

EFECTOS DE LA NEUROTOXINA EPSILON DEL *Clostridium Prefringens* EN EMBRIONES ANIMALES

Effects of *Clostridium prefringens* neurotoxin epsilon in animal embryos

Magda E. Garzón Tarazona

Medica. Especialista en neurocirugía Máster en investigación en ciencias biomédicas -
Universidad de Barcelona. Doctorado en Cirugía – Universidad De Barcelona email.

Recibido:	día	mes	año	Revisado:	día	mes	año
Corregido:	día	mes	año	Aceptado:	día	mes	año

Estilo de referencias: Vancouver APA 6 Harvard ICONTEC

Estudio experimental en modelo animal, casos y controles.

Modelo seleccionado: Membrana Corioalantoidea de Gallus sp. (Chick CAM).

Sustancia en estudio: Toxina Epsilon del Clostridium Perfringens

Antecedentes y objetivos

La Chick CAM (Membrana corioalantoidea del pollo) ha sido utilizada por numerosos investigadores desde antes de los 60's. Ha servido para aislar varios factores promotores o inhibidores de la angiogénesis.

Fue utilizada por Folkman en 1971 (descubridor del factor de necrosis tumoral, TAF). En 1983 Senger descubrió un producto tumoral que aumentaba el VPF (factor de permeabilidad vascular) 50.000 veces más que la histamina, al cual llamó Factor de crecimiento vascular endotelial. Ferrara y Henzel en 1989, Gospodarowicz 1989, Conolly 1989, Levy, Leung, Conn entre un sinnúmero de investigadores.

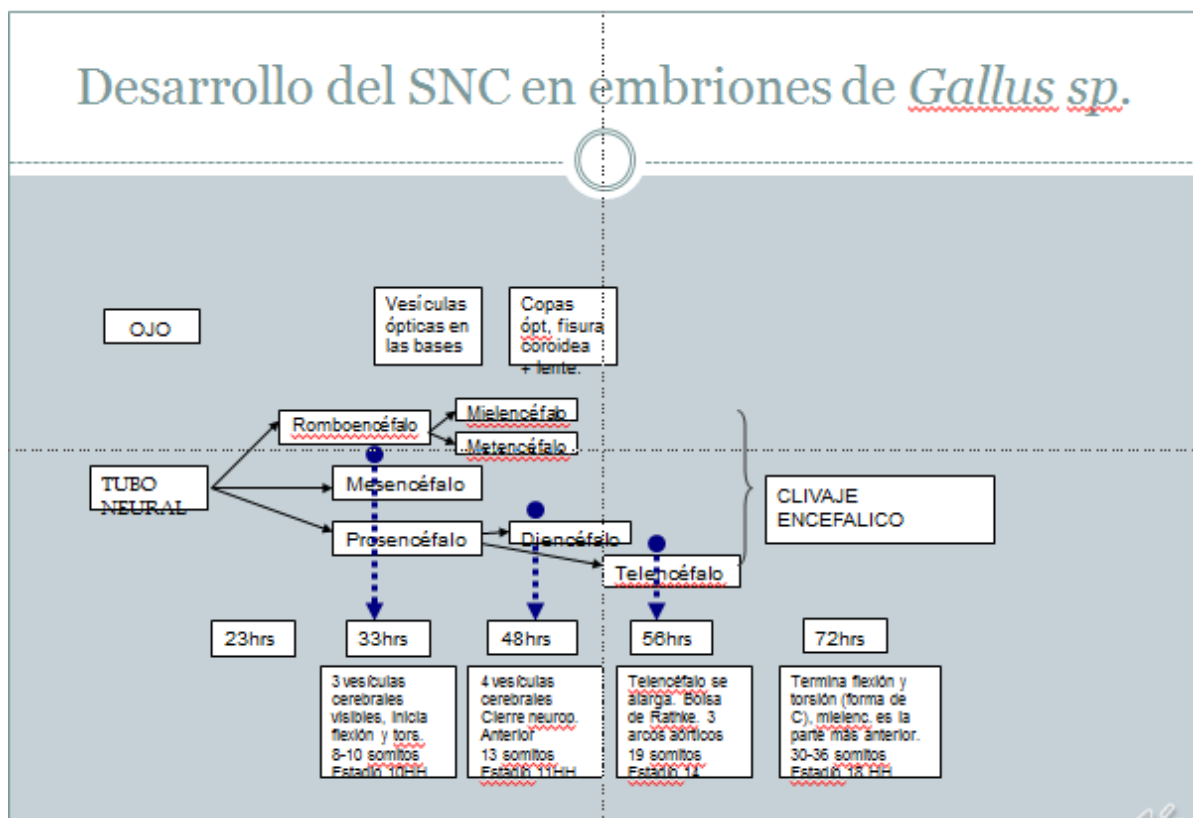
El patrón corporal de la mayoría de los animales se define muy pronto en el desarrollo (morfogénesis)

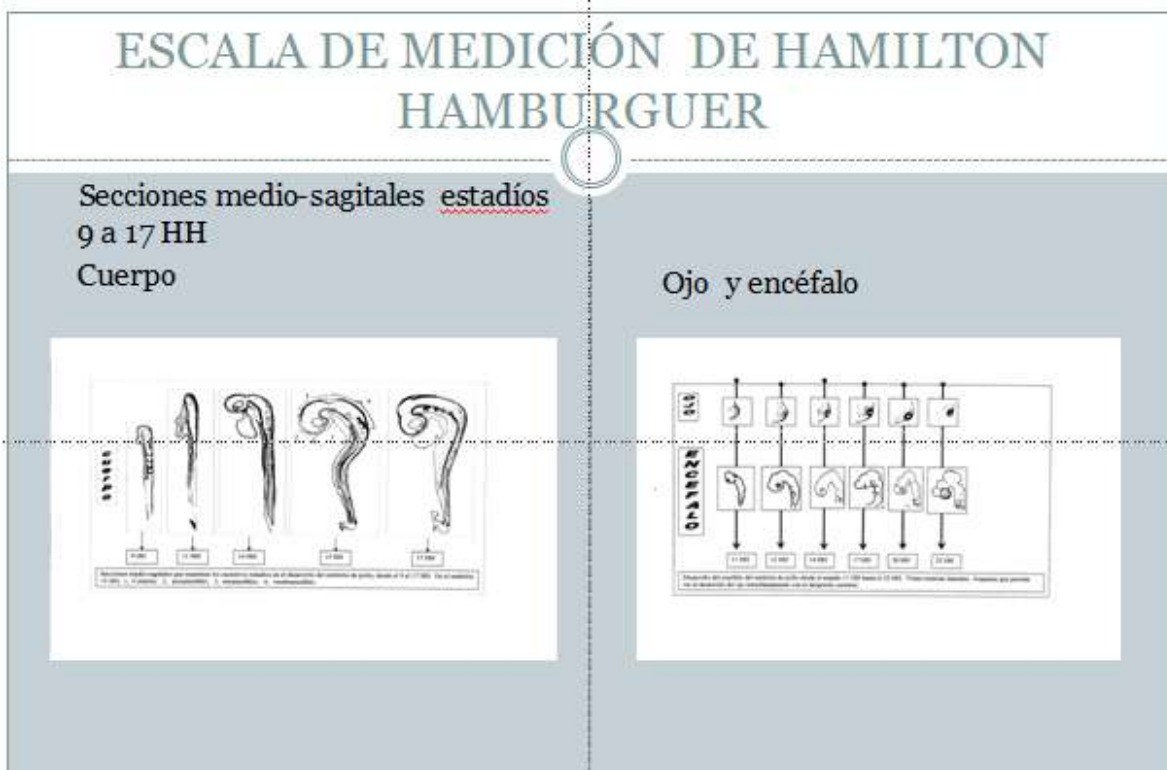
Luego, las células de cada territorio irán especificando su destino hasta diferenciarse en un tipo celular particular en un lugar determinado.

Un tipo de comunicación celular en la que el endotelio vascular cerebral juega un papel fundamental es el responsable de estos procesos de migración y diferenciación (histogénesis). El estudio de la biología del desarrollo permite establecer que existe una anatomía causal y funcional.

Con la comprensión de la morfogénesis se obtiene una mejor interpretación de la relación forma-función y esta es quizás la mejor manera de elucidar la patogénesis de algunas enfermedades.

Sabemos que estamos expuestos a patógenos ambientales conocidos y a otros cuyos efectos aún se encuentran en estudio.





Las Clostridium Perfringens son bacterias gram positivas que producen al menos 15 clases de toxinas.

Esta bacteria es normal en el tracto GI en pequeñas cantidades, cuando se alteran las condiciones normales del intestino puede producir enteritis y lesionar la mucosa intestinal favoreciendo que la toxina alcance el torrente sanguíneo produciendo una toxemia pura que lesiona órganos blanco.

Administración IV o absorción intestinal:

Las células endoteliales constituyen uno de los órganos blanco, en particular el endotelio vascular cerebral. El daño en éste endotelio afecta la permeabilidad vascular produciendo un flujo iónico anormal y extravasación del líquido en el pie del astrocito, lo cual a su vez induce una respuesta inflamatoria.

Todos estos fenómenos constituyen una severa disrupción de la Barrera hematoencefálica, que se traduce en edema vasogénico y citotóxico que dependiendo de la dosis puede ser fatal.

Administración tópica dosis menores:

Un daño en el endotelio vascular cerebral podría explicar un trastorno en la neurogénesis. No como un evento isquémico/hipóxico sino mediante la alteración en la función de secretar sustancias que inducen complejos mecanismos de diferenciación de células neuroepiteliales, lo que conllevaría a un fallo en la migración y formación de conexiones interneuronales cruciales para un desarrollo embriológico normal.

Fase Experimental

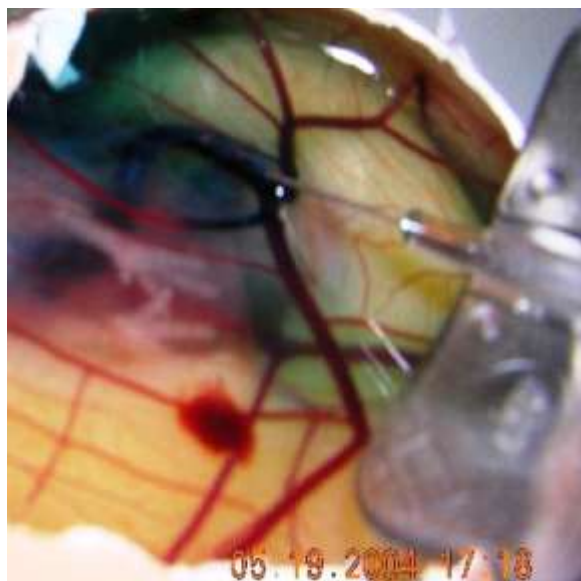
PROCEDIMIENTO 1

Puesta en incubación de aprox. 400 huevos fecundados de Gallus sp.
Aplicación tópica de 100 μ L de Toxina épsilon del Clostridium Perfringens, aplicación tópica de PBS en embriones control a las 48 horas del inicio de la incubación.

Selección de 120 embriones casos y controles en el estadio 14 – 17 HH.
Extracción del embrión, estudio anatomopatológico macroscópico.
Estudio anatomopatológico microscópico mediante fijación en formol, inclusión en parafina y realización de cortes y tinciones.

PROCEDIMIENTO 2

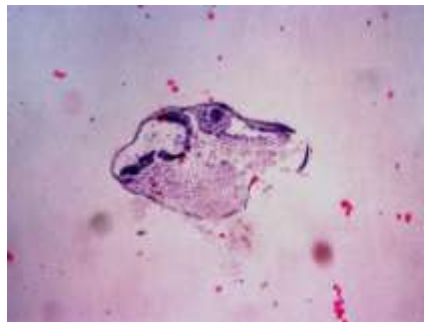
Aplicación de 0,1 y 0,5 μ L de toxina épsilon via IV en embriones de Gallus sp. estadio 35 HH.
Control mediante inyección de 0,1 y 0,5 mL de PBS.



PRINCIPALES EFECTOS EN LA MORFOGENESIS

En embriones tempranos, anteriores al estadio 13 HH. Gran alteración de la vasculatura extraembrionaria, área vasculosa casi inexistente, muerte del embrión?

Anomalías en el desarrollo caudal, falla en el clivaje telencefálico, defectos de línea media y de diferenciación de la sustancia blanca. Anomalía celular en la capa germinal que da origen al córtex. Alteraciones en el ojo, falla de diferenciación en las capas de la retina.

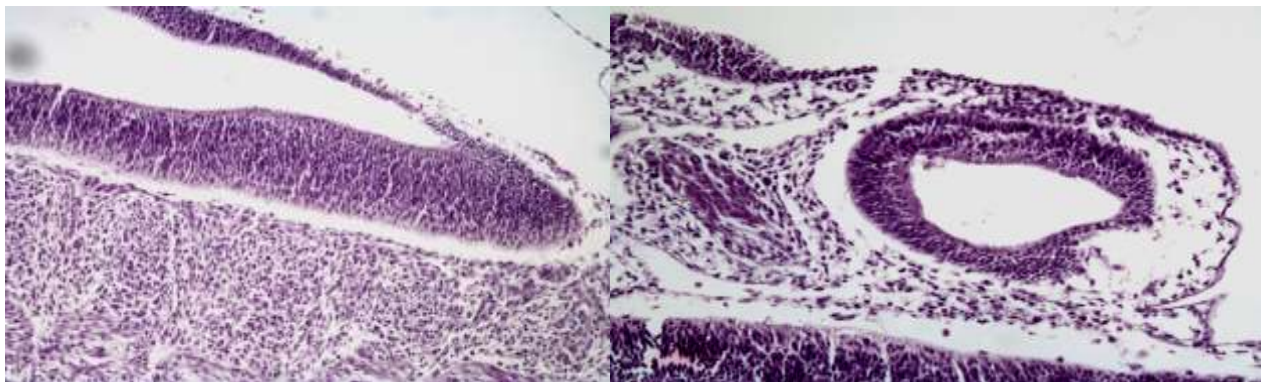


Embriones 14 HH

Anomalía en el desarrollo del polo cefálico. Alteración en la estratificación de la capa germinal, células apoptóticas en la sustancia blanca. Presencia de células vacuolares en diencéfalo y cerebelo.

En embriones 17 HH:

Anomalía en la distribución y espesor de la capa germinal, falla en la formación y distribución de las capas de la retina.

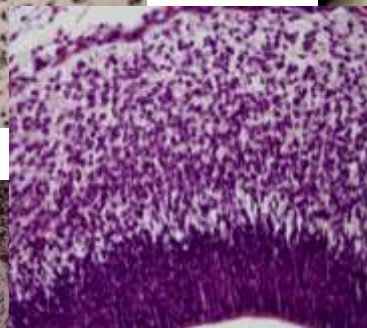
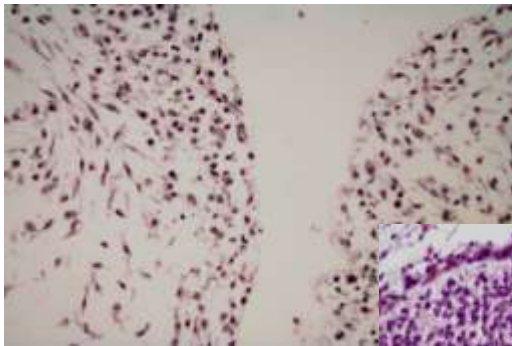




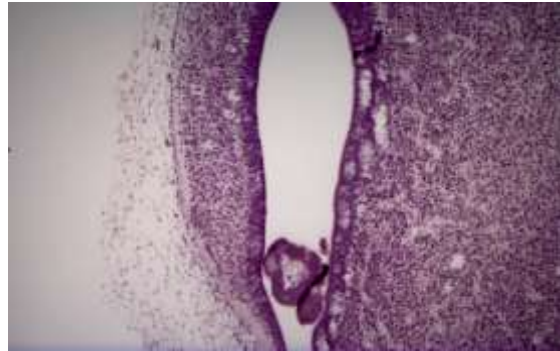
En embriones 24 HH

Escasa celularidad en la capa germinal, mayor densidad celular periventricular, con presencia de numerosas células vacuolares. Alteración el tractos de la sustancia blanca.

Alteraciones muy evidentes en el ojo: Globo ocular ocupado por un tejido de contornos irregulares, limitado por una capa larga e irregular de células pigmentadas que corresponden a la retina, no se pueden identificar las capas descritas por Cajal, pleomorfismo y anarquía en la distribución celular.

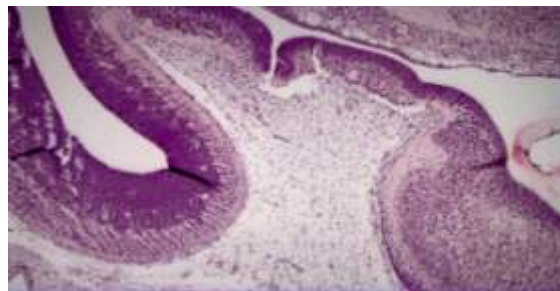


En ésta imagen que muestra la capa germinal (CG), el epéndimo (E) y la sustancia gris con su contenido celular, se puede observar la congestión (trombosis?) vascular que se acompaña por esos espacios perivasculares que posiblemente indican edema perivascular del espacio extracelular.



PLEXOS COROIDEOS

En los plexos coroideos ricamente vascularizados, también encontramos apilamiento de los eritrocitos y algo de edema perivascular; también llama la atención la presencia de algunos eritrocitos en el interior del sistema ventricular (flecha).



FOSA POSTERIOR

Esta foto permite observar las hemorragias (flecha) y el edema subcutáneo predominante en la zona del romboencéfalo. Arriba, a la izquierda se observa una porción del cerebelo.



HIGADO Y RIÑÓN

También en el hígado y riñón se observaron grandes acúmulos de glóbulos rojos, correspondientes a focos hemorrágicos.

Conclusiones

La toxina daña el endotelio vascular cerebral, produce un aumento en la permeabilidad vascular que ocasiona extravasación de plasma (edema vasogénico) y aumento rápido de la presión intracraneal.

El daño en el endotelio genera la liberación de sustancias citotóxicas produciendo edema citotóxico.

Se produce un fenómeno hipóxico/isquémico por estasis sanguíneo capilar.

Resulta complejo tratar de explicar en poco tiempo un sinnúmero de eventos celulares y moleculares por lo tanto los invito a consultar la bibliografía así como mi publicación, que consiste en un manual de experimentación animal que espero que se encuentre disponible en las facultades del país próximamente

Referencias

Folkman Judah. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. The New England Journal of Medicine Nov 18, 1971.

Finnie JW. Neurological disorders produced by Clostridium Perfringens type D epsilon toxin. Anaerobe 21 august 2003.

Ghabriel MN, Zhuc Reilly PL, Blumbergs PC, Manavisu, Finnie JW. Toxin induced vasogenic cerebral oedema in a rat model. Acta Neurochir Suppl 2000, 76: 231 – 6.

Hamburger V, Hamilton HL. A series of normal stages in the development of the chick embryo. Journal of Morphology 88: 49 – 92.

Harrigan MR, Ennis SR, Masada T, Keep RF: Intraventricular infusion of vascular endothelial growth factor promotes cerebral angiogenesis with minimal brain edema. Neurosurgery 50: 589 – 598, 2002.

Shore PM, Jackson EK, Wisniewski SR, Clark RS, Adelson PD, Kochanek PM. Vascular endothelial growth factor is increased in cerebrospinal fluid after traumatic brain injury in infants and children. Neurosurgery, Vol 54, Number 3, pp 605 – 612. March 2004.

COMO CITAR ESTE ARTICULO:

Garzón ME. Efectos de la neurotoxina épsilon del Clostridium prefringens en embriones animales Rev salud hist sanid on-line 2011; 6(1). Disponible en: <http://www.histosaluduptc.org/ojs-2.2.2/index.php?journal=shs>. Consultado en: (fecha de consulta)

Los textos publicados en esta revista pueden ser reproducidos citando las fuentes.

Todos los contenidos de los artículos publicados, son responsabilidad de sus autores.

Copyright. Revista Salud Historia y Sanidad ©

Grupo de Investigación en Salud Pública GISP-UPTC
Grupo de investigación Historia de la salud de Boyacá.

Tunja 2011