

ALTERACIONES MORFOLOGICAS DEL RIÑON EN LA ENFERMEDAD DE GUMBORO.

(KIDNEY MORPHOLOGICAL ALTERATIONS IN GUMBORO DISEASE).

por

A. Méndez, M.A. Sierra, A. Gázquez y A. Jover

Departamento de histología y anatomía patológica de la Facultad de veterinaria de la Universidad de Córdoba (España).

Palabras clave: Enfermedad de Gumboro. Riñón. Pollo. Anatomía patológica.
Keywords: Gumboro disease. Kidney. Chicken. Pathological anatomy.

Summary

In the present work we have studied with the electronic microscope the alterations that occur in the renal parenchyma of a day-old male chicken, of the Leghorn breed, inoculated ocularly with 0.1 ml of the Gumboro disease virus (country virus), strain 52/70. It has been tried in a total of 73 chickens divided into 20 batches, 19 of them experimental and one control. The most important lesions have been found in the capillary vessels and in the proximal convoluted tubules where degenerative phenomena appear.

Resumen

En el presente trabajo hemos estudiado con el microscopio electrónico las alteraciones que ocurren en el parénquima renal de pollos machos de raza Leghorn de un día de edad, inoculados por vía ocular con un 0.1 ml del virus productor de la enfermedad de Gumboro ("virus campo", cepa 52/70). Se ha utilizado un total de 73 pollos, divididos en 20 lotes; 19 de ellos, experimentales y uno, testigo. Las lesiones de mayor importancia las hemos encontrado en los vasos capilares y en los túbulos contorneados proximales en los que se presentan fenómenos degenerativos.

Recibido para su publicación el 27-4-1981.

MENDEZ ET AL.: ALTERACIONES DEL RIÑÓN EN LA ENFERMEDAD DE GUMBORO.

La enfermedad de Gumboro, si bien se considera una de las enfermedades víricas que en el campo de la investigación morfoinmunológica presenta unas características dignas de tener en cuenta, está prácticamente controlada por medios de inmunización en masa por vía oral.

Las alteraciones histopatológicas provocadas por el virus están presentes en el sistema linfocitario fundamental. Ahorabien, no sólo va a ser dañado este sistema, sino que el síndrome nefrótico es muy acusado, y está representado por alteraciones, principalmente a nivel de su sistema de irrigación; de tal manera que en diversos estados patológicos de índole degenerativa o inflamatoria, las alteraciones vasculares son muy patentes. Para Drommer (5), en procesos producidos por Erysipelotrix insidiosa en riñón, da lugar a una tumefacción y defecto del endotelio de los vasos capilares que riegan los túbulos contorneados y el asa de Henle. Igualmente, Gázquez observó en los capilares de la glándula adrenal de ratas sometidas a inoculación experimental de endotoxina de E. coli la presencia de vacuolización, tumefacción y defecto de las células endoteliales de dichos capilares. En experiencias con Erysipelotrix insidiosa en válvulas cardíacas y arteria coronaria Gázquez vio idénticas alteraciones.

Para Drommer (5), cuando se produce un defecto endotelial de un capilar sanguíneo, monocitos del torrente circulatorio se adhieren a tal defecto y se produce un fenómeno de tapizado de zonas alteradas (stickin effect). Por otro lado, para Dustin (6) el proceso de atrocitosis es una de las alteraciones más importantes en diversos estados patológicos, característicos en la amiloidosis, en el mieloma múltiple y, sobre todo, en las nefrosis. Para dicho autor la atrocitosis renal está relacionada con la formación de componentes granulares y lisosomas, y sugiere que estos gránulos son mitocondrias degeneradas. Del mismo modo, la atrocitosis es la presencia de inclusiones granulares que han llegado al citoplasma por fagocitosis o por autofagocitosis. La atrocitosis renal es frecuente en estados de filtración excesiva de proteínas y se va a localizar primordialmente en los túbulos contorneados. Por todo ello en el presente trabajo estudiamos las alteraciones que se producen en el riñón, en el transcurso de una inoculación experimental, por vía ocular, de la enfermedad de Gumboro.

Material y Métodos

Hemos utilizado 73 pollos machos, de raza Leghorn, de un día de edad al comienzo de la experiencia, exentos de toda enfermedad infecciosa o parasitaria. A los 20 días de edad, a cada animal de experimentación se le administró por vía ocular 0.1 ml de virus productor de la enfermedad de Gumboro ("virus campo", cepa 52/70) cedido gentilmente por Laboratorios Sobrino, y a una dilución 1/40. Los pollos se distribuyeron en 19 lotes que, en relación con las lesiones observadas, se reagruparon según el siguiente cuadro, en el que también se expone la edad y horario de sacrificio:

Grupos	Lotes	Nº de animales tratados	Animal testigo	Edad (días)	Sacrificio en h.p.i.
I	1	2	1	20	3
	2	2	1	20	19
	3	2	1	20	23
	4	3	1	21	48
II	5	3	1	22	72
	6	3	1	23	96
	7	3	1	24	120
	8	3	1	25	144
	9	3	1	26	168
	10	3	1	27	192
	11	3	1	28	216
	12	3	1	29	240
III	13	3	1	31	288
	14	3	1	33	336
	15	3	1	35	384
	16	3	1	37	432
	17	3	1	39	480
	18	3	1	41	528
	19	3	1	43	576

Los animales sometidos a inoculación experimental y los testigos se mantuvieron bajo idénticas condiciones de temperatura y horas luz. La primera se sostuvo a 36° C durante la primera semana y se disminuyó progresivamente de acuerdo con la edad. La luz artificial se mantuvo encendida durante las 24 horas de los 6 primeros días; y el resto de la experiencia, en fotoperíodos de once horas. Se les administró una alimentación adecuada y tanto el pienso como el agua los tomaron a discreción. Tras la administración del virus, los pollos se escogieron al azar y se sacrificaron por decapitación. Simultáneamente, con los animales tratados es sacrificado un pollo testigo. Inmediatamente después de la decapitación se realizó la extracción del riñón para su estudio con el microscopio electrónico.

Estudio ultraestructural.

Las muestras, previamente fijadas en glutaraldehído al 5 p.100 en solución tampón-fosfato, según el proceder de Sabbatini y col., se refijaron en tetróxido de osmio al 2 p.100 en tampón-fosfato. Seguidamente las muestras se deshidrataron en una escala ascendente de acetonas. Finalmente, son incluidas en Durcapan ACM (araldita). De los bloques obtenidos se realizaron cortes de 600 Å de espesor, que se contrastan con acetato de uranilo al 2 p.100 y a continuación, con citrato de plomo. Los cortes se han obtenido en un ultramicrotomo LKB modelo III, de avance térmico y cuchillas de vidrio. Para su observación se ha utilizado un microscopio electrónico PHILIPS modelo 300, del Servicio de microscopía electrónica de la Universidad de Córdoba, con el que realizaron las electronografías en placas de 9 x 6,5 cm, Agfa-Gevaert tipo Sciencia.

Observaciones.

Debido a la similitud del cuadro lesional y como expusimos en el capítulo del material y métodos, hemos reunido los distintos lotes en tres grandes grupos, como a continuación se expone:

- Grupo I Lotes 1 al 4.
- Grupo II Lotes 5 al 12
- Grupo III Lotes 13 al 19.

Grupo I. En las observaciones realizadas con el microscopio electrónico de las muestras pertenecientes a este primer grupo y que corresponden a los animales sacrificados desde las 3 a las 48 horas p.i., apenas hemos encontrado alteraciones a nivel del parénquima renal; en cambio sí las había en el lecho vascular. En el glomérulo de Malpighi no hemos visto ningún tipo de modificaciones de las células endoteliales, ni en los podocitos ni en las células mesangiales. En relación con los túbulos de la nefrona tampoco hemos sorprendido modificaciones, si bien hemos de tener en cuenta que en los últimos lotes se puede apreciar el comienzo de un edema en las zonas basales de los túbulos contorneados proximales.

Las alteraciones más manifiestas en este primer grupo las hallamos en los elementos capilares, sobre todo en las muestras correspondientes a los últimos lotes. La mayoría de los capilares muestran sus luces muy dilatadas y las células endoteliales hacen prominencia sobre dicha luz. Observamos células endoteliales tumefactas, con el borde libre, de contorno irregular, y pérdida de las interrelaciones con las células contiguas, y hay presentes verdaderos estomas u oquedades en las paredes de los capilares. En esta fase, encontramos en las luces capilares una marginación leucocitaria, constituida fundamentalmente por monocitos que se adhieren a la pared del vaso, muy próximos a los estomas. En estas células hemos visto figuras de mitosis y puede tratarse de un sticking-effect. Además de esta adherencia de monocitos a la pared de los capilares, hemos anotado numerosas imágenes de emigración de linfocitos, por diapedesis, fuera de los capilares.

Grupo II. En las observaciones con el microscopio electrónico de muestras correspondientes al segundo grupo, animales sacrificados entre las 72 y 240 horas después de la inoculación, todos los lotes presentan un cuadro lesional constituida fundamentalmente por procesos degenerativos e inflamatorios.

Los procesos degenerativos se localizan principalmente en los túbulos contorneados. En los túbulos contorneados proximales encontramos procesos de tumefacción mitocondrial, debido sobre todo a la presencia de un edema que separa las células unas de otras y de la membrana basal. Los túbulos contorneados distales son los más afectados. En la zona apical de las células existe una vacuolización muy manifiesta que recuerda los gránulos de naturaleza mucosa. También en estos túbulos hallamos un edema muy intenso, sobre todo en la zona basal de las células.

Las alteraciones de mayor importancia las descubrimos en los procesos inflamatorios. Por una parte hemos observado abundantes imágenes de salida de leucocitos, sobre todo de linfocitos y de monocitos, a través de la pared capilar; y por otra parte, en el tejido intersticial existe un infiltrado celular constituido por linfocitos, principalmente.

Hemos de destacar que en este grupo de experimentación existe gran cantidad de hematíes en el interior del tejido intersticial.

Grupo III. Las observaciones realizadas con el microscopio electrónico de las muestras correspondientes a este tercer grupo (animales sacrificados entre las 288 y 576 horas después de la inoculación) nos muestran que el cuadro lesional descrito en los grupos I y II se atenúa y en los últimos lotes de la experiencia el parénquima renal está prácticamente recuperado. Sin embargo, podemos resaltar que persisten procesos de hiperemia en los capilares de los glomérulos, con una cierta tumefacción endotelial, y también en los capilares intersticiales, pero con una disminución manifiesta del edema.

En los túbulos contorneados distales se manifiestan algunas figuras de procesos degenerativos, con la presencia, sobre todo, del citolisosomas y cuerpos residuales.

Los cuerpos de infiltración celular en el tejido intersticial han remitido en parte. En estos casos los acúmulos son, sobre todo, de linfocitos. Hemos de destacar que en este tejido intersticial y, más aún, en las proximidades de los focos inflamatorios comienza la aparición de fibroblastos con presencia de fibras de colágena.

Discusión

Las modificaciones que ocurren en el parénquima renal en las infecciones por virus de la enfermedad de Gumboro, son escasas en el primer grupo de experimentación, igual a lo estudiado por Bernabé (2) y Mozos (13), en la bolsa de Fabricius y timo, respectivamente. El cuadro lesional se hace más aparente en el grupo segundo y hay una clara recuperación en el grupo tercero.

En los lotes primeros del primer grupo las imágenes que encontramos, como estudiara Dustin (6), son fundamentalmente las que corresponden al comienzo de la instauración de un edema. Estas imágenes se complementan en los lotes siguientes con la iniciación de una tumefacción endotelial,

que como estudiara Monreal y col. (12), conduce a la formación de lesiones en el lecho capilar. Todo esto, como vio Gázquez (7) en adrenales de rata inoculadas con endotoxina, origina una marginación, principalmente de monocitos, que tratan, como expone Drommer (3), de recuperar, a partir de estas células endoteliales. No obstante, destacamos que hemos encontrado imágenes, no señaladas en la bibliografía consultada, de divisiones de estos monocitos en la pared vascular.

El segundo grupo de experimentación muestra un cuadro lesional más intenso. La presencia de separaciones entre las células de los túbulos contorneados proximales y distales se debe, según Sandritter (19), a un edema manifiesto que conduce a alteraciones mitocondriales en estas células de los túbulos contorneados distales, como estudiara Dustin (6) en fenómenos de hipoxia. Coincidimos con Dustin (6) en considerar que las alteraciones que hemos descrito en las células de los túbulos contorneados distales corresponden a fenómenos de atrocitosis o de formación de citolisosomas y posterior vacuolización del citoplasma.

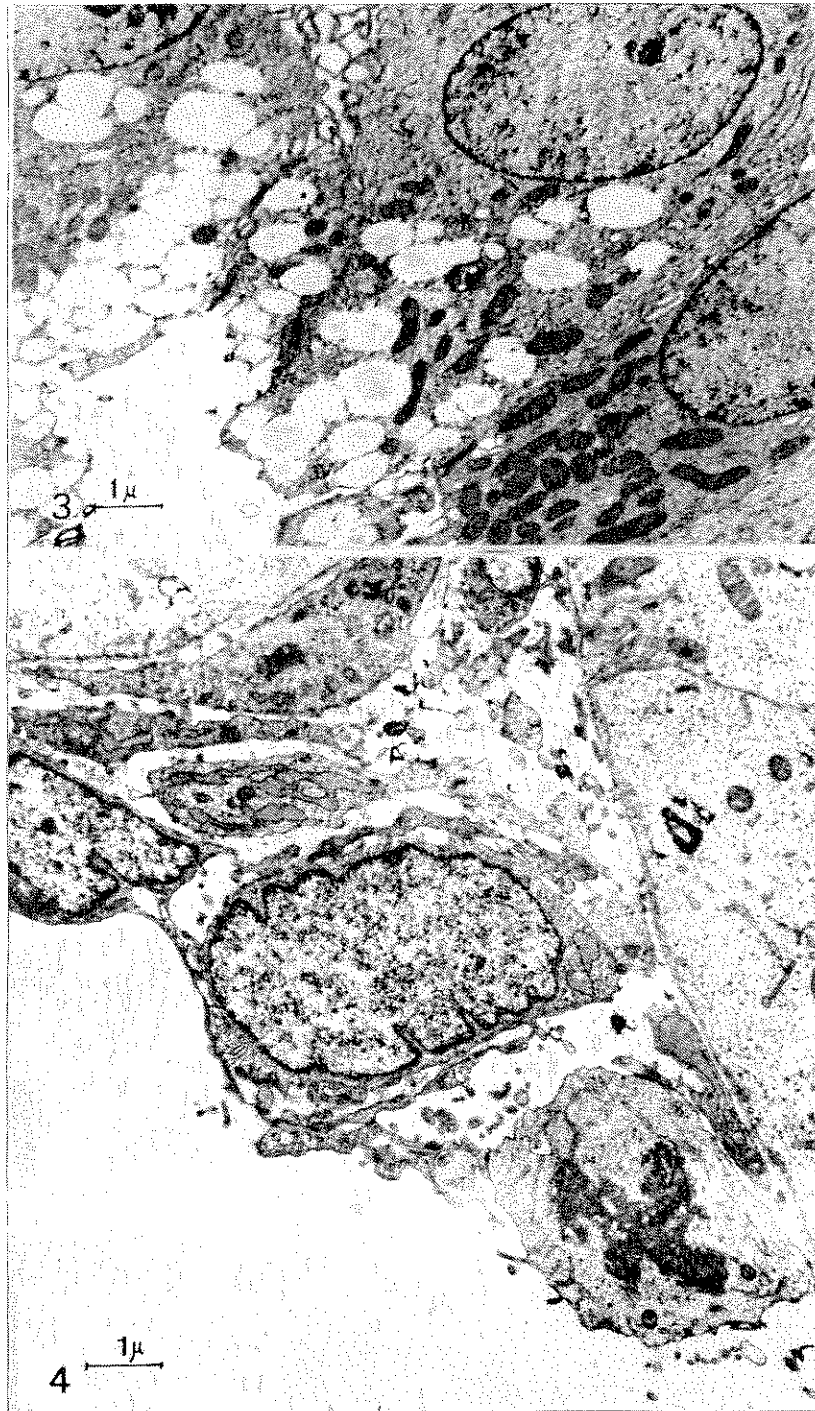
La marginación monocitaria o sticking-effect se mantiene durante los primeros lotes, coincidiendo con los trabajos de Gázquez (7). Pero sin duda alguna, el cuadro lesional, como estudiara Dustin (6), Sandritter (19) y Robbins (18) consiste en marginación leucocitaria y extravasación posterior, y encuadra con procesos de infiltración celular. Igualmente, la presencia de hematíes libres por el tejido intersticial corresponde a una inflamación hemorrágica (Siller y Cumming (20)).

En el grupo tercero se mantienen los fenómenos de hiperemia, sobre todo en los glomérulos, aunque el cuadro lesional disminuye.

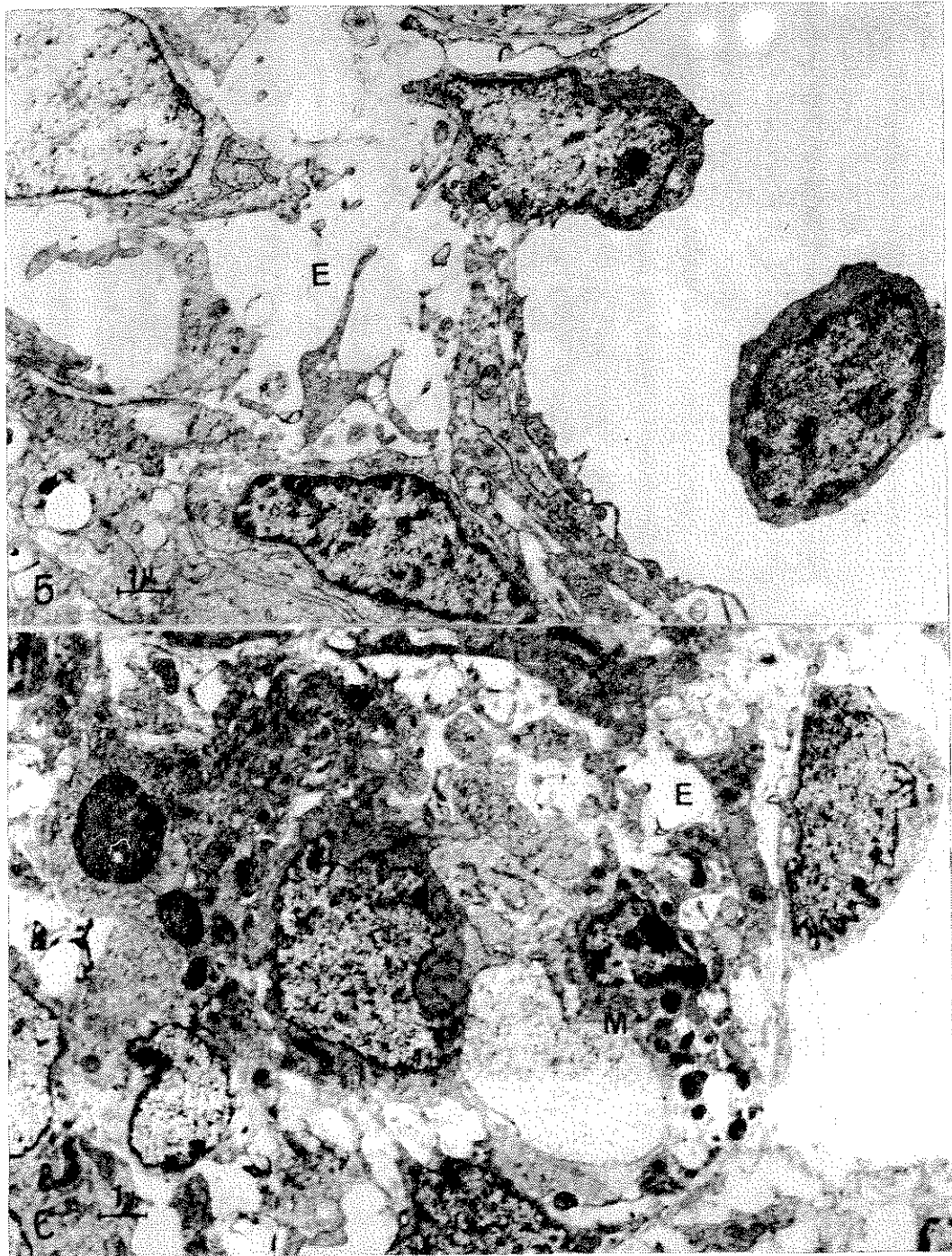
La atrocitosis, que describíamos en el grupo anterior, es menos evidente, si bien se encuentran abundantes citolisosomas y, sobre todo, cuerpos residuales. Así mismo, los procesos inflamatorios están más alterados y, como estudiaran Winterfield y col. (22), desaparecen los glóbulos rojos, disminuyen en parte los linfocitos y, lo que es más importante, hacen su aparición los fibroblastos constituyendo fibras de colágeno.



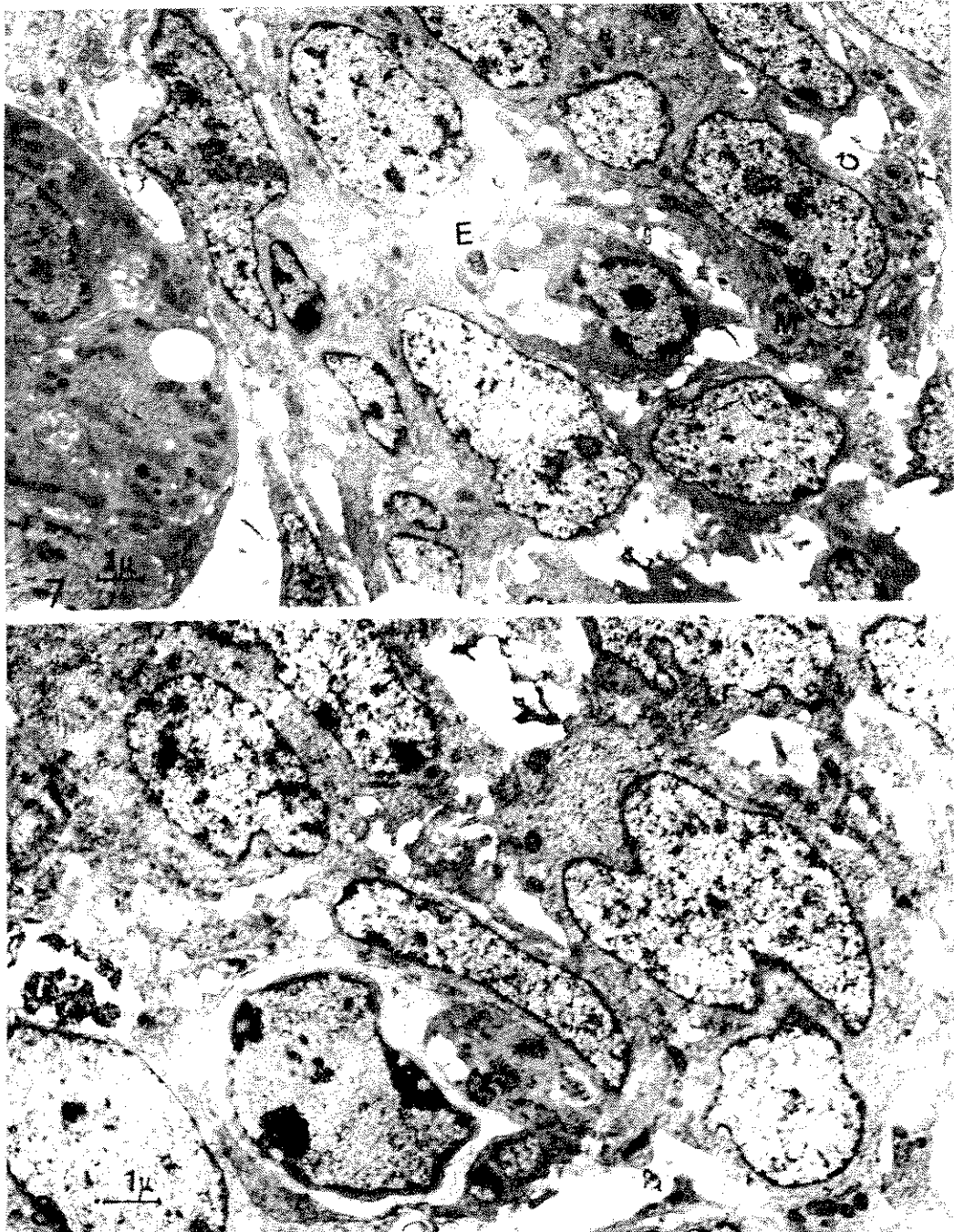
Figuras 1 y 2



Figuras 3 y 4



Figuras 5 y 6
-10-



Figuras 7 y 8

PIE DE LAS FIGURAS

- Figura 1. Detalle de un glomérulo de Malpighi en el que se observa un capilar sanguíneo (CP) rodeado por podocitos (PD). x 18.000.
- Figura 2. Detalle de un corte basal de células de un túbulo contorneado. x 18.500.
- Figura 3. Detalle de túbulo contorneado con proceso de atrofitosis. x 19.000.
- Figura 4. Detalle del endotelio de un capilar sanguíneo con tumefacción endotelial, mitosis y emigración de un linfocito. x 20.000.
- Figura 5. Detalle de un capilar sanguíneo. Se aprecia la emigración de un elemento forme, y edema subendotelial (E). x 10.500.
- Figura 6. En el espacio subendotelial se observa edema (E) y macrófagos (m) con abundantes lisosomas. x 10.500.
- Figura 7. Se ve un infiltrado de células linfocitarias y macrófagos (m) y edema. x 9.500.
- Figura 8. Infiltrado y edema en el tejido intersticial renal. x 9.500.

Bibliografía

1. Badiola, G., F. Olivar y J. Parla. Enfermedad bursal infecciosa (enfermedad de Gumboro). Laboratorios Reunidos, S.A., 3-20 (1970).
2. Bernabé, A. Modificaciones histológicas de la bolsa de Fabricio en la enfermedad de Gumboro. Comunicación personal (1980).
3. Beuton, W.J., M.S. Cover y J.K. Rosemberger. Studies on the transmission of the infectious bursal agent (IBA) of chickens. Avian Diseases, 11, 430-438 (1967).
4. Brund, R.R. y G.G. Palade. Studies on blood capillaries in muscle. J. Biol. 37, 244-273 (1968).
5. Drommer, W. Comunicación personal (1979).
6. Dustin, P. Leçon d'anatomie pathologique générale. Presses Académiques Européennes (1969).
7. Gázquez, A. Estudio ultraestructural de adrenales de rata inoculadas con endotoxina E. coli. Pendiente de publicación (1979).
8. Hiray, K. y S. Shimakura. Structure of infectious bursal disease virus. J. Virology 14, 957-964 (1974).
9. Kaufner, I. y E. Weiss. Electron-microscope studies on the pathogenesis of infectious bursal disease after intrabursal application of the causal virus. Avian Diseases 20, 483-495 (1976).
10. Kurihar, S. y M. Yasuda. Morphological study of the kidney in the fowl. I. Arterial system. Jap. J. Vet. Sc. 37, 29-47 (1975).
11. Lunger, P.D. y T.C. Madux. Fine structure studies of the avian infectious bursal agent. I. In vivo viral morphogenesis. Avian Disease 16, 874-893 (1972).
12. Monreal, G., R. Pohl y H.W. Sculze. Simultaneous occurrence of infectious bursitis and infectious bronchitis with the nephritis syndrome. Zentralblatt für Veterinärmedizin, 218, 14-21 (1974).

13. Mozos, E. Modificaciones histológicas del timo de la enfermedad de Gumboro. Comunicación personal (1980).
14. Neuhof, H., CH. Mittermayer y N. Freunderberg. Makro und Mikrocirculation in Schock. Beitr. Path., 80-101 (1978).
15. Radu, C. Histological and histoenzymic characteristic of the kidneys of poultry (pidgeon, fowl, goose, turkey, duck). Lucrăci Sci. Insts. Agrom. Timisoara Seria Med. Vet. 14, 21-23 (1977).
16. Radu, C. Morphological and architectural variations of the kidneys of domestic birds (Gallus domesticus, Meleagris gallopavo, Anser domesticus, Anas boschas domestica). Anatomía Histología Embriología 8, 1-9 (1979).
17. Rhodin, J.A. Histology: a text and atlas. Oxford Univ. Press (1974).
18. Robbins. Patología estructural y funcional. Edt. Interamericana. México (1975).
19. Sandritter, W. Histopatología. Edt. Científico Médica. Barcelona (1979).
20. Siller, W.G. y Cumming, P.B. The histopatology of an interstitial nephritis in the fowl produced experimentally with infectious bronchitis virus. J. Path. 114, 163-173 (1974).
21. Vindevogel, H., M. Gouffaux, G. Muelemans, P. Halen y P. Schyns. Gumboro disease. II. Experimental inoculation: clinical and histological study. Ann. Med. Vet. 116, 375-386 (1974).
22. Winterfield, R.W., S.B. Hitchner, G.S. Appeton y A.S. Congrove. Avian nephrosis, nephritis and Gumboro disease. L.M. News and wiews, L. and M. Laboratoires, Selbyville, Delaware 3-5(1962).
23. Wolff, J.R. Microcirculation. I y II. Gaborkaley and Burton M. Altura Univ. Park Press. Baltimores. 95-123 (1978).