

ALTERACIONES MORFOMÉTRICAS DE CORAZÓN EN CRÍAS DE RATAS WISTAR INFECTADAS CON LEPTOSPIRA CANÍCOLA DURANTE LA PREÑEZ

MORPHOMETRIC ALTERATIONS OF HEART IN WISTAR RAT PUPS INFECTED WITH LEPTOSPIRA CANÍCOLA DURING PREGNANCY.

Maria de Jesús Monzón Tamargo¹.Dinorah Pozo Pozo².Manuel Peterssen Sanchez³. Luis Vivas Bombino⁴.Margarita Gonzalez⁵.

¹Especialista de primer grado en MGI y ciencias morfológicas. Asistente. Facultad de ciencias médicas Dr. Ernesto Guevara de la Zerna. Correo electrónico:dario3@infomed.sld.cu

²Especialista de primer grado en MGI y Anatomía Humana. Asistente. Facultad de ciencias médicas Dr. Ernesto Guevara de la Zerna. Correo electrónico paposo@infomed.sld.cu

³Especialista de primer grado en MGI. Instructor. Dirección municipal de salud .Correo electrónico: peterssen@infomed.sld.cu

⁴Especialista de segundo grado en Medicina General Integral. Profesor auxiliar. Investigador agregado. Universidad de ciencias médicas de Pinar del Rio. Correo electrónico vicedecano@infomed.sld.cu.

⁵Especialista de primer grado en Medicina General Integral y segundo grado en higiene y epidemiología. Profesor asistente. Investigador agregado. Unidad municipal de higiene y epidemiología Correo electrónico mairenys50@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: La aplicación de los métodos morfométricos en las ciencias biomédicas favorece el conocimiento de muchas enfermedades, entre ellas la leptospirosis que es una enfermedad infecciosa bacteriana causada por leptospiros patógenas. **Objetivo:** caracterizar las alteraciones morfométricas de corazón en crías de ratas Wistar infectadas con leptospiracanicola durante la preñez, en el período septiembre 2017-septiembre 2019.**Método:** Se realizó un estudio experimental. Para ello se formaron dos grupos de 12 ratas Wistar el grupo estudio y 24 ratas Wistar el grupo control, inoculándose el grupo estudio con cepas del sero grupo leptospiracanicola y el grupo control no fue inoculado. Todas se gestaron antes de ser inoculadas e inmediatamente de gestadas fueron inoculadas las del grupo estudio. **Resultados:** se observa un

predominio de machos en ambos grupos de investigación representado el 52.50%. Además una disminución del peso y volumen del corazón existiendo diferencias significativas entre el grupo estudio y el grupo control en ambos sexos. La longitud transversa, la longitud sagital y el grosor del ventrículo izquierdo del corazón se muestran en la tabla 4 apreciándose que el promedio de estas variables morfométricas se comporta significativamente diferente en ambos grupos de investigaciones, mostrando una disminución de las longitudes del corazón en las crías de ratas afectadas. **Conclusiones:** Se puede concluir que predominaron los machos en ambos grupos de investigación representando aproximadamente la mitad de las crías de ratas estudiadas, existió una disminución del peso y volumen del corazón siendo estadísticamente significativo. Otras variables morfométricas fueron significativamente menores en el grupo estudio.

DeCS: Métodos morfométricos, leptospiras, epidémica

ABSTRACT

Introduction: The application of morphometric methods in the biomedical sciences favors the knowledge of many diseases, including leptospirosis, which is a bacterial infectious disease caused by pathogenic leptospires. **Objective:** to characterize the morphometric alterations of heart in pups of Wistar rats infected with leptospira canicula during pregnancy, in the period September 2017- September 2019. **Method:** A study was conducted experiment For this two groups of 12 Wistar rats were formed the study group and 24 Wistar rats the control group, the study group was inoculated with serogroupleptospiracaniculture strains and the control group was not inoculated. All were gestated before being inoculated and immediately from gestates those of the study group were inoculated. **Results:** a predominance of males was observed in both groups of research represented 52.50%. In addition, there was a decrease in the weight and volume of the heart, and there were significant differences between the study group and the control group in both sexes. The transverse length, sagittal length and thickness of the left ventricle of the heart are shown in Table 4, showing that the average of these morphometric variables behaves significantly different in both groups of investigations, showing a decrease in heart lengths in offspring of rats affected. **Conclusions:** It can be concluded that the males predominated in both research groups representing approximately half of the rat pups studied, there was a decrease in the weight and volume of the heart being statistically significant. Other morphometric variables were significantly lower in the study group.

DeCS: Morphometric methods, leptospira, epidemic

INTRODUCCIÓN

La aplicación de los métodos morfométricos en las ciencias biomédicas favorece el conocimiento de muchas enfermedades, entre ellas la leptospirosis que es una enfermedad infecciosa bacteriana causada por leptospiras patógenas, que afecta a una amplia variedad de mamíferos, incluyendo al hombre, siendo considerada como una de las enfermedades zoonóticas de mayor distribución a nivel mundial.¹ Se presenta tanto en países en desarrollo como industrializados y ha sido asociada a actividades agrícolas, veterinarias, ganaderas, mineras y maniobras militares dado el contacto potencial con las fuentes de infección. Además, en los últimos años ha cobrado mayor importancia, dada su re-emergencia asociada a deportes acuáticos, actividades recreacionales relacionada a

temporadas lluviosas e inundaciones, actuando potencialmente como una enfermedad epidémica.²

En los animales, la leptospirosis, cobra gran relevancia por las pérdidas económicas que produce. En el ganado bovino desencadena trastornos en la reproducción, pues los animales infectados presentan abortos, infertilidad, nacimiento de animales débiles y mortinatos, así como disminución de la producción láctea o agalactia. La leptospira fue descrita en Egipto y Mesopotamia hace miles de años, sin embargo, su efecto como causa de enfermedad se remonta a 1886 en que por primera vez es descrita por el investigador alemán Adolf Weil.³

La leptospirosis afecta una gran variedad de animales tanto salvajes, como domésticos. Los más importantes son las ratas y las vacas. Este hecho se explica porque el pH alcalino de la orina de estos animales favorece la sobrevivencia de la leptospira, de tal forma que se sabe que 1 ml de orina de vaca puede contener hasta 100 millones de microorganismos.^{4,5} Como el hombre tiene una orina relativamente ácida para la leptospira, se considera un mal reservorio. La excreción de la leptospira en la orina de los reservorios puede ocurrir por períodos prolongados y contaminar el ambiente.⁶

Al revisar la bibliografía sobre infección por leptospirosis y su relación con las alteraciones del corazón en la vida prenatal y las alteraciones morfométricas que puedan presentarse, se encontró que en Cuba y específicamente en Pinar del Río no se han realizado investigaciones experimentales relacionadas con la influencia que ejerce este.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio experimental en la Facultad de Ciencias Médicas Dr. "Ernesto Guevara de la Serna", de la Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río, con el objetivo de caracterizar las alteraciones morfométricas de corazón en crías de ratas Wistar infectadas con leptospiracanicola durante la preñez, en el período septiembre 2017- septiembre 2019.

Para ello se formaron dos grupos de 12 ratas Wistar el grupo estudio y 24 ratas Wistar el grupo control, inoculándose el grupo estudio con cepas del serogrupoleptospiracanicola y el grupo control no fue inoculado. Todas se gestaron antes de ser inoculadas e inmediatamente de gestadas fueron inoculadas las del grupo estudio.

El inóculo fue previamente preparado con una carga infectiva de 300 millones de células bacterianas por mililitro. Las células fueron lavadas con solución fisiológica mediante centrifugación. La vía intraperitoneal fue la usada y las unidades experimentales se inocularon una sola vez.

El estudio se desarrolló en dos años. Se estudiaron los órganos que fueron extraídos por métodos quirúrgicos (corazón y pulmón). Se estudiaron 12 hembras inoculadas por cepa de leptospiracanicola, más los controles (24), por lo que, se estima que la muestra total final quedó conformada (grupo estudio=120 crías de ratas inoculadas por cepa de leptospiracanicola) y (grupo control=240 crías de ratas no inoculadas) viables y no viables. Estos grupos experimentales se mantuvieron en condiciones de alimentación, suministro de agua y climatización controlada. El personal que trabajó en el estudio fue personal acreditado y con los conocimientos necesarios para la ejecución del mismo.

Métodos de procesamiento, análisis de la información y técnicas a utilizar:

Se creó una base de datos en Microsoft Excel 97. Se realizó la estadística descriptiva de las variables cuantitativas para cada grupo, determinándose promedio o media aritmética como medida de resumen. La comparación de los valores medios de cada una de las mediciones entre los grupos experimental y control se realizó a través de una prueba t de Student. Se consideró una diferencia significativa entre los parámetros de ambos grupos cuando el valor de probabilidad (**p**) asociado al valor de la t de Student fuera igual o menor que 0,05. Para este análisis se empleó el paquete estadístico SPSS/PC versión 10.0. Los resultados del análisis estadístico se exponen en forma de tablas.

RESULTADOS.

Tabla 1. Distribución de las crías de ratas según sexo. Facultad de Ciencias Médicas Dr. "Ernesto Guevara de la Serna", de la Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río. 2019.

| Sexo | Grupo Estudio | | Grupo Control | | Total | |
|---------|---------------|--------|---------------|--------|-------|--------|
| | No | % | No | % | No | % |
| Machos | 67 | 55.84 | 122 | 50.83 | 189 | 52.50 |
| Hembras | 53 | 44.16 | 118 | 49.17 | 171 | 47.50 |
| Total | 120 | 100.00 | 240 | 100.00 | 360 | 100.00 |

En la tabla 1 se muestra la distribución de animales según sexo donde se observa un predominio de machos en ambos grupos de investigación representado el 52.50%.

Tabla 2. Comportamiento del peso del corazón. Facultad de Ciencias Médicas Dr. "Ernesto Guevara de la Serna", de la Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río. 2019.

| Sexo | Grupo Estudio | | Grupo Control | | Estudio estadístico | |
|---------|---------------|-------|---------------|-------|---------------------|-------|
| | Media | DE | Media | DE | t | p |
| Machos | 0.011 | 0.005 | 0.022 | 0.004 | 2.039 | 0.000 |
| Hembras | 0.014 | 0.006 | 0.020 | 0.005 | 2.048 | 0.000 |

La tabla 2 expresa el valor promedio y la desviación estándar del peso del corazón en ambos sexos de crías de ratas observándose una disminución del peso del corazón existiendo diferencias significativas entre el grupo estudio y el grupo control en ambos sexos.

Tabla 3. Comportamiento del volumen del corazón. Facultad de Ciencias Médicas Dr. "Ernesto Guevara de la Serna", de la Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río. 2019.

| Sexo | Grupo Estudio | | Grupo Control | | Estudio estadístico | |
|---------|---------------|-------|---------------|-------|---------------------|-------|
| | Media | DE | Media | DE | t | p |
| Machos | 0.017 | 0.005 | 0.039 | 0.004 | 2.074 | 0.000 |
| Hembras | 0.016 | 0.007 | 0.026 | 0.005 | 2.012 | 0.000 |

En la tabla 3 se muestra el volumen promedio del corazón de las crías de ratas inoculadas con leptospiras mostrándose valores menores en el grupo estudio con respecto al grupo control existiendo diferencias significativas. Esta investigación confirma hallazgos previos que documentan una disminución del volumen del corazón.

Tabla 4. Comportamiento de otras variables morfométricas del corazón. Facultad de Ciencias Médicas Dr. "Ernesto Guevara de la Serna", de la Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río. 2019.

| Otras variables morfométricas del corazón | Grupo Estudio | | Grupo Control | | Estudio estadístico | |
|-------------------------------------------|---------------|-------|---------------|-------|---------------------|-------|
| | Media | DE | Media | DE | t | p |
| Longitud transversal | 7.600 | 0.004 | 8.650 | 0.004 | 2.026 | 0.000 |
| Longitud sagital | 3.400 | 0.005 | 4.500 | 0.005 | 2.012 | 0.000 |
| Grosor del ventrículo Izquierdo | 1.179 | 0.005 | 1.380 | 0.005 | 2.016 | 0.000 |

La longitud transversa, la longitud sagital y el grosor del ventrículo izquierdo del corazón se muestran en la tabla 4 apreciándose que el promedio de estas variables morfométricas se comporta significativamente diferente en ambos grupos de investigaciones, mostrando una disminución de las longitudes del corazón en las crías de ratas afectadas.

DISCUSIÓN

La espiroqueta, después de penetrar la mucosa o la solución de continuidad de la piel, se disemina a través del torrente sanguíneo y produce una vasculitis infecciosa en la que se dañan las células endoteliales capilares, ello ocasiona las alteraciones principales de la enfermedad en hígado, riñones, pulmones, cerebro y meninges, corazón, músculos, ojos, así como desviación del líquido intravascular al extravascular, lo cual genera hipovolemia que complica la disfunción renal y provoca la muerte por hemorragia generalizada de las mucosas, la piel y las superficies serosas, con fallo multiorgánico agudo o insuficiencia renal o hepática aguda o hemorragia pulmonar.⁷

También se observa en la investigación realizada por Suárez Conejero y colaboradores que se produjo un retardo del crecimiento de la placenta y del producto, así como isquemia fetal o muerte.⁶

Resultados similares son encontrados en otras investigaciones donde fue inoculada también la cepa canícola en ratas lo que provocó un parto prematuro, todas las crías bajo peso al nacer muy por debajo de los controles al menos entre 2 y 2.5 gramos, crías con trastornos hemorrágicos en las extremidades.⁸

En otros estudios realizados también se observa una ligera disminución del peso del corazón de las crías de ratas que al parecer están relacionados con el efectos vasculares que producen las leptospiras pues en el corazón se presentan hemorragias pericárdicas y endocárdicas, disrupción en la organización de las fibras miocárdicas, miocarditis y necrosis miocítica dispersa, que puede acompañarse de dilatación de uno o ambos ventrículos.⁹ También se ha encontrado arteritis coronaria.¹⁰

Algunos investigadores plantean que varios factores son incriminados como responsables por la agresión miocárdica, entre ellos la acción directa de las leptospiras o sus productos tóxicos, las alteraciones inmunopatológicas y las metabólicas. Enna Zunino en un estudio experimental demuestra la existencia de antígeno de leptospira en la luz y adosado a la pared de vasos miocárdicos, fortaleciendo la idea de que el microorganismo lesionaría directamente a la célula endotelial, ocasionando anoxia y muerte de la fibra miocárdica.⁹ Esta disminución del volumen estaría asociada con la disminución de la transcripción de genes relacionados con la hipertrofia cardíaca, no crecimiento compensatorio o remodelamiento. Podría producirse como resultado de la alteración de la expresión de genes como la alfa actina cardíaca, la ciclina G1, la histamina y la subunidad 2 de la NADH deshidrogenasa en respuesta a una restricción significativa de nutrientes, que ha sido asociada a hipertrofia cardíaca en otras especies, incluida el hombre.⁸ En el músculo estriado se observa microscópicamente cambios focales necróticos, que se consideran bastante típicos de la leptospirosis lo cual influye considerablemente en el volumen de dicha estructura. Investigadores encuentran relación entre las modificaciones morfométricas y las hemorragias intersticiales subendocárdicas y pequeños focos de inflamación linfocitaria con neutrófilos ocasionales desde el punto de vista microscópico.¹⁰ Por su parte la disminución del grosor del ventrículo izquierdo se acompañó, como se esperaba, del aumento de la luz ventricular, resultados que coinciden con los reportados en la literatura.⁶ La hipertrofia ventricular izquierda podría ser el resultado de una hiperplasia compensadora en respuesta a una disminución del número de cardiomiocitos en el momento del nacimiento.⁵ Este remodelamiento cardíaco en etapas tempranas podría además desencadenar alteraciones fibróticas en etapas posteriores. Estos animales desarrollarían una fibrosis intersticial del ventrículo izquierdo como resultado de un trastorno temprano en la regulación de la proliferación de los cardiomiocitos y una subsecuente hipertrofia celular que podría resultar en una acumulación de colágenos en etapas posteriores de la vida.¹¹

En este estudio, las ratas del grupo control mostraron un mayor grosor del ventrículo izquierdo y del peso del corazón en ambos sexos con respecto al grupo estudio, con una ligera diferencia entre las ratas del sexo masculino. Este estudio coincide con otros trabajos realizados que muestran la presencia de cambios microestructurales y enzimáticos en las células cardíacas en ratas adultas.¹²

Otros estudios muestran diferentes resultados al plantear la aparición de hipertrofia ventricular izquierda como expresión de remodelamiento patológico del ventrículo izquierdo como resultado del cambio de la expresión de isoformas de cadenas pesadas de miosina alfa a beta con la consiguiente alteración de la maquinaria contráctil cardíaca (en las ratas la isoforma alfa predomina en el músculo cardíaco sano mientras que la forma beta lo hace durante el remodelamiento ventricular izquierdo patológico con contracción miocárdica lenta y menos eficiente). También reportan una significativa acumulación de colágeno tipo I y III asociada a la reducción de la expresión de metaloproteinasas de la matriz (MMP-2) en el corazón.¹²

Otros autores han realizado iguales investigaciones pero inoculando cepa Pomona y plantean que esta cepa provocó infertilidad, muerte perinatal de las crías y muerte de la madre, profusas hemorragias, lesiones visibles en hígado y riñón.¹³

Se puede concluir que predominaron los machos en ambos grupos de investigación representando aproximadamente la mitad de las crías de ratas estudiadas, existió una

disminución del peso y volumen del corazón siendo estadísticamente significativo. Otras variables morfométricas fueron significativamente menores en el grupo estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Theuerkauf J, Perez J, Taugamo A, Niutoua I, Labrousse D, Gular R, Bogdanowicz W, Jundan H, CiryliG. Leptospirosis risk increases with changes in species composition of rat populations. *Naturwissenschaften* (Internet) 2013 (Citado marzo 3, 2019) 100(4): 385-388. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PM617346/>
2. Desvars A, Michault A, and Bourhy P. Leptospirosis in the western Indian Ocean islands: what is known so far? *Veterinary Research* 2013, 44:80 Disponible en: <https://veterinaryresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/1297-9716-44-80>
3. Pulido Villamarín A, Carreño Beltrán G, Mercado Reyes M, Ramírez Bulla P. Situación epidemiológica de la leptospirosis humana en Centroamérica, Suramérica y el Caribe. *Univ. Sci.* 2014, 19 (3): 247-264. Disponible en: <http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/9100>
4. Andre-Fontaine G, Aviat F, Torin C. Waterborne Leptospirosis: Survival and Preservation of the Virulence of Pathogenic *Leptospira* spp. In *Fresh Water .Curr Microbiol* (2015) 71(1):136-142 Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00284-015-0836-4>
5. Martins G, and Lilenbaum W. The panorama of animal leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil, regarding the epidemiology of the infection in tropical regions. *Veterinary Research* 2013, 9:237. Disponible en: <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-6148-9-237>
6. Suárez Conejero AM, Otero Morales JM, Cruillas Miranda S, Otero Suárez M. Prevención de leptospirosis humana en la comunidad. *Revista Cubana de Medicina Militar.* 2015;44(1):86-95. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mil/v44n1/mil10115.pdf>
7. Thayaparan S, Robertson ID, Fairuz A, et al. Leptospirosis, an emerging zoonotic disease in Malaysia. *Malaysian J Pathol.* 2013;35(2):123-32.
8. Enna Zunino M, Rolando Pizarro P. Leptospirosis. Puesta al día. *Rev Chil Infect* 2007; 24 (3): 220-226 http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182007000300008&lng=en&nrm=iso&tlng=en
9. López O. Tratamiento de leptospirosis humana. *Alternativa Antibiótica. Archivos de Medicina.* 2015;11(2):1-7.
10. García R, Reyes A, Basilio D, et al. Leptospirosis; un problema de salud pública. *Rev Latinoam Patol Clin.* 2013;60(1):57-70.
11. Fouts DE, Matthias MA, Adhikarla H, Adler B, Amorim-Santos L, et al. What Makes a Bacterial Species Pathogenic?: Comparative Genomic Analysis of the Genus *Leptospira*. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet] 2015; 2016 Feb [Citado 7 de

febrero de 2019]; 10(2). Disponible en:
<http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0004403>

12. Zohdi V, Wood B, Pearson J, Bamberg KR, Black MJ. Evidence of altered biochemical composition in the hearts of adult intrauterine growth-restricted rats. *Eur J Nutr.* 2013;52(2):749-58
13. Instituto nacional de salud. Vigilancia y análisis del riesgo en salud pública protocolo de vigilancia en salud pública leptospirosis. Colombia. 2014;1:1-17.