



ISSN: 1561-3194

Rev. Ciencias Médicas.enero-agosto, 2001; 5(1): 3-9

ARTÍCULO ORIGINAL

Alteraciones histopatológicas en hámster inoculados con cepas leptospirales patógenas, recién aisladas por hemocultivos humanos

Amado J. Crespo Dueñas¹, Hidelfonso Cabezas Alfonso², Isabel Paredes Torres³, Alfredo Pileta Matos⁴, María Martínez Cuadot⁵.

¹Profesor auxiliar. Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Ernesto Che Guevara de la Serna". Pinar del Río.

²DrC. Profesor titular. Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Ernesto Che Guevara de la Serna". Pinar del Río.

³Licenciada. Instructora. Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Ernesto Che Guevara de la Serna". Pinar del Río.

⁴ Doctor. Instructor. Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Ernesto Che Guevara de la Serna". Pinar del Río.

⁵ Técnica. Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Ernesto Che Guevara de la Serna". Pinar del Río.

RESUMEN

Con el objetivo de demostrar alteraciones histológicas en diferentes órganos, fueron inoculados nueve hámsters de mas de 60 g. De masa por vía intraperitoneal, utilizando una carga infectiva de 0,5 ml de cepas virulentas de leptospiras. Se formaron cuatro grupos de tres animales cada uno, recibiendo cada grupo el inóculo con las cepas 4, 17, 22 y 43 pertenecientes a los serogrupos Ballum, Autumnalis y Australis respectivamente. Los animales fueron sacrificados a los tres meses de inoculados, procediéndose de inmediato a la extirpación de hígado, riñón, corazón y diafragma. Las muestras obtenidas de cada órgano fueron fijadas en formol al 10 % y procesadas siguiendo la técnica de H y E para su observación al microscopio de luz. En el examen histológico de los tejidos se encontraron como principales alteraciones, necrosis del hepatocito, infiltrado inflamatorio en el hígado y riñón y signos de nefritis.

Descriptores DeCS: HÁMSTERS/ histopatología, CULTIVO DE VIRUS.

ABSTRACT

In order to demonstrate histologic alterations in different organs, nine hamsters having more than 60 g. of mass were inoculated via intraperitoneal using a non _ effective charge of 0,5 ml of virulent strains of leptospira. Four groups of three animals were formed, each group received the inoculation with strains 4, 17, 22 and 43 belonging to serogroups Ballum, Bataviae, Autumnalis and Australis respectively. The animals were killed three months after inoculation, extirpation of liver, kidney, heart and diaphragm was immediately made. Samples obtained of each organ were fixed in formol 10 % and processed following H and E technique for its observation at light microscope. At the histologic examination of tissues the main alterations were necrosis of hepatocyte, inflammatory infiltrate of liver and kidney and nephritis signs.

Subject headings: HÁMSTERS/ histopathology, VIRUS CULTIVATION.

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es conocida en todos los continentes por su amplia difusión y las graves consecuencias económicas y sociales que trae aparejadas.¹⁻⁵

Actualmente los serogrupos de leptospiras han tenido un reordenamiento genético, llevado a cabo en el laboratorio de Atlanta (6), planteándose el agrupamiento en genoma especies de acuerdo con el contenido de ADN.

Esto implica que los serogrupos y serovares no pertenezcan, como se conoce a los que actualmente por métodos serológicos se tipifiquen. Por supuesto, esto no

resulta así en todos los casos. En el presente trabajo se utilizaron los serogrupos clasificados serológicamente, pero atendiendo a su ubicación genética.

Muchos de los estudios experimentales que se han realizado en las más diversas especies animales, referentes a la infección con leptospiras con leptospiras,⁷⁻¹⁰ han tenido como objetivos, buscar lesiones histológicas, cuadros clínicos y otras características que permitan diferenciar y separar la leptospirosis de otras enfermedades parecidas. Estos estudios, no obstante, siempre apoyan los criterios para el diagnóstico y lo esclarecen, sin lugar a dudas, cuando se complementan.

Con este trabajo se pretende demostrar, la presencia de cambio histológico en diferentes órganos de hámsters infectados con cepas de leptospiras.

MÉTODOS

Un total de nueve hámsters de mas de 60 gramos de masa, fueron inoculados por vía intraperitoneal, con una carga infectiva de 0,5 ml de cepas virulentas de leptospiras, utilizándose una concentración de aproximadamente 3 bacterias por ml.

Se formaron cuatro grupos de tres animales cada uno, recibiendo cada grupo el inóculo con las cepas 4, 7, 33 y 43 pertenecientes a los serogrupos Ballum, Bataviae, Autumnalis y Australis respectivamente.

Los animales fueron sacrificados a los tres meses de inoculados y de inmediato se practicó laparatomía, procediéndose a la extirpación de hígado riñón, corazón, diafragma, pulmón e intestino. Las muestras obtenidas de cada uno de los órganos fueron fijadas en formaldehído al 10 % y procesadas siguiendo la técnica de inclusión en parafina. Los cortes fueron coloreados con H y E, siendo posteriormente observados al microscopio de luz.

RESULTADOS

En los órganos de los animales estudiados, aparecieron lesiones histológicas que se describen en la tabla 1. Como puede apreciarse, la vacuolización hepatocelular, constituyó el cambio histológico más frecuente de todos los observados en el tejido hepático, ya que se manifestó en la totalidad de los hígados examinados.

La necrosis del hepatocito se presentó como la segunda lesión de importancia en orden de frecuencia, estando ausente en el Grupo 1 solamente y alcanzando la mayor extensión en el Grupo 4 de la investigación. El infiltrado leucocitario periportal, asociado a la muerte celular estuvo presente en el hígado de todos los hámsters estudiados.

En el riñón, la nefritis intersticial crónica focal severa fue observada en el Grupo 2, en tanto que el cuadro morfológico presente en el Grupo 3 correspondió a la nefritis crónica de tipo folicular.

El infiltrado inflamatorio leucocitario se hizo evidente en todas las muestras estudiadas, describiéndose además, linfocitos en algunos tubulis, así como congestión aguda y hemorragia en la mayoría de los animales infectados.

Le hemorragia subendocárdica, encontrada en los Grupos 1 y 3, constituyó la única alteración visible de todas las muestras de corazón examinadas. La necrosis aislada de fibras musculares cardíacas, conjuntamente con la congestión vascular aguda y

la hemorragia intersticial leve, se hicieron evidentes en el Grupo 2, en tanto que en los animales que formaban el Grupo 4, la congestión aguda, la hemorragia intramuscular y subepicárdica, así como signos de degeneración mixoide fueron los cambios observados. En otro de los órganos estudiados, el diafragma, solo se hizo evidente la hemorragia, estando presente solamente en el Grupo 2 de la investigación.

Tabla 1. Cambios morfológicos.

	Hígado	Riñón	Corazón	Diafragma
Grupo 1	Balonización del hepatocito Infiltrado leucocitario periportal	Infiltrado mononuclear Linfocitos en médula. Congestión aguda y hemorragia	Hemorragia subendocárdica	Algunos linfocitos en el tejido conectivo
Grupo 2	Necrosis extensa de hepatocitos. Degeneración balonzante	Infiltrado linfocitario. Nefritis intersticial crónica focal severa e infiltrado en grasa perirrenal	Necrosis asilada de fibras cardiacas. Congestión y hemorragia intersticial leve.	Signos de hemorragia.
Grupo 3	Balonización del hepatocito. Infiltrado linfocitario periportal	Nefritis crónica folicular. Congestión aguda.	Hemorragia subendocárdica	Sin alteraciones
Grupo 4	Balonización severa de hepatocitos en la superficie subcapsular. Degeneración balonzante y necrosis extensa de hepatocitos. Infiltrado periportal a predominio de neutrófilos	Infiltrado intersticial de linfocitos en la médula. Hemorragia perirrenal. Linfocitos en la luz de algunos tubulis. Congestión aguda y hemorragia	Congestión aguda. Hemorragia intramuscular y subepicárdica. Degeneración mixoide.	Sin alteraciones

DISCUSIÓN

Los cambios morfológicos observados en las muestras de hígado y riñón correspondientes a todos los animales infectados con cepas leptospirales, fueron los más significativos por el grado de daño y extensión de las lesiones.

Muchas de las alteraciones microscópicas que acompañan a la hepatitis crónica asociada con infección leptospiral reportadas por Bishop y cols ⁸ y Adamus ⁹ en perros, recuerdan las que se describen en este trabajo y que corroboran la relación existente entre las presencia de leptospiras y lesiones hepáticas.

Micrografías electrónicas de cortes de hígado de hámsters preñados, infectados con leptospira canícola, mostraron signos evidentes de severa degeneración celular, con necrosis y cuerpos de mielina en el citoplasma del hepatocito, así como dilatación de las cisternas del retículo endoplasmático, rotura de las membranas celulares y de los sinusoides hepáticos.¹⁰⁻¹¹

Estudios ultraestructurales en cobayos experimentalmente infectados con *L. Interrogans*, sugieren un efecto citotóxico leptospiral directo sobre las membranas de las células endoteliales y hepáticas, existiendo la posibilidad de la acción de las glucoproteínas leptospirales como adyuvantes inmunológicos.¹²

En el riñón, la nefritis intersticial crónica focal severa y la nefritis crónica folicular observadas en el Grupo 2 y 3 respectivamente, constituyeron los hallazgos de mayor significación reportados, por la severidad de estos casos cambios morfológicos y por el área de tejido dañado. La nefritis intersticial leptospiral ha sido descrita por T. Rocha¹³ y Cabezas¹⁴ en riñones de cerdos.

En fecha reciente, Barnett y cols,¹⁵ en un estudio destinado a caracterizar la expresión y distribución de antígenos de la membrana externa de especies de leptospiras patógenas en el proceso de la infección renal en hámsters, obtuvieron datos que establecen que los componentes de la membrana externa expresados, tienen roles en la inducción y persistencia de la nefritis intersticial leptospiral.

Con referencia al corazón y diafragma, la mayoría de las alteraciones reportadas, coinciden con los estudios de necropsias en humanos, en las que se describen la presencia de hemorragias en el músculo esquelético y cardíaco, con focos de necrosis y degeneración de las células musculares.¹⁶ En este estudio, no obstante, el músculo diafragmático fue el menos afectado.

A modo de conclusiones, en este trabajo se demuestran la presencia de alteraciones histológicas inespecíficas y fallo múltiple de órganos en los animales infectados, siendo el hígado y el riñón los órganos que con mayor severidad fueron afectados. Las alteraciones mas frecuentemente observadas fueron la balonización y necrosis de células hepáticas con infiltración periportal y nefritis crónica. Todos los cambios encontrados, se corresponden con los reportados en humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andre - Fontaine G, Monfort P, Buggin - Daubie M, Filloneau C and Janiere JP. Fatal disease mimicking leptospirosis in a dog, caused by *Aeromonas hydrophila*. *Comp Immun, Microbiol Infect Dis.* 1995; 18: 69-72.
2. Brem G, Grabner A, Hanicheu T, Kopp H and Meyer P. Leptospirerinfektion (*leptospira grippityphosa*) als ursache einer hämolytischen anämie bei linem pferd. *Peferdeheilkiende* 1992; 8: 297-301.
3. Jamea A. Forty years of canine vaccination. *Adv Vet Med* 1999; 41: 309-324.
4. Suárez Hernández M, Martínez Sánchez R, Posada Fernández PE, Vidal García I, Bravo Fleites F y Sánchez Sibello A. Brote de leptospirosis humana en Ciego de Avila, Cuba. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999; 32: 13-8.

5. Kalsoev CM, Dwyer AE. Retinal immunopathology in horses with uveitis *Ocul Immunof Inflamm* 1998; 6: 239-51.
6. Emerging Bacterial and Mycotic Diseases, Branch Division of Bacterial and Mycotic Diseases National Center for Infectious Diseases and Centers for Disease Control and Prevention. DNA Relatedness of Leptospiraceae serovars. Atlanta, Georgia 1994; 1: 1-24.
7. Cho MK, Ku H, Son HJ, Kim KH, Gong KJ, Baek LJ, et al. Infection rate of leptospira interrogans in the field rodent, Apodemus agrarius in Korea *Epidemiol Infect.* 1998; 121: 685-90.
8. Bishop L, Strandberg JD, Adamus RJ, Brownstein DG and Patterson R. Chronic active hepatitis in dogs associated with leptospiras. *American Journal of Veterinary Research.* 1979; 40: 839-44.
9. Adamus C, Buggin-Daubiè M, Izembart A, Sonrier-Pierre C, Guigand L, Masson M. Chronic hepatitis associated with leptospiral infection in vaccinated beagles. *J Comp Path.* 1997; 117: 311-28.
10. Saap WJ, Siddique IH, Williams CS and Graham T. histopathologic evaluation of livers of pregnant hamsters infected with leptospira canicola *Am J Vet Res.* 1980; 41: 1288-92.
11. Alves VA, Gayotto LC, De Brito T, Telma R, Santos M, Wakamatsu A, Vianna MR and Sakata EE. Leptospiral antigens in the liver of experimentally infected guinea pigs and their relation to the morphogenesis of liver damage. *Experimental Toxicologic Pathology* 1992; 44: 425-34.
12. Thomas HC. Immunologic aspects of liver disease. In: *Diseases of the liver* 7th. Ed. Philadelphia; Editorial. 1993; pp 638-58.
13. Rocha T and Perestrelo R. Experimental infection of pregnant gilts with leptospira interrogans serovar mozdok. *The Veterinary Record*; 1992: 197-99.
14. Cabezas H. Algunos aspectos epizootiológicos de la leptospirosis relacionados con el cerdo (Tesis Doctoral) Kosice, Checoslovaquia, 1981: 1-140.
15. Barnett J, Barnett D, Bolin C, Summers T, Wagar E, Cheville N, et al. Expresión and distribution of leptospiral outer membrane components during renal infection of hamsters. *Infect Immun*; 1999; 67(2): 853-61.
16. Robbins S, Cotran R, Kumar V. *Patología estructural y funcional* 3ra. Ed. Nueva Ed. Interamericana. 1988; pp. 331-32.

Recibido: 16 de enero del 2001
Aprobado: 20 de febrero del 2001.

Dr. Amado J. Crespo Dueñas. Calle C, Edificio 79. Apto. C-9. Rpto. Hermanos Cruz. Pinar del Río.