{3b}$ , hemos podido observar la presencia de células plasmáticas (Fig. 154) junto a células de Kupffer cargadas de amastigotes. Entre estas células aparecen he-

patocitos comprimidos y canaliculos biliares hipertrofiados.

Asimismo advertimos una serie de estructuras entremezcladas y muy dislaceradas (parte de un espacio de Disse y pared de un sinusoi de), junto a sustancia amiloide intercelular.

Finalmente la M/E nos revela en el grupo B<sub>3b</sub>, algunas zonas del parénquima hepático, previamente destruido, reemplazadas por los dos elementos que pueden observarse en la fig. 155: amastigotes y sustancia amiloide. Estos parásitos aparecen en el interior del citoplasma de macrófagos, aunque según hemos comprobado también se encuentran libres.

La estructura fibrilar típica de la sustancia amiloide es muy característica, ocupando amplias zonas hepáticas, sobre todo las más cercanas a los espacios porta.

## RIÑON

### Grupo A<sub>1</sub>:

en los riñones de estos animales y a nivel macroscópico, no observamos signos anatomopatológicos de interés.

Histológicamente: aplicando las técnicas de H-E (Fig. 90 ), Tricrómico de Masson y Metenamina de Jones (Fig. 91 ), no se observan alteraciones dignas de destacar específicamente, tanto en la zona cortical como en la medular del riñón; ni los túbulos y glomérulos ni el componente intersticial presentan lesiones evidentes en las preparaciones estudiadas.

Tan solo en algunas zonas puede advertirse una tumefacción de las células epiteliales de los túbulos contorneados y la presencia ocasional de una sustancia que se tiñe discretamente en un tono rosáceo en los cortes teñidos por H-E.

Grupo A<sub>2</sub>:

macroscópicamente no se advierten alteraciones dignas de mención.

Histológicamente se observa que algunos glomérulos presentan un cierto grado de congestión con algunos capilares dilatados. Destaca en el espacio de Bowmann de ciertos corpúsculos renales la existencia de una sustancia más o menos granulosa, acidófila, que en principio se deposita más sobre la lámina parietal que sobre la visceral; excepcionalmente aparece alguna célula parietal desprendida y mezclada con la sustancia acidófila.

Se advierte una discreta tumefacción tanto en los elementos epiteliales del tubo contorneado proximal como del distal alcanzando en algunas zonas el carácter de degeneración hidrópica (Fig. 92). En la luz tubular se observa una sustancia coagulada, discretamente granulosa en los segmentos contorneados, mientras que en los tubos rectos de Bellini, en la zona medular, la sustancia que aparece en la luz adquiere el aspecto de cilindros hialinos y se tiñe más intensamente; aplicando la coloración del Tricrómico de Masson muestra un tono magenta-violáceo (Fig. 93).

La presencia de la sustancia amorfa que a lo largo de toda nefrona llega a constituir cilindros hialinos, sugiere la posibilidad de una alteración en la permeabilidad glomerular.

El mesengio fija bien el colorante con la técnica de PAS, pero no se advierten diferencias sustanciales con los riñones del grupo A<sub>1</sub> (Fig. 94).

Grupo A<sub>3</sub>:

macroscópicamente se advierte que el tono rojo del riñón aparece más apagado, adquiriendo un discreto color pardo-amarillento.

Histológicamente destaca la tumefacción de las células de los túbulos que se ha hecho más marcada, con imágenes propias de la degeneración hidrópica y con aspectos vacuolares evidentes en algunas zonas (Fig. 95 ); algunos de sus núcleos aparecen picnóticos. En la luz de los túbulos, la sustancia observada en los riñones del grupo A<sub>2</sub>, - aparece más abundante y más densa; en los túbulos contorneados se - muestra más granulosa mientras que en los tubos colectores y rectos - constituye auténticos cilindros hialinos; el Tricrómico de Masson revela muy claramente estas características tiñéndose la sustancia de - color anaranjado que a veces se torna algo más parduzco (Fig. 96), - con el PAS los cilindros se tiñen en violeta. Las células epiteliales aparecen aplanadas predominantemente en los tubos rectos.

Destaca un discreto engrosamiento de las membranas basales de los túbulos en algunas zonas de los cortes histológicos; estas membranas se tiñen claramente con la técnica de PAS (Fig. 97 ) y Metenamina de Jones; asimismo su rojo Congo-positividad revela la existencia de un depósito amiloide en las citadas basales.

Llama la atención el hecho de que en algunas zonas y con la técnica de la Metenamina (Fig. 98 ), se observa la presencia de pequeñas - granulaciones oscuras algo menores de una micra, que aparecen en los tubos contorneados proximal y distal.

Los corpúsculos renales, presentan en algunas zonas una dilatación relativa del espacio de Bowmann, dentro del cual pueden encontrarse depósitos de una sustancia granulosa, coagulada que se tiñe - de un tono violáceo con el Tricrómico de Masson y que podría interpretarse como un filtrado que contenga proteínas. Por otra parte en los glomérulos se advierte un incremento de la matriz del mesangio, con depósito de una sustancia amorfa, que se pone más de manifiesto aplicando la técnica del Tricrómico de Masson; el tono de la matriz

mesangial, con esta técnica es azul grisáceo. Asimismo se advierte una disminución discreta del número de células glomerulares coincidente con el aumento de la sustancia depositada sobre la matriz mesangial.

Debe señalarse que la membrana basal de las estructuras glomerulares aparece engrosada, como se demuestra mediante las técnicas de PAS y de la Metenamina de Jones (Fig. 98).

La reacción positiva con la técnica del rojo Congo revela el carácter amiloide del depósito tanto sobre la matriz mesangial como sobre la membrana basal glomerular (Fig. 99).

En cuanto a los procesos circulatorios locales, se advierte la existencia de zonas de congestión evidentes en la medular, mientras que en la cortical aparecen congestiones focales que afectan a algunos glomérulos e intersticios de los túbulos.

En general en esta fase del proceso (sacrificio A<sub>3a</sub>) se asiste, por una parte, a una mayor lesión tubular que en los animales del grupo A<sub>2</sub>, con tumefacciones y degeneraciones hidrópica y vacuolares de las células y una notable abundancia de cilindros que son más hialinos y densos.

Por otra parte destaca, de acuerdo con lo descrito, la existencia de una amiloidosis renal que resulta más manifiesta en los glomérulos, donde la sustancia amiloide se deposita en la matriz mesangial y membrana basal glomerular; esta amiloidosis se extiende en menor medida a las membranas basales de algunos túbulos.

#### Grupo A<sub>3b</sub>:

macroscópicamente los riñones muestran un color pardo amarillento.

En la observación microscópica destaca una dilatación muy notable y casi generalizada de los túbulos, preferentemente los colecto

res y rectos, los cuales contienen en su interior abundantes cilindros hialinos claramente acidófilos (Fig. 100). Asimismo se advierten dilataciones muy marcadas en los tubos contorneados, en cuyo interior aparecen los cilindros en tono anaranjado con el Tricrómico de Masson, con el método Gallego en verde y son PAS +; asimismo se encuentran hematies en la luz de los túbulos, muy evidentes con la técnica de Masson.

Es característico la presencia de células epiteliales tubulares comprimidas y aplanadas. Comprobándose como en muchos de los conductos la degeneración hidrópica ha conducido a la aparición de grandes vacuolas intracitoplásmicas. Esto indica de manera evidente, el proceso regresivo que sufren las células de los túbulos (Fig. 101).

Los corpúsculos renales presentan un pelotón vascular muy acidófilo, hipertrófico con abundante matriz del mesangio y aparente fusión de las asas capilares y de los segmentos. Las células del glomérulo disminuyen claramente en número y sus núcleos aparecen picnóticos y cariorréxicos (Figs. 102, 103); en la luz de algunas asas capilares se encuentran eritrocitos muy evidentes con la técnica de Masson.

Con las técnicas del rojo Congo y con el microscopio de Polarización, se comprueba como la sustancia que se deposita en el glomérulo (Fig. 104), lámina parietal de la cápsula de Bowman y membranas basales de los túbulos, es rojo Congo positiva y birrefringente a la luz polarizada, lo cual indica que se trate de sustancia amiloide; en el espacio intersticial se encuentra también depositada dicha sustancia amiloide (Fig. 105).

Se observa con las técnicas de PAS (Fig. 106) y Metenamina de Jones (Fig. 107), un engrosamiento de las membranas basales glomerula-

res y tubulares, así como en la lámina parietal de la cápsula de Bowman.

Destaca una degeneración grasa en los túbulos renales y en los glomérulos, evidenciada con el método del Sudán III (Fig. 108). Esta positividad a los colorantes de las grasas, representa la existencia de signos de procesos epiteliales regresivos.

Aparecen algunos infiltrados de células redondas, en el intersticio y conjuntivo que rodea los conductos papilares, constituidos por linfocitos, histiocitos y células plasmáticas (Fig. 109).

En conjunto asistimos en este grupo ( $A_{3b}$ ) a una amiloidosis renal muy intensa, que se manifiesta claramente en los corpúsculos renales donde el pelotón vascular ocupa casi todo el espacio corpuscular; la sustancia amiloide está depositada en la matriz del mesangio, membranas basales del glomérulo y basal de la lámina parietal del corpúsculo. Asimismo se observa la amiloidosis en las basales de los túbulos y en el intersticio, que en esta ocasión presenta algunos infiltrados linfo-histio-plasmocitarios.

Destaca en las preparaciones histológicas las amplias dilataciones de los túbulos y sus luces conteniendo cilindros hialinos PAS+.

#### Grupo B<sub>1</sub>:

macroscópicamente no se advierten alteraciones dignas de reseñar.

Histológicamente observamos en algunos glomérulos, un aumento de la matriz del mesangio y un engrosamiento de la membrana basal glomerular, que se evidencia con el método PAS (Fig. 110).

En los túbulos especialmente los contorneados, se advierte la existencia de tumefacción celular acompañada en algunas zonas con una clara degeneración hidrópica y vacuolar (Fig. 111). En las luces

tubulares aparece una sustancia amorfa, eosinófila integrando pequeñas masas o formaciones de aspecto reticular; a veces se encuentran cilindros intraluminales (Fig. 112).

Grupo B<sub>2</sub>:

macroscópicamente los riñones presentan una coloración rojo-parduzca.

A nivel histológico se observa un incremento de la matriz mesangial junto con una hipertrofia del glomérulo renal, por lo que el espacio de Bowman aparece disminuido (Fig. 113). Sobre la matriz mesangial ensanchada se advierte el depósito de una sustancia amorfa, eosinófila y acelular, que muestra positividad al rojo Congo e identificamos como sustancia amiloide (Fig. 114). Este depósito también aparece en la membrana basal de los capilares glomerulares y en la lámina parietal de la cápsula de Bowman.

Las células epiteliales tubulares muestran una tumefacción e incluso degeneración vacuolar (Fig. 115) y en las luces tubulares se observan masas de sustancia eosinófila, PAS+ (Fig. 116), que son granulares en los tubos contorneados, mientras que en los rectos representan cilindros hialinos.

Por último en el intersticio aparecen algunos vasos congestivos (Fig. 117), pequeños infiltrados focales de células redondas y el depósito de sustancia amiloide (Fig. 118).

Grupo B<sub>3</sub>:

macroscópicamente los riñones presentan una coloración parduzca.

Histológicamente destaca a nivel de los corpúsculos renales una hipertrofia evidente del mesangio a expensas de la matriz; se advierte en bastantes glomérulos una disminución del número de células, - las cuales muestran signos de regresión observándose núcleos picnóticos o en cariorraxis (Fig. 119). El tamaño del ovillo vascular es a

veces mayor de lo normal, lo cual condiciona una disminución del espacio de Bowmann, que en algunas zonas se reduce prácticamente a una hendidura observable con M/O.

Utilizando las técnicas especiales para membrana basal (PAS, Metenamina de Jones), se pone en evidencia esta estructura; sin embargo - se advierte que en algunos glomérulos la imagen de la membrana no es tan nítida como en los casos anteriores, e incluso parece confundirse a veces, con la matriz del mesangio (Fig. 120). La membrana basal de la parietal del corpúsculo renal se encuentra engrosada en algunas imágenes, como revela la técnica de PAS.

Con la técnica del rojo Congo se tiñen intensamente la matriz mesangial, las membranas basales glomerulares y la propia de los túbulos; se trata pues de una amiloidosis renal.

En cuanto a los túbulos destaca de manera muy notable, las grandes dilataciones predominantemente de los tubos colectores en la zona medular, que contrastan con los tubos atrofiados por las presiones que tales dilataciones comportan (Fig. 121). En la luz de los grandes túbulos aparecen amplios cilindros acidófilos, fragmentados transversalmente, tanto más hialinos y más grandes cuanto más distal es la localización; las células parietales de los tubos de Bellini aparecen, por lo general, muy aplanadas (Fig. 122).

En los tubos contorneados es evidente una tumefacción con degeneración hidrópica y vacuolar. Algunos de estos y con la técnica de la Metenamina argéntica se observan pequeños gránulos oscuros, algo menores de  $1/\mu$ , en el citoplasma de las células epiteliales (Fig. 123).

En los intersticios se encuentran pequeños acúmulos inflamatorios de células redondas, que a veces se localizan en las proximidades de la parietal glomerular (Fig. 124).

Grupo B<sub>3b</sub>:

los riñones presentan macroscópicamente una coloración pardo clara.

Histológicamente llama poderosamente la atención la existencia de grandes dilataciones tubulares, repartidas tanto en la medular - como en la cortical del órgano, provistos de grandes cilindros hialinos, cuya descripción se hará más adelante.

Los corpúsculos renales presentan una estructura totalmente alterada, la matriz del mesangio aparece considerablemente incrementada (Fig. 125), con depósito de abundante sustancia amorfa y eosinófila, junto con una disminución muy notable de las células mesangiales y marcada desaparición de los capilares glomerulares (Fig. 126). La aplicación de las técnicas específicas, tanto del rojo Congo - (Fig. 127) y luz polarizada (Fig. 128), como del PAS, demuestran que se trata de una amiloidosis difusa. La basal parietal del glomérulo es también rojo Congo positiva, hecho que demuestra el depósito de la sustancia amiloide a este nivel.

En el propio glomérulo renal se observan algunos macrófagos aislados, con el citoplasma provisto de Leishmanias (Figs. 129, 130).

Destaca dentro de los espacios de Bowman, generalmente disminuidos de tamaño, una masa amorfa ligeramente eosinófila en unos casos y claramente acidófila en otros, semejante entonces a la sustancia que constituye los cilindros hialinos.

Los túbulos, como ya se indicó, aparecen considerablemente dilatados, tanto en la zona medular como en la cortical, presentando en su luz grandes cilindros hialinos resquebrajados, fuertemente eosinófilos, PAS+ (Fig. 131). Las células de los tubos de Bellini aparecen muy aplanadas con aspecto endoteliforme (imagen de atrofia por presión) (Fig. 132).

En los tubos contorneados las células se encuentran en estado de regresión más intenso que en los casos descritos anteriormente, observándose tumefacción, degeneración vacuolar e incluso destrucción y desprendimiento en la luz; con la técnica de la Metenamina argéntica se observan pequeños gránulos oscuros en algunos citoplasmas epiteliales.

La membrana basal de los túbulos es rojo Congo positiva, representando, pues, una amiloidosis evidente.

En el intersticio renal, tanto en la medular como en cortical, aparecen infiltrados inflamatorios linfo-histio-glasmocitarios, que en ocasiones ocupan una localización perivascular y en otras yuxta o pericorpuscular (Fig. 133). Asociados a los infiltrados aparece una sustancia amorfa y eosinófila, que presenta las características específicas de la amiloide, al emplear rojo Congo (Fig. 134) y luz polarizada (Figs. 135, 136).

Destacan extensos y densos infiltrados inflamatorios, con las características citológicas antes indicadas, que rodean los cálices renales. En general, aparecen Leishmanias intracitoplásmicas en los macrófagos del componente inflamatorio.

Las lesiones observadas tanto en corpúsculos como en intersticios y basales de los túbulos, confirman la existencia de una amiloidosis renal difusa.

Finalmente mediante la técnica del Sudán III, comprobamos su positividad tanto en el epitelio glomerular, como en túbulos e incluso en algunos cilindros, probablemente integrados por células epiteliales descamadas.

Como consecuencia de todo lo expuesto puede afirmarse que las lesiones observadas en el riñón constituyen el cuadro anatomopatológico

de una amiloidosis renal, acompañada de un proceso regresivo de los túbulos e infiltrados inflamatorios intersticiales en el curso de la Leishmaniosis visceral. Clínicamente tales lesiones conducen a un síndrome nefrótico.

#### Observaciones ultraestructurales.

En el estudio ultraestructural del riñón podemos comprobar como en el lote A las lesiones significativas se observan claramente en las últimas fases, que corresponden a los grupos A<sub>3a</sub> y A<sub>3b</sub>.

En los animales pertenecientes al grupo A<sub>3b</sub>, donde las alteraciones son más intensas, observamos a nivel glomerular un proceso degenerativo del podocito con hipertrofia y vacuolización del REr, procesos regresivos en las mitocondrias y fusión de los pies podocitarios. La membrana basal ha perdido su estructura típica, mostrándose hipertrofica y más electrolúcida de lo normal; en íntimo contacto con ella aparece una sustancia fibrilar de tipo amiloide.

Las células mesangiales se encuentran comprimidas y atroficas, mostrando su citoplasma gotas lipídicas y vacuolas repletas de material fibrilar, probablemente amiloide (Fig. 157). El mesangio aparece dilatado y en su sustancia fundamental podemos observar fibrillas de amiloide.

El espacio urinario de Bowman prácticamente ha desaparecido y las células endoteliales de la capa parietal, asientan sobre una basal hipertrofica.

En otros glomérulos del mismo grupo, A<sub>3b</sub>, se advierte cómo los capilares glomerulares aparecen rodeados de una membrana basal muy hipertrofica, con una gran desorganización arquitectural en su ímagen, debido al depósito de material fibrilar tipo amiloide; es-

ta sustancia aparece de manera abundante en disposición subendotelial y en menor grado subepitelial. El citoplasma de las células endoteliales se muestra más electrodensó de lo normal, disminuyendo notablemente el número de poros. Las figuras 157 y 158 demuestran lo anteriormente expuesto.

Con respecto a los túbulos debe afirmarse que a veces pueden encontrarse lesiones discretas en las primeras fases. Las alteraciones afectan a los polos basales y latero-basales de las células epiteliales del tubo contorneado, primera porción, advirtiéndose que las interdigitaciones y crestas pueden encontrarse separadas por espacios claros de apariencia vesicular. Como, por ejemplo, se observa en la fig. 159, correspondiente al grupo  $A_1$ .

En estadios más avanzados, grupo  $A_{3a}$  y sobre todo  $A_{3b}$ , las células epiteliales tubulares muestran un acusado proceso degenerativo; aparecen abundantes figuras mielínicas debidas a alteraciones mitocondriales previas, hipertrofia del retículo endoplásmico y vacuolización de algunos séculos y vesículas agranulares (Fig. 160). Las membranas basales tubulares se encuentran hipertrofiadas y en sus proximidades aparecen depósitos de sustancia fibrilar tipo amiloide.

El espacio intersticial se hipertrofia y en su seno aparece sustancia amiloide junto a un componente edematoso, con lo cual la separación entre túbulos y vasos intersticiales es mayor de lo normal. Las células intersticiales se encuentran dislaceradas y en su citoplasma observamos el RER con hipertrofia y vacuolización. También se advierten alteraciones regresivas en las mitocondrias (Fig. 161).

En el lote B, las lesiones renales más evidentes y significativas aparecen también, en las fases más avanzadas, que corresponden a los grupos  $B_{3a}$  y  $B_{3b}$ .

En el grupo B<sub>3a</sub> se observan lesiones muy manifiestas en el riñón. En los glomérulos renales encontramos imágenes donde se aprecia gran desorganización arquitectural. Los pies podocitarios se encuentran totalmente fusionados; bajo esta estructura se advierte, en principio, una capa de sustancia amiloide en disposición subepitelial y bajo esta, aparece una membrana basal electrodensa y atrófica. Sobre la otra cara de la membrana aparece sustancia amiloide muy abundante en la zona del mesangio, en tal proporción que comprime y atrofia las células mesangiales, las cuales llegan incluso a desaparecer. Por otra parte los vasos capilares se encuentran sometidos a una cierta presión por la abundancia de sustancia amiloide, de tal suerte que el diámetro de sus luces se reduce.

La lesión a nivel de glomérulos es por tanto una amiloidosis, con depósito de sustancia amiloide subendotelial, subepitelial y sobre todo mesangial (Fig. 162).

En este mismo grupo B<sub>3a</sub> destacan, también, lesiones ultraestructurales a nivel de túbulos. Estos presentan diferentes alteraciones; a nivel de túbulo contorneado proximal sorprendemos una evidente tumefacción mitocondrial con pérdida de crestas, vacuolizaciones e incluso formación de abundantes figuras mielínicas. La fig. 163 es muy demostrativa al respecto.

En el grupo B<sub>3b</sub> se advierte una mayor intensidad de las lesiones que en el B<sub>3a</sub>.

En las imágenes (Fig. 164) se confirma como la amiloidosis renal se intensifica, observando como la localización de la sustancia amiloide es en parte subepitelial y también podemos encontrarla en gran cantidad en situación subendotelial, en contraste con el grupo B<sub>3a</sub> donde este depósito es menos abundante.

Por otra parte la presencia de hematias advertida fuera de la luz vascular se interpreta como la consecuencia de una alteración en la pared capilar, que permite la salida de eritrocitos.

A nivel de la capa parietal de la cápsula de Bowmann, se observa un engrosamiento de la membrana basal parietal a expensas, principalmente, de un depósito de sustancia amiloide. En el citoplasma de los elementos epiteliales de la parietal, se sorprenden depósitos de una sustancia menos electrodensa en cuyo seno se pueden descubrir algunas mitocondrias.

En el espacio urinario aparecen a veces también figuras de mielina.

A mayores aumentos, como se observa en la fig. 165, advertimos la localización de la sustancia amiloide bajo el endotelio vascular (subendotelial) y entre los restos de membrana basal y pies podocitarios (subepitelial). Los procesos podocitarios se encuentran totalmente fusionados e incluso el soma celular aparece degenerado, a nivel principalmente de las mitocondrias.

En este grupo  $B_{3b}$  las lesiones ultraestructurales de los túbulos son marcadas. Comprobamos una degeneración hidrópica y vacuolar con amplias dilataciones del retículo endoplásmico rugoso; al mismo tiempo se advierte un aplanamiento evidente del epitelio, debido a un contenido intraluminal integrado por una sustancia hialina y gotas lipídicas.

Esta lesión epitelial se evidencia claramente en un tubo contorneado proximal (Fig. 166).

En los túbulos colectores y rectos, grupo  $B_{3b}$ , se observa aplanamiento epitelial debido a la presencia en la luz del tubo, de grandes cilindros junto a células descamadas degeneradas. Se advierten -

también procesos regresivos intracitoplasmáticos en las células epiteliales atrofiadas, con tumefacción de las mitocondrias que aparecen dilatadas y con matriz electrolúcida; asimismo aparecen vacuolizaciones e hipertrofia de las cisternas del retículo endoplásmico rugoso, presencia de gotas lipídicas y dilatación del espacio perinuclear. Los núcleos se muestran atróficos y su contorno es irregular con evaginaciones e invaginaciones evidentes.

Estas lesiones, junto a un engrosamiento marcado y discontinuo de la basal tubular, a expensas fundamentalmente de depósitos amiloides, son puestas de manifiesto en la fig. 167.

Los intersticios tubulares se encuentran hipertróficos debido, principalmente, al depósito de sustancia amiloide entre las membranas basales tubulares y los vasos intersticiales (Fig. 168).

Se observan lesiones evidentes en las células del intersticio; destaca una hipertrofia con amplias dilataciones del retículo endoplásmico rugoso que proporcionan un carácter electrolúcido a los citoplasmas y se encuentran alteraciones mitocondriales consistentes en una notable densificación de la matriz.

En la zona medular y alrededor de los tubos colectores la membrana basal tubular aparece más electrolúcida de lo normal, evidenciándose depósitos de sustancia amiloide entre esta y la membrana celular.

#### Determinaciones biopatológicas.

Complementariamente a los resultados histopatológicos, hemos determinado las proteínas séricas totales junto con la separación y valoración de las distintas fracciones proteicas, mediante la electroforesis.

Esta técnica nos ha permitido realizar el control biológico de la enfermedad y así, mediante estas valoraciones, no sólo hemos reconocido el éxito de la reproducción experimental de la Leishmaniosis sino que hemos conseguido también conocer el estado evolutivo de la misma. Se estima que parece existir una relación entre el progreso de la enfermedad y las cifras alcanzadas por las proteínas séricas totales, sobre todo globulinas  $\alpha$ ,  $\beta$  y principalmente  $\gamma$ .

En la fig. 137 mostramos la representación gráfica de la electroforesis de suero de criceto clínicamente sano, antes de ser inoculado; observamos en ésta que los valores alcanzados por las proteínas totales y las distintas fracciones proteicas del suero, son consideradas cifras medias para la especie, raza y edad en estudio.

En estos animales hay predominio de las albúminas y el cociente normal albúminas/globulinas es de 1,71.

A lo largo de la enfermedad y en una primera fase descubrimos un aumento de las proteínas séricas totales, junto a una ligera disminución de las albúminas y aumento de las  $\alpha$  globulinas (fase de diseminación); la elevación de valores para las  $\beta$  y  $\gamma$  globulinas podemos calificarla de moderada.

En la fase evolutiva media de la enfermedad encontramos aumento de las proteínas séricas totales, disminución de las albúminas, elevación moderada de las  $\alpha$  globulinas, importante de las  $\beta$  globulinas y muy alta para las  $\gamma$  globulinas.

En la figura 138 mostramos la representación gráfica de la electroforesis de suero de cricetos con Leishmaniosis, en un periodo avanzado del proceso, donde las proteínas séricas totales alcanzan valores de 7,5-8 g./100 ml., las  $\gamma$  globulinas cifras superiores a 2 g./100 ml. y el cociente albúminas/globulinas es siempre inferior a 0,7.

La fase final, coincide con un momento evolutivo caracterizado - por importantes lesiones orgánicas sobre todo de los órganos con gran cantidad de células pertenecientes al sistema retículo endotelial. En la representación gráfica de la electroforesis de suero de cricetos - (Fig. 139) descubrimos que, junto a un importante aumento de las proteínas séricas totales (superior a 8 g./100 ml.), aparecen valores - muy elevados para la  $\alpha_1$  y  $\gamma$  globulinas, cifras altas para la  $\beta$  globulinas, siendo siempre el cociente albúminas/globulinas inferior a 0,5.

#### V. DISCUSION

Siguiendo el mismo criterio que aplicamos para la revisión bibliográfica, parece lógico que abordemos la discusión orientándola de acuerdo con los objetivos pretendidos y en consonancia con los resultados alcanzados.

La confirmación de que sea la *Leishmania donovani*, el agente responsable de la enfermedad en la experiencia realizada, se encuentra en el estudio ultraestructural del parásito, comprobando cómo su morfología concuerda con las descripciones efectuadas por RONDA NELLI et al. (1976), GARGOVICH et al. (1976) y sobre todo GARDENER et al. (1977), incluyendo el número de microtúbulos subplasmalémicos.

Es importante indicar cómo el parásito (*Leishmania donovani*), tras la inoculación intraperitoneal, se multiplica intracelularmente y se disemina por el organismo animal, tal como indicaron con anterioridad OTT et al. (1967) y SCHALL et al. (1973). En el transcurso de la infección, destacamos el creciente aumento de amastigotes a medida que se desarrolla el proceso, apareciendo en la fase final formas libres, debido a las alteraciones regresivas que sufren las células fagocitantes. Esto ratifica las numerosas descripciones, que desde CHRISTOPHERS (1904), se han venido realizando al respecto.

#### Bazo:

Las observaciones efectuadas con M/O y M/E, evidencian que son los histiocitos y las células reticulares, los encargados de fagocitar y albergar en su citoplasma los parásitos; tal como describen entre otros autores, MELENEY (1925) y LUPASCO et al. (1961) en cricetos, CHADLI et al. (1961) en niños con Kala-azar y LENNOX et al. (1972) en un perro de 5 años. Asimismo debemos destacar la presencia de cé

lulas gigantes con amastigotes, diseminadas por el parénquima esplénico de los cricetos; tan solo GILES et al. (1975), en la bibliografía consultada, describen este hecho en un caso aislado de un perro con Leishmaniosis visceral.

Es muy notable en nuestro caso, el depósito de sustancia amiloide, rojo Congo positivo, tanto en pulpa roja (bazo lardáceo) como rodeando y penetrando discretamente en pulpa blanca; en concordancia con las imágenes advertidas por ANDRADE et al. (1966) en el hombre, GEORGE et al. (1976) y CORBEIL et al. (1976) en perros, y que difieren en cierta medida con las descripciones de VERESS et al. (1974), sobre 32 autopsias realizadas, los cuales señalan el acúmulo de un material extracelular PAS positivo, rojo Congo negativo, en los folículos esplénicos; mientras que nuestra experiencia se hace en cricetos y la positividad frente al rojo Congo es notable.

En las dos experiencias efectuadas hemos observado una atrofia de los corpúsculos de Malpighi, debido, en parte, a una disminución en el número de linfocitos y sus precursores, siendo más acusada en aquellos animales cuya dosis de inoculación es mayor. Esta misma alteración la describen LUPASCO et al. (1961), en estadios avanzados del proceso experimental en cricetos y coincide con las afirmaciones de TRYPHONAS et al. (1977) en estudios sobre Leishmaniosis canina, de presentación natural.

Es interesante hacer constar que hemos advertido la presencia de infiltrados linfo-hístico-plasmocitarios en el seno del parénquima esplénico, que confirma las observaciones efectuadas tanto por SEN GUPTA et al. (1951), CAZAL et al. (1962) y VERESS et al. (1977) en pacientes con Kala-azar, como por LENNOX et al. (1972) en perros. Asimismo nuestras investigaciones revelan la existencia e incremento local de leucocitos eosinófilos durante este proceso parasitario; he-

cho que no ha sido indicado por los diferentes autores, exceptuando a GILES et al. (1975), quienes denotan la presencia de algún polinuclear, pero sin especificar el tipo de granulocito y además trabajando con un perro.

Las afirmaciones de QUENUM y DESTOMBES (1976) relativas a fenómenos de necrosis que se producen histológicamente en el parénquima esplénico de enfermos con Kala-azar, no han podido ser confirmadas en nuestras investigaciones, ya que en ambas experiencias no hemos advertido alteraciones de este tipo.

Las observaciones referentes al elevado contenido en glóbulos rojos por parte de la pulpa roja, llevadas a cabo por SEN GUPTA et al. (1951) en el hombre, LUPASCO et al. (1961) en cricetos y TRYPHONAS et al. (1977) en perros, difieren, en cierta medida, de nuestros resultados, ya que si bien aparecen abundantes eritrocitos en algunos grupos, es claro que en la fase final de ambas experiencias disminuyen considerablemente los hematies, quizá debido al gran depósito de sustancia amiloide en la pulpa roja.

Es muy característica la presencia de nódulos inflamatorios a nivel de la cápsula esplénica (periesplenitis focal), compuestos por infiltrados linfocitarios, macrófagos repletos de amastigotas, células plasmáticas, eosinófilos y neovasos. Nuestras observaciones corroboran y amplían las descripciones de SEN GUPTA et al. (1951), las experiencias de LUPASCO et al. (1961) y los estudios de ANDERSON et al. (1980), referentes a un engrosamiento capsular, si bien nosotros completamos el estudio indicando las características histológicas del mismo y concretando su citología, aspectos que no habían sido descritos.

Con respecto a las trabéculas del bazo, advertimos en la fase final del proceso, cómo estas aparecen delgadas y escasas debido a

la atrofia por presión determinada por la sustancia amiloide depositada; en contraposición con las investigaciones de LUPASCO et al. - (1961), quienes señalan un engrosamiento del armazón trabecular.

Higado:

en nuestro trabajo hemos encontrado una serie de alteraciones hepáticas, puestas de manifiesto tanto por Microscopía óptica como mediante Microscopía electrónica, que a continuación analizamos en relación con los estudios llevados a cabo por diferentes autores, dentro de la Leishmaniosis visceral.

Advertimos que aparecen en el espacio porta unos infiltrados inflamatorios constituidos por linfocitos, plasmocitos, histiocitos y eosinófilos, que aumentan y se extienden desde la periferia de los lobulillos infiltrando centripetamente el parénquima hepático; estas observaciones concuerdan con los resultados obtenidos por LUPASCO et al. (1961) en cricetos, CAZAL et al. (1962) y WINSLOW (1971) en pacientes con Kala-azar y MILLIN et al. (1975) en perros. Sin embargo no hemos encontrado en los trabajos consultados, descripción alguna sobre los procesos regresivos que se producen en los hepatocitos adyacentes a estos infiltrados, y que sin duda conducen, en la fase final del proceso, a una desorganización estructural del parénquima hepático.

No hemos evidenciado, tal como indican ANDRADE et al. (1966), - una fibrosis en el espacio porta.

Las técnicas del rojo Congo y luz polarizada, revelan la presencia de sustancia amiloide depositada junto a las células integrantes del infiltrado inflamatorio en el espacio de Kiernan; coincidiendo en nuestras observaciones lo advertido por GELLHORN et al. (1946) en cricetos y discrepando de las descripciones efectuadas por otros autores, tal es el caso de ANDRADE et al. (1966) en el hombre y CORBEIL

et al. (1976) en el perro, los cuales localizan exclusivamente este depósito amiloide a nivel del espacio de Disse. No obstante a lo anteriormente expuesto, hemos observado, en la experiencia con dosis alta y en el estadio final, cómo esta sustancia amiloide se extiende no sólo en los espacios porta, sino también entre los restos de hepatocitos, macrófagos parasitados, parásitos libres, linfocitos, plasmocitos y eosinófilos, constituyendo así una malla amiloide de distribución difusa.

Coincidiendo con los resultados recogidos por CHADLI et al. (1961) y NAIK et al. (1976) en el hombre y TRYPHONAS et al. (1977) en perros, aparecen en el parénquima hepático de nuestros animales de experimentación, unas formaciones granulomatosas de tipo nodular, que evolucionan a medida que avanza el proceso, constituidas por linfocitos, plasmocitos, histiocitos con amastigotes y eosinófilos. Asimismo y contrariamente a lo descrito por DAMESHBOO (1971) y ANDERSON et al. (1980), advertimos y afirmamos la presencia de células gigantes multinucleadas, como elemento reactivo frente al parásito en el hígado.

La presencia de amastigotes en las células de Kupffer, junto con una hiperplasia e hipertrofia de las mismas, es un hecho evidenciado entre otros autores por MELENEY (1925) en el hombre y cricetos, GLEISSER et al. (1957) en perros, LUPASCO et al. (1961) en cricetos y RAFYI et al. (1968) en perros; nosotros lo hemos confirmado en nuestras experiencias.

Respecto a las lesiones de las células hepáticas, observamos que según progresa la enfermedad, los hepatocitos muestran procesos regresivos; las células se deforman, comprimen y atrofian. Estas observaciones realizadas con M/O ratifican en cierta medida los resultados obtenidos por MELENEY (1925) y LUPASCO et al. (1961) en cricetos,

CHADLI et al. (1961) en pacientes con Kala-azar y SANCHIS et al. - (1976) en perros.

Utilizando Microscopía óptica (técnica del Carmin de Best y PAS) y Microscopía electrónica, hemos advertido un descenso progresivo - del glucógeno hepático, el cual en el último estadio de ambas experiencias se encuentra en cantidad muy reducida, detectándose tan só lo en pequeños grupos de hepatocitos; este hecho indica el grado de degeneración glucogénica que se produce a nivel hepático, en el - transcurso de la enfermedad experimental y que contrasta con la úni ca descripción obtenida en la bibliografía que hemos consultado, - realizada por CHADLI et al. (1961), quienes mediante la técnica de PAS no evidencian descenso alguno en el contenido glucogénico.

Contrariamente a las opiniones expuestas por distintos autores, MELENEY (1925), RAVISSE (1978) y ANDERSON et al. (1980), no observamos signos histológicos de esteatosis en hepatocitos, ya que utilizando la técnica del Sudán III, solamente se observa positividad en algunas células de Kupffer, en elementos almacenadores de grasa - (cel. Ito) y en ciertos macrófagos del infiltrado portal.

Nuestras observaciones indican la presencia de hemosiderina en macrófagos y células de Kupffer, con mayor abundancia en estadios - finales; lo cual ratifica en cricetos las descripciones al respecto llevadas a cabo en perros con Leishmaniosis visceral por GLEISSER - et al. (1957) y CORBEIL et al. (1976).

A nivel ultraestructural, nuestra contribución al estudio de la Leishmaniosis experimental en cricetos, radica, por un lado, en la con firmación de una serie de alteraciones observadas con Microscopía óptica y por otro lado en el esclarecimiento de una serie de lagunas - advertidas en la revisión bibliográfica.

En relación con las características de la célula hepática, nuestras observaciones coinciden con la opinión de TANIKAWA (1971) en sus estudios sobre pacientes con Kala-azar, respecto a la presencia de mitocondrias más electrodensas de lo normal y desorganización del retículo endoplásmico. Sin embargo, nosotros hemos evidenciado también en las células hepáticas, mitocondrias hipertróficas provistas de crestas apenas visibles, encontrando asimismo figuras mielínicas en estos orgánulos, en algunos casos. El retículo endoplásmico, principalmente liso, presenta amplias dilataciones de sus cisternas y en ocasiones - se aprecia degranulación del retículo endoplásmico rugoso.

También es importante destacar como proceso regresivo de los hepatocitos, el hecho de que los núcleos, a medida que se desarrolla el proceso, vayan perdiendo su contorno redondeado y liso, apareciendo - invaginaciones y evaginaciones; mostrándose el espacio perinuclear dilatado y electrolúcido.

Finalmente hay que indicar cómo con la Microscopía electrónica, - descubrimos la tumefacción mitocondrial que se produce en las células de Kupffer, tal como describen en el hombre MIWA et al. (1965), en un estudio sobre Kala-azar humano. Complementariamente a estas observaciones hemos comprobado en estas células estrelladas, la presencia de amastigotes dentro de las vacuolas parasitóforas y el depósito de gotas lipídicas.

#### Riñón:

examinaremos a continuación las diversas alteraciones que aparecen en el riñón de cricetos, consecutivas a la inoculación de amastigotes - por vía intraperitoneal, en contraste con las lesiones observadas por distintos autores, tanto en el hombre como en diferentes animales.

Advertimos histológicamente, a nivel glomerular, un incremento de la matriz del mesangio, a expensas del depósito de sustancia amiloide,

tal como indican HINGLAIS et al. (1964) en cricetos, ANDRADE e IABUKI (1972) en 16 pacientes con Kala-azar y ROJAS AYALA (1973) y TRYPHONAS et al. (1977) en perros. Hemos comprobado que esta alteración se acompaña además de una disminución en el número de células glomerulares - (mesangiales y podocitarias), aspecto este que se opone a las descripciones efectuadas por numerosos autores; unos señalan la hiperplasia de células mesangiales, caso de DE BRITO et al. (1975) y WEISENGER et al. (1978) en estudios sobre Kala-azar humano y TRYPHONAS et al. (1977) en un perro de 6 años, otros no indican modificación alguna en la población celular del glomérulo, caso de ANDRADE e IABUKI (1972).

Hemos observado en la fase final de ambas experiencias, un depósito de grasa, positivo al Sudán III, tanto en las células mesangiales como en los elementos tubulares, que interpretamos como signo de proceso celular regresivo. Consideramos este hecho de notable importancia, ya que no hemos encontrado descripción alguna del mismo, en la bibliografía consultada.

El depósito de sustancia amiloide, rojo Congo positiva, en el mesangio y membranas basales glomerulares tanto parietal como visceral, ha sido confirmada por nosotros mediante la Microscopía electrónica. A nivel ultraestructural corroboramos en parte, las investigaciones - llevadas a cabo por HINGLAIS et al. (1964) en cricetos, GEORGE et al. (1976) en un perro de 2 años y ANDRADE e IABUKI (1972) en el hombre, en cuanto a la presencia de fibrillas de amiloide sobre el mesangio, y las observaciones de GELLHORN et al. (1946) en cricetos y THERAN et al. (1967) en perros, respecto al depósito de esta sustancia entre el endotelio y la membrana basal glomerular (disposición subendotelial). Sin embargo en nuestras experiencias realizadas en cricetos, se advierte con M/E el asiento de la amiloide además entre la membrana basal y los podocitos (disposición subepitelial), mostrando estas célu-

las una hipertrofia y vacuolización del retículo endoplásmico rugoso, degeneración mitocondrial y fusión de los pies podocitarios. Asimismo las células epiteliales de la lámina parietal sufren un proceso degenerativo, y destaca el engrosamiento de dicha capa por el acúmulo del material fibrilar proteico (amiloidosis parietal), anteriormente mencionado.

Respecto a las células mesangiales, estas aparecen comprimidas y progresivamente atróficas, debido a la presión ejercida sobre ellas - por la sustancia amiloide; presentando algunas células, en su citoplasma, gotas lipídicas y vacuolas con depósito fibrilar.

Todos estos hallazgos sumados a una notable reducción del espacio urinario de Bowmann, contrastan con las investigaciones efectuadas en estos últimos años, por MILLIN et al. (1975) en un perro con Leishmaniosis visceral y sobre todo las realizadas en pacientes con Kala-azar, por DE BRITO et al. (1975), indicando la presencia de depósitos electrodensos (inmunocomplejos) en membrana basal; además WEISENGER et al. (1978), señalan un espesamiento irregular de la membrana basal con depósitos electrodensos subendoteliales intramembranosos y sobre la matriz mesangial. Nosotros, sin embargo, no hemos encontrado en membrana basal estructuras susceptibles de interpretarse como inmunocomplejos.

A nivel tubular, advertimos cómo en los tubos contorneados se - aprecia una degeneración vacuolar de sus células epiteliales, tal como indican, por orden cronológico, MELENEY (1925) en un estudio experimental en cricetos, ANDRADE e IABUKI (1972) en el hombre y TRYPHONAS et al. (1977) en el perro. Por otra parte, confirmando las investigaciones de ROJAS AYALA (1973) sobre 6 perros con Leishmaniosis visceral, hemos observado que en las últimas fases los tubos colectores y rectos, principalmente, presentan grandes dilataciones de sus luces,

con aplanamiento de las células que adquieran un aspecto endoteliforme. Asimismo hay que significar la presencia de grandes cilindros intraluminales, predominantemente granulosos en tubos contorneados, - donde se acompañan a veces de hematies y la existencia de cilindros hialinos en el resto de los tubos. Estas observaciones ratifican - las imágenes reveladas por ANDRADE et al. (1966) en 13 casos con Kala-azar y CORBEIL et al. (1976) en un perro con Leishmaniasis visceral.

A nivel ultraestructural, las afirmaciones de DE BRITO et al. - (1975), destacan la existencia de abundantes estructuras ovals o redondeadas electrónicamente densas en el interior de las células epiteliales de los túbulos proximales; nosotros hemos comprobado la existencia de tales formaciones en nuestros estudios, pero las identificamos como figuras de mielina, ya que el proceso degenerativo que se produce en el epitelio tubular, origina alteraciones regresivas de las mitocondrias manifestándose por pérdida de crestas y frecuentemente producción de figuras de mielina según el criterio de RHODIN. También observamos dilatación e hipertrofia del retículo endoplásmico rugoso y vacuolización de sáculos y vesículas agranulares.

Adquiere gran importancia el engrosamiento que se produce a nivel de membrana basal tubular, con depósito de sustancia amiloide, evidente con M/E, entre dicha membrana y la célula epitelial. Esta imagen reafirma las observaciones de GELLHORN et al. (1946) en el estudio experimental que llevan a cabo en cricetos.

En cuanto a las alteraciones que tienen lugar en los espacios intersticiales e intertubulares, resalta la presencia de infiltrados inflamatorios, constituidos según diferentes autores por linfocitos - (GLEISSER et al., 1957), histiocitos y plasmocitos (CAZAL et al., - 1962) y linfocitos, histiocitos y plasmocitos (LENNOX et al., 1972).

En nuestras observaciones en cricetos hemos advertido estos infiltrados en la fase final de ambas experiencias, con localización perivascular principalmente, constituídos por linfocitos, plasmocitos e histiocitos con amastigotes.

Destacan las descripciones efectuadas recientemente por TRYPHONAS et al. (1977) en perros y WEISENGER et al. (1978) en el hombre, quienes indican un incremento del tejido conectivo intersticial, especialmente alrededor de glomérulos y vasos sanguíneos; tales descripciones difieren totalmente de nuestras observaciones que revelan la amiloidosis y no la hipertrofia conjuntiva.

Respecto a la presencia del parásito en el riñón, confirmamos las investigaciones realizadas por LUPASCO et al. (1961), CAZAL et al. (1962) y LENNOX et al. (1972), en cuanto a su aparición en macrófagos localizados en el espacio intersticial; pero, por otra parte, nosotros hemos podido observar cómo estos amastigotes se localizan también en los capilares glomerulares, hecho no señalado en la bibliografía consultada.

Mediante la Microscopía electrónica hemos comprobado cómo las fibrillas de amiloide se sitúan en el intersticio intertubular, tal como se evidencia con la técnica del rojo Congo.

Consideramos de notable importancia el hecho de que el espacio intersticial aparezca hipertrófico, por las alteraciones señaladas, y a veces edematoso, encontrándose las células intersticiales dislacradas, con fenómenos regresivos mitocondriales y vacuolización del retículo endoplásmico, principalmente del rugoso.

## VI. CONCLUSIONES

1. Los cricetos infectados experimentalmente con *Leishmania donovani* presentan lesiones muy evidentes en bazo, hígado y riñón, que difieren en algunos aspectos concretos de las observadas en otras especies.
2. La intensidad y precocidad en la aparición de las lesiones es mayor en los animales inoculados con dosis más elevadas de amastigotes y el tiempo de supervivencia de aquellos es considerablemente menor.
3. El bazo muestra, en cricetos, un depósito de sustancia amiloide - rojo Congo positivo, en pulpa roja y periferia de pulpa blanca, - con algunas infiltraciones en ésta.
4. Se produce una eosinofilia local en los infiltrados inflamatorios y el número de hematies en la pulpa roja desciende notablemente - en la fase final, en contraposición a otras opiniones.
5. Los nódulos periesplénicos aparecen integrados por linfocitos, macrófagos repletos de parásitos, plasmocitos, eosinófilos y neovasos.
6. En las fases finales del proceso se asiste a cierta atrofia trabecular esplénica en contraste con la hipertrofia indicada por otros autores.
7. En hígado aparece una amiloidosis destacada en los espacios porta, que se extiende difusamente entre los elementos del infiltrado inflamatorio y rodeando los hepatocitos adyacentes en regresión.
8. Los hepatocitos presentan progresivamente un descenso del glucógeno en el curso de la enfermedad, tanto en la experiencia con dosis alta como en la realizada con dosis baja.



9. En hígado aparecen células gigantes multinucleadas reactivas por vistas de grandes vacuolas digestivas evidentes.
10. En las fases media y final, los hepatocitos muestran mitocondrias hipertróficas con rarefacción de las crestas y presencia de figuras mielínicas, dilataciones cisternales reticuloendoplasmáticas y deformaciones del contorno nuclear con dilatación muy evidente del espacio perinuclear.
11. Las lesiones renales observadas en la Leishmaniosis experimental consisten, fundamentalmente, en una amiloidosis secundaria, que afecta de diversa manera a las diferentes estructuras del riñón, sus aspectos histológicos no coinciden con los descritos en la bibliografía y, clínicamente, determina un síndrome nefrótico.
12. El depósito amiloide mesangial provoca atrofia y reducción numérica de las células mesangiales, que muestran gotas lipídicas y vacuolas con depósitos fibrilares en el citoplasma.
13. El depósito amiloide a nivel de la membrana basal es también subepitelial, además de subendotelial, y se acompaña de procesos regresivos de los podocitos con atrofia y reducción de su número, así como fusión de los pies podocitarios.
14. En cricetos, con las dosis de inoculación indicadas y en los tiempos de sacrificio apuntados, no observamos en la membrana basal imágenes interpretables como inmunocomplejos.
15. Los amastigotes aparecen también en las asas capilares del glomérulo y no solamente en el conjuntivo intersticial.
16. En las fases finales, el epitelio tubular muestra lesiones regresivas, donde el M/E revela figuras de mielina intramitocondriales e hiperplasia del RER con dilataciones cisternales.

17. Los espacios intertubulares aparecen dilatados predominantemente por el depósito amiloide y no debido a una hiperplasia conjuntiva como afirman otros autores.

VII. RESUMEN

Se realiza un estudio anatomopatológico experimental sobre bazo, hígado y riñón en cricetos inoculados con *Leishmania donovani*. Se han empleado tres lotes, uno testigo y dos problema de 30 animales cada uno; se inocularon los cricetos de estos dos últimos lotes, respectivamente, con una dosis reducida y otra elevada de amastigotes y se llevaron a efecto los sacrificios seriados de los animales, después de realizar el control biopatológico de los cricetos. Se han encontrado lesiones microscópicas y ultramicroscópicas no descritas en cricetos y diferentes a las observadas en otras especies.

En las conclusiones se destacan diversas observaciones originales de carácter estructural, histoquímico y ultraestructural, con predominio en el riñón, donde glomérulos, túbulos e intersticio aparecen diferentemente afectados. Asimismo se detallan lesiones muy peculiares, no descritas en la literatura consultada, tanto en bazo como en hígado. Anatomopatológicamente destaca un cuadro de amiloidosis secundaria, con características muy singulares, que determina clínicamente un síndrome nefrótico.

VII. SUMMARY

An experimental pathological anatomy study on spleen, liver and kidney from inoculated hamsters with *Leishmania donovani* was carried out. Three batches were used; a control and two problem ones of 30 - animals in each. The hamsters in the last two batches were inoculated with a reduced and elevated dosis respectively of amastigotes - and after carrying out the appropriate clinical pathology controls - in the hamsters the animals were successively destroyed. Microscopic and ultramicroscopic lesions, not described before in hamsters and different to those observed in other species, were found.

In the conclusions different original observations of a structural, histochemical and ultrastructural character, mainly in the kidney, - where the glomeruli, the tubules and the interstitium appear, affected in different degrees, were noted. Moreover, very special lesions in - the spleen as well as in the liver, not described in the consulted literature, were outlined. From a pathological anatomy point of view, - secondary amyloidosis stands out with very peculiar characteristics - which, clinically, leads to a nephrotic syndrome.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- ACHA, P.N. y SZYFRES, B.: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización Panamericana de la Salud, 354: 122-132 (1977).
- ADA, G. y FULTON, J.D.: Electrophoretic studies on the serum of golden hamsters infected with *Leishmania donovani*. Brit. J. Exp. Pathol., 29: 524-529 (1948).
- ANDERSON, J.R.: Patología de Muir. Ed. Espaxs, Barcelona (1977).
- ANDERSON, D.C., BUCKNER, R.G., GLENN, B.L. y MACVEAN, D.W.: Endemic canine Leishmaniasis. Vet. Pathol., 17: 94-96 (1980).
- ANDERSON, W.A.D. y SCOTTI, T.M.: Anatomía Patológica básica. Ed. Doyma, Barcelona (1980).
- ANDRADE, Z.A. y ANDRADE, S.G.: Alguns novos aspectos da patologia do Calazar. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, 8: 259-266 (1966).
- ANDRADE, Z.A. y JABUKI, K.: A nefropatia do Calazar. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, 14: 51-54 (1972).
- BLOOM, W. y FANCETT, D. W.: Tratado de Histología. Ed. Labor, Barcelona (1978).
- BOGLIOLLO, L.: Nova contribuição ao conhecimento de anatomia pathologica da Leishmaniose visceral. A propósito de un caso brasileiro e com especial referencia a fibrose hepática leishmaniótica. Hospital, 50: 393-440 (1956).

BORCHERT, A.: Parasitología Veterinaria. Ed. Acribia, Zaragoza (1964).

BOROOSKI, A. y SAVIN, Z.: Visceral Leishmaniasis in dogs in Montenegro. Acta Parasitológica yugoslávica, 1: 33-36 (1970).

BOYD, W.: Compendio de Anatomía Patológica. Ed. El Ateneo, Buenos Aires (1979).

BÜNGENER, W. y MEHLITZ, D.: Atypical course of Leishmania donovani - infection in dogs. Tropenmedizin und Parasitologie, 28: 175-180 - (1977).

CARDA, P.: Estudios sobre Leishmaniosis canina. Rev. San. Vet., 4: - 884-906 (1949).

CAZAL, P. y PAGES, A.: L'inflammation leishmanienne. Annales d'anatomie Pathologique, 3: 337-364 (1962).

COHEN, A.S.: Amyloidosis. The New England Journal of Medicine, 277: 522-530 (1967).

CONROY, J.D., LEVINE, N.D. y SMALL, E.: Visceral Leishmaniosis in a Fennee Fox. Pathol. Vet., 7: 163-170 (1970).

CORBEIL, L.B., WRIGHT-GEORGE, J., SHIVELY, J.N., DUNCAN, J.R., LA MOTTE, B.B. y SCHULTZ, R.D.: Canine visceral Leishmaniasis with amyloidosis. Clin. Immunology and Immunopathology, 6: 165-173 (1976).

CHADLI, A. y PHILIPPE, E.: La Leishmaniose viscerale et le Systeme - Reticulo-Histiocytaire. Arch. Inst. Pasteur de Tunis, 38: 9-31 - (1961).

CHENG, T.C.: Parasitología General. Ed. AC, Madrid (1978).

- CHEVILLE, N.F.: Patología celular. Ed. Acribia, Zaragoza (1980).
- CHRISTOPHERS, S.R.: On a parasite found in persons suffering from - enlargement of the spleen in India. *Scient. Mem. Offic. Med. & Sanit. Depts.*, 8: 11 (1904).
- DANESHBOD, M.D.: A Histopathologic and electron microscopic study - of kala-azar. *Laboratory Investigation*, 24: 428 (1971).
- DANESHBOD, M.D.: Visceral Leishmaniasis in Iran: a pathologic and - electron microscopic study. *Am. J. Clin. Pathol.*, 57: 156-166 - (1972).
- DE BRITO, T. y HOSHINO-SHIMIZU, S.: Glomerular involvement in kala-azar. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 24: 8-18 (1975).
- DEDET, J.P.: La Leishmaniose viscerale dans le monde: etapes des connaissances, repartition biogeographique et frequence. *Bulletin de l'institut Pasteur*, 74: 413-434 (1976).
- DELMANN, H. y BROWN, E.M.: *Histología Veterinaria*. Ed. Acribia, Zaragoza (1980).
- DIAZ-FLORES, L., ORTIZ URDIAIN, G. y SANCHEZ SALGADO, G.: Bases ultraestructurales en Citología, Histología y Anatomía Patológica. Santiago de Compostela (1974).
- DIEBOLD, J.: La splenectomie en hematologie. *Annales de Gastroenterologie et d'hepatologie*, 10: 413-429 (1974).
- DONATIEN, A. y LESTOQUARD, F.: La Leishmaniose viscerale du chien. - *Revue Veterinaire et Journal de Medecine Veterinaire et de Zootechnie*, 80: 117-135 (1929):

DONOVAN, C.: On the possibility of the occurrence of Trypanosomiasis in India. *The British Medical Journal*, 2: 79 (1903).

ETTINGER, S.J.: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Ed. Saunders, Philadelphia (1975).

FRANKLIN, E.C. y ZUCKER-FRANKLIN, D.: Conformational antigenic determinants specific for amyloid fibrils. *Fed. Proc.* 31: 661 (1972).

GAAFAR, S.M.: *Canine Medicine*. Ed. American-Veterinary, California (1968).

GARDENER, P.J., SHCHORY, L. y CHANCE, M.L.: Species differentiation in the genus *Leishmania* by morphometric studies with the electron microscope. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 71: 147-155 (1977).

GARGOVICH, A., PORFIRI, B., FABRICI, G. y ROTOLI, M.: Ultrastructural research on the amastigotes of *Leishmania Tropica* and *Donovani*. *Acta médica romana*, 14: 423-431 (1976).

GELIN, G.: *La rate et ses maladies*. Ed. Masson y Cia, Paris (1954).

GELLHORN, A. y VAN DYKE, H.B.: Amyloidosis in hamsters with *Leishmaniasis*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 61: 25-30 (1946).

GEORGE, J.W., NIELSEN, S.W., SHIVELY, J.N., HOPEK, S. y MROZ, S.: Canine *Leishmaniasis* with amyloidosis. *Vet. Pathol.*, 13: 365-373 (1976).

GIANNINI, M.S.: Effects of Promastigote Growth Phase, Frequency of Subculture, and Host age on Promastigote-initiated. Infections -

- with *Leishmania donovani* in the Golden Hamster. *J. Protozool.*, 21: 521-527 (1974).
- GILES, R.C., HILDEBRANDT, P.K., BECKER, R.L. y MONTGOMERY, C.A.: Visceral Leishmaniasis in a dog with bilateral endophthalmitis. *J. Am. Anim. Hosp. Ass.*, 11: 155-159 (1975).
- GLEISSER, C.A., THIEL, J. y CASHELL, I.G.: Visceral Leishmaniasis in a dog imported into the United States. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 6: 227-231 (1957).
- GLENNER, G.G. y TERRY, W.D.: Amyloidosis: its nature and pathogenesis. *Seminars Hematology*, 10: 65-86 (1973).
- GONZALEZ ROMERO, V.: Focos enzotícos de Leishmaniosis canina en Madrid. *Consejo General de Colegios Veterinarios de España*, 9: 373-385 (1955).
- GOTTSTEIN, U., STEINER, K., HAUKE, H., KLIMASCHESKI, G. y SEDLMEYER, I.: Kala-azar (viszerale Leishmaniose) eine wichtige krankheit nicht nur der Tropen. *Dtsch. Med. Wschr.*, 100: 2022-2027 (1975).
- GUERCIO, V. y IANNIZZOTTO, G.: Variazioni sieroproteiche in cani portatori naturali di *Leishmania*. *Archivio Veterinario Italiano*, 29: 96-97 (1978).
- HAM, A.W.: *Tratado de Histología*. Ed. Interamericana, Madrid (1975).
- HINGLAIS, N.: Les lésions précoces de l'amylose expérimentale du hamster. *Nephron*, 6: 16-30 (1964).
- HOARE, C.A. y WALLACE, F.G.: Developmental stages of Trypanosomatid flagellates: a new terminology. *Nature*, 212: 1385-1386 (1966).

- HOWARD, C.: Atlas of Ultrastructure. Ed. ACC, New York (1980).
- HUTYRA, F., MAREK, J. y MANNIGER, R.: Patología y terapéutica especiales de los animales domésticos. Ed. Labor, Barcelona (1973).
- JOHANNESSEN, J.: Cellular Pathobiology Metabolic and Storage Diseases, Vol. 2. Ed. McGraw-Hill International Book Company, New York (1978).
- JUBB, K.V. y KENNEDY, P.C.: Patología de los animales domésticos. Ed. Labor, Barcelona (1973).
- LAPAGE, G.: Veterinary Parasitology. Ed. Oliver and Boyd LTD, London (1968).
- LAPIERRE, J. y HOLLER, C.: Parasitoses hepatoespléniques. Le Concours Medical, 97: 1632-1645 (1975).
- LAPRAS, M., GASTELLU, G., BEURLET, J. y MONIER, J.C.: Syndrome nephrotique, amyloidose renale et immunopathologie chez le chien. Revue. Med. Vet., 123: 785-811 (1972).
- LAVERAN, A.: Leishmanioses. Paris, 167-190 (1917).
- LEISHMAN, W.B.: On the possibility of the occurrence of Trypanosomiasis in India. The Brit. Med. Jour., 1: 1252-1254 (1903).
- LEISHMAN, W.B.: Note on the nature of the parasitic bodies found in tropical splenomegaly. The Brit. Med. Jour., 6: 303 (1904).
- LENNOX, W.J., SMART, M.E. y LITTLE, P.B.: Canine Leishmaniasis in Canada. Can. Vet. Jour., 13: 188-190 (1972).

- LUPASCO, G.H. y AGAVRILOAIEI, A.: Contribution à l'étude de la pathogenité et de l'histopathologie de l'infection à *Leishmania do novani* chez le hamster doré. Arch. Roum. Pathol. Exp. Microbiol., 20: 565-578 (1961).
- MANSON-BAHR, P.E.: Leishmaniasis. Review of Trop. Med., 4: 123-140 (1971).
- MARCATO, P.S.: Anatomia e Istologia Patologica Speciale dei Mammiferi Domestici. Ed. Edagricole, Bologna (1979).
- MATTHEWS, J.L. y MARTIN, J.H.: Atlas de Histología y Ultraestructura humanas. Ed. Salvat, Barcelona (1974).
- MELENEY, H.E.: The histopathology of Kala-azar in the hamster, monkey and man. Am. J. Pathol., 1: 147-168 (1925).
- MILLIN, J., FINE, J.M., GROULADE, J. y GROULADE, P.: Leishmaniose et dyoglobulinémie chez un chien. Revue Med. Vet., 126: 1655-1664 - (1975).
- MIWA, S. y TANIKAWA, K.: Electron microscopic observation of the liver in malaria and Kala-azar. Rev. Internat. Hept., 15: 489-496 - (1965).
- NADIM, A., NAVID-HAMIDID, A., JAVADIAN, E., TAHVILDARI, G. y AMINI, H.: Present status of Kala-azar in Iran. The Am. Jour. of Trop. Med. - and Hyg., 27: 25-28 (1978).
- NAIK, K.G., HIRA, P.R., BHAGWANDEEN, S.B. y EGERE, J.U.: Kala-azar in Zambia. Trans. of the Royal Soc. of Trop. Med. and Hyg., 70: 328-332 (1976).

- NICOLLE, C. y COMTE, C.: Origine canine du Kala-azar. *Boll. Soc. - Pathol. exot.*, 1: 299-301 (1908).
- NIEBERLE, K. and COHRS, P.: Textbook of the special Pathological - anatomy of Domestic animals. Ed. Pergamon Press, New York (1967).
- OLSEN, O.W.: Animal Parasites. Ed. University Park Press, Baltimore (1974).
- OMS: Zoonosis parasitarias. Serie de Informes técnicos núm. 637, Ginebra (1979).
- OTT, K.J., HANSON, W.L. y STAUBER, L.A.: Course of infection of Leishmania donovani in hamsters inoculated by the intraperitoneal route. *The Jour. of Parasitol.*, 53: 641-645 (1967).
- PAMPIGLIONE, S., LA PLACA, M. y SCHLICK, G.: Studies on Mediterranean Leishmaniasis. *Trans. on the Royal Soc. of Trop. Med. and Hyg.*, 68: 349-359 (1974).
- PEREZ-ÍÑIGO, C.: Parasitología. Ed. Hermann Blume, Madrid (1976).
- POTEL, K.: Tratado de Anatomía Patológica general Veterinaria. Ed. - Acribia, Zaragoza (1974).
- QUENUM, C. y DESTOMBES, P.: Les granulomes provoques par les parasi-tes animaux. *Annales d'anatomie Pathologie*, 21: 75-98 (1976).
- RAFYI, A., NIAK, A., NAGHSHINEH, R. y ABOUTORABIAN, H.: Canine visce-ral Leishmaniasis. *The Veterinary Record*, 83: 269-278 (1968).
- RANQUE, J.: Les Leishmanioses humaines et animales. *Animal de compag*nie, 3: 233-241 (1974).

- RANQUE, J., DUNAN, S., FRANCK, J. y GUILICI, M.: Valeur et interpretation des resultats seroimmunologiques dans la Leishmaniose viscerale mediterraneenne. *Animal de compagnie*, 3: 203-206 (1978).
- RAVISSE, P.: Histopathologie de la Leishmaniose. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique*, 71: 78-84 (1978).
- RHODIN, J.: *Histology, a text and atlas*. New-York (1974).
- ROBBINS, S.L.: *Patologia estructural y funcional*. Ed. Interamericana, Mexico (1975).
- RODRIGUES, J. y DE PAOLA, D.: Hepatic lesions in American Kala-azar. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 55: 249-255 (1961).
- ROJAS, M.A.: Alterações renais no Calazar canino espontaneo. *Rev. - Soc. Bras. Med. Trop.*, 7: 353-358 (1973).
- RONDANELLI, E.G., CAROSI, G., SCAGLIA, M., FILICE, G. y CARNEVALE, G.: Citologia, citofisiologia e citopatogenicita di Leishmania. *Recenti Progressi in Medicina*, 61: 137-162 (1976).
- RONDANELLI, E.G., CAROSI, G., SCAGLIA, M., FILICE, G. y CARNEVELE, G.: Biologia di Leishmania e patogenesi dell'infezione cellulare "in vivo" e "in vitro". *Giornale di Malattie infettive e Parasitarie*, 10: 858-867 (1977).
- SAIZ MORENO, L.: *Las Zoonosis*. Ed. Aedos, Barcelona (1976).
- SANCHEZ, C.: Algunas observaciones sobre los caracteres generales del foco endémico en Madrid. *Trabajos Instituto Biología Animal*, 4: 70-87 (1936).

- SANCHIS, R., VITU, C. y GIAUFFRET, A.: Les examens de laboratoire - dans la Leishmaniose canine. *Revue Med. Vet.*, 127: 1191-1202 - (1976).
- SANDBORN, E.: *Cells and Tissues by Light and Electron Microscopy*, - Vol. II. Ed. Academic Press, New York (1970).
- SANDRITTER, W. y THOMAS, C.: *Histopatología*, 3ª edición. Ed. científico-médica, Barcelona (1979).
- SANTIAGO, J.M.: Contribución al diagnóstico de la Leishmaniosis canina. Consejo General de Colegios Veterinarios de España, 8: 1-21 - (1948).
- SCHALL, B.F. y FARRELL, J.P.: The course of infection of a Greek-Mediterranean strain of *Leishmania donovani* in the golden hamster. *Bull. N. J. Acad. Sci.*, 18: 24 (1973).
- SCHLOTKE, V.B.: Leishmaniasis (Kala-azar) bei Hunden in Bayern. *Tierärzth. Wschr.*, 88: 70-73 (1975).
- SCHNUR, L., ZUCHEPMAN, A. y MONTILIO, B.: Dissemination of Leishmanias to the Organs of Syrian Hamsters following intrasplenic inoculation of promastigotes. *Exp. Parasit.*, 34: 432-447 (1973).
- SEN GUPTA, P.C. y BHATTACHARYYA, B.: The spleen in Kala-azar. *J. Ind. Med. Assoc.*, 21: 1-4 (1951).
- SHIBOLET, S., MERKER, H.J., SOHAR, E., GAFNI, J. y HELLER, M.: Cellular proliferation during the development of amyloid. *Br. J. Exp. Path.* 48: 244-249 (1967).

- SWIMAMURA, T. y SORENSON, G.D.: Experimental amyloidosis. Am. J. - Path., 46: 466 (1965).
- SMITH, H.A. y JONES, T.C.: Patología Veterinaria. Ed. Uteha, Mexico (1962).
- SMITH, E. y CALHOUN, M.: The microscopic anatomy of the white rat. Ed. The Iowa State University, Iowa (1968).
- SMRKOVSKI, L.L. y LARSON, C.L.: Effect of treatment with BCG on the course of visceral Leishmaniasis in BALB/C Mice. Infection and - Immunity, 16: 249-257 (1977).
- SMYTH, J.D.: Introducción a la parasitología animal. Ed. Continental, Mexico (1965).
- STAUBER, L.A.: Leishmaniasis in the hamster. W.H. Cole (ed.). Rutgers University Press, New Brunswick (1955).
- STAUBER, L.A.: Characterization of Strains of Leishmania donovani. Exp. Parasitol. 18: 1-11 (1966).
- TANIKAWA, K.: Aspectos ultraestructurales del hígado y de las enfermedades hepáticas. Ed. Científico-Médica, Barcelona (1971).
- TEILUM, G.: Amyloidosis secondary to agammaglobulinaemia. J. Path. & Bact., 88: 317-320 (1964).
- THERAN, P. y LING, G.J.: Visceral Leishmaniasis. J. Am. Vet. Med. - Ass., 150: 82-88 (1967).
- TRAUTMANN, A. y FIEBIGER, T.J.: Histología y Anatomía microscópica - comparada de los animales domésticos. Ed. Labor, Barcelona (1950).

- TRUMP, B. y JONES, R.: Diagnostic Electron Microscopy. Vol. 3. Ed. Wiley Medical, New York (1980).
- TRYPHONAS, L., ZAWIDZKA, Z., BERNARD, M.A. y JANZEN, E.A.: Visceral Leishmaniasis in a dog. *Can. Jour. of Comp. Med.*, 41: 1-12 (1977).
- UEBEL, H.: Über Eiweißstoffwechselstörungen bei infantiler visceraler Leishmaniose unter besonderer Berücksichtigung der pathologisch - anatomischen Veränderungen. *Z Tropenmed. Parasitol.*, 2: 327-337 - (1951).
- VAVILOVA, M. y ALIMOVA, V.: Some Pathologico-Morphological changes in experimental Leishmaniasis in *Cricetulus auratus* infected with the middle Asia strains of *Leishmania canis* and *Leishmania tropica major*. *Med. Parazitol.*, 6: 648-655 (1963).
- VERESS, B., MALIK, M.O. y SATIR, A.: Morphological observations on - visceral Leishmaniasis in the Sudan. *Trop. and Geogr. Med.*, 26: - 198-203 (1974).
- VERESS, B., OMER, A., SATIR, A. y EL HASSAN, A.M.: Morphology of the spleen and lymph nodes in fatal visceral Leishmaniasis. *Immunology*, 33: 605-610 (1977).
- VITU, C., SANCHIS, R. y GIAUFFRET, A.: Evolution des proteines seriques dans la Leishmaniose canine. *Comptes rendus des seances de la Societe de Biologie*, 167: 513-518 (1973).
- VOIGHT, A. y KLEINE, F.: *Zoonosis*. Ed. Acribia, Zaragoza (1975).
- WEISINGER, J.R., PINTO, A., VELAZQUEZ, G.A., BRONSTEIN, I., DESSENE, - J.J., DUQUE, J.F., MONTENEGRO, J., TAPANES, F. y REÇAGNO DE ROUSSE, A.:

- Clinical and histological kidney involvement in human Kala-azar.  
The Am. Jour. of Trop. Med. and Hyg., 27: 357-359 (1978).
- WELSCH, U. y STORCH, V.: Estudio comparado de la Citología e Histología animal. Ed. Urmo, Bilbao (1976).
- WINSLOW, D.J.: Pathology of Protozoal and Helminthic Diseases. Ed. Raul A. Marcial-Rojas, Baltimore (1971).
- YOUNG, C.W., SMYLY, M.J. y BROWN, C.: Experimental Kala-azar in a hamster. Proc. Soc. Exp. Biol., 21: 357-359 (1924).
- ZAMARRO DE ANTONIO, E.: La Leishmaniosis canina y el Kala-azar en España. Supl. Cient. Bol. Inf. Cons. Gen. Coleg. Vet. de España, 9: 39-50 (1966).
- ZOLLINGER, H.U.: Anatomía Patológica. Ed. Salvat, Barcelona (1977).

IX. AGRADECIMIENTO

Al Profesor Dr. D. Eduardo Gallego, director de la presente Tesis, por sus consejos, enseñanzas y orientaciones que en todo momento han contribuido a mi formación tanto docente como investigadora y a la elaboración de este trabajo.

A la Profesora Dra. D<sup>a</sup> María Castaño por la perseverante e inestimable ayuda prestada en todo instante y de manera especial en el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

Mi gratitud al Departamento de Patología General y en particular al Profesor Dr. D. Manuel Rodríguez por sus aportaciones en el estudio biopatológico; al resto del Profesorado y personal del Departamento de Histología y Anatomía Patológica de la Facultad de Veterinaria de Madrid y a todas aquellas personas que de una u otra manera hicieron posible este trabajo.

96

**X. ICONOGRAFIA**

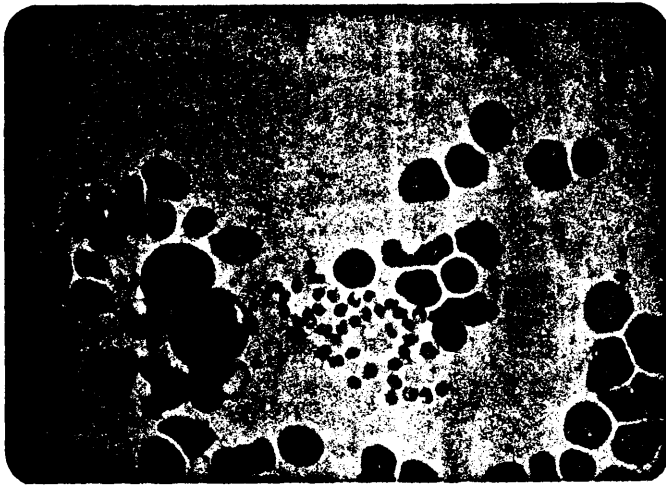


Fig. 1 : impronta de bazo. Amastigotes extracelulares. M. Grünwald-Giemsa x1250.

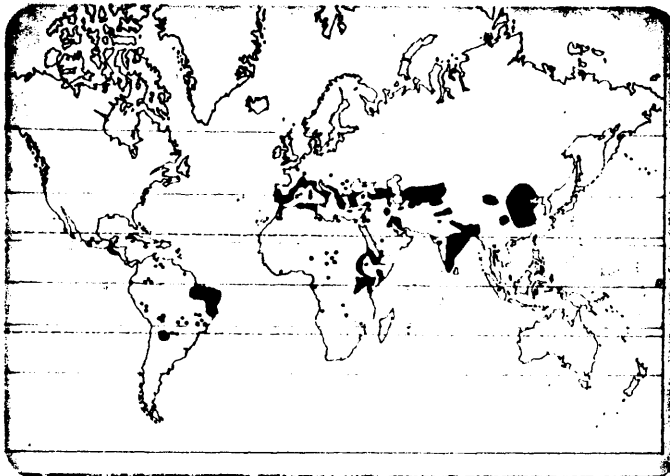


Fig. 2 : distribución geográfica de la Leishmaniosis visceral.  
Azul: zonas endémicas.  
Rojo: focos esporádicos.

II



Fig. 3 : criceto testigo (A) y criceto infectado, estadio final de la enfermedad (B).

III

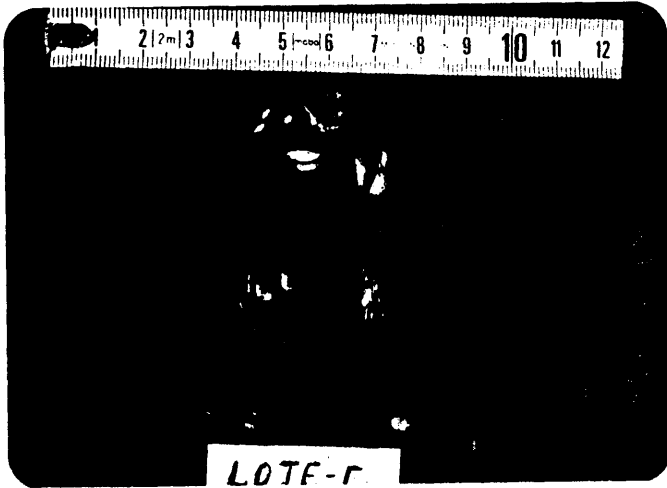


Fig. 4: bazo, hígado y riñones de animal testigo.

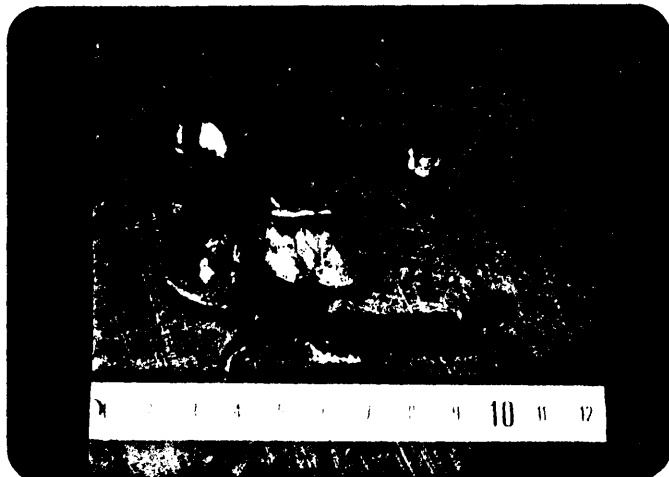


Fig. 5: bazo, hígado y riñones de animal infectado (grupo 8<sub>3b</sub>).

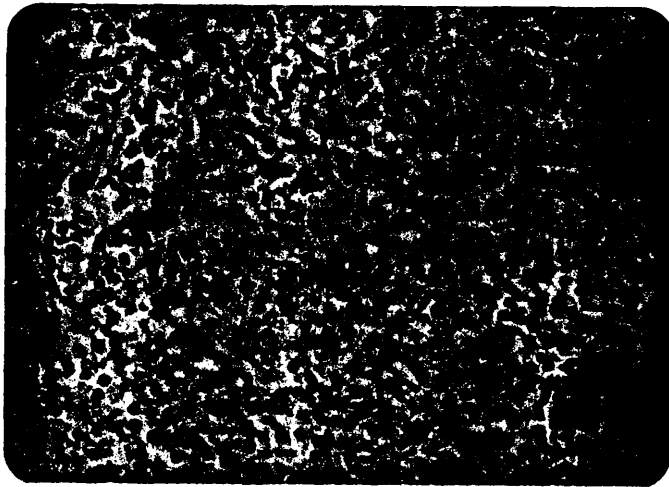


Fig. 6: bazo ( $A_1$ ). Pulpa roja: sin alteraciones dignas de reseñar. H-E x 500.

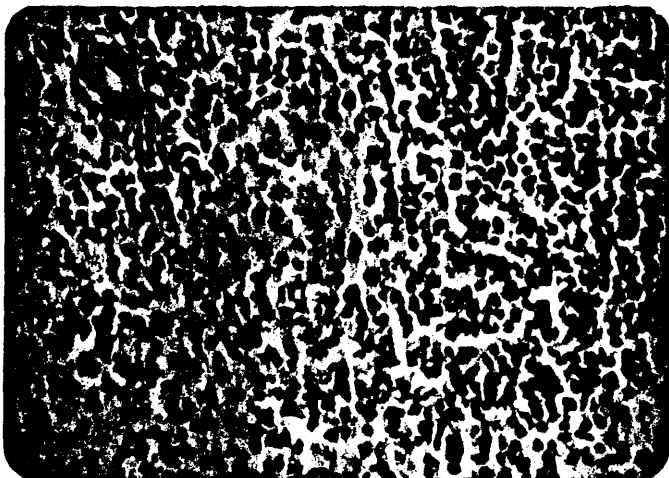


Fig. 7: bazo ( $A_2$ ). Corpúsculo de Malpighi: puede observarse una zona clara con hiperplasia de células reticulares y disminución de elementos linfocitarios. H-E x 500.

v

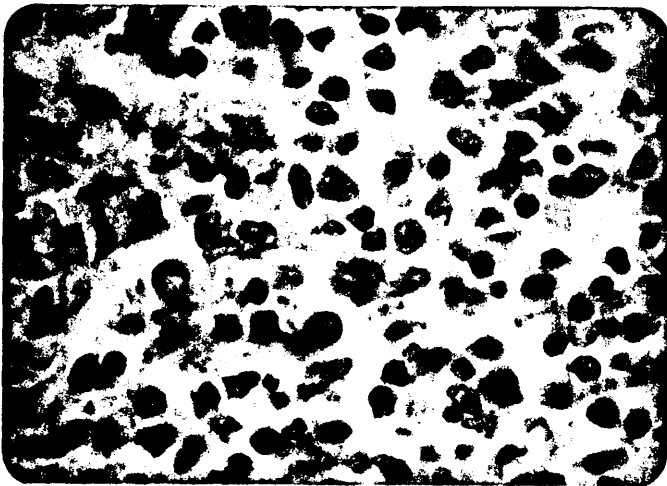


Fig. 8: bazo ( $A_2$ ). Pulpa roja: presencia de linfocitos, plasmocitos, eosinófilos y macrófagos con amastigotes. H-E x 1250.



Fig. 9: bazo ( $A_2$ ). Pulpa roja: agrupaciones linfo-histio-plasmocitarias y leucocitos eosinófilos. La cápsula esplénica no aparece alterada. H-E x 312.

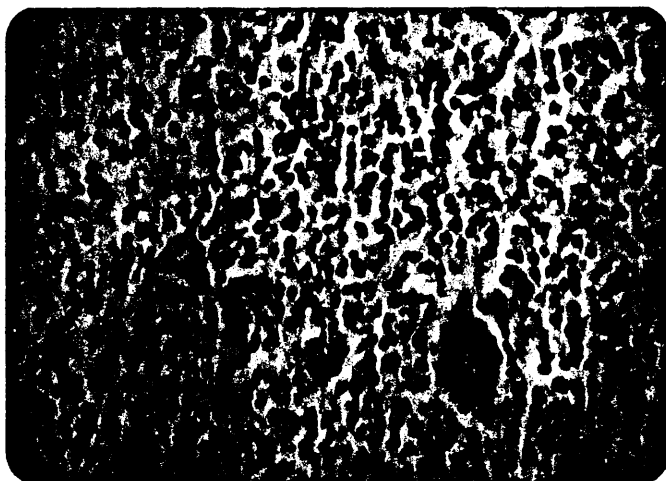


Fig. 10: bazo (A<sub>2</sub>). Pulpa roja: se advierte la presencia de una célula gigante multinucleada junto a los infiltrados celulares observados en la fig. 9. H-E x 500.

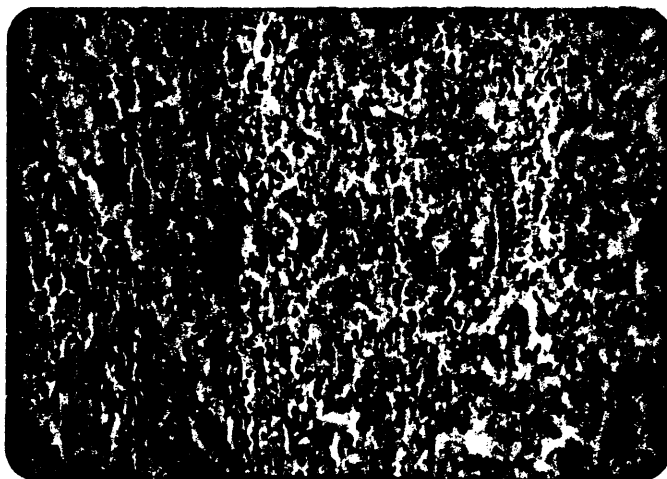


Fig. 11: bazo (A<sub>3</sub>). Presencia de sustancia amiloide tanto en pulpa roja como en la zona periférica de la pulpa blanca. Rojo Congo x 312.

VII

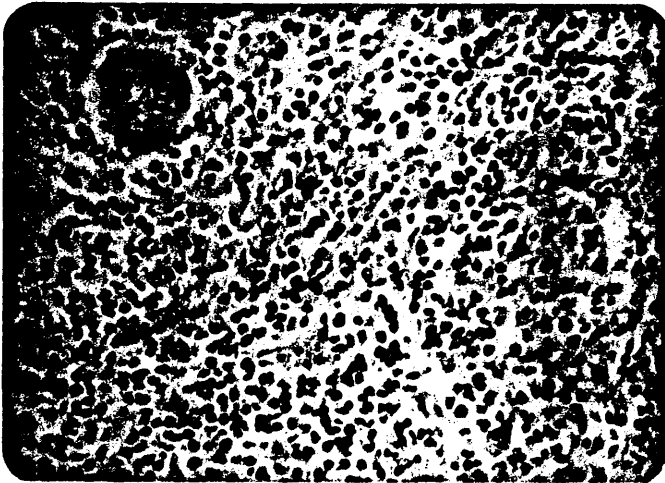


Fig. 12: bazo (A<sub>3a</sub>). Corpúsculo de Malpighi: disminución de elementos linfocitarios. Cierta hiperplasia de células reticulares. Presencia de una sustancia eosinófila (amilóide) entre los elementos celulares. H-E x 500.

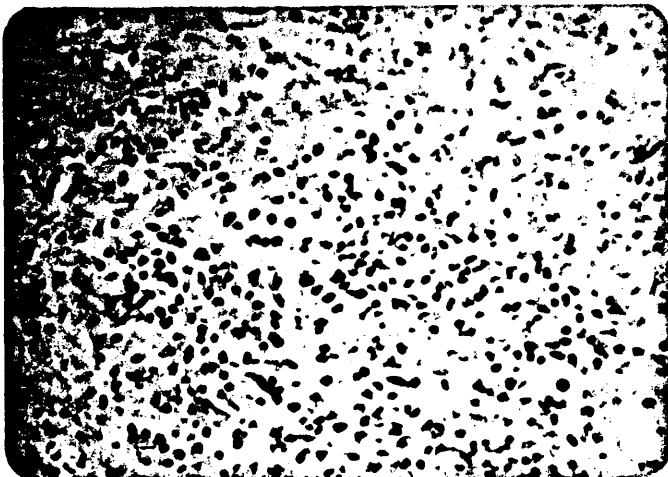


Fig. 13: bazo (A<sub>3j</sub>). Pulpa blanca: marcada atrofia numérica en el corpúsculo de Malpighi. H-E x 500.

VIII

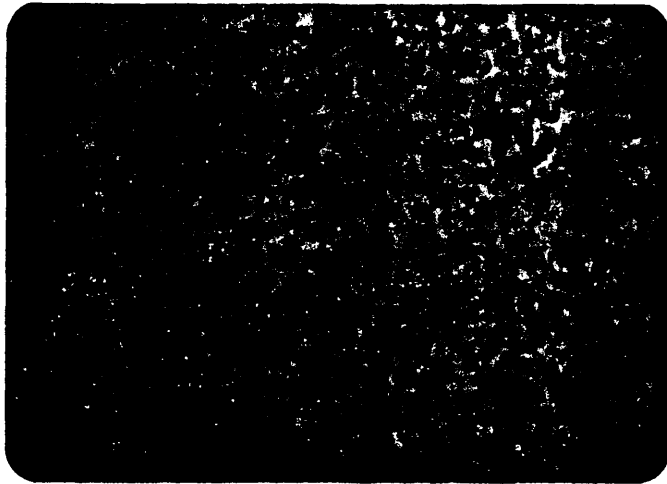


Fig. 14: bazo (A<sub>3a</sub>). Pulpa roja: pobre en células nucleadas, con un elevado contenido en glóbulos rojos. H-E x 500.



Fig. 15: bazo (A<sub>3a</sub>). Perisplenitis focal, con presencia de linfocitos y macrófagos. La pulpa roja muestra un elevado contenido en eritrocitos. T. Masson x 312.

IX

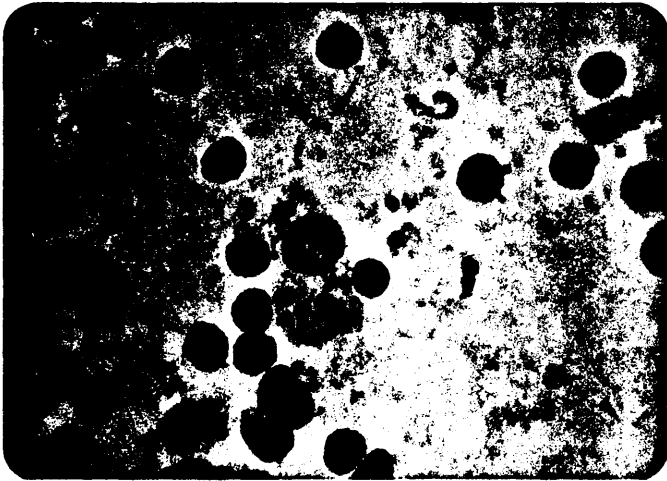


Fig. 16: impronta de bazo (A<sub>32</sub>). Presencia de amastigotes en el citoplasma de un macrófago.  
M. Grünwald-Giemsa x 1250.

x

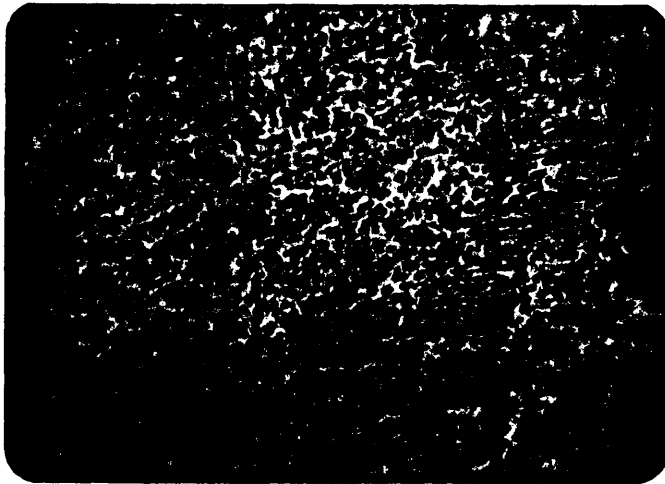


Fig. 17: bazo (A<sub>36</sub>). Amiloidosis en pulpa roja y en pulpa blanca. Presencia de un pigmento pardo amarillento en el interior de los macrófagos. Rojo Congo x 312.

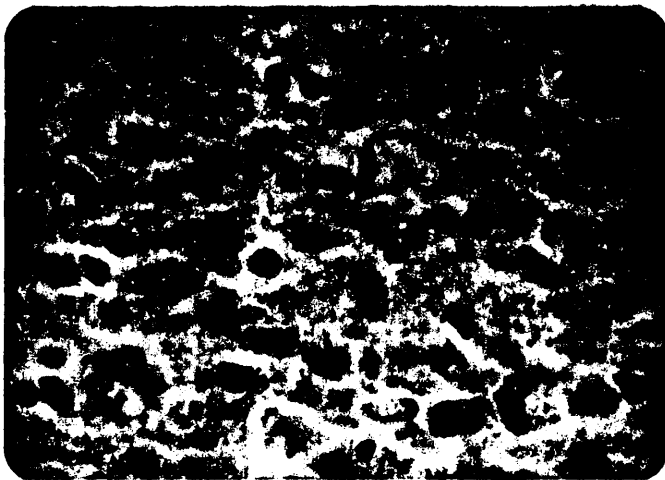


Fig. 18: bazo (A<sub>31</sub>). Pulpa roja: presencia de abundantes amastigotes, tanto intracelulares - como extracelulares. H-E x 1250.

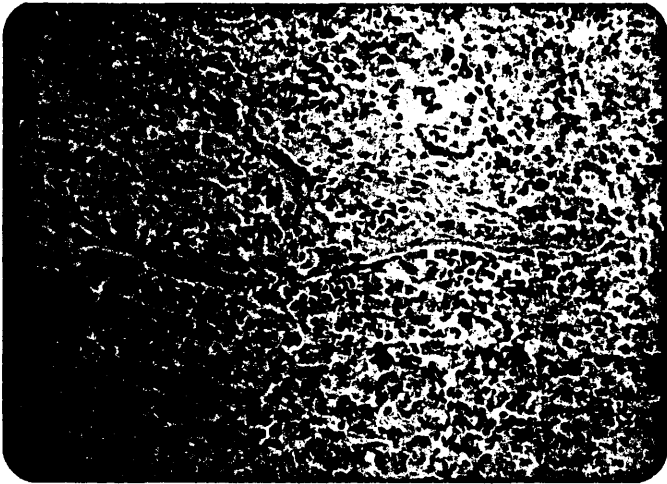


Fig. 19: bazo (A<sub>36</sub>). Pulpa roja: infiltrados linfoplasma-histiocitarios. Abundantes amastigotes. Se advierte sustancia amiloide (en verde azulado) entre los elementos celulares. T. Masson x 312.

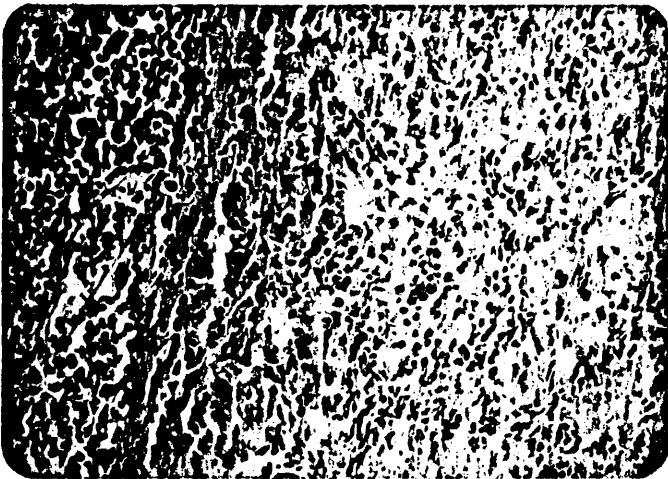


Fig. 20: bazo (A<sub>36</sub>). Nódulo inflamatorio sobre la cápsula esplénica, con células redondas y neovasos. La pulpa roja presenta las mismas características que la fig. 19. T. Masson x 312.

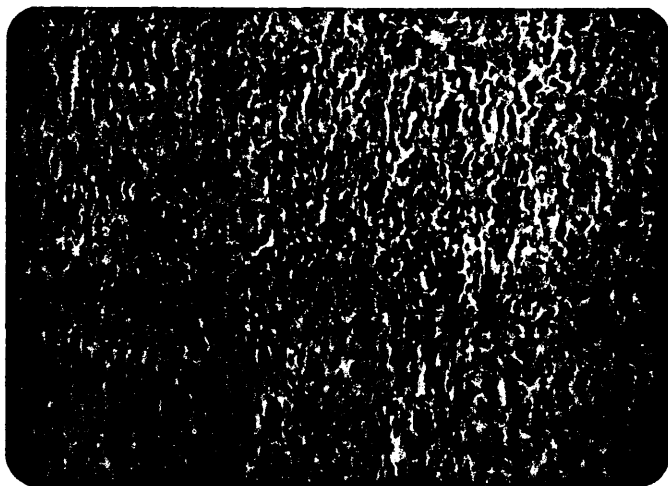


Fig. 21: bazo ( $B_1$ ). Pulpa roja: presencia de abundantes hematias y formaciones nodulares integradas por células reticulares parasitadas. H-E x 312.

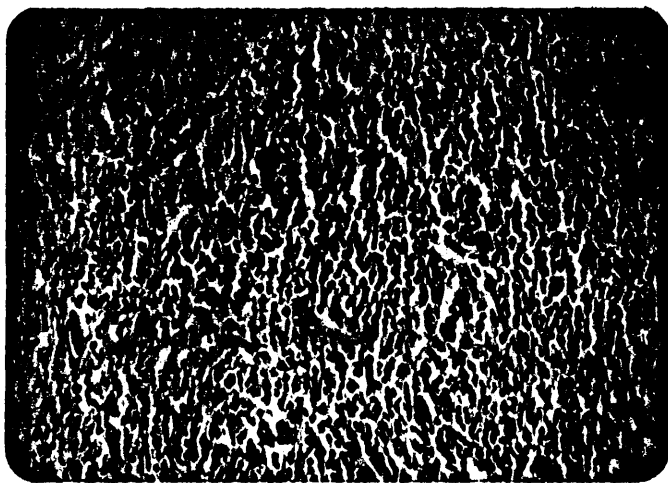


Fig. 22: bazo ( $B_1$ ). Corpúsculo de Malpighi: zonas claras que corresponden a una hiperplasia focal de células reticulares. H-E x 312.

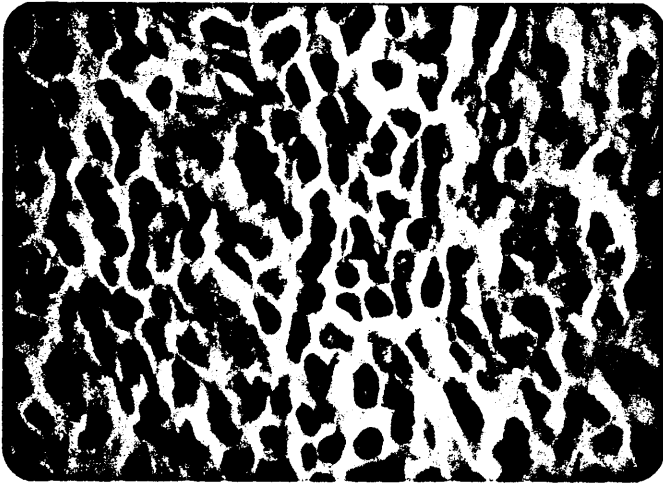


Fig. 23: bazo (B<sub>1</sub>). Pulpa blanca: células redondas y macrófagos con amastigotes. H-E x 1250.

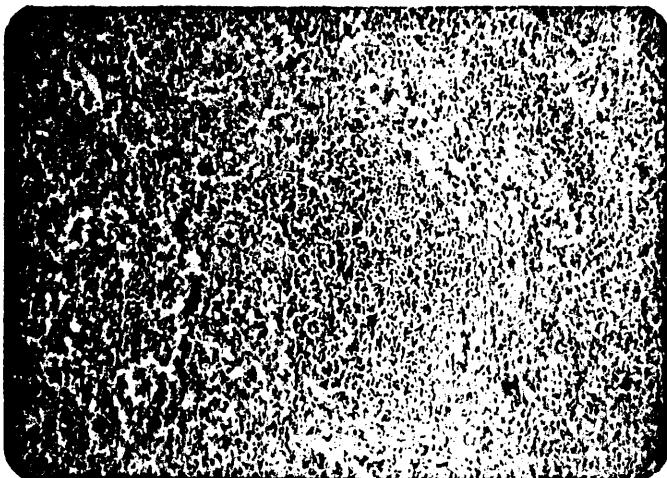


Fig. 24: bazo (B<sub>2</sub>). Corpúsculo de Malpighi atrófico, rodeado por el depósito de una sustancia eosinófila y acelular (amiloide). H-E x 125.

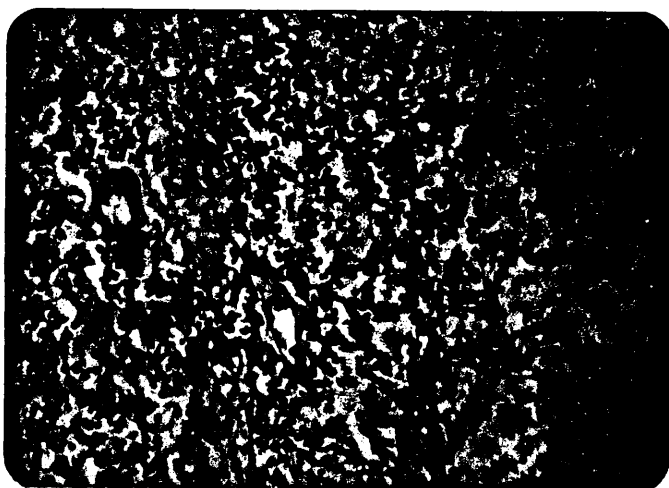


Fig. 25: bazo ( $B_2$ ). Depósito en banda de sustancia amiloide tanto en la periferia como en el interior del corpúsculo de Malpighi (líneas de resquebrajamiento). Rojo Congo - x 312.

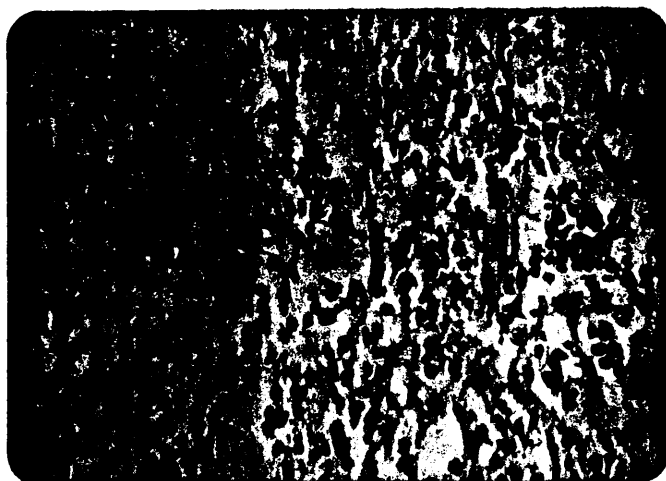


Fig. 26: bazo ( $B_2$ ). Pulpa roja: elementos reticulares parasitados, aislados y en regresión, junto con linfocitos, algunos plasmocitos y eosinófilos. H-E x 500.



Fig. 27: bazo ( $B_{32}$ ). Corpúsculo de Malpighi con atrofia numérica y evidente desorganización de su estructura. Depósito de sustancia eosinófila y acelular (amiloide). H-E x 312.

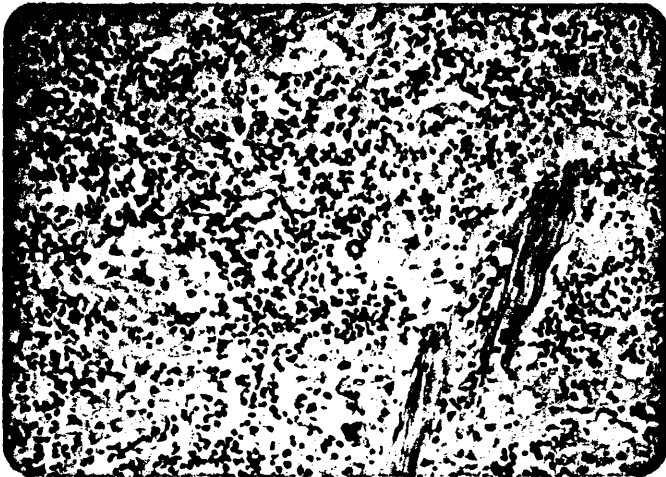


Fig. 28: bazo ( $B_{32}$ ). Pulpa roja: pobre en células nucleadas y abundantes hematies. Notable depósito de amiloide (en verde azulado). T. Masson x 312.

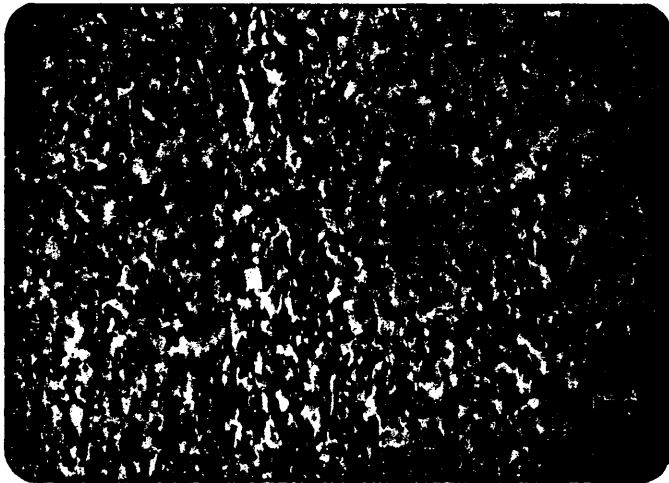


Fig. 29: bazo (B<sub>3a</sub>). Depósito de sustancia amiloide resquebrajada en pulpa roja. Rojo Congo - x 312.

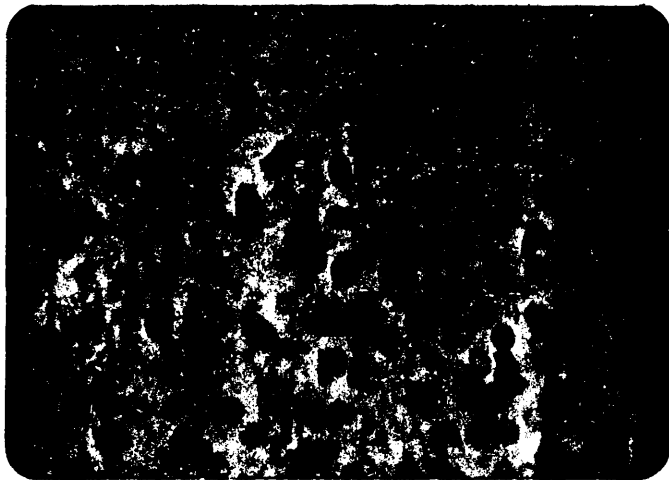


Fig. 30: bazo (B<sub>3a</sub>). Pulpa roja: abundantes masti-  
gotas, tanto libres como intracitoplasmá-  
ticos en las escasas células reticulares  
observadas. H-E x 1250.

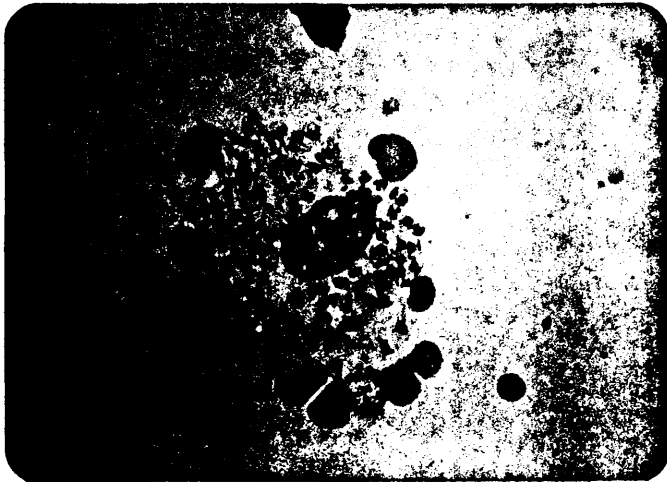


Fig. 31: impronta de bazo ( $B_{31}$ ). Macrófago con abundantes amastigotes en su citoplasma. M. - Grünwald-Giemsa  $\times 1250$ .

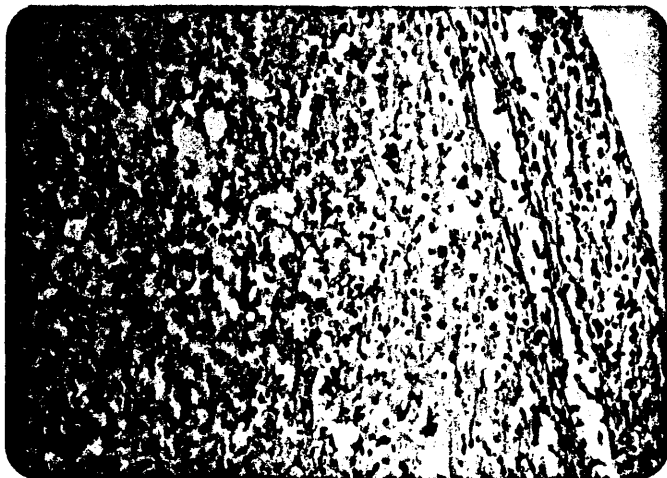


Fig. 32: bazo ( $B_{31}$ ). Perisplenitis nodular focal - con infiltrados inflamatorios de células - redondas. H-E  $\times 312$ .

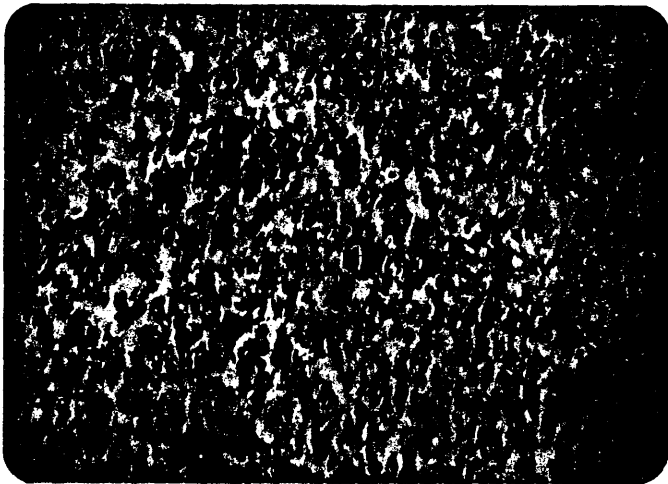


Fig. 33: bazo ( $B_{3b}$ ). Pulpa blanca: resto de corpúsculo de Malpighi. Aparece sustancia amiloide predominantemente en la periferia. Abundantes amastigotes. H-E x 312.



Fig. 34: bazo ( $B_{3b}$ ). Abundantes parásitos tanto libres como intracitoplasmáticos en macrófagos. Azul de metileno x 500.

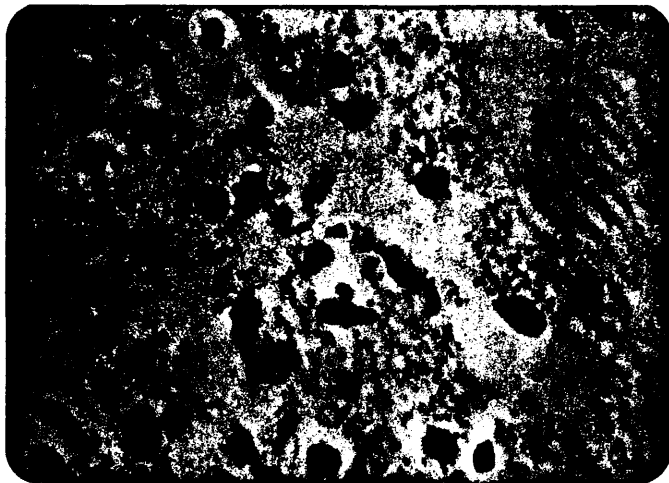


Fig. 35: bazo (B<sub>3b</sub>). Pulpa roja: amastigotes intra y extracelulares, y sustancia eosinófila y acelular (amiloide) dispuesta en bandas. H-E x 1250.

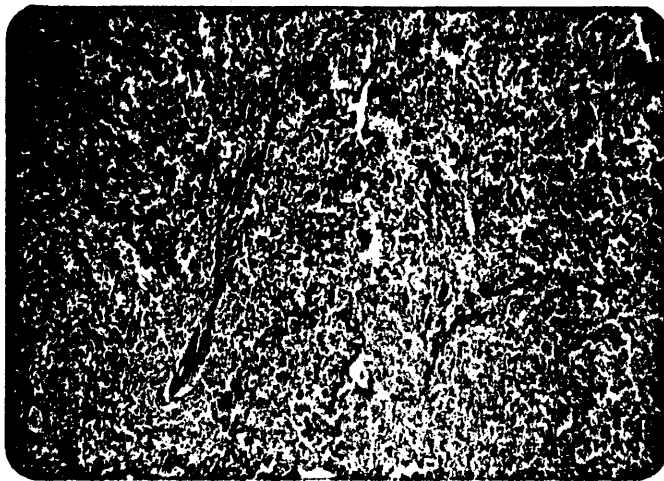


Fig. 36: bazo (B<sub>3b</sub>). Amiloidosis esplénica que afecta a la pulpa roja y a la pulpa blanca. Rojo Congo x 50.

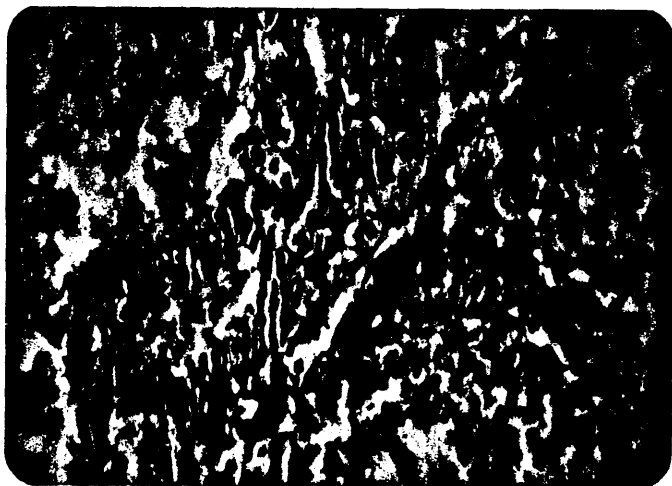


Fig. 37: bazo ( $B_{j6}$ ). Abundante depósito de sustancia amiloide con la típica imagen en "líneas de resquebrajamiento". Rojo Congo x 500.

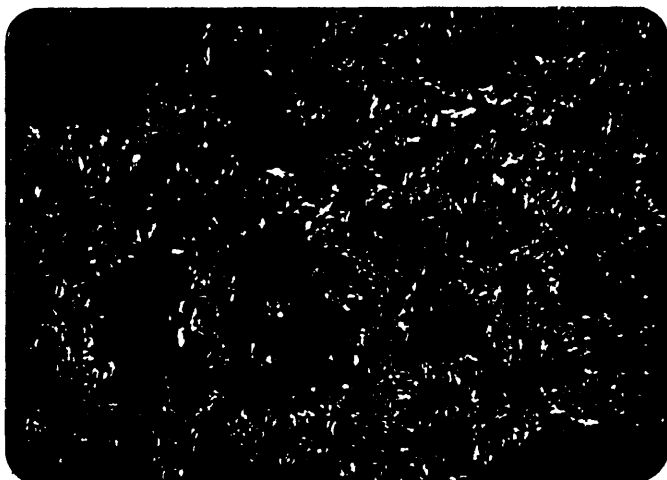


Fig. 38: bazo ( $B_{j6}$ ). La Microscopía de polarización confirma la intensa amiloidosis. Rojo Congo (polarización) x 312.

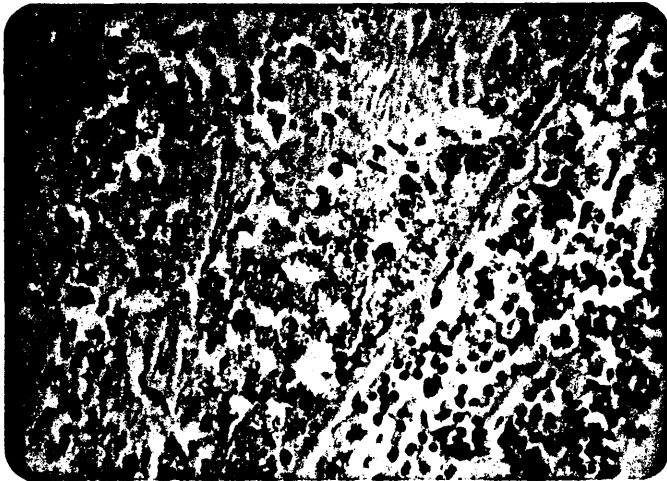


Fig. 39: bazo (B<sub>9b</sub>). Periesplenitis focal muy evidente, con neovesos, infiltrados linfocitarios y macrófagos cargados de amastigotes. La pulpa roja presenta las características de la fig. 36. H-E x 500.

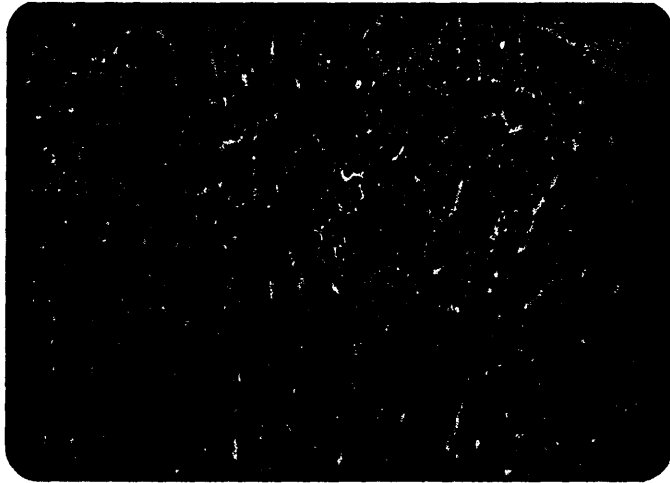


Fig. 40: hígado (A<sub>1</sub>). Pequeños infiltrados focales de células redondas en el parénquima hepático. H-E x 312.

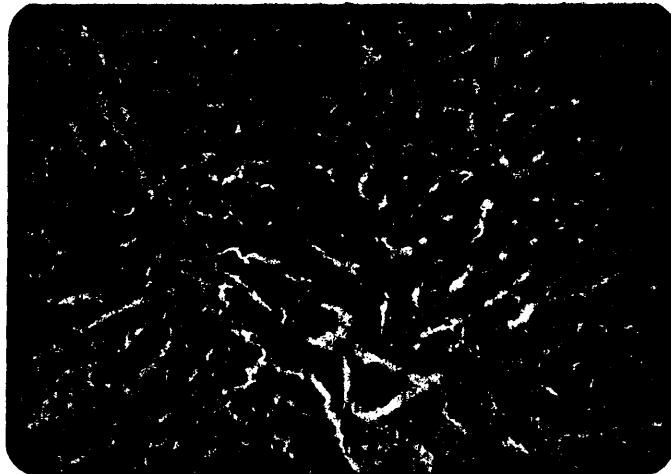


Fig. 41: hígado (A<sub>1</sub>). Infiltrado inflamatorio inespecífico en el espacio porta. H-E x 312.

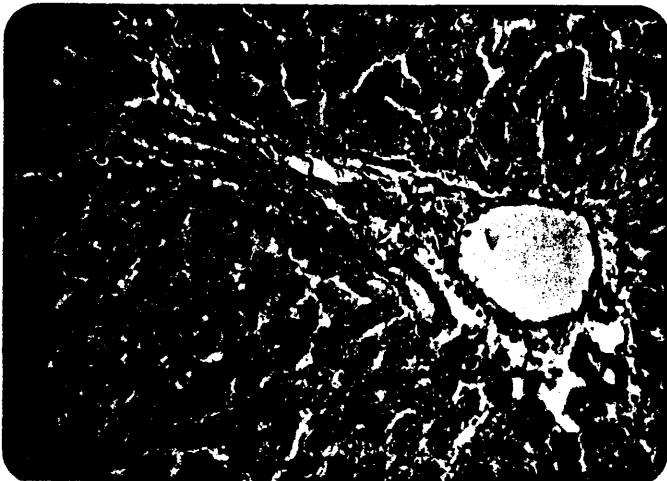


Fig. 42: hígado ( $A_1$ ). Los hepatocitos muestran un -  
citoplasma de aspecto finamente granuloso.  
T. Masson .x 312.

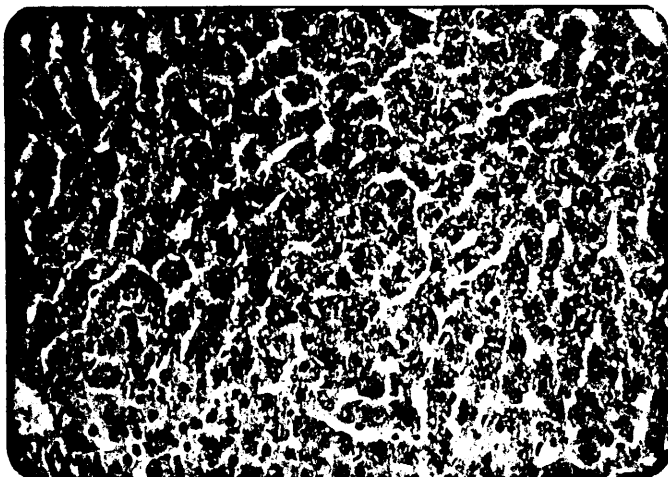


Fig. 43: hígado ( $A_1$ ). Glucógeno evidente en el inte  
rior de los hepatocitos. Carmin de Best -  
x 312.

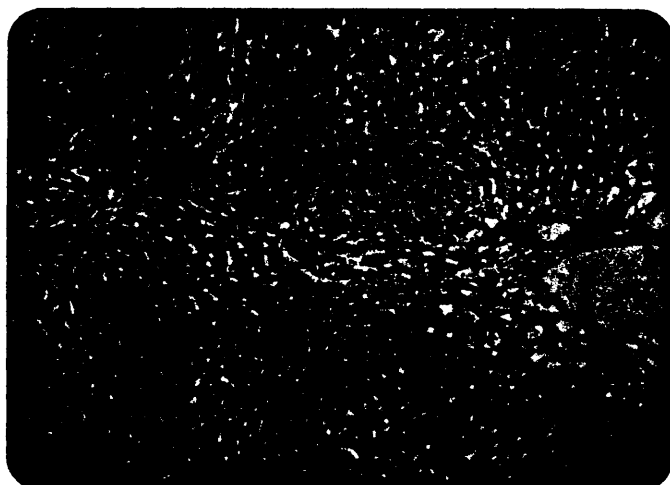


Fig. 44: hígado (A<sub>1</sub>). Los hepatocitos próximos al espacio porta, presentan un citoplasma más oscuro, condensado y retraído. H-E x 125.

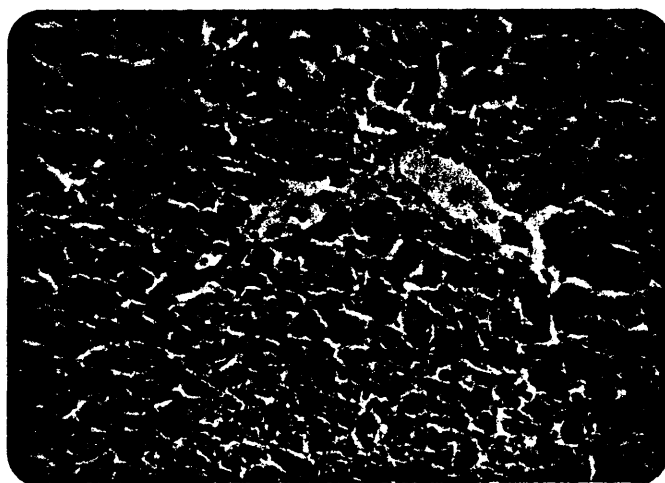


Fig. 45: hígado (A<sub>1</sub>). Macrófago con hemosiderina. Azul Prusia x 312.

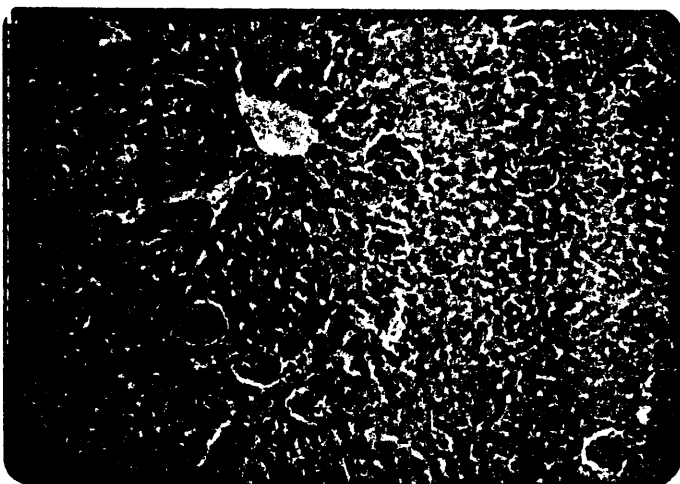


Fig. 46: hígado (A<sub>2</sub>). Formaciones granulomatosas, de forma redondeada, en el seno del parénquima hepático. H-E x 125.



Fig. 47: hígado (A<sub>2</sub>). Infiltrados inflamatorios en el espacio porta. H-E x 312.

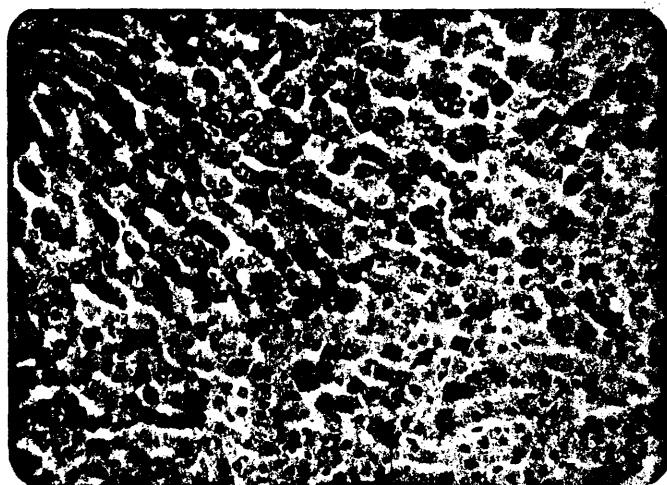


Fig. 48: hígado (A<sub>2</sub>). Disminución del glucógeno en los hepatocitos. Carmin de Best x 312.

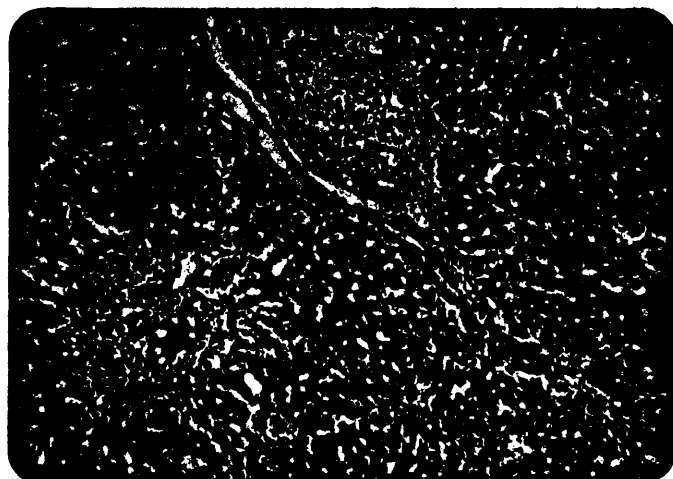


Fig. 49: hígado (A<sub>3a</sub>). Infiltrados inflamatorios en el espacio porta y abundantes granulomas pequeños intraparenquimatosos. H-E x 125.

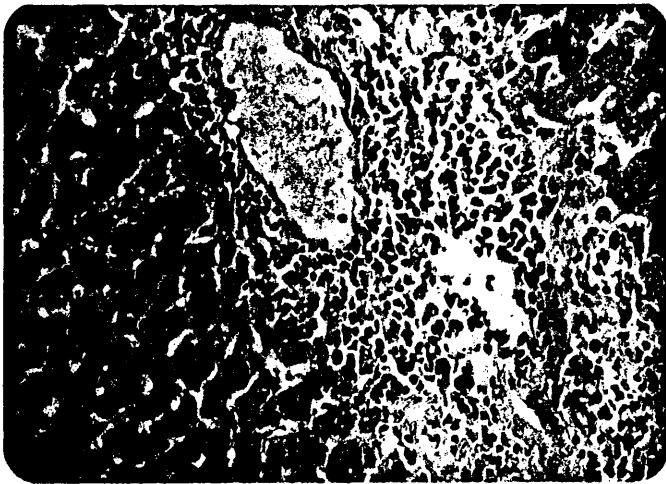


Fig. 50: hígado (A<sub>3a</sub>). Infiltrados muy densamente celulares en el espacio porta. T. Masson x 312.

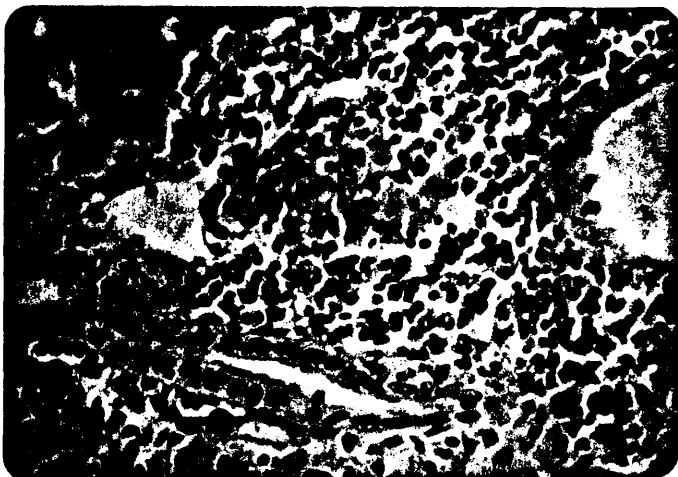


Fig. 51: hígado (A<sub>3a</sub>). Infiltrados compuestos de linfocitos, histiocitos, plasmocitos y algunos eosinófilos en el espacio porta. Se observan hepatocitos en estado regresivo. H-E - x 500.

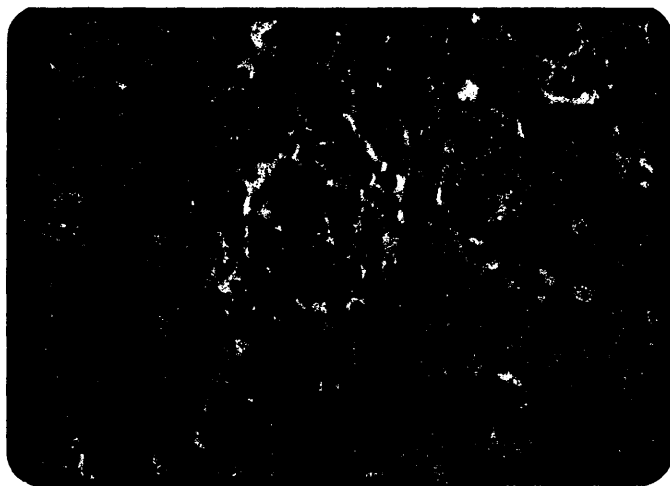


Fig. 52: hígado (A<sub>30</sub>). Granuloma intraparenquimato-  
so. Hepatocitos con degeneración hidrópica.  
H-E x 500.



Fig. 53: hígado (A<sub>31</sub>). Detalle de un granuloma cons-  
tituido por hepatocitos en regresión, lin-  
focitos, algún plasmocito y macrófagos con  
amastigotes. H-E x 1250.

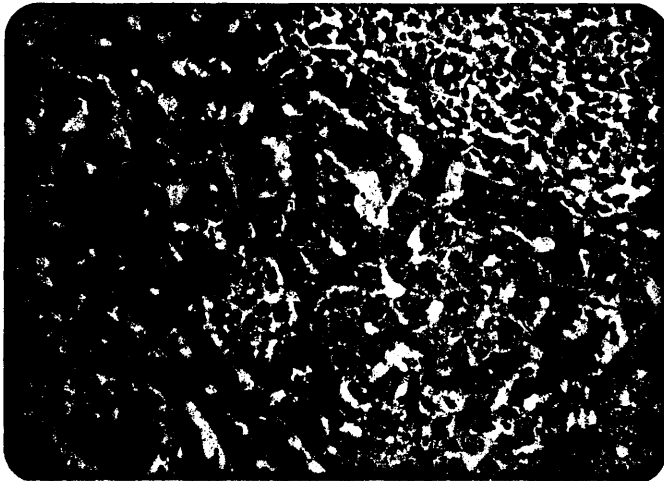


Fig. 54: hígado (A<sub>34</sub>). Observamos infiltrados inflamatorios periportales, hepatocitos con degeneración hidrópica, formaciones granulomatosas y una célula gigante multinucleada. H-E x 312.

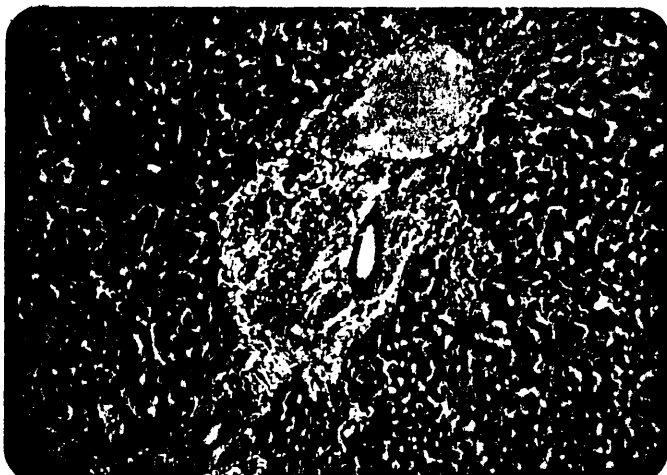


Fig. 55: hígado (A<sub>32</sub>). Sustancia amiloide entre los infiltrados inflamatorios del espacio porta. Rojo Congo (polarización) x 125.

XXX



Fig. 56: hígado (A<sub>30</sub>). Granuloma junto a hepatocitos con evidente degeneración hidrópica. H-E - x 1250.

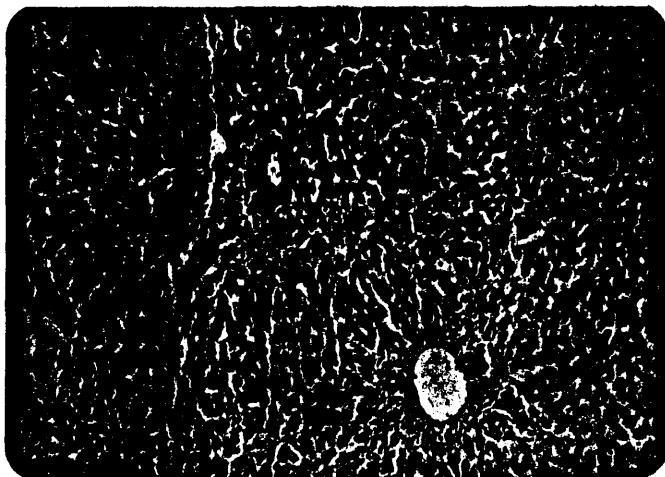


Fig. 57: hígado (A<sub>30</sub>). Disminución del glucógeno hepático, localizado, preferentemente, en la zona centrolobulillar. PAS x 125.

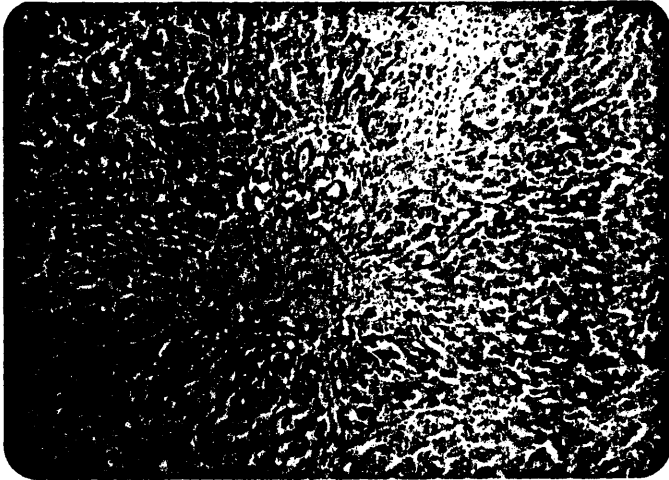


Fig. 58: hígado (A<sub>3a</sub>). Infiltrados inflamatorios y sustancia amiloide en espacio porta. H-E x 125.

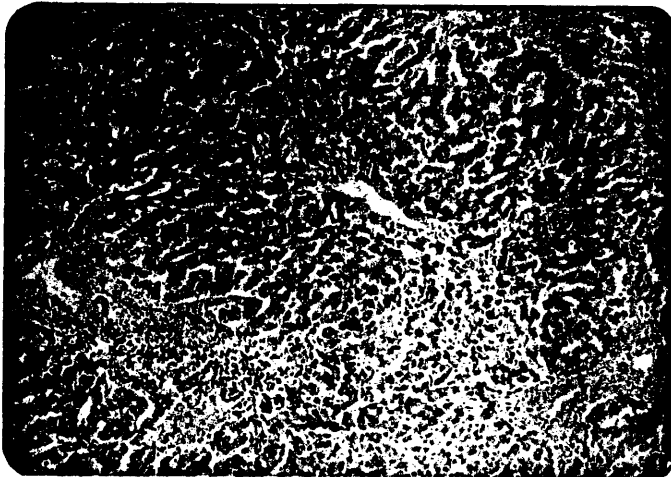


Fig. 59: hígado (A<sub>3b</sub>). Desorganización arquitectural. Abundantes infiltrados periportales, notable depósito de sustancia amiloide. - Algunos granulomas. H-E x 125.

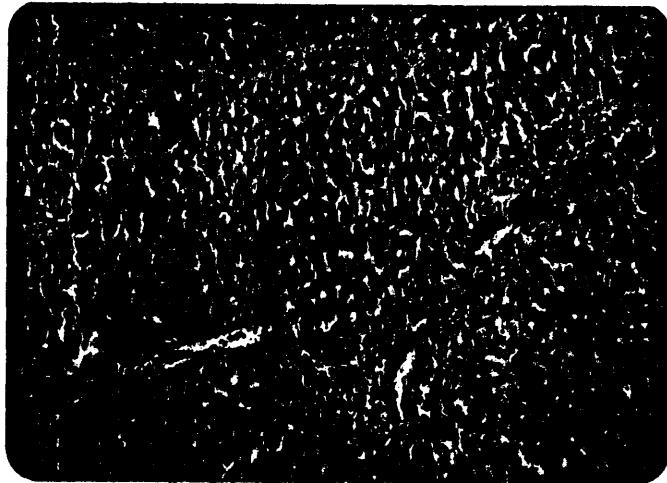


Fig. 60: hígado ( $A_{3b}$ ). Depósitos de sustancia amiloide junto a los infiltrados. Rojo Congo x 125.

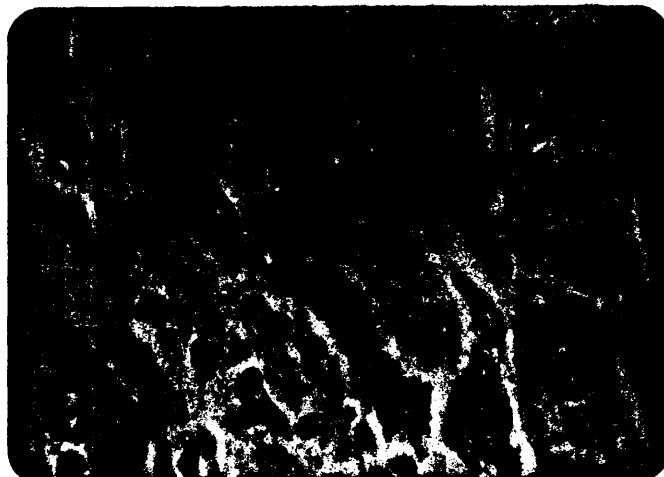


Fig. 61: hígado ( $A_{3b}$ ). Hepatocitos con evidentes - signos regresivos. Se observan parásitos intra y extracelulares. H-E x 1250.

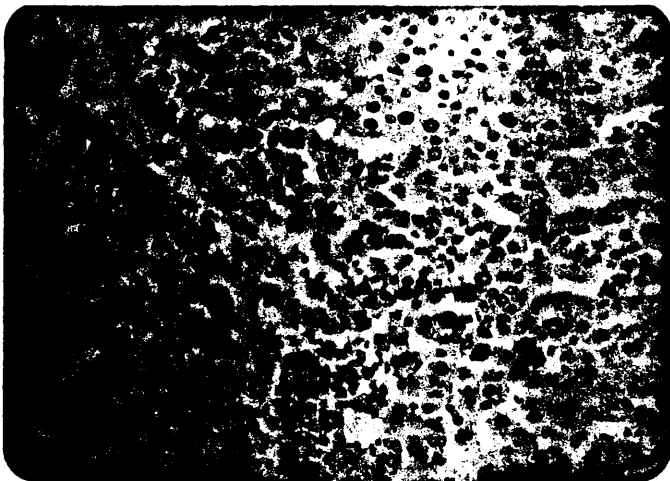


Fig. 62: hígado (A<sub>3b</sub>). Glucógeno en escaso número de hepatocitos. PAS x 312.

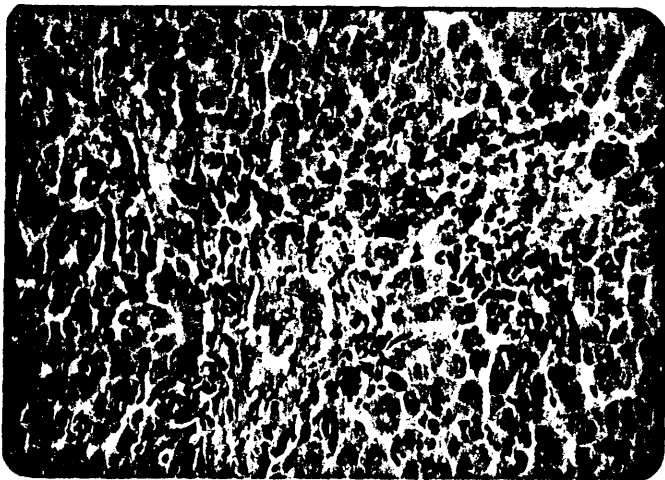


Fig. 63: hígado (A<sub>3b</sub>). Hemosiderina en abundantes macrófagos situados entre elementos de los infiltrados inflamatorios. Azul de Prusia - x 312.

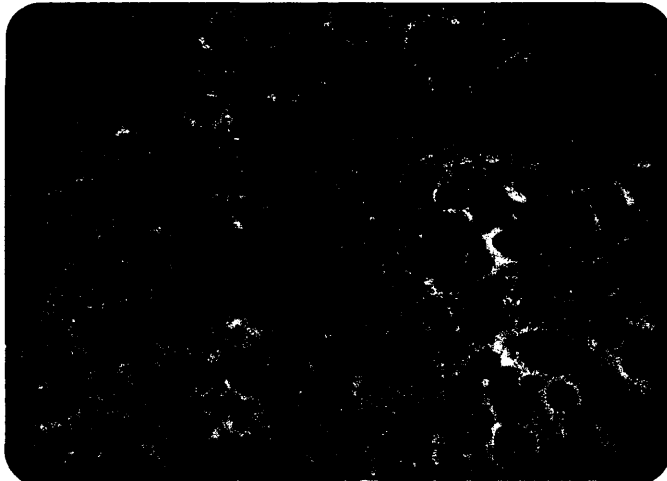


Fig. 64: hígado (A<sub>3b</sub>). Amastigotes en macrófagos del foco inflamatorio. H-E x 1250.

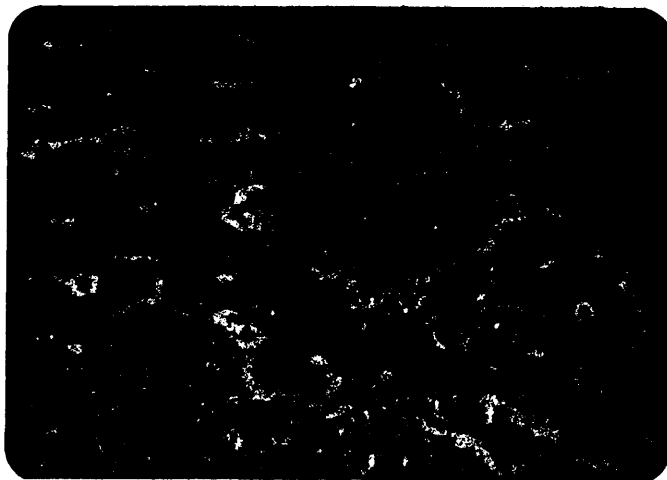


Fig. 65: hígado (A<sub>3b</sub>). Células de Kupffer parasitadas que hacen prominencia en la luz de los sinusoides. H-E x 500.

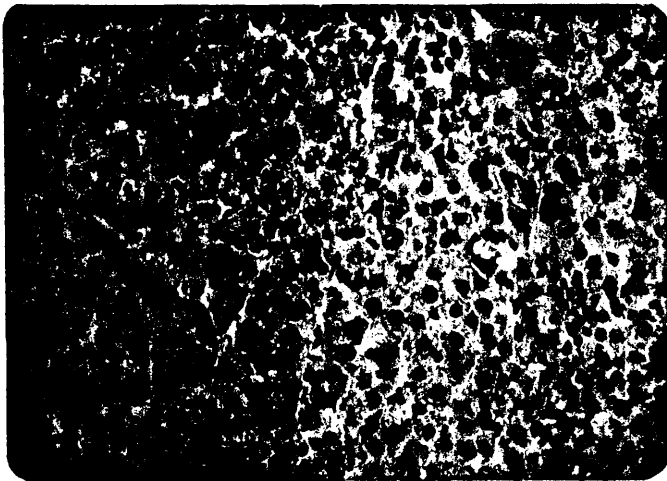


Fig. 66: hígado (A<sub>3b</sub>). Reacción positiva al Sudán III en células de Kupffer aisladas. x 312.

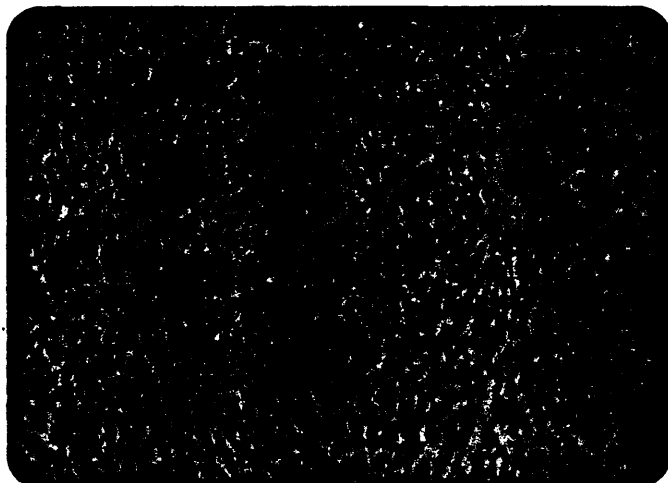


Fig. 67: hígado (B<sub>1</sub>). Infiltrados inflamatorios en el espacio porta. Comienzan a estructurarse las formaciones granulomatosas. H-E - x 125.



Fig. 68: hígado (B<sub>1</sub>). Granulomas en desarrollo y de generación hidrópica en algunos hepatocitos. H-E x 500.

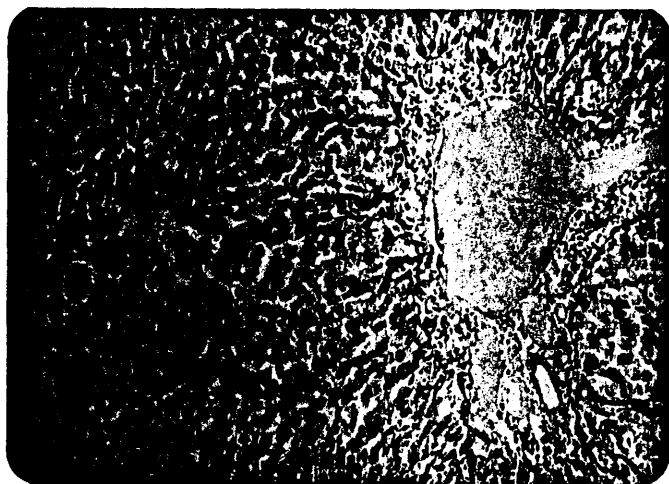


Fig. 69: hígado ( $B_2$ ). Extenso infiltrado inflamatorio, en el espacio porta, que penetra hacia el interior del lobulillo originándose una degeneración de los hepatocitos próximos. Se observan algunos granulomas intraparenquimatosos. T. Masson  $\times 125$ .

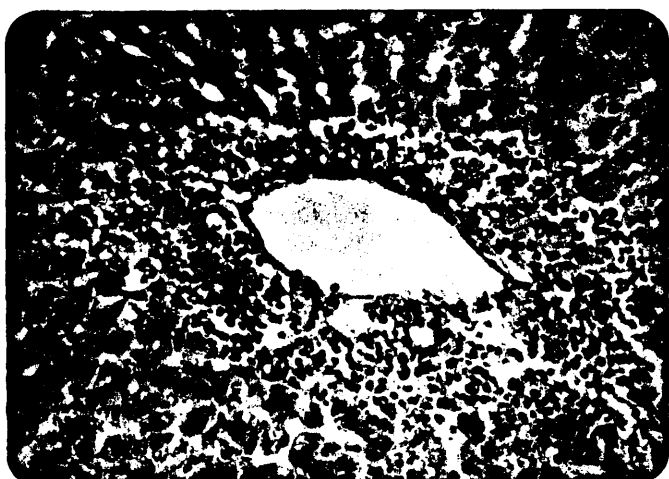


Fig. 70: hígado ( $B_2$ ). Sustancia amiloide en el seno del infiltrado inflamatorio, localizado en el espacio porta. Rojo Congo  $\times 312$ .

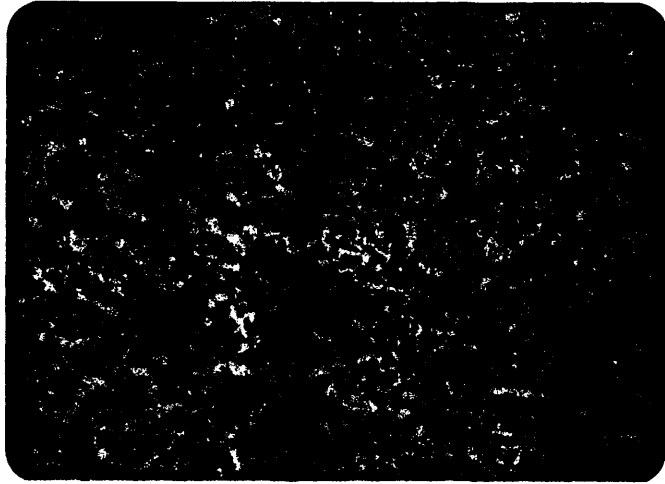


Fig. 71: hígado (B<sub>2</sub>). Granulomas intraparenquimatosos en los que se observan macrófagos con amastigotes. Gallego (IV variante) x 312.

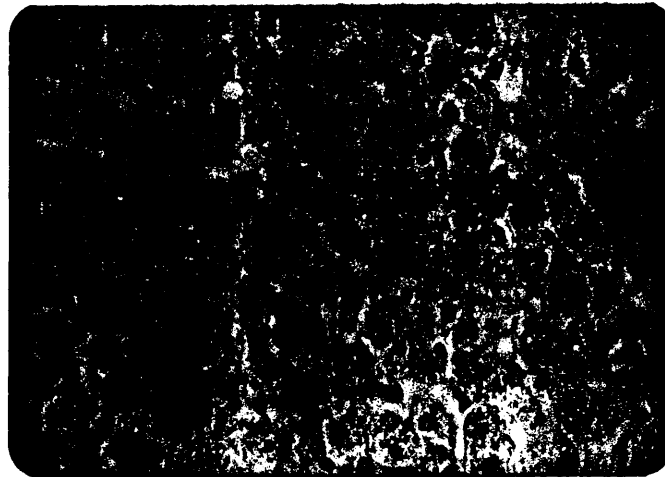


Fig. 72: hígado (B<sub>2</sub>). Los hepatocitos muestran signos muy evidentes de degeneración hidrópica. H-E x 500.

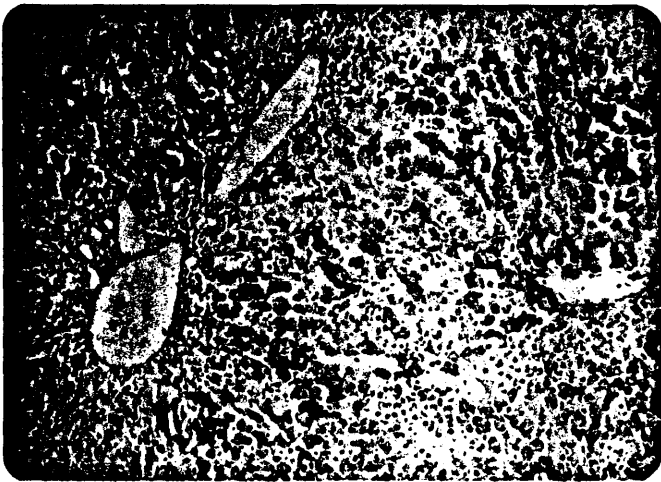


Fig. 73: hígado (B<sub>2</sub>). Disminución del glucógeno. La positividad de los hepatocitos, respecto al glucógeno, se realiza irregularmente - sin una localización concreta. PAS x 125.

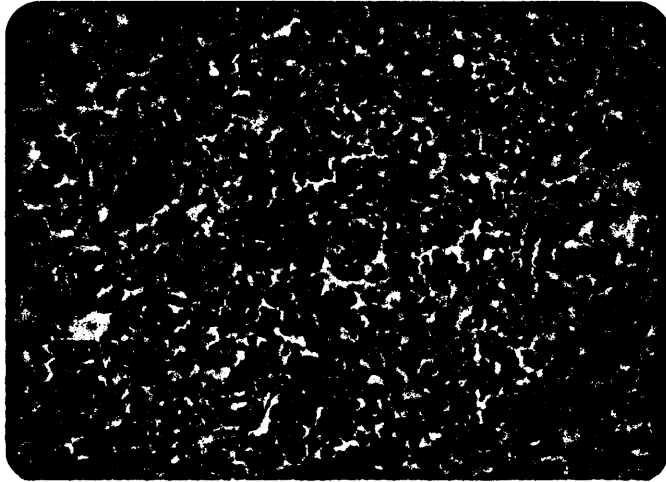


Fig. 74: hígado (B<sub>34</sub>). Abundante sustancia amiloide entre las células de los infiltrados inflamatorios. Rojo Congo x 312.

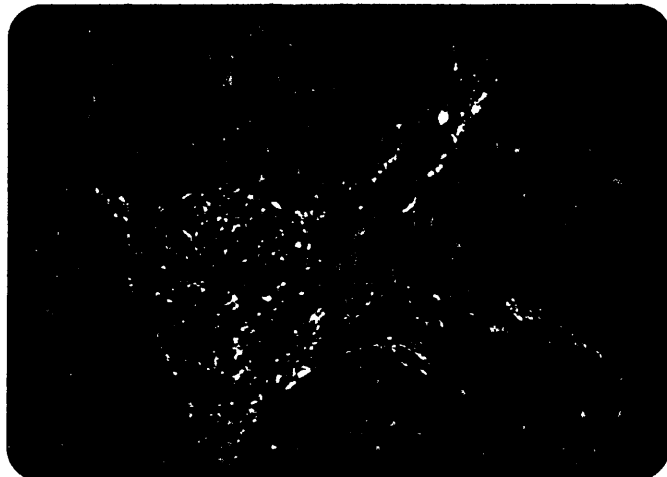


Fig. 75: hígado (B<sub>33</sub>). La luz polarizada confirma el depósito de sustancia amiloide entre los elementos del infiltrado inflamatorio del espacio porta. Rojo Congo (polarización) x 125.

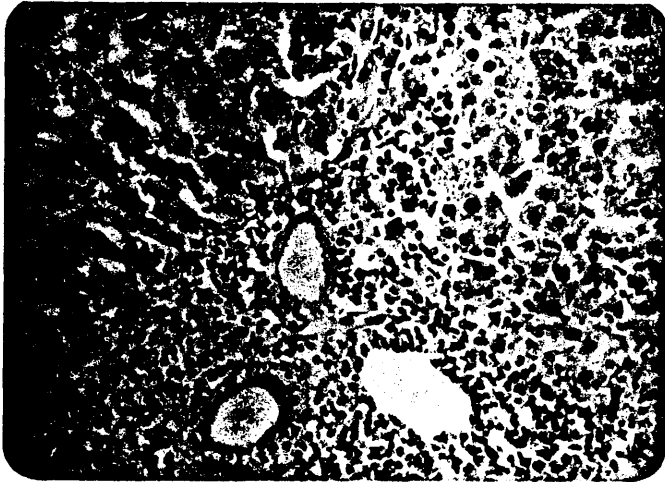


Fig. 76: hígado (B<sub>3a</sub>). Infiltrados histio-plasmocitarios en el espacio porta que comprimen los hepatocitos próximos visiblemente en regresión. H-E x 312.

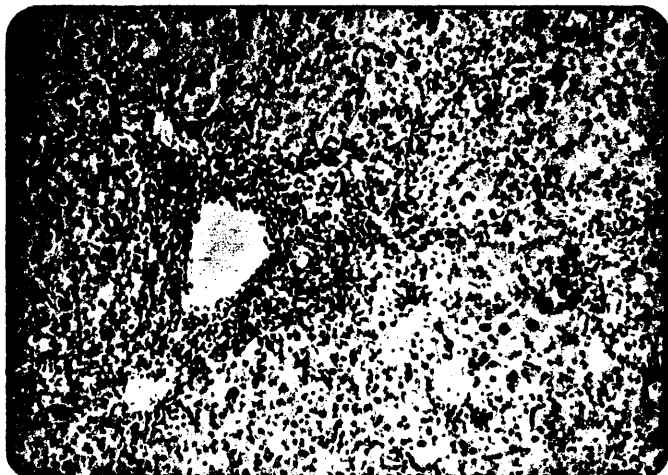


Fig. 77: hígado (B<sub>3a</sub>). Muy escasa positividad al Sudán III en algunas células que rodean el infiltrado portal. x 125.

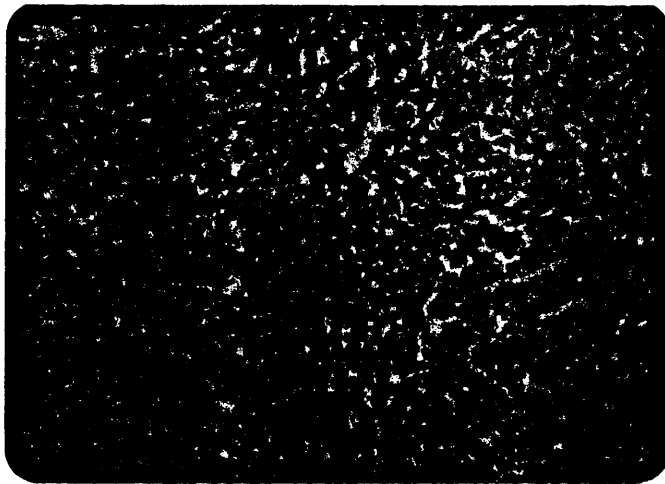


Fig. 78: hígado (B<sub>32</sub>). Abundantes formaciones granulomatosas en el seno del parénquima hepático. H-E x 125.

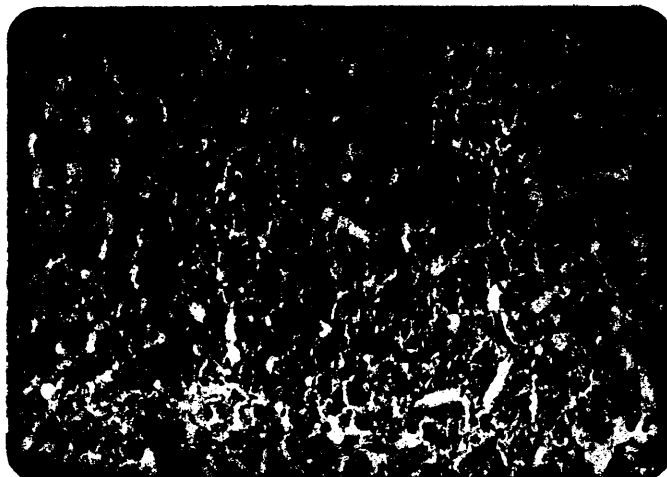


Fig. 79: hígado (B<sub>32</sub>). Granulomas inflamatorios bien evidentes entre células hepáticas con signos de degeneración hidrópica. T. Masson x 312.

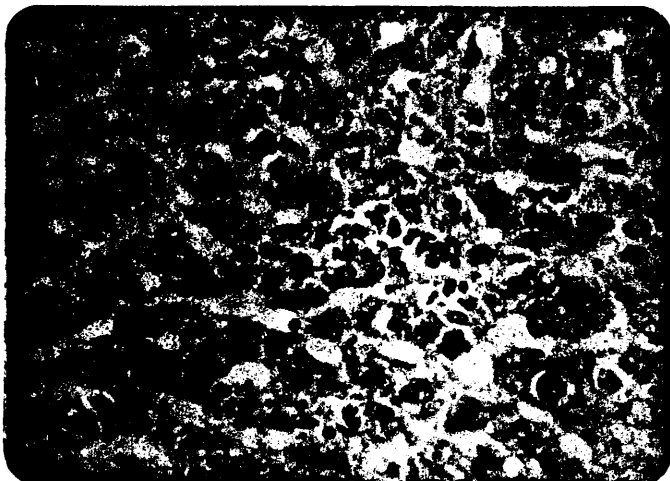


Fig. 80: hígado (B<sub>3a</sub>). Sinusoides dilatados en cuyo interior se advierte la presencia de macrófagos y células de Kupffer repletas de amastigotes. Hepatocitos en regresión. H-E x 500.

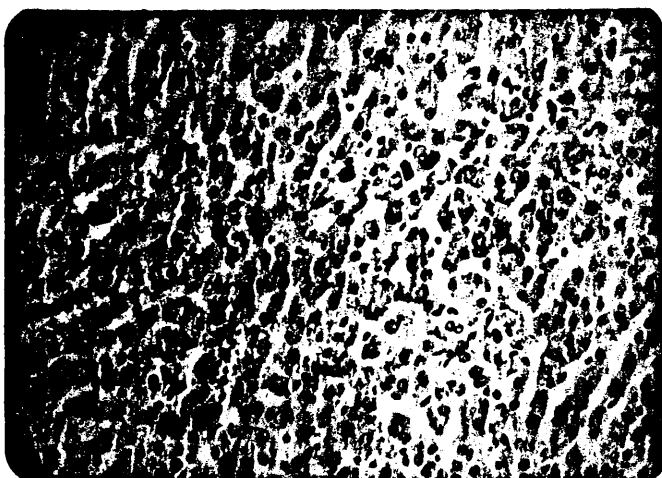


Fig. 81: hígado (B<sub>3a</sub>). Considerable disminución del glucógeno en el parénquima hepático. PAS - x 312.

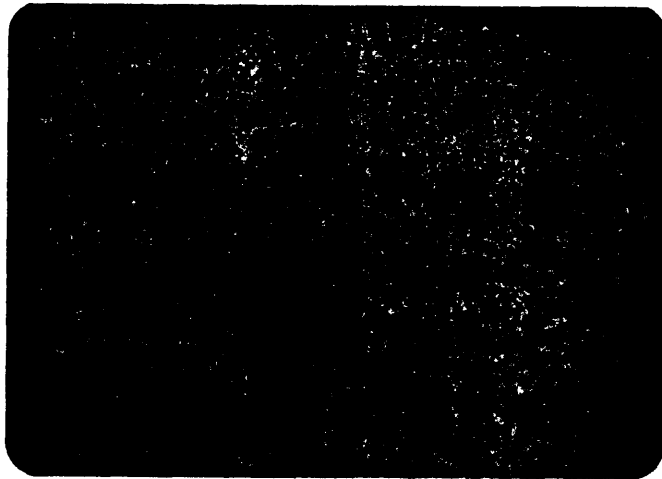


Fig. 82: hígado (8<sub>3b</sub>). No se observan estructuras lobulillares definidas, debido a la presencia de abundantes infiltrados inflamatorios y depósito de sustancia eosinófila (amiloide). H-E x 125.

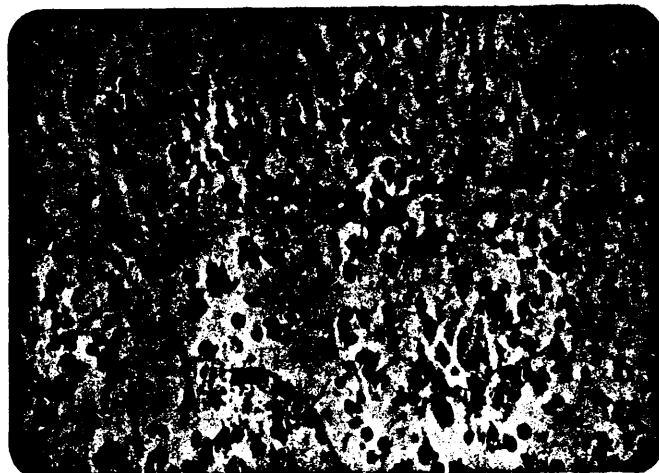


Fig. 83: hígado (8<sub>3b</sub>). Observamos entre los infiltrados inflamatorios, restos de hepatocitos. Gallego (IV variante) x 500.

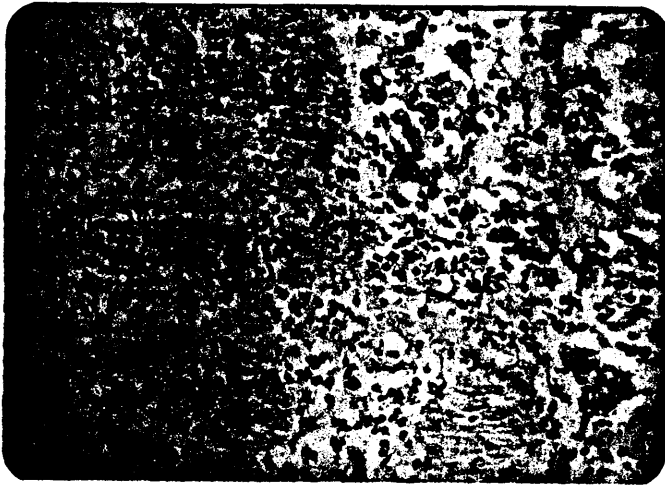


Fig. 84: hígado (B<sub>3b</sub>). Pequeños grupos de hepatocitos muy alterados, células del infiltrado y abundante sustancia eosinófila (amiloide). H-E x 312.

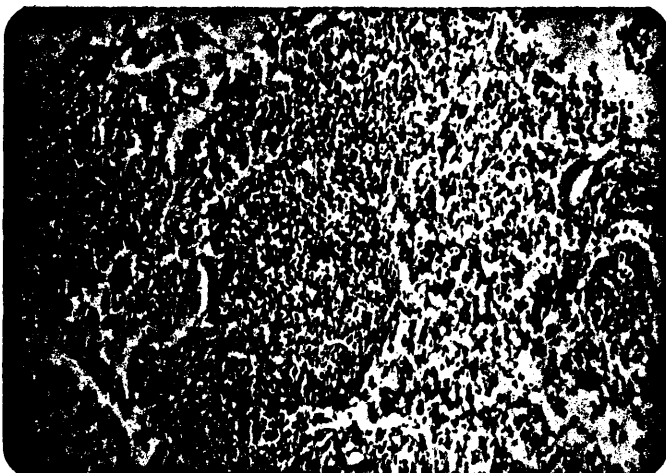


Fig. 85: hígado (B<sub>3b</sub>). Advertimos cómo la sustancia amiloide constituye una malla, en cuyos intersticios se encuentran elementos celulares del infiltrado. Rojo Congo x 125.

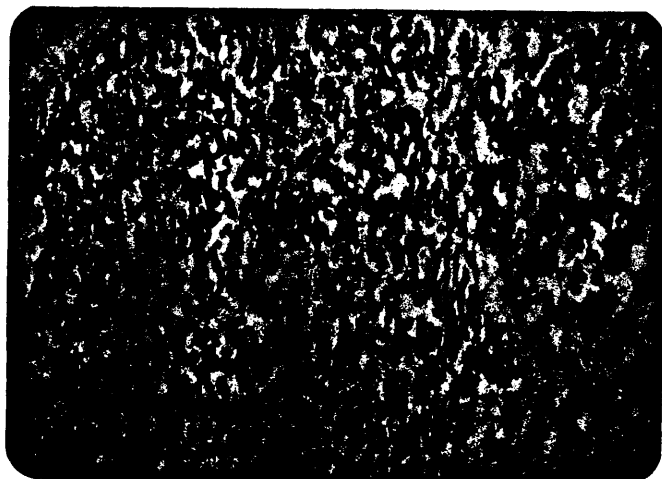


Fig. 86: hígado (B<sub>9b</sub>). Fig. 85 a mayores aumentos. Líneas de resquebrajamiento de la sustancia amiloide. Rojo Congo x 312.

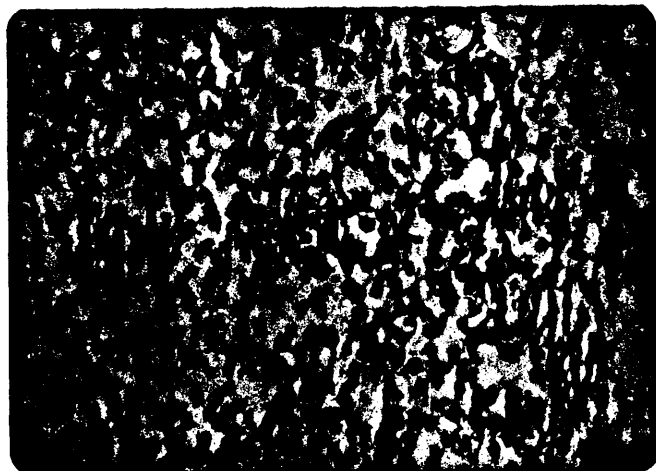


Fig. 87: hígado (B<sub>9i</sub>). Fig. 86 a mayores aumentos; la malla se hace más evidente. Rojo Congo x 500.



Fig. 88: hígado (B<sub>3b</sub>). Junto al depósito de sustancia amiloide, observamos macrófagos repletos de parásitos, amastigotes libres, macrófagos en regresión, linfocitos y plasmocitos. H-E x 1250.



Fig. 89: hígado (B<sub>3b</sub>). Los macrófagos que se encuentran en la periferia del conjunto (infiltrados y sustancia amiloide), muestran pigmento de hemosiderina en su interior. Azul Prusia x 125.



Fig. 90: riñón (A<sub>1</sub>). Zona cortical: glomérulo y túbu-  
los sin alteraciones dignas de destacar. -  
H-E x 312.



Fig. 91: riñón (A<sub>1</sub>). Glomérulo y túbulos sin altera-  
ciones. Metenamina de Jones x 500.

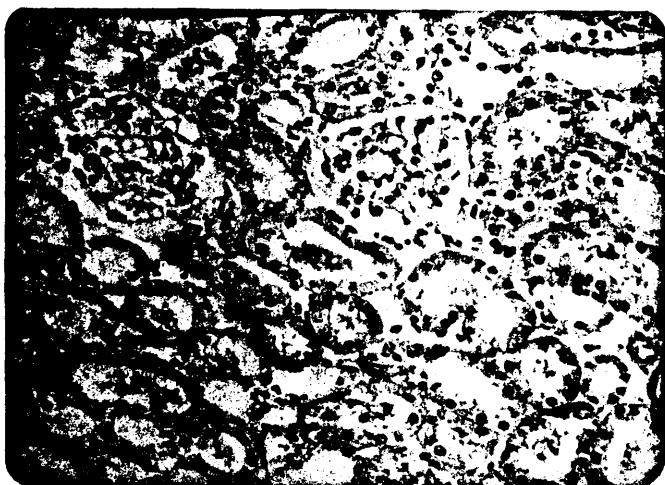


Fig. 92: riñón (A<sub>2</sub>). Degeneración hidrópica del epitelio tubular. H-E x 312.

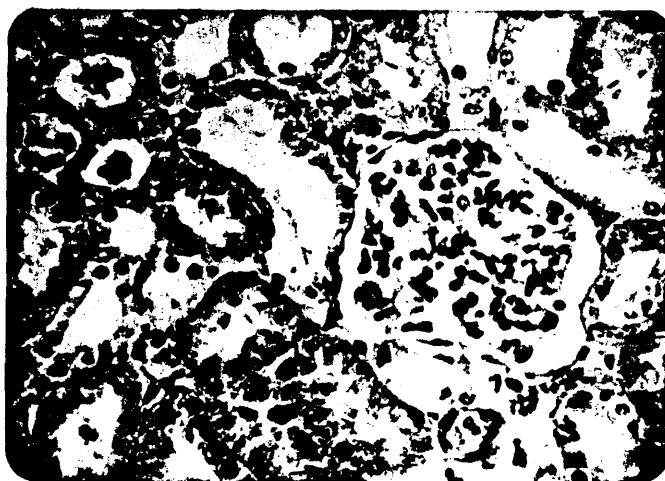


Fig. 93: riñón (A<sub>2</sub>). Degeneración hidrópica de las células epiteliales de los túbulos. Presencia de cilindros granulosos. T. Masson - x 500.

L

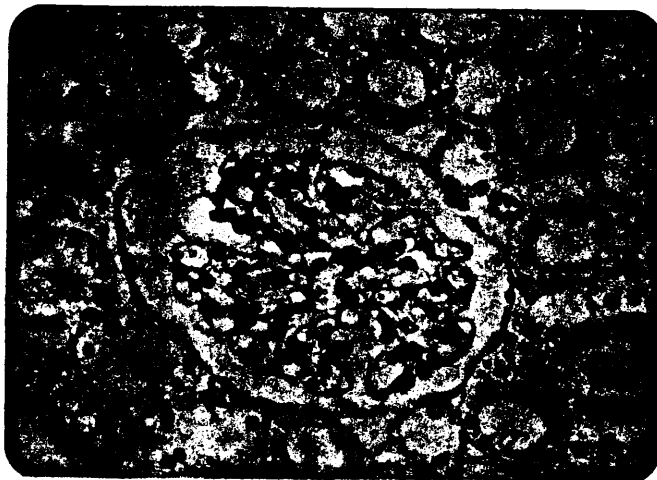


Fig. 94: riñón ( $A_2$ ). En el glomérulo de Malpighi no advertimos diferencias notables con el grupo  $A_1$ . PAS x 500.



Fig. 95: riñón ( $A_3$ ). Marcada tumefacción de las células de los túbulos, con degeneración hidrópica. Los glomérulos presentan una dilatación relativa del espacio de Bowman y un incremento de la matriz mesangial. H-E x 500.

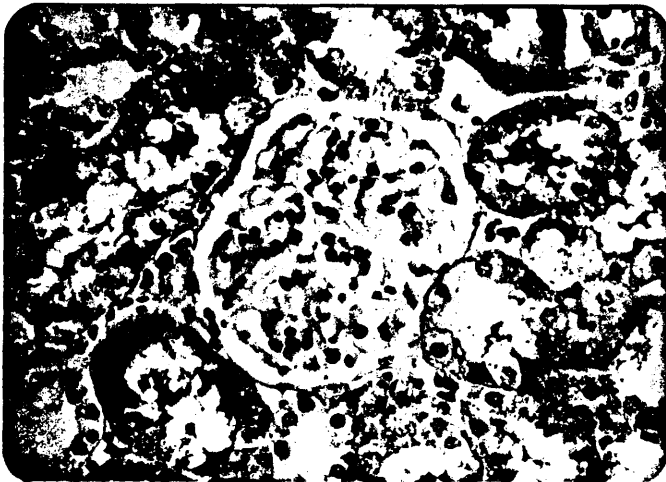


Fig. 96: riñón (A<sub>32</sub>). Glomérulo: hipertrofia de la matriz del mesangio. Túbulo: degeneración vacuolar y esbozos de cilindros granulosos intraluminales. T. Masson x 500.

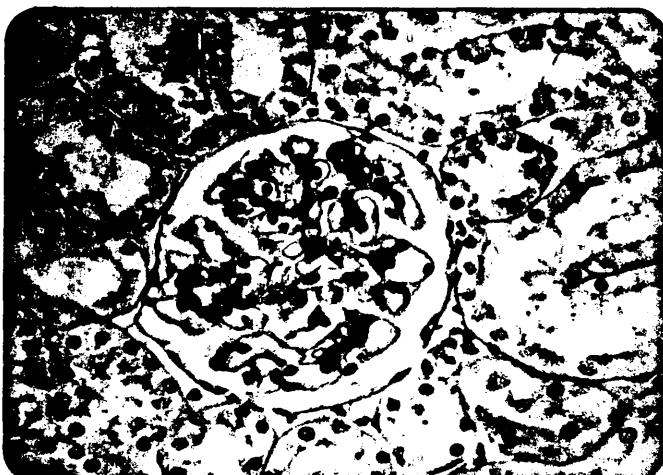


Fig. 97: riñón (A<sub>32</sub>). Discreto engrosamiento de las membranas basales, tanto de los túbulo como de las estructuras glomerulares. PAS positiva a nivel del mesangio. PAS x 500.

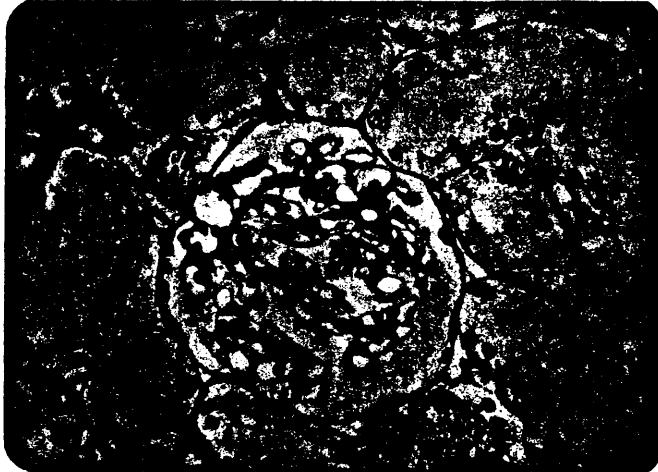


Fig. 98: riñón (A<sub>34</sub>). Punteado oscuro en el citoplasma de las células epiteliales tubulares. Metenamina de Jones x 500.

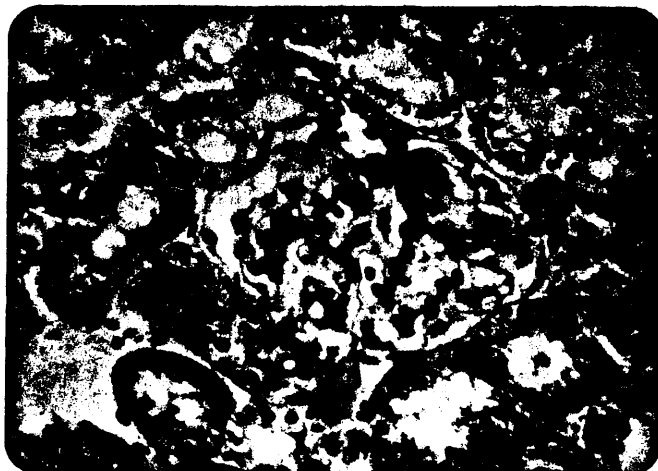


Fig. 99: riñón (A<sub>34</sub>). Depósito de sustancia amiloide tanto en la matriz mesangial como en la membrana basal y glomerular, en menor medida a nivel de algunas membranas basales tubulares. Rojo Congo x 500.

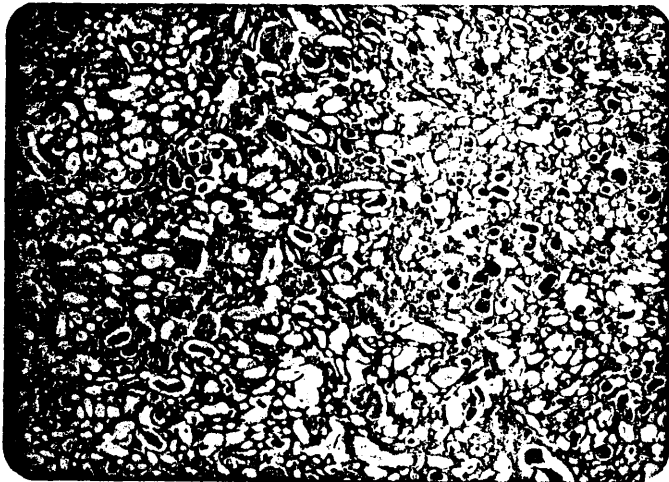


Fig. 100: riñón (A<sub>3b</sub>). Dilatación muy notable de los túbulos, apreciándose claramente la presencia intraluminal de cilindros hialinos aci  
dófilos. H-E x 50.



Fig. 101: riñón (A<sub>3b</sub>). En la luz tubular observemos abundantes restos de hematies y algunos ci  
lindros hialinos en formación. H-E x 312.



Fig. 102: riñón (A<sub>3b</sub>). Glomerulos: disminución en el número de células, algunas muestran imágenes de picnosis y cariorrexis. Incremento de la matriz mesangial. Túbulo: dilatado con degeneración vacuolar y cilindros intraluminales. H-E x 500.



Fig. 103: riñón (A<sub>3b</sub>). Glomerulos con abundante incremento de la matriz mesangial y evidente disminución en el número de células glomerulares. Aparecen túbulo dilatado con presencia de cilindros en su luz. T. Masson x 312.

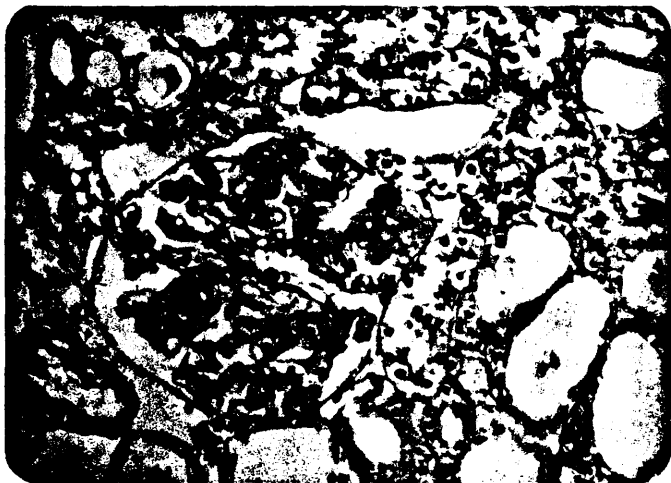


Fig. 104: riñón (A<sub>3b</sub>). Abundante depósito de sustancia amiloide sobre la matriz del mesangio, membranas basales del glomérulo y basal de la lámina parietal del corpúsculo renal. - Rojo Congo x 312.

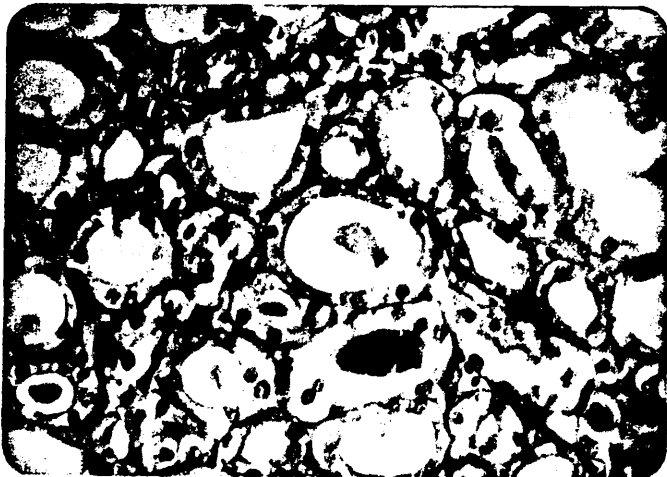


Fig. 105: riñón (A<sub>3b</sub>). Depósito de sustancia amiloide en las basales de los túbulos y en el espacio intersticial. Rojo Congo x 500.



Fig. 106: riñón (A<sub>3b</sub>). Engrosamiento de las membranas basales glomerulares y tubulares, así como de la basal parietal de la cápsula de Bowmann. Cilindros intraluminales tubulares PAS +. PAS x 500.



Fig. 107: riñón (A<sub>3b</sub>). Engrosamiento de las membranas basales glomerulares y de la parietal de la cápsula de Bowmann. Metenamina de Jones x 500.

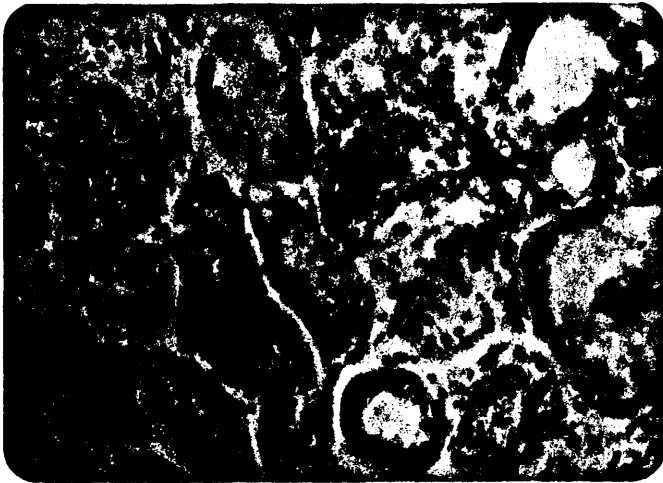


Fig. 108: riñón ( $A_{3b}$ ). Discreta Sudán III-positividad en los epitelios tubulares. Sudán III x 312.

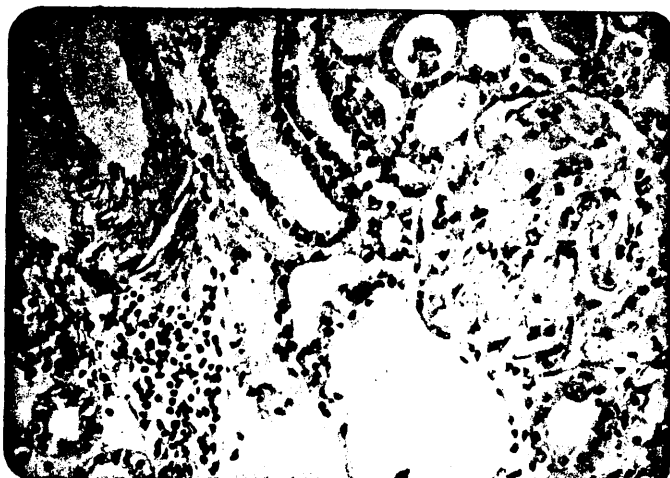


Fig. 109: riñón ( $A_{3b}$ ). Infiltrados linfo-histio-plasmocitarios en el intersticio. Gallego (IV - variante) x 312.



Fig. 110: riñón (B<sub>1</sub>). Discreto aumento tanto de la -  
matriz del mesangio como del espesor de la -  
membrana basal glomerular. PAS x 500.

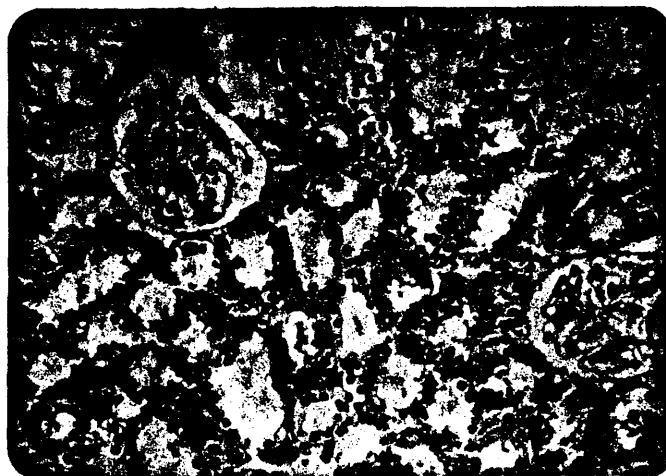


Fig. 111: riñón (B<sub>1</sub>). En los túbulos principalmente  
contorneados, se advierte una tumefacción  
celular acompañada, en otras zonas, por -  
una clara degeneración vacuolar. H-E x 312.

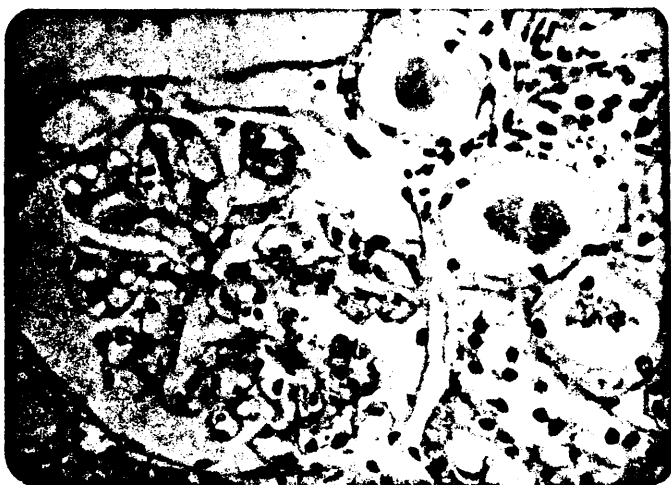


Fig. 112: riñón (B<sub>1</sub>). Glomérulo: discreto aumento del mesangio. En las luces de algunos túbulos - se encuentran cilindros hialinos. H-E x 500.



Fig. 113: riñón (B<sub>2</sub>). Hipertrofia del glomérulo renal junto a un incremento de la matriz mesangial. Disminución del espacio de Bowman. Las células epiteliales tubulares evidencian una clara degeneración vacuolar. H-E x 312.

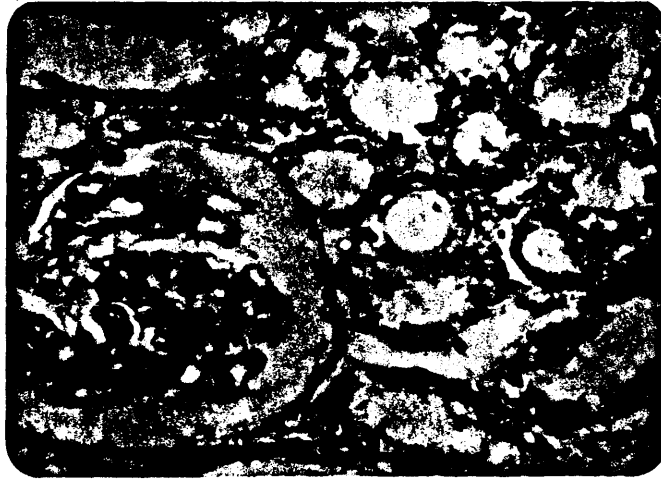


Fig. 114: riñón (B<sub>1</sub>). Glomérulo: evidente depósito de sustancia amiloide sobre la matriz mesangial, en la membrana basal de los capilares glomerulares y en la basal-parietal de la cápsula de Bowmann. Rojo Congo x 500.

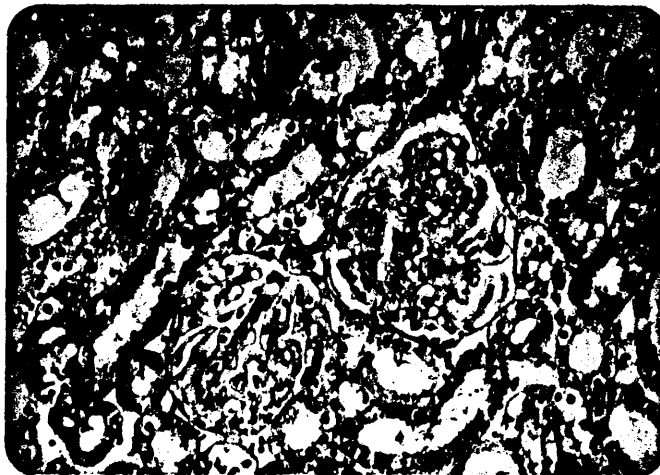


Fig. 115: riñón (B<sub>2</sub>). En los glomérulos comprobamos un incremento de la matriz mesangial y disminución del espacio de Bowmann. Las células epiteliales de los túbulos muestran una evidente degeneración hidrópica. T. Mason x 312.



Fig. 116: riñón ( $B_2$ ). Depósito de una sustancia PAS+ sobre el mesangio. En la luz de los túbulos aparecen cilindros también PAS+. PAS - x 500.

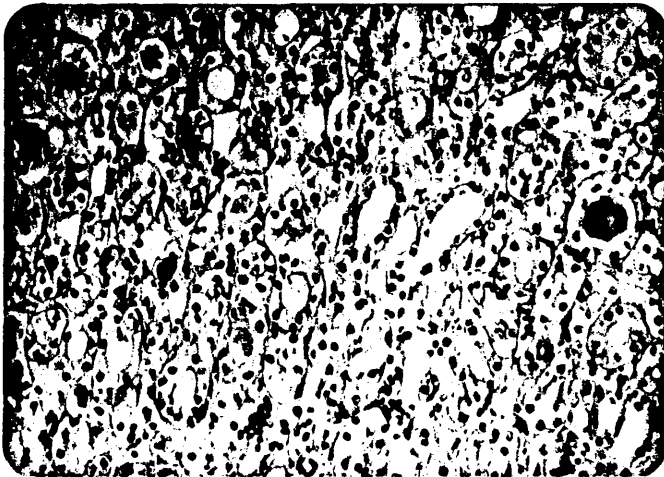


Fig. 117: riñón ( $B_2$ ). Cierta grado de congestión capilar intersticial. Cilindros hialinos en el interior de los tubos rectos. T. Masson x 312.

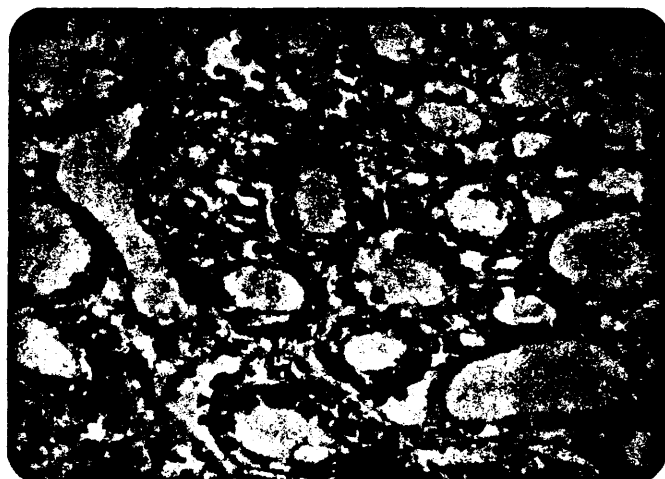


Fig. 118: riñón (B<sub>2</sub>). Depósito de sustancia amiloide en la membrana basal tubular y en el espacio intersticial. Rojo Congo x 500.

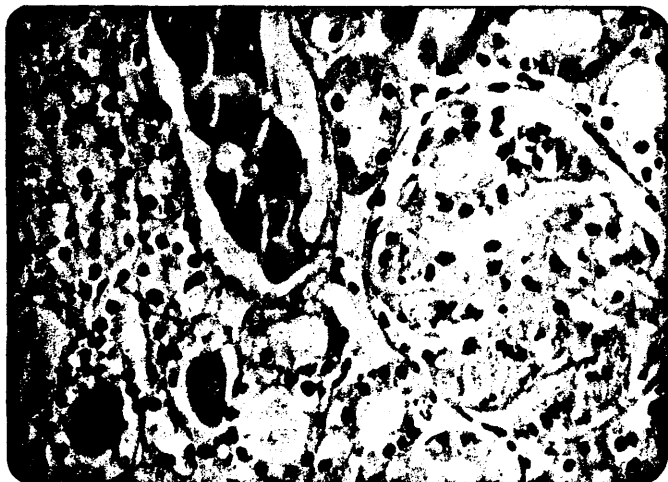


Fig. 119: riñón (B<sub>3a</sub>). Corpúsculo renal: incremento de la matriz mesangial e hipertrofia del ovillo vascular. Disminución del espacio de Bowmann. Degeneración vacuolar del epitelio tubular; cilindros hialinos intraluminales. H-E x 500.



Fig. 120: riñón (B<sub>3a</sub>). Depósito PAS+ sobre la matriz del mesangio. Las membranas basales glomerulares y tubulares aparecen discretamente engrosadas. Presencia de cilindros PAS+ en el interior de los tóbulos. PAS x 500.

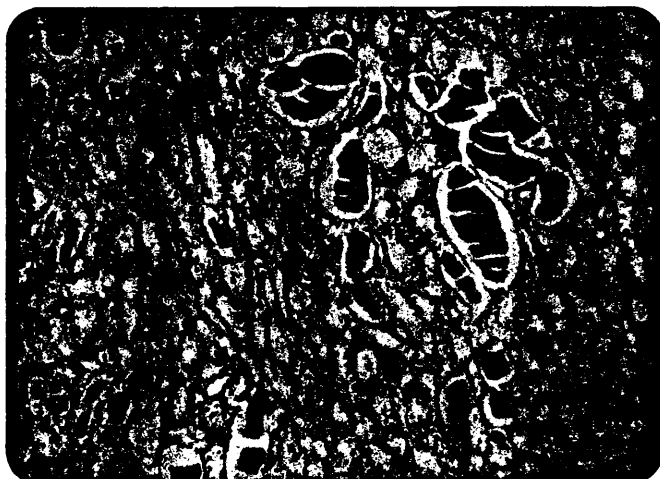


Fig. 121: riñón (B<sub>34</sub>). Grandes dilataciones de los tubos colectores de la medular, con cilindros acidófilos en su luz y aplanamiento del epitelio tubular. H-E x 125.

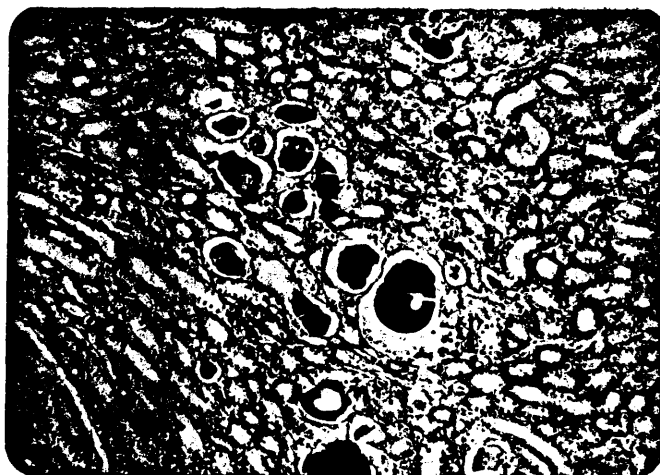


Fig. 122: riñón (B<sub>32</sub>). Dilataciones muy marcadas de los tubos colectores y rectos con cilindros hialinos, fragmentados transversalmente, en su luz. T. Masson x 125.



Fig. 123: riñón (B<sub>3a</sub>). Discreto engrosamiento de membranas basales glomerulares y tubulares. - Se observan pequeños gránulos oscuros en el citoplasma de las células epiteliales tubulares. Metenamina de Jones x 500.

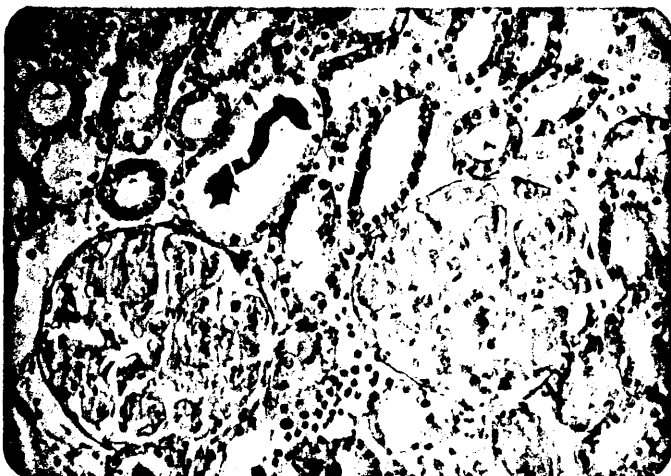


Fig. 124: riñón (B<sub>3a</sub>). En el intersticio se encuentra un pequeño acúmulo inflamatorio de células redondas. T. Masson x 312.



Fig. 125: riñón ( $B_{3b}$ ). Corpúsculo renal: matriz del mesangio notablemente incrementada por depósito de abundante sustancia eosinófila y acelular (amiloide). Escasez de células glomerulares. Túbulos contorneados considerablemente dilatados con cilindros hialinos, eosinófilos, en su luz. Infiltrados inflamatorios en el intersticio. H-E x 312.



Fig. 126: riñón ( $B_{3b}$ ). Incremento del mesangio a expensas del depósito de sustancia amiloide. Notable disminución del número de células glomerulares y marcada estenosis de los capilares glomerulares. T. Masson x 312.

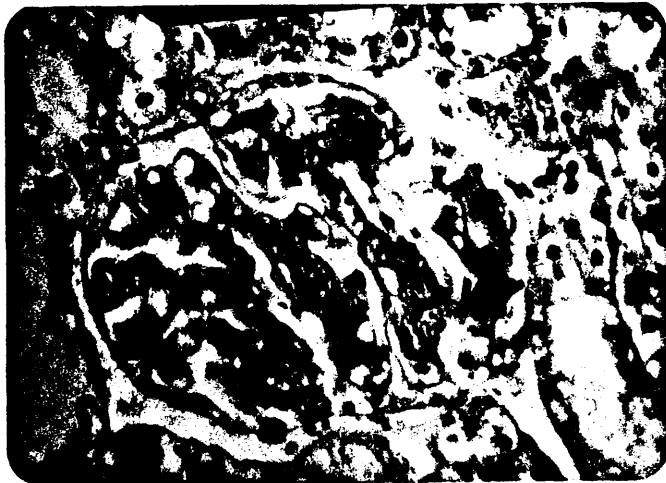


Fig. 127: riñón (83<sub>b</sub>). Depósito abundante de sustancia amiloide en el mesangio, membranas basales glomerulares y basal-parietal de la cápsula de Bowmann. Rojo Congo x 500.

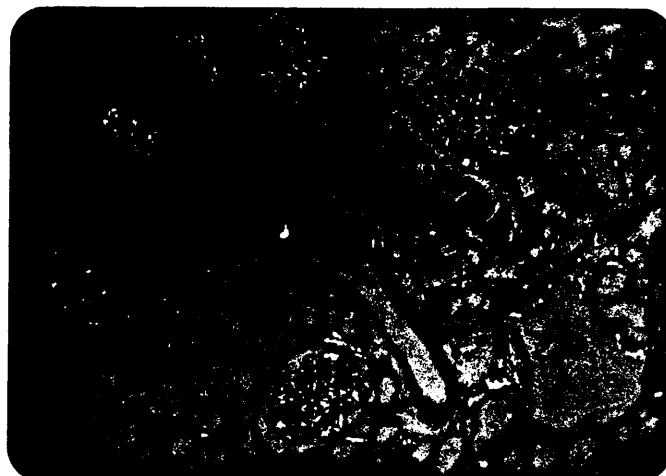


Fig. 128: riñón (83<sub>b</sub>). La luz polarizada confirma el depósito de amiloide tanto a nivel glomerular, como tubular e intersticial. Rojo Congo (polarización) x 125.



Fig. 129: riñón (B<sub>3b</sub>). Se observa en el glomérulo la presencia de amastigotes en el citoplasma de un macrófago. H-E x 500.



Fig. 130: riñón (B<sub>3b</sub>). Con mayor aumento se observan amastigotes libres e intracelulares en el interior de un capilar glomerular. H-E - x 1250.



Fig. 131: riñón (B<sub>3b</sub>). PAS-positividad en la matriz del mesangio, en membranas basales glomerulares y tubulares, así como en el intersticio. PAS x 500.

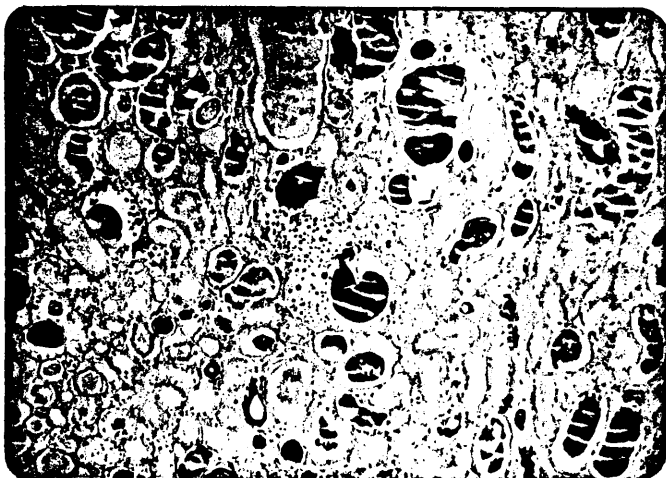


Fig. 132: riñón (B<sub>3b</sub>). Zona medular: túbulo considerablemente dilatado con cilindros hialinos resquebrajados en su luz. T. Masson x 125.

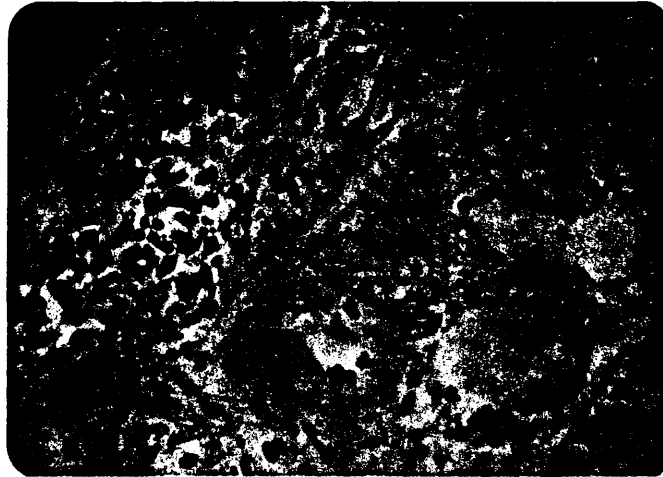


Fig. 133: riñón (B<sub>3b</sub>). Intersticio: infiltrados inflamatorios constituidos por linfocitos, plasmocitos e histiocitos parasitados. - Abundante depósito de sustancia eosinófila y acelular (amiloide). H-E x 500.

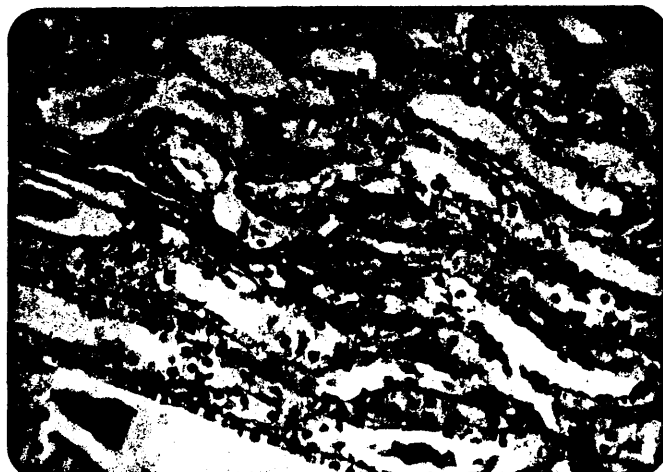


Fig. 134: riñón (B<sub>3b</sub>). Depósito muy notable de sustancia amiloide en membranas basales tubulares y en el intersticio. Rojo Congo - x 312.



Fig. 135: riñón (B<sub>3b</sub>). La luz polarizada destaca el depósito de sustancia amiloide a nivel glomerular. Rojo Congo (polarización) x 312.



Fig. 136: riñón (B<sub>3b</sub>). Depósito abundante de sustancia amiloide localizada preferentemente en el espacio intersticial. Rojo Congo (polarización) x 312.

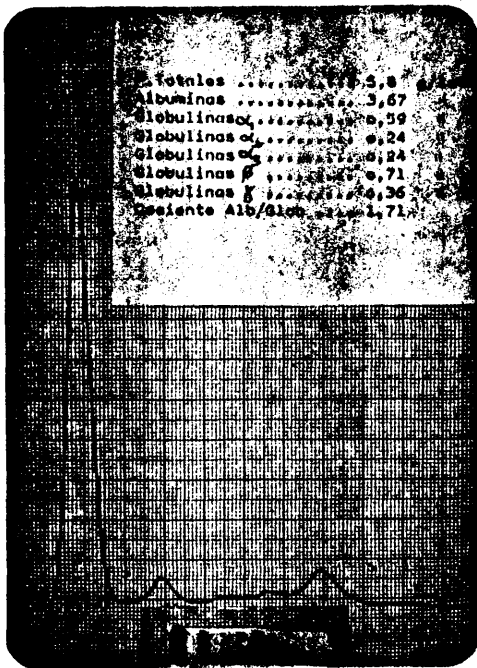


Fig. 137: proteinograma del suero de criceto - clínicamente sano.

Fig. 138: proteinograma del suero de criceto con Leishmaniosis visceral, en un - periodo avanzado del proceso.

LXXIII

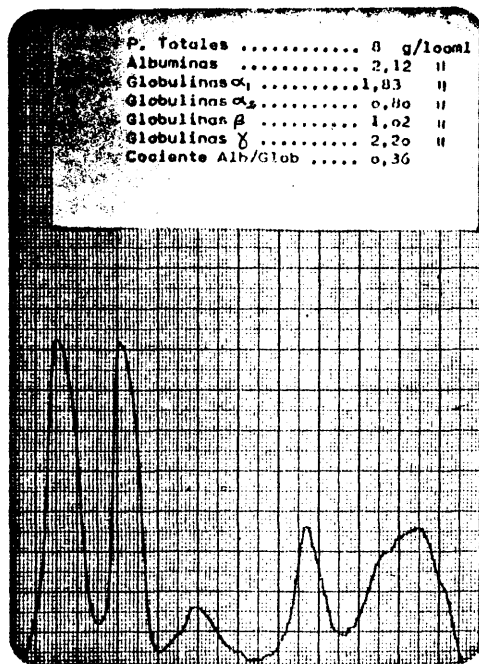


Fig. 139: proteinograma del suero de criceto con Leishmaniosis visceral, en fase final de la enfermedad.

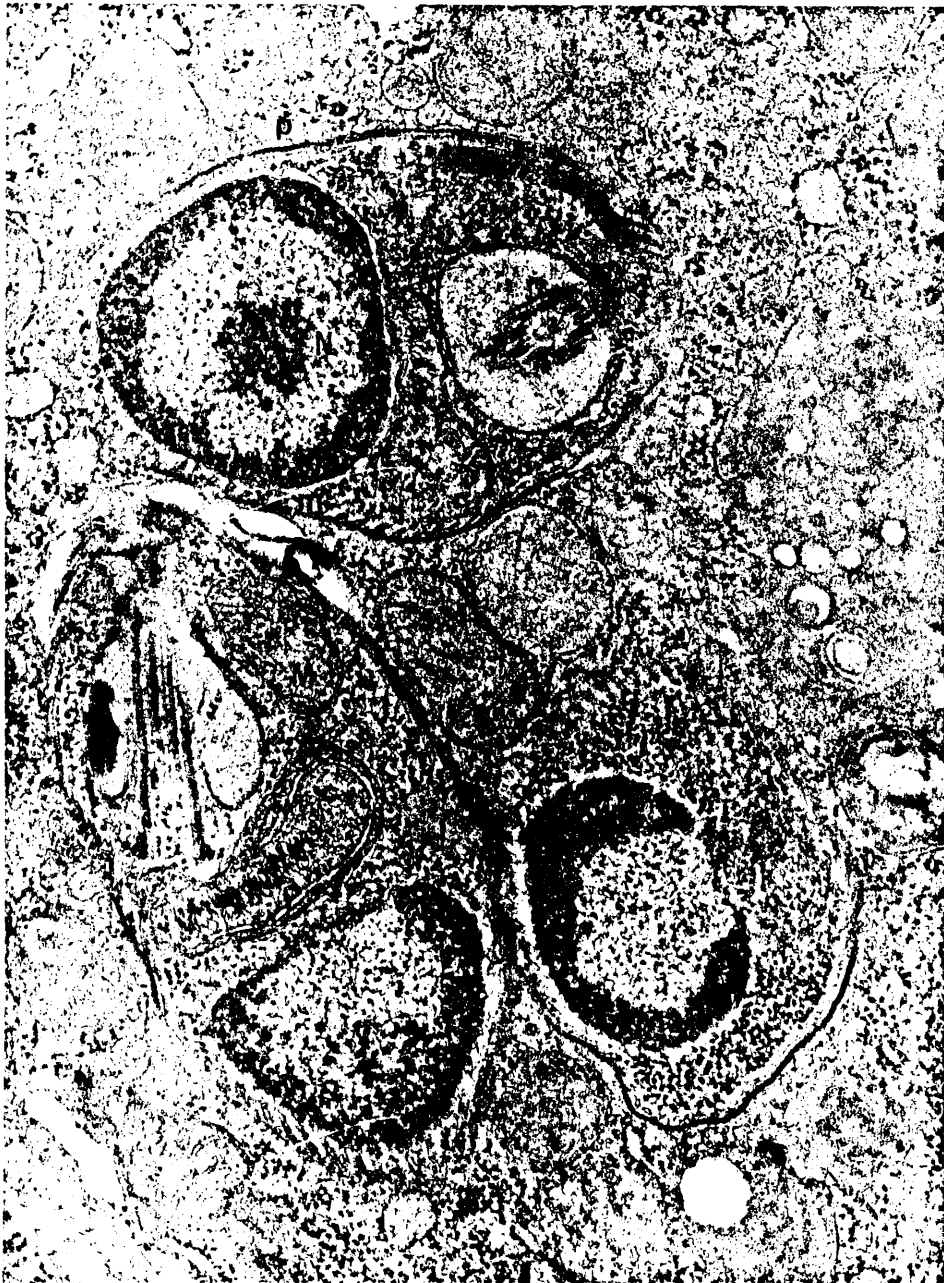


Fig. 140: amastigotes intracelulares. (x 10.000 en placa).

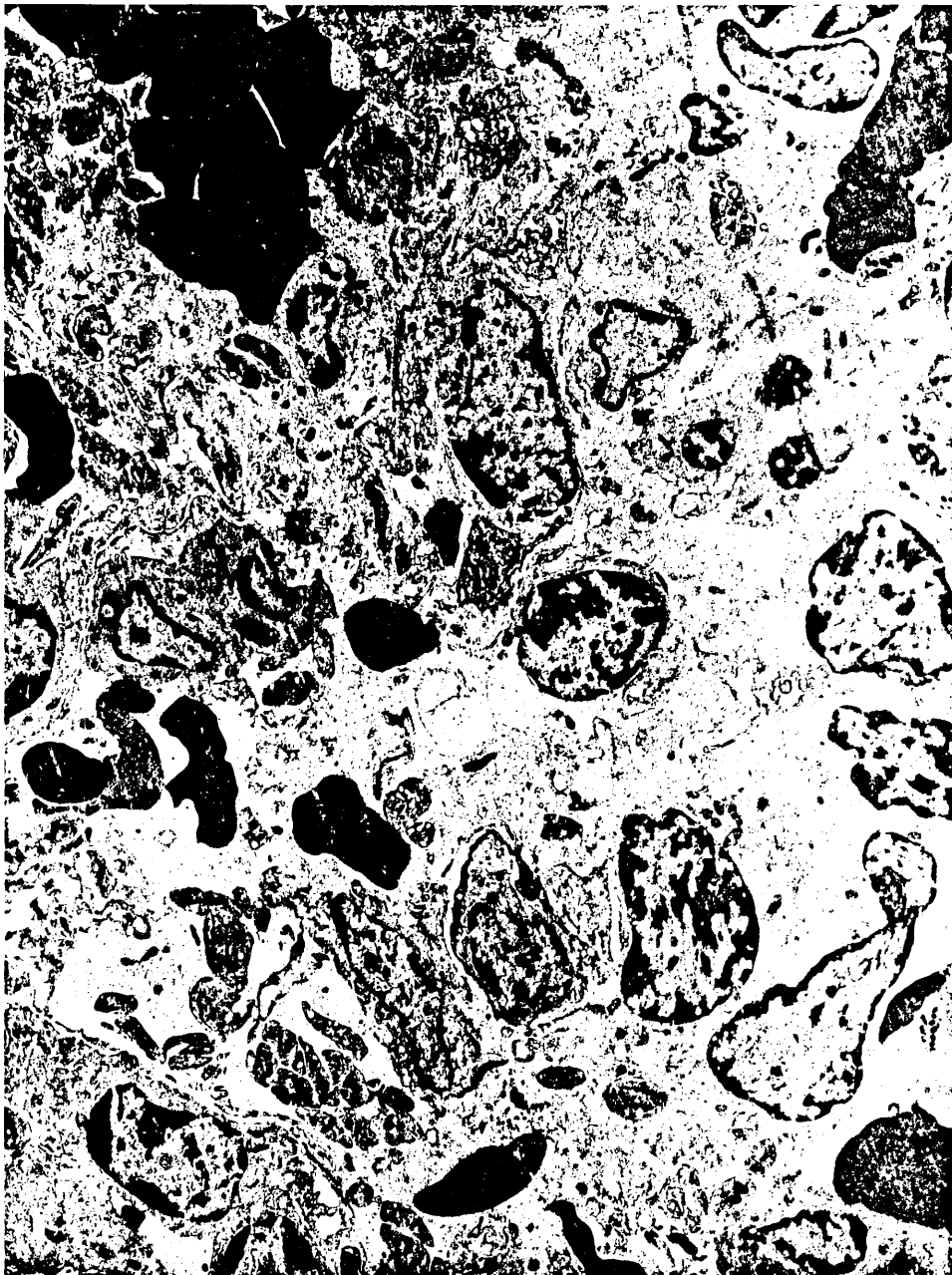


Fig. 141: bazo (A<sub>1</sub>). Pulpa roja: cordones de Billroth y senos esplénicos. (x 4.000 en placa).



Fig. 142: bazo (A<sub>2</sub>). Células plasmáticas, linfocitos, eosinófilo y célula reticular. (x 4.000 en placa).



Fig. 143: bazo ( $A_{3a}$ ). Pulpa roja: sustancia amiloide, células reticulares con amastigotes intracitoplasmáticos. ( $\times 4.000$  en placa).



Fig. 144: bazo (B<sub>31</sub>). Macrófagos con amastigotes. (x 10.000 en placa).



Fig. 145: imagen ultraestructural de las fibrillas de amiloide.  
(x 25.000 en placa).



Fig. 146: hígado (A<sub>2</sub>). Hepatocitos con marcada disminución de glucógeno. (x 3.500 en placa).



Fig. 147: hígado (A<sub>32</sub>). Detalle de hepatocito con evidente tumefacción celular y degeneración hidrópica. (x 5.000 en placa).



Fig. 148: hígado (A<sub>3b</sub>). Hepatocitos en regresión. Abundante sustancia amiloide. Célula de Kupffer con amastigotes. (x 2.000 en placa).

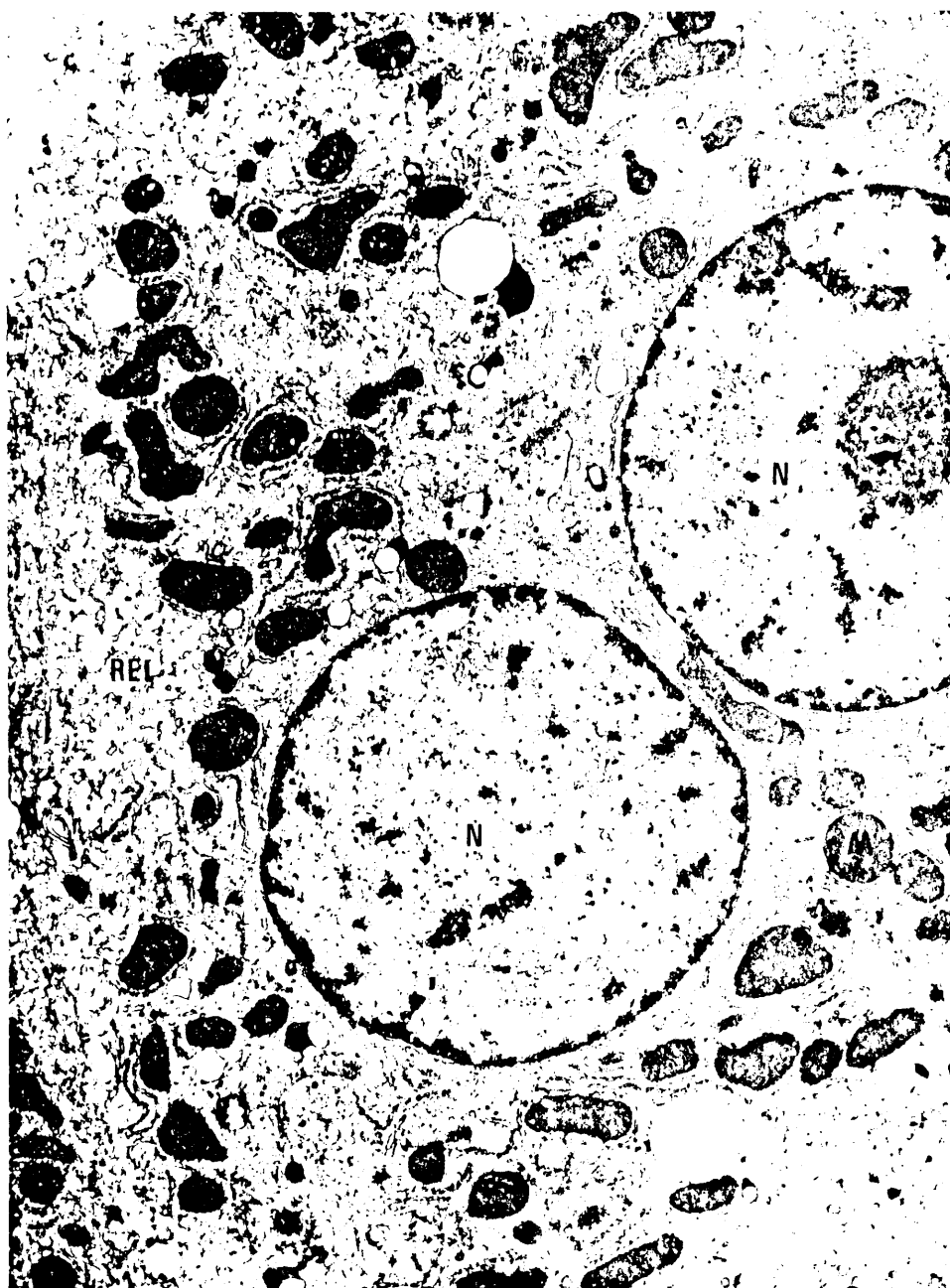


Fig. 149: hígado (B<sub>2</sub>). Detalle de célula hepática: mitocondrias electrodensas. Degeneración hidrópica a nivel de REL. Ausencia casi total de glucógeno. (x 3.800 en placa).

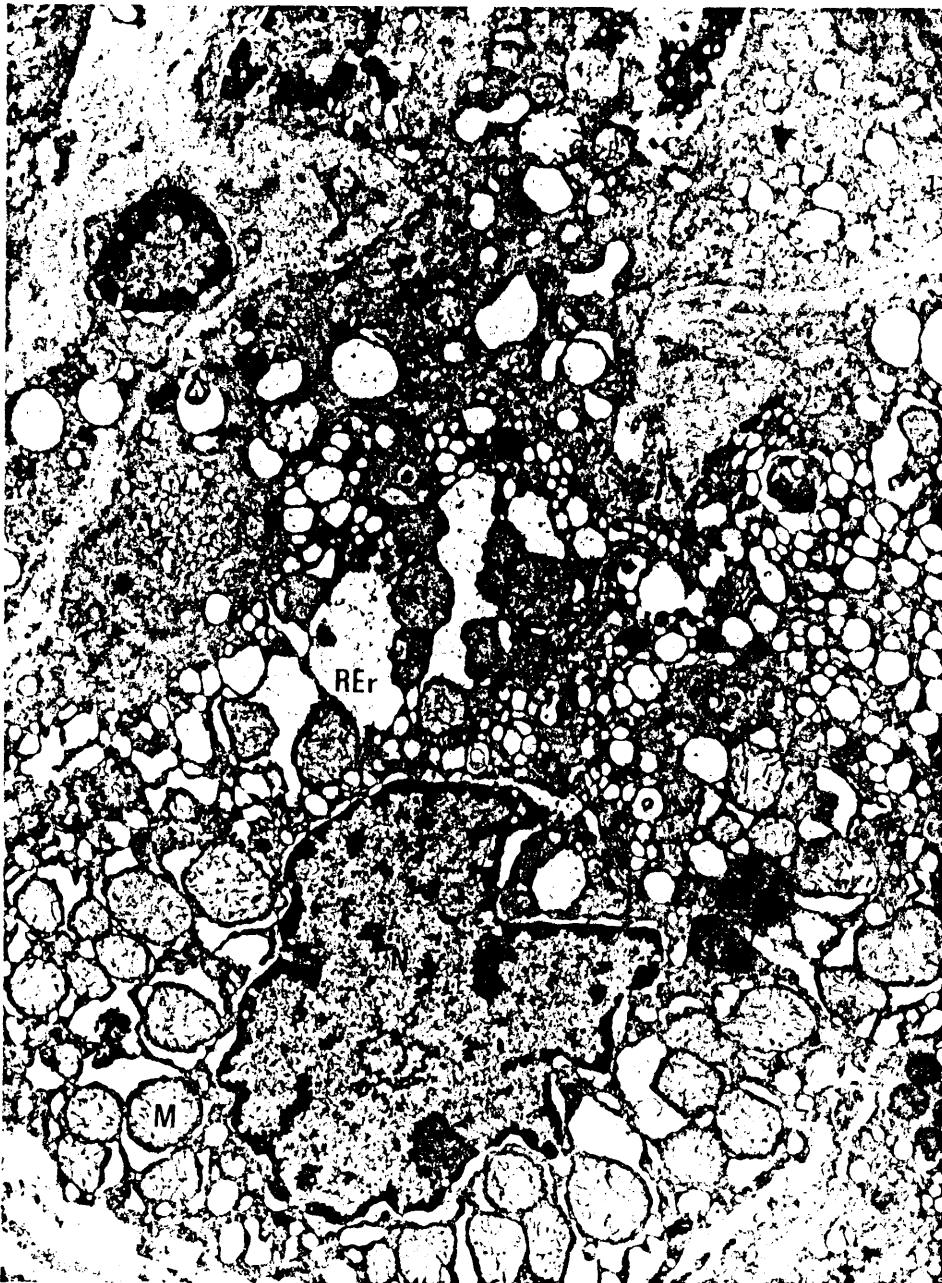


Fig. 150: hígado (B<sub>3</sub><sub>b</sub>). Detalle de hepatocito: dilatación y degranulación del REr. Mitochondrios tumefactos. (x 3.000 en placa).



Fig. 151: hígado (B<sub>35</sub>). Detalle de célula hepática: amplias dilataciones del REL. (x 4.000 en placa).



Fig. 152: hígado (B<sub>3b</sub>). Hepatocitos que muestran tumefacción mitocondrial y dilatación del RER. Abundante sustancia amiloide. (x 2.000 en placa).



Fig. 153: hígado ( $B_{3a}$ ). Célula de Kupffer con amastigotes y gotas lipídicas. ( $\times 6.000$  en placa).

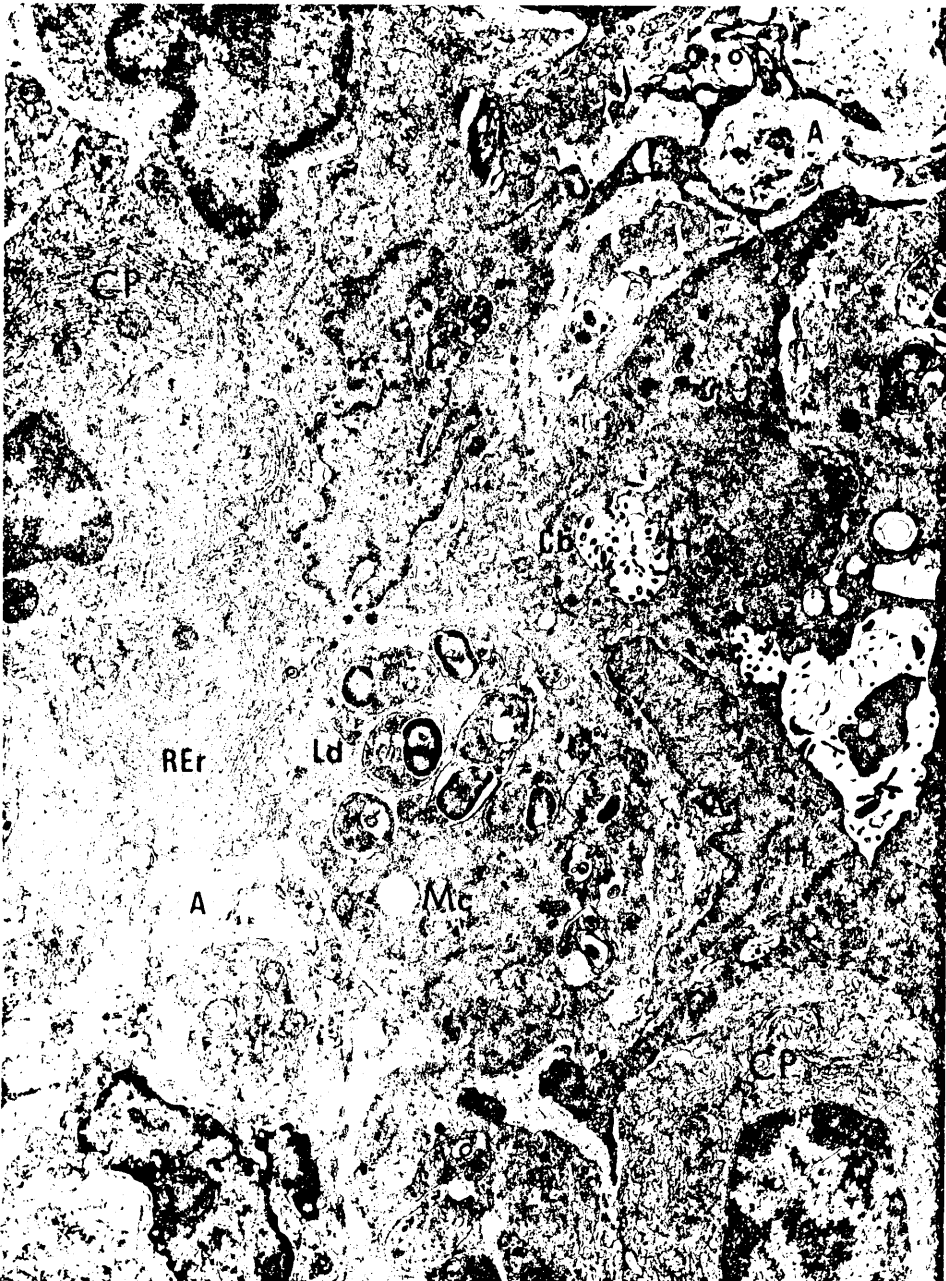


Fig. 154: hígado (B<sub>3b</sub>). Hepatocitos comprimidos. Macrófagos con amastigotes. Células plasmáticas. Depósito de sustancia amiloide. (x 2.800 en placa).



Fig. 155: hígado (B<sub>3</sub>b). Hepatocito comprimido por macrófagos parasitados y sustancia amiloide. (x 5.000 en placa).



Fig. 156: Zona de glomérulo renal de criceto testigo. ( $\times 8.000$  en placa).

XCI

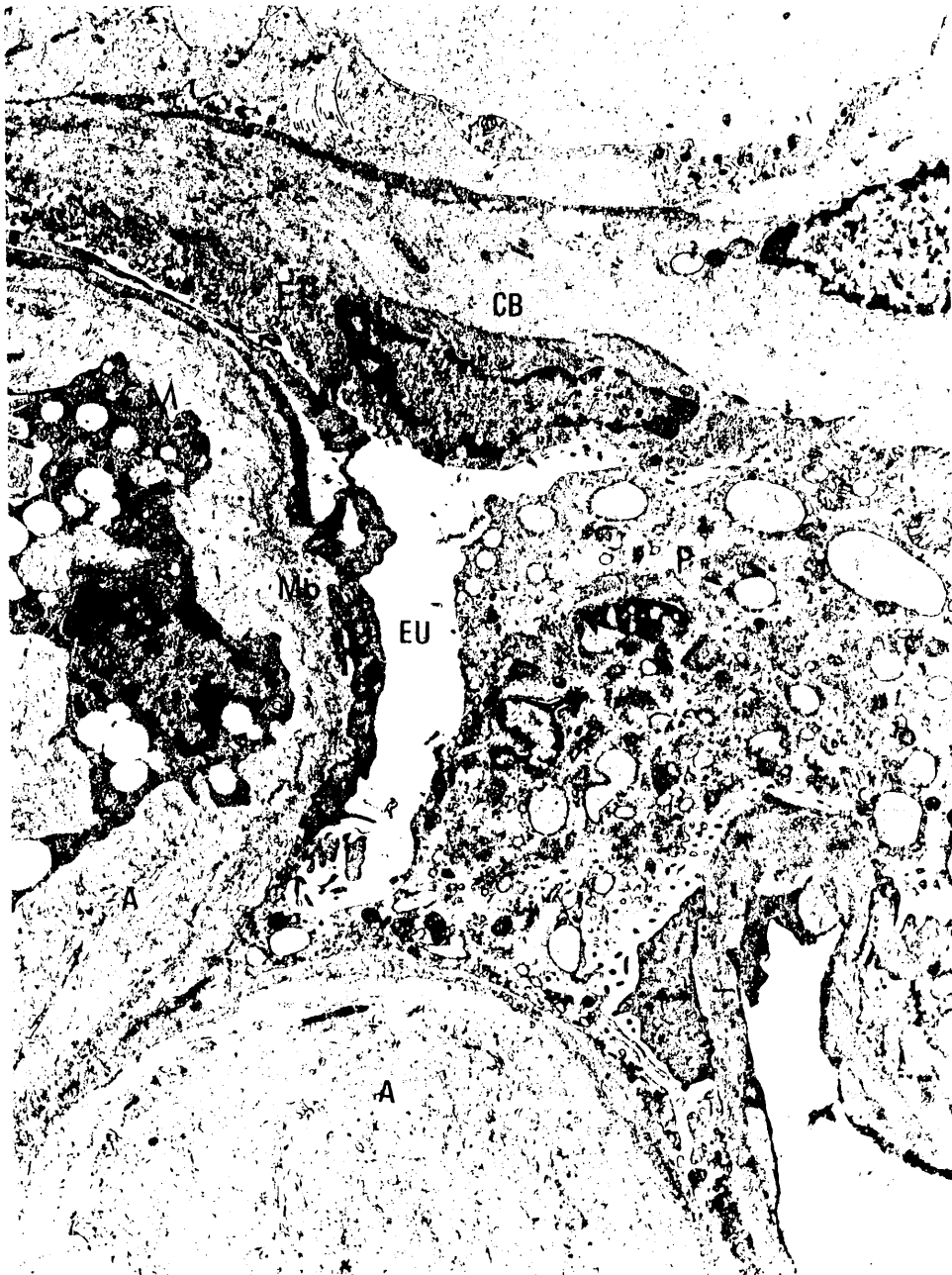


Fig. 157: riñón (A<sub>3b</sub>). Detalle de glomérulo renal: proceso degenerativo del podocito con fusión de pies podocitarios. Sustancia amiloide próxima a membrana basal. Célula mesangial - atrófica. (x 8.000 en placa).



Fig. 158: riñón ( $A_{3b}$ ). Detalle de capilar glomerular: membrana basal hipertrófica. Depósito de amiloide subendotelial y subepitelial. Fusión de pies podocitarios. ( $\times 8.000$  en placa).

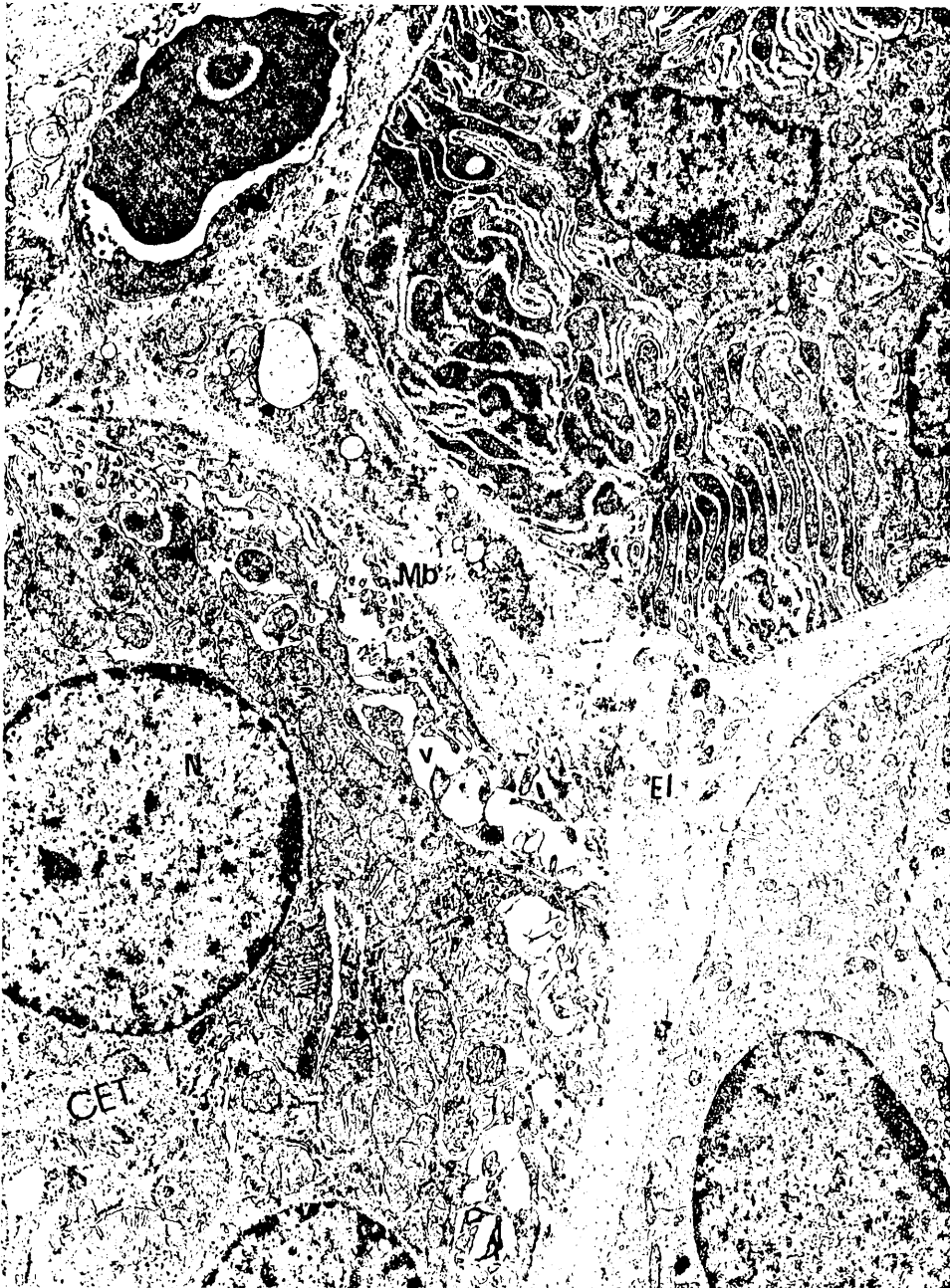


Fig. 159: riñón (A<sub>1</sub>). Epitelio tubular: espacios claros de apariencia vesicular. (x 8.000 en placa).



Fig. 160: riñón (A<sub>3b</sub>). Detalle de célula epitelial tubular; proceso degenerativo mitocondrial con abundantes figuras de mielina. (x 28.000 en placa).



Fig. 161: riñón (A<sub>3b</sub>). Detalle de células epiteliales tubulares: vacuolización del REr, tumefacción mitocondrial e hipertrofia de la membrana basal por depósito de sustancia amiloide. Intersticio: presencia de sustancia amiloide. Células intersticiales en proceso regresivo. ( $\times 10.000$  en placa).

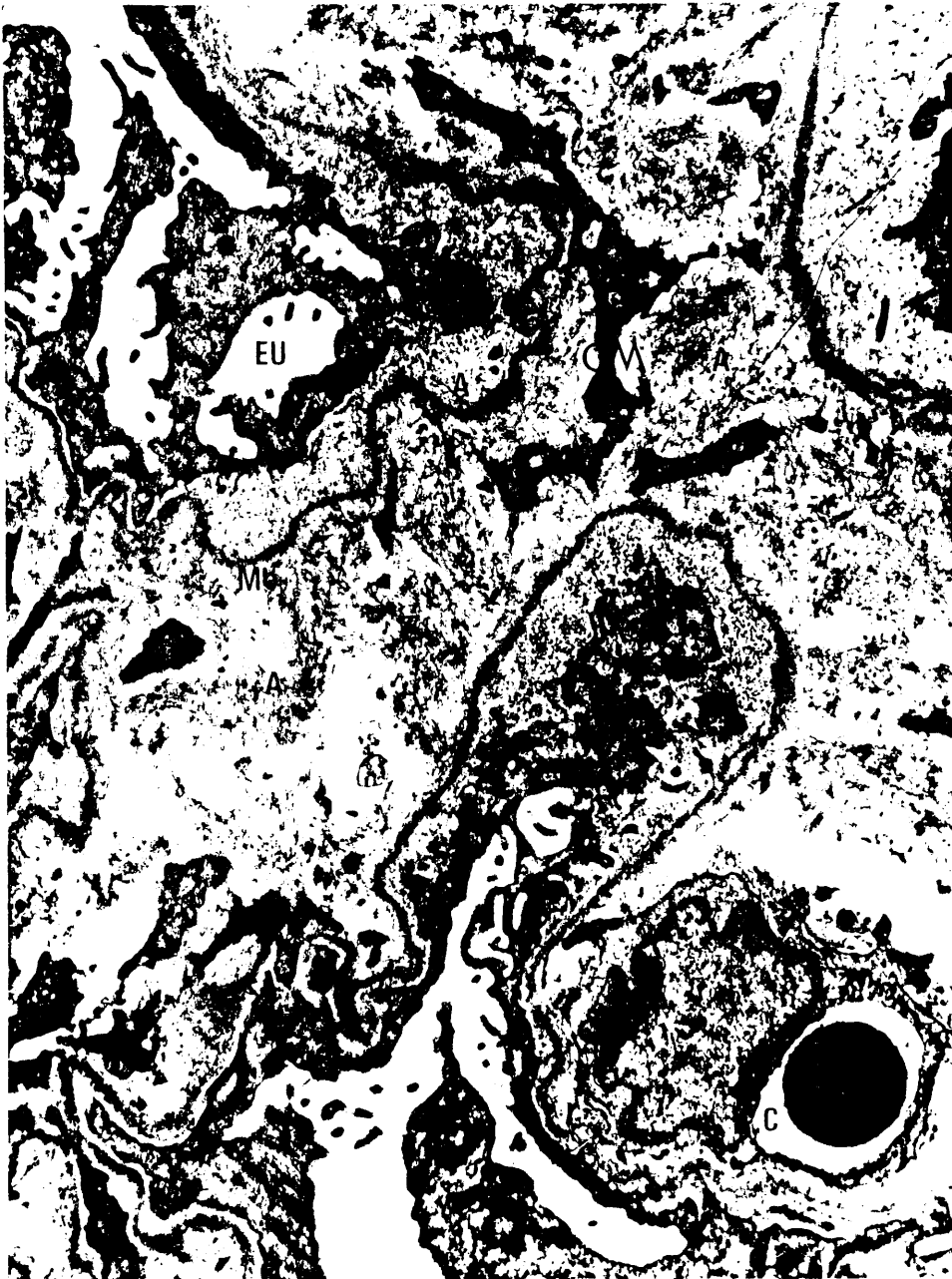


Fig. 162: riñón (B<sub>39</sub>). Detalle de glomérulo: abundante sustancia amiloide en el mesangio y en disposición subepitelial. Evidente fusión de pies podocitarios. (x 5.000 en placa).

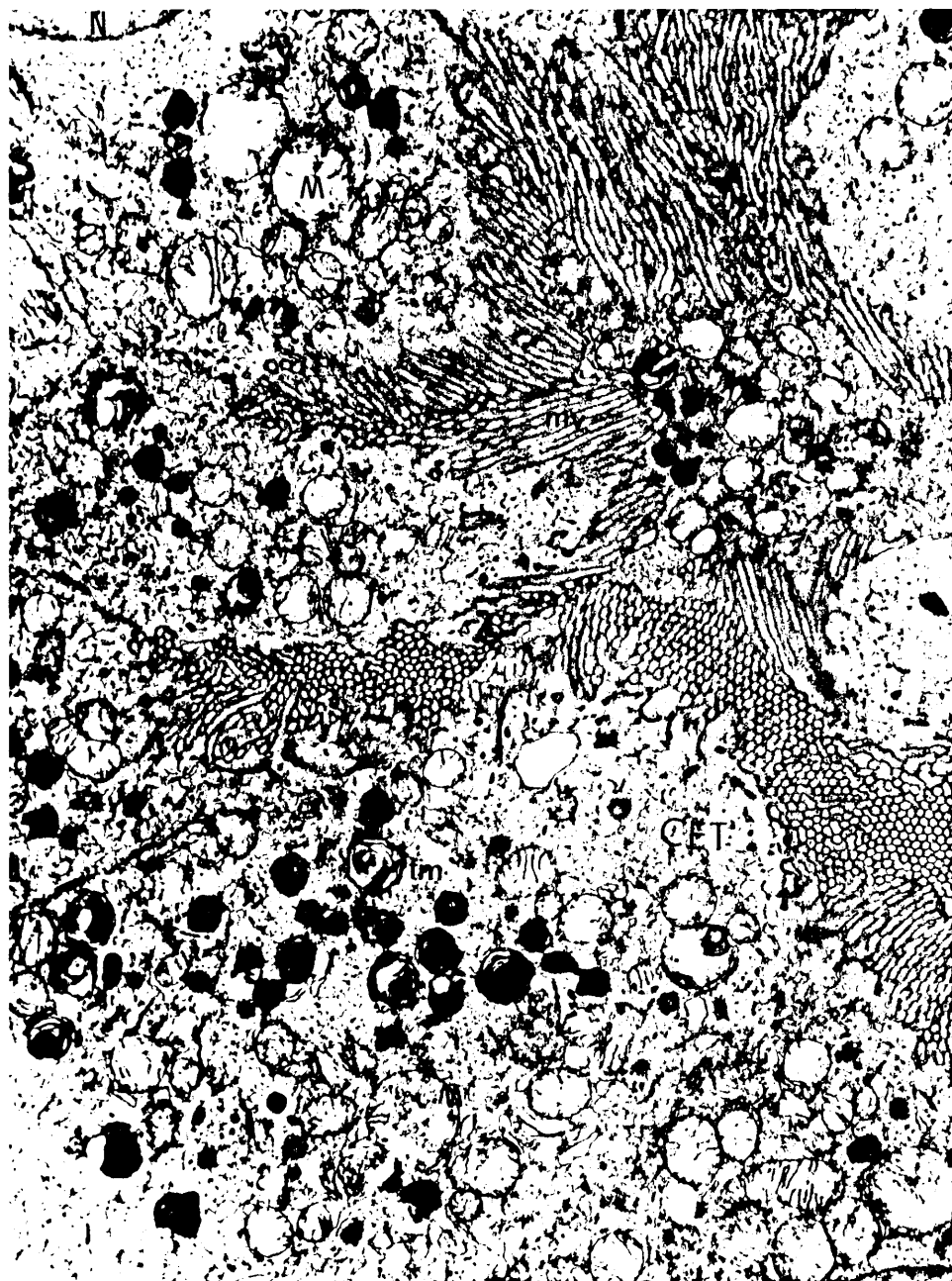


Fig. 163: riñón (B<sub>32</sub>). Detalle del epitelio tubular: tumefacción mitocondrial con abundantes figuras mielínicas. (x 4.500 en placa).



Fig. 164: riñón (B<sub>30</sub>). Detalle de glomérulo: amiloide en localización subepitelial, subendotelial, mesangial y a nivel de la lámina parietal de la cápsula de Bowmann. (x 4.000 en placa).



Fig. 165: riñón (B<sub>3b</sub>). Detalle de glomérulo: depósito de amiloide sub epitelial y subendotelial. Proceso degenerativo de podocitos con fusión de sus pies. (x 10.000 en placa).

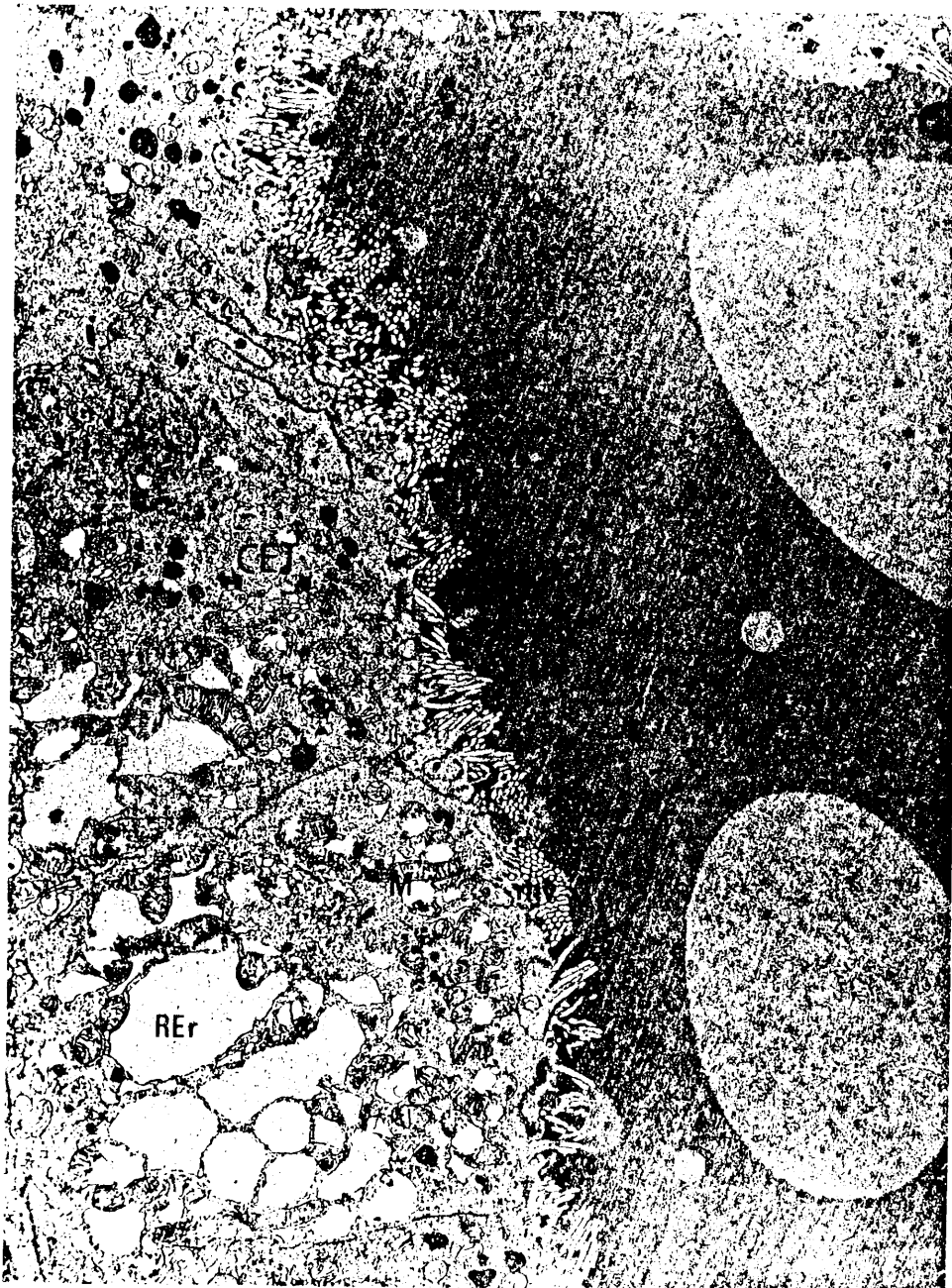


Fig. 166: riñón (B<sub>3b</sub>). Detalle de epitelio y luz tubular: dilataciones del REr y aplanamiento de la célula epitelial. Contenido intraluminal de sustancia hielina y gotas lipídicas. (x 3.000 en placa).

CI



Fig. 167: riñón (B<sub>36</sub>). Detalle de epitelio y luz tubular: proceso regresivo de las células epiteliales con aplanamiento de las mismas. Contenido intraluminal de tipo mixto. (x 6.000 en placa).



Fig. 168: riñón (B<sub>3b</sub>). Detalles de epitelio tubular e intersticio: de depósito de sustancia amiloide subepitelial e intersticial. - Procesos regresivos en las células intersticiales. (x 6.000 en placa).

ABREVIATURAS

A : amiloide  
C : capilar  
c : cinetoplasto  
CB : cápsula de Bowmann  
Cb : canalículo biliar  
Cd : célula descamada  
CE : célula endotelial  
CET: célula epitelial tubular  
CG : complejo de Golgi  
CH : cilindros hialinos  
CI : célula intersticial  
Cil: contenido intraluminal  
CM : célula mesangial  
CP : célula plasmática  
CR : célula reticular  
E : eosinófilo  
EI : espacio intersticial  
EPT: epitelio parietal tubular  
EU : espacio urinario  
f : flagelo  
fm : figura de mielina  
g : glucógeno  
GR : glóbulo rojo  
H : hepatocito  
K : célula de Kupffer  
L : linfocito  
l : lípidos  
Ld : amastigote (*Leishmania donovani*)

CIV

M : mitocondria  
m : microtúbulos  
Mb : membrana basal  
Mc : macrófago  
mv : microvellosidades  
N : núcleo  
P : podocito  
p : plasmalema  
r : ribosomas  
REl: retículo endoplásmico liso  
REr: retículo endoplásmico rugoso  
v : vesículas



BIBLIOTECA