

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

Autores: Dra. María de Jesús Monzón Tamargo¹, Dra. Daymara Grandía Carvajal², Yunit Hernandez Rodriguez³, Raul Vento Perez⁴, Dianabell Morejon Rosales⁵

¹Especialista de Primer Grado en Anatomía Humana, Departamento de Ciencias Básicas Biomédicas, Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Ernesto Guevara de la Serna", Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río, Cuba.

²Especialista de Primer Grado en Anatomía Humana, Departamento de Ciencias Básicas Biomédicas, Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Ernesto Guevara de la Serna", Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río, Cuba.

³ Especialista de Segundo Grado en Fisiología Normal y Patológica, Departamento de Ciencias Básicas Biomédicas, Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Ernesto Guevara de la Serna", Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río, Cuba.

⁴Especialista de Primer Grado en Fisiología Normal y Patológica, Departamento de Ciencias Básicas Biomédicas, Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Ernesto Guevara de la Serna", Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río, Cuba.

e-mail primer autor: dario03@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: A pesar de conocerse las alteraciones inducidas por la infección por leptospirosis se describen muy pocos estudios sobre las alteraciones morfométricas en corazón y pulmones. **Objetivos:** Caracterizar las alteraciones morfométricas de corazón y pulmón en crías de ratas Wistar infectadas con leptospira canícola durante la preñez. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio experimental en la Facultad de Ciencias Médicas Dr. "Ernesto Guevara de la Serna", en Pinar del Río en el período septiembre 2016- septiembre 2018. Para ello se formaron dos grupos de ratas Wistar; Control n=12 y estudio n=24 el grupo control, inoculándose el grupo estudio con cepas del serogrupo leptospira canícola. Todas se gestaron antes de ser inoculadas, a razón de 300 millones de células bacterianas por mililitro. Se estudiaron los órganos que fueron extraídos por métodos quirúrgicos (corazón y pulmón) de las crías de ratas. Para el procesamiento de las variables cualitativas se emplearon estadística descriptiva (FA y FR). **Resultados:** Se observó un predominio de machos en las crías de ambos grupos de investigación representado el 52.50%.

El grupo estudio tuvo crías en las que disminuyó el peso y volumen del corazón con diferencias significativas ($p < 0.05$) respecto al control. El promedio de peso y volumen del pulmón derecho e izquierdo resultaron menores en el grupo estudio con respecto al grupo de investigación. **Conclusiones:** La infección con leptospira canícola durante la preñez causa reducción de peso y volumen de corazón y pulmones en las crías al nacer.

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, 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

Las investigaciones biomédicas proponen la utilización de animales de laboratorio como biomodelos naturales o inducidos de diversas enfermedades, los cuales ayudan al estudio y la comprensión de la patogenia, y fisiología.^{3,4} Los modelos de infección por leptospira desempeñan un papel importante porque estas crías pueden desarrollar cambios morfométricos en estructuras como el corazón y pulmón. Esto ofrece un camino en las investigaciones biomédicas, al contar con modelos que reproduzcan de una manera sencilla situaciones patológicas presentes en el humano y que constituyen serios problemas de salud en la sociedad.^{3,4}

A pesar de conocerse las alteraciones inducidas por la infección por leptospiros se describen muy pocos estudios acerca de la repercusión que tendría la infección leptospiral durante el embarazo y las posibles alteraciones morfométricas de los órganos de crías de ratas que hayan sufrido infección leptospiral durante este período. Al revisar la bibliografía sobre infección por leptospiros y su relación con las alteraciones del corazón y pulmón 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. Por lo anterior se realiza esta investigación con el objetivo de caracterizar las alteraciones morfométricas de corazón y pulmón en crías de ratas Wistar infectadas con leptospira canícola durante la preñez en la Facultad de Ciencias Médicas Dr. "Ernesto Guevara de la Serna", de la Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río en el periodo comprendido de septiembre 2016-septiembre 2018.

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 en crías de ratas Wistar infectadas con leptospira canícola durante la preñez, en el período septiembre 2016- septiembre 2018. 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 serogrupo leptospira canícola 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 leptospira canícola, 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 leptospira canícola) 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.

Control de la Calidad

El estudio fue conducido y se rigió por lo establecido en la Guía de Buenas Prácticas para el Cuidado, Uso, y Reproducción de los Animales para la Experimentación en el CENPALAB.

Fundamentación de la especie seleccionada

Se escogió la rata Wistar pues es una especie aceptada para el estudio planteado por la factibilidad de su manejo, número de fetos, factibilidad económica de tenencia y alimentación. Además presentó tiempo de gestación a corto plazo y estabilidad genética.

Condiciones de mantenimiento

Una vez recibidos, todas las hembras fueron alojadas en grupos de 6 por caja (cajas T2) y los machos a razón de 2 por caja (cajas T3). Antes del apareamiento los machos fueron ubicados individualmente, en cajas T2. Posterior al apareamiento, las hembras presuntamente preñadas, se alojaron a razón de 1 por caja (cajas T2) hasta el final del estudio. Todas las cajas fueron plásticas con tapa de rejilla (INPUD) y se ubicaron en estantes. Se mantuvieron con encamado de bagazo de caña desmeollado, esterilizado en autoclave (POT 01.01.05.003) en la Dirección de Animales Gnotobióticos.

Alimentación y suministro de agua

Dieta comercial granulada esterilizable EAO: 1004 (CENPALAB, AlyCo®) para roedores, con Certificado de Calidad, que se suministró a libertad durante el estudio. El agua se esterilizó (POT 05.01.06.021) y fue suministrada a libertad en frascos de 250 y 500 ml. Los machos fueron utilizados en el estudio como sementales solamente, no recibiendo la administración de las sustancias a evaluar.

Identificación de los animales.

Durante cada periodo del estudio (antes del apareamiento, hembras alojadas en grupos de 6 por caja), estas fueron identificadas por grupos mediante tarjetas en las cajas (POT 05.02.01.020) donde se registró la identificación del animal, el código, tipo y grupo de ensayo, especie, edad, fecha de comienzo y fecha de primer apareamiento. Posterior al apareamiento fueron cambiadas las tarjetas por otras que reflejaron igualmente todos los datos de los animales del estudio, incluyendo la identificación de las 12 hembras presuntamente gestadas del grupo estudio que se ubicaron en cada caja y las fechas de la primera, segunda y tercera semana de gestación. De igual manera se realizó en el grupo control.

Sustancias de ensayo, vía de administración y dosificación. La sustancia de los ensayos fueron inoculadas de una concentración bacteriana de 300 millones de leptospiras por mL, se inoculó un mL a cada animal por vía intraperitoneal (IP) inmediatamente de gestadas.

Apareamiento

El apareamiento se realizó según el POT 05.03.04.013. Para ello se colocó una hembra con un macho el día del estudio después de las 4.00 pm. En la mañana siguiente ante de las 8.30 am se sacó el macho para su caja nuevamente y se observó la vagina y si presentaba tapón vaginal se consideró supuestamente preñada. Las ratas que no presentaron tapón vaginal volvieron a ser apareadas ese mismo día, igualmente en horario de la noche, con un macho diferente al que fue utilizado en el primer apareamiento (los machos deben descansar al menos 24 horas). De igual manera si al revisar la vagina no aparece tapón vaginal vuelve a repetirse el mismo procedimiento de apareamiento hasta 3 veces para cada animal. El día de observación del tapón se designó como el día 0 de gestación.

Sacrificio de los animales, toma y procesamiento de muestras Del grupo de estudio fue sacrificado un animal a los doce días de preñez. De cada cría se estudió como órganos el corazón y el pulmón derecho e izquierdo, se midió el peso, volumen de ambos órganos y también la longitud, longitud sagital, y grosor del ventrículo izquierdo. De igual manera se realizó en el grupo control. Para el sacrificio de los animales los mismos fueron narcotizados con éter dietílico, posteriormente desangrados por incisión de la vena femoral y finalmente se aplicó la dislocación cervical. Se procedió a la realización de un examen morfométricas de las muestras utilizando el software MOTIC. El procedimiento se inicio con la clasificación, separación, ordenamiento de las muestras y la digitalización de las imágenes de estas fue realizada con una cámara MOTIC-AM 3, acoplada a un estereoscopio ambos conectados a un ordenador para la recogida y análisis de los datos.

OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES.

VARIABLE (Nombre y definición)	VARIABLE (tipo)	ESCALA A UTILIZA R	INDICADOR, MEDIDA DE RESUMEN O PRUEBA ESTADISTICA A UTILIZAR EN C/U
Sexo	Cualitativa nominal dicotómica	Hembras Machos	Según porcentaje de hembras y macho
Peso del corazón	Cuantitativa continua	Peso en gramos	Media, Desviación Estándar
Volumen del corazón	Cuantitativa continua	Volumen en mm ³	Media, Desviación Estándar

VARIABLE (Nombre y definición)	VARIABLE (tipo)	ESCALA A UTILIZA R	INDICADOR, MEDIDA DE RESUMEN O PRUEBA ESTADISTICA A UTILIZAR EN C/U
Sexo	Cualitativa nominal dicotómica	Hembras Machos	Según porcentaje de hembras y macho
Otras variables morfométricas Longitud transversal Longitud sagital Grosor del ventrículo	Cuantitativa continua Cuantitativa continua Cuantitativa continua	Longitud en mm Grosor	Media, Desviación Estándar
Peso del pulmón derecho e izquierdo	Cuantitativa continua	Peso en gramos	Media, Desviación Estándar
Volumen del pulmón derecho e izquierdo	Cuantitativa continua	Volumen en mm ³	Media, Desviación Estándar

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. 2018.

Sexo	Grupo Estudio		Grupo Control		Total
	No	%	No	%	No
Machos 52.50	67	55.84	122	50.83	189

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. 2018.

Sexo estadístico	Grupo Estudio		Grupo Control		Estudio
	Media	DE	Media	DE	
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. 2018.

Sexo estadístico	Grupo Estudio		Grupo Control		Estudio
	Media	DE	Media	DE	
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 leptospirosis 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 asociado.

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. 2018.

Otras variables estadístico morfométricas	Grupo Estudio		Grupo Control		Estudio
	Media	DE	Media	DE	
p del corazón					

Longitud transversal 0.000	7.600	0.004	8.650	0.004	2.026
Longitud sagital 0.000	3.400	0.005	4.500	0.005	2.012
Grosor del ventrículo 0.000	1.179	0.005	1.380	0.005	2.016
Izquierdo					

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.

Tabla 5. Comportamiento del peso del pulmón derecho e izquierdo. Facultad de Ciencias Médicas Dr. "Ernesto Guevara de la Serna", de la Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río. 2018.

Sexo estadístico	Grupo Estudio		Grupo Control		Estudio t
	Media	DE	Media	DE	
p					
Pulmón derecho					
Machos 0.000	0.119	0.005	0.131	0.005	2.06
Hembras 0.000	0.116	0.004	0.129	0.005	2.07
Pulmón Izquierdo					
Machos 0.000	0.117	0.006	0.130	0.008	2.023
Hembras 0.000	0.115	0.005	0.128	0.006	2.043

En la tabla anterior se muestra el peso del pulmón derecho e izquierdo en los grupos de investigación en ambos sexos y se observan diferencias muy significativas en cuanto a dicha variable relacionado al parecer con el daño vascular pulmonar que puede ser el resultado de una respuesta inmunológica con coagulación intravascular diseminada secundario a toxinas de leptospira.

Tabla 6. Comportamiento del volumen del pulmón derecho e izquierdo. Facultad de Ciencias Médicas Dr. "Ernesto Guevara de la Serna", de la Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río. 2018.

Sexo estadístico	Grupo Estudio		Grupo Control		Estudio t
	Media	DE	Media	DE	
p					
Pulmón derecho					
Machos 0.000	0.045	0.004	0.110	0.006	2.065
Hembras 0.000	0.044	0.003	0.103	0.005	2.013
Pulmón Izquierdo					

Machos 0.000	0.014	0.005	0.090	0.006	2.08
Hembras 0.000	0.013	0.004	0.086	0.003	2.06

En la tabla 6 se muestra la distribución de la muestra según volumen de los pulmones derecho e izquierdo encontrándose diferencias muy significativas entre ambos grupos de investigación lo cual al parecer por todos los cambios fisiopatológicos originados por el germen siendo incluso las alteraciones poco específicas aunque fue posible demostrar focos de hemorragias y con discreta inflamación linfocitaria intersticial.

Discusión

Los resultados de esta investigación mostraron un grupo de alteraciones morfométricas en las crías de ratas inoculadas con leptospirosis canícola durante el embarazo. Enfocados en las alteraciones en órganos como corazón y pulmones estos órganos mostraron diferencias en las crías de ratas inoculadas respecto a sus controles. 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.⁵ El consumo de alimento y agua fue menor que en los controles en sentido general.

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.³

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.⁶

Estos resultados son similares a otros estudios realizados donde 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 leptospirosis 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.⁸ También se ha encontrado arteritis coronaria.⁹

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.⁸

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.⁵

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.³ 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.¹¹ 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.¹²

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.¹³

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 metaloproteinasa de la matriz (MMP-2) en el corazón.¹³

La toxina específica responsable permanece sin identificar, algunas posibilidades incluyen proteínas de membrana, glicoproteínas de membrana, hemolisinas y lipopolisacáridos. La afectación pulmonar produce principalmente como neumonitis hemorrágica, principalmente en lóbulos

inferiores de ambos pulmones.⁹ Algunas citoquinas, como FNT, pueden estar involucradas en la patogénesis de la leptospirosis. Niveles altos de FNT- se asocia con complicaciones pulmón, comparado con estructuras que no sufren. También se observa signos de vasculitis. Aunque los daños pulmonares son comunes en leptospirosis, también existen complicaciones extrapulmonares. El compromiso pulmonar no guarda relación con la cepa de leptospira.¹³

Es bueno señalar que entre los hallazgos histológicos más frecuentes comprenden congestión y hemorragia pulmonar, sin infiltrado inflamatorio prominente. Otros datos histopatológicos incluyen edema pulmonar, depósito de fibrina y reacción fibroblástica.⁹

En el pulmón, los hallazgos de pacientes con leptospirosis son hemorragia pulmonar fatales se caracterizan por la ausencia de inflamación, la escasez de microorganismos demostrados por inmuno-histoquímica o impregnación argéntica y franca hemorragia. La hemorragia pulmonar es más que un problema estrictamente pulmonar, se suman otros factores de riesgo ocasionales como la hipopotasemia, elevación de productos de desecho del metabolismo. Los reportes de hemorragia pulmonar van en aumento, sobre todo en el sudeste asiático. En una revisión de leptospirosis en Brasil, la muerte fue asociada en un alto porcentaje con hemorragia pulmonar.¹³

Otros investigadores obtienen diferentes resultados y argumentan que están dados porque existe intensa hemorragia intraalveolar con discreto aumento de la celularidad intersticial por hiperplasia e infiltrado leve de linfocitos mononucleados.

La agresión pulmonar, que se manifiesta en su forma más grave por un cuadro de neumonía hemorrágica, parece relacionarse con la acción directa de una toxina sobre la pared capilar. Las lesiones son observadas con mayor frecuencia en la periferia y bases pulmonares como consecuencia de la abundancia de capilares y mayor vigor de los movimientos respiratorios de esas áreas.⁶

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. El promedio de peso y volumen del pulmón derecho e izquierdo son menores en el grupo estudio con respecto al grupo de investigación existiendo diferencias significativas entre ambos grupos.

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 ratpopulations. Naturwissens chaften(Internet) 2013 (Citado marzo 3, 2018) 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 Oceanislands: whatis known so far? Veterinary Research 2013, 44:80 Disponible en: <https://veterinaryresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/1297-9716-44-80>
3. 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>
4. Wunder EA, Figueira CP, Santos GR, Lourdault K, Matthias MA, et al. Real-Time PCR Reveals Rapid Dissemination of *Leptospira interrogans* after Intraperitoneal and Conjunctival Inoculation of Hamsters. *Infect Immun*. [Internet] 2015; 2016 Jul [Citado 7 de febrero de 2018]; 84(7): [Aprox. 10p.]. Disponible en: <http://iai.asm.org/content/84/7/2105.long>
 5. Thayaparan S, Robertson ID, Fairuz A, et al. Leptospirosis, an emerging zoonotic disease in Malaysia. *Malaysian J Pathol*. 2013;35(2):123-32.
 6. Valverde M, Goris M, Gonzáles V, et al. New serovar of *Leptospira* isolated from patients in Costa Rica: implications for public health. *Journal of Medical Microbiology*. 2013; 62:1263-71.
 7. Instituto nacional de salud. Vigilancia y análisis del riesgo en salud pública protocolo de vigilancia en salud pública leptospirosis. Colombia. 2014;1:1-17
 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=S0716-101820070003000008&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 Latinoamer Patol Clin*. 2013;60(1):57-70.
 - Pérez Y, Obregón A, Rodríguez I, et al. Actualización en el diagnóstico de leptospirosis humana. *Revista Cubana de Medicina Militar*. 2015;44(4):416-27.
 11. 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>
 12. 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 2018]; 10(2). Disponible en: <http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0004403>
 13. Zohdi V, Wood B, Pearson J, Bambery 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

