

LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA EXPERIMENTAL.

I. Curso clínico em camundongos albinos.

MARIA DO CARMO MOREIRA DE SOUZA *

RESUMO

Estudou-se o Curso Clínico da leishmaniose tegumentar em camundongos albinos pela *Leishmânia mexicana amazonensis*, proveniente do Pará.

Estes camundongos quando inoculados com esta leishmânia apresentam, dois a três meses depois da inoculação, um nódulo de consistência dura, nem sempre permanecendo fechado, alcançando o tamanho máximo de dois centímetros de diâmetro por um centímetro de espessura, quando geralmente morre o animal. Cerca de trinta por cento dos animais apresentaram metástases nas extremidades. No estudo minucioso do Curso Clínico, observamos cinco tipos diferentes de comportamento: a) Desenvolvimento de uma grande lesão primária na maioria dos animais; b) Idêntica a (a) com aparecimento de metástases múltiplas nas extremidades; c) Lesão primária reduzida (2mmx3mm); d) Idêntico a (c), porém, apresentando metástase reduzida (2mmx3mm) na ponta da cauda; e) Ausência de lesão primária e aparecimento de metástase reduzida (2mmx3mm) na ponta da cauda.

I. INTRODUÇÃO

A importância da leishmaniose tegumentar, está na incidência muito grande desta afecção em numerosas zonas rurais de nosso país. Outro fator que torna essa doença, um problema sério é a possibilidade de determinar mutilações. Não é uma enfermidade mortal, raramente determina êxito letal. Entretanto contribui com elevado coeficiente de mortalidade geral, quer como causa predisponente para outras doenças, quer agravando estados mórbidos preexistentes. Determina assim morte indiretamente por inanição e caquexia impedindo o enfermo de se alimentar, tornando-o presa fácil de moléstias intercorrentes como pneumonia ou broncopneumonia.

É um problema de saúde pública em todos os países da América do Sul com exceção do Chile onde ela não tem sido observado com frequência. Embora o homem seja um hospedeiro acidental constituindo o fim da cadeia de transmissão, pode todavia, atuar com o reservatório pelo aparecimento, nas áreas endêmicas, da forma clínica da doença cha-

* Profa. Adjunto do Departamento Parasitologia do IPT-UFG.

* — Este trabalho foi realizado com a ajuda financeira do CNPq.

mada "Leishmaniose Cutânea Difusa" onde a lesão da pele contém grande quantidade de parasitas (Convit et als., 1972).

Recentemente, a leishmaniose cutânea, no Novo Mundo, foi classificada em dois complexos: Complexo *L. mexicana* e Complexo *L. brasiliensis* (Lainson & Shaw, 1972). O Complexo *L. mexicana* é caracterizado por um rápido crescimento no meio NNN e produz no hamster uma lesão tuberosa muito rica em amastigotas; algumas vezes esta lesão apresenta metástases nas extremidades. O Complexo *L. brasiliensis* é caracterizado por um crescimento lento e pobre no meio de cultura NNN e produz lesão limitada no hamster com alguns parasitas e com uma tendência a regredir.

Um polimorfismo clínico-patológico tem sido observado nesta doença, podendo ser explicado pela resposta imunológica de cada hospedeiro humano. Convit & Pinardi, 1974, propuseram uma classificação da leishmaniose cutânea, baseando-se nos aspectos clínicos: — **Polo Maligno, Polo Benigno e Formas Intermediárias**. O Polo Maligno apresenta forma cutânea difusa, reação de Montenegro negativa, lesão com grande número de parasitas e não responde ao tratamento. O Polo Benigno apresenta forma localizada, Montenegro positivo, pouco número de parasitas e involui com o tratamento. Formas Intermediárias se caracterizam pela presença de formas mucocutâneas progressivas, formas cutâneas com recaídas e formas cutâneas localizadas com

lesões secundárias, reação de Montenegro positiva, número de parasitas muito variado, frequentemente responde ao tratamento mais lentamente que a forma benigna.

Os dados da literatura nos levam a pensar que o polimorfismo clínico das leishmanioses cutâneas das Américas seja devido, fundamentalmente, à resposta do hospedeiro e que a característica da cepa infectante de leishmânia pode influir secundariamente no tipo de lesão que aparece.

Esse trabalho visa observar o Curso clínico da leishmaniose tegumentar americana pela *Leishmânia mexicana — amazonensis* em camundongos albinos, dando início à uma série de trabalhos que culminará com o estudo da possível influência da *Herpetomonas samuelpessoai* (flagelado monoxênico de inseto) sobre o curso clínico e histopatológico da infecção por esta leishmânia, tendo em vista as observações de Souza & Barbosa, 1972, da existência de forte reação cruzada entre estes dois flagelados, por imunodifusão.

II. MATERIAL E MÉTODOS

a. Organismos —

Leishmânia mexicana amazonensis — Mantida em nosso laboratório de Protozoologia do Inst. Patologia Tropical; cedida pelo Dr. William Barbosa do Dep. de Medicina Tropical desse mesmo Instituto.

b. Animais —

Camundongos albinos "Swiss star" fornecidos pelo Biotério Central da Universidade de Brasília, de ambos os sexos, tendo dois meses (15 a 18g) e três meses (22 a 26g) de idade.

c. Manutenção da amostra de *L. mexicana*

c.1 — Determinação da melhor condição de manutenção — utilizou-se duas concentrações diferentes de leishmânia: 1×10^4 e 2×10^6 e dois lotes de camundongos, um com dois meses (15 a 18g) e outro com três meses (22 a 26g) de idade. Cada lote continha 25 animais.

c.2 — Manutenção — A *L. mexicana* foi mantida fazendo-se passagens de camundongo a camundongo de 2×10^6 amastigotas em solução de Hanks pH 7.4, em volume de 0,1ml, na região dorso-nasal de camundongos de dois meses de idade (15 a 18g), com intervalos de 4 a 5 meses.

d. Acondicionamento dos animais —

Os noventa camundongos utilizados, foram distribuídos em grupos de dez em cada gaiola de 20cmx30cmx20cm. Alimento e água à vontade.

e. Infecção experimental —

Foi retirado um nódulo leishmaniótico de um camundongo infectado há cinco meses, com toda assepsia, colocado em Hanks pH

7.4 e macerado em macerador de células. A suspensão obtida foi centrifugada à baixa rotação; o sobrenadante foi utilizado como inóculo depois de determinada sua concentração pelo hematímetro. Cada camundongo recebeu 2×10^6 amastigotas de *L. mexicana* em volume de 0,1ml, na região dorso nasal.

f. Curso clínico da infecção —

Os camundongos foram observados semanalmente e as alterações cuidadosamente registradas.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A. determinação de condições ideais para o Estudo do Curso clínico.

Camundongos de dois meses de idade, pesando entre quinze e deztoito gramas e um inóculo de 2×10^6 em volume de 0,1ml, mostraram-se ideais para os nossos propósitos (Tabela I).

B. Curso Clínico da Infecção.

Na primeira semana depois da inoculação, na maioria dos camundongos, um nódulo tornou-se palpável na região da inoculação, desaparecendo em seguida. Na segunda semana há uma ulceração e cicatrização. Na terceira e quarta semanas o pêlo cresce no local, dando a impressão de não existir infecção. Somente no segundo a terceiro mês depois da inoculação, começa a aparecer um nódulo de consistência dura que nem sempre permanece fechado. Cinco meses depois da

TABELA I

Curso clínico da Infecção em camundongos brancos pela *L. mexicana amazonensis*

	Concentração do inóculo	Idade dos camundongos	Peso dos camundongos	Tempo, em meses, após inoculação da <i>L. mexicana amazonensis</i>						
				1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º
Camundongos com lesão (%)	1 x 10 ⁴	2 meses	15 a 18g.	0	1	2	3	3	3	3
Camundongos com lesão (%)	2 x 10 ⁶	2 meses	15 a 18g.	30	50	60	75	80	100	100
Camundongos com lesão (%)	2 x 10 ⁶	3 meses	22 a 26g.	0	2	10	20	30	30	30
Metástases nas extremidades (%)	2 x 10 ⁶	2 meses	15 a 18g.	0	0	0	10	10	20	30
Mortalidade (%)	2 x 10 ⁶	2 meses	15 a 18g.	0	0	0	10	30	50	70
Camundongos + c/ lesão primária reduzida	2 x 10 ⁶	2 meses	15 a 18g.	0	0	0	3	4	4	4
Camundongos ++ c/ metástase reduzida, sem lesão primária	2 x 10 ⁶	2 meses	15 a 18g.	0	0	0	0	3	4	4
Mortalidade (%)	1 x 10 ⁶	2 meses	15 a 18g.	0	0	0	0	0	30	30

+ Lesão primária reduzida (2mm x 3mm) sem metástase.

++ Lesão metastática reduzida (2mm x 3mm) na ponta da cauda.

inoculação alcança, o nódulo, seu tamanho máximo de dois centímetros (diâmetro) por um centímetro de espessura (Fig. 3). Nesse período o animal se alimenta mal, há deformação da boca e narinas; os olhos desaparecem e o animal geralmente morre. Observou-se metástases cutâneas nas extremidades (Fig. 1 e Fig. 2 — Tabela 1).

Alguns camundongos apresentaram um curso clínico bem diferente: a lesão primária (no local da inoculação) apresenta-se bem reduzida, estando mesmo ausente em alguns; três a cinco meses depois de receber o inóculo, aparece uma metástase bem reduzida de três milímetros, mais ou menos, (de um a três milímetros) na ponta da cauda. Esta metástase fica estável, nem aumenta nem desaparece. Sete meses depois da inoculação retirou-se a ponta da cauda que continha a metástase, para estudos histológicos. Esta cauda, um mês depois desta operação, tinha aspecto de um rosário cujas contas eram representadas por nódulos leishmanióticos que apareceram também nas outras extremidades: orelhas, mãos e patas; mostrando assim uma propagação da leishmaniose por via hematogênica provocada acidentalmente. Essa mesma disseminação foi também observada quando se retirou a pequenina lesão primária localizada (Fig. 4), para estudos histológicos, em camundongos que não apresentavam metástase. Sabe-se, no entanto, que a disseminação hematogênica natural é muito rara (Zuckerman & Sagher, 1963).

Semelhante à lepra, a leishmaniose tem sido considerada uma doença espectral (Turk & Bryceson, 1971), com duas formas polares: A leishmaniose cutânea difusa (LCD) da América do Sul e Etiópia e leishmaniose recidiva (LR). O 1.º tipo é caracterizado por metástases do organismo que invade progressivamente grande área da pele, onde ele produz nódulos não ulcerativos. Esta condição parece resultar da pouca eficiência da resposta imunológica do hospedeiro (Bryceson, 1970 e Convit et als., 1972). Esta energia parece afetar preferencialmente a imunologia celular, pois anticorpos foram detectados na forma etiopiana dessa doença (Bray & Lainson, 1967). O outro extremo do espectro imunológico, leishmânia recidiva, é representado por uma exacerbação da reação mediada por células, aparentemente evitando a cura da própria lesão. O clássico botão do Oriente fica no meio dessas duas formas polares.

No nosso trabalho, verificamos cinco tipos diferentes de comportamento clínico (Tabela I):

- a. Lesão primária localizada, com desenvolvimento progressivo, levando o animal à morte.
- b. Idêntica a (a) apresentando, porém, metástase nas extremidades.
- c. Lesão primária reduzida (2mm x 3mm), espessura e diâmetro, respectivamente).
- d. Mesmo que (c) com aparecimento, depois de quatro a cinco meses, de metástase reduzida (2mm x 3mm) na ponta da cauda.

c. Ausência de lesão primária e aparecimento de metástase reduzida (2mm x 3mm), após cinco a seis meses.

Os nossos resultados nos encorajam a sugerir que a *L. mexicana amazonensis* quando inocula-

da em camundongos albinos até dois meses de idade, induz o aparecimento das três formas clínicas desta protozoose: Leishmaniose cutânea difusa, forma intermediária e Leishmaniose recidiva, como descrita por Convit et als., 1972.



Fig. 1 — Metástase nas orelhas do camundongo.



Fig. 2 — Metástase na mão do camundongo

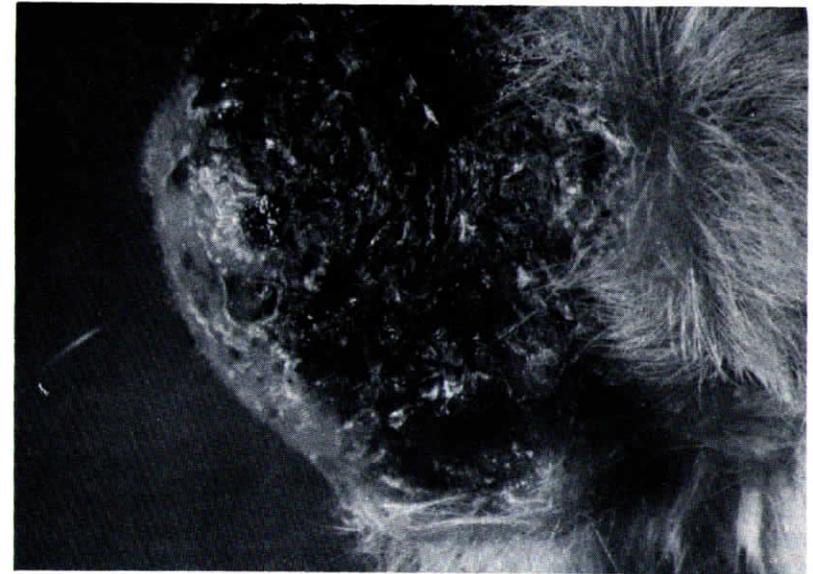


Fig. 3 — Aspecto da lesão de cinco (5) meses. (Bem desenvolvida)



Fig. 4 — Aspecto da lesão de cinco (5) meses. (Bem reduzida)

SUMMARY

EXPERIMENTAL AMERICAN TEGUMENTARY LEISHMANIASIS.

I. Clinical Course in Mice

The Clinical course of the Tegumentary leishmaniasis in albino mice by *Leishmânia mexicana amazonensis*, coming from Pará, was studied.

Albino mice when inoculated with this leishmânia showed, two — three months after inoculation, an indured nodule which not always remain closed, reaching the greatest size of two centimetres of diameter by one centimetre of thickness, when generally the animal dies.

Metastases in the extremities were showed by thirty per cent of the animals. In this study we observed five different types of behavior: a) Great primary lesion in the majority of animals; b) The same in (a) appearing of multiple metastases in the extremities; c) Primary lesion reduced (2mm x 3mm); d) The same in (c) but showed reduced metastase (2mm x 3mm) in the tail end, and e) Absence of primary lesion, but appearance of a re-

duced metastase (2mm x 3mm) in the tail end.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bray, R.S. & Lainson, R., 1967 — Studies on the immunology and serology of leishmaniasis, V. The use of particles as vehicles in passive agglutination tests. *Trans. roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 61, 490.
2. Convit, J.; Pinard, M.E. & Rondon, A.J., 1972 — Diffuse cutaneous leishmaniasis: a Disease due to an immunological defect of the host. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* 66: 603.
3. Convit, J. & Pinard, M.E., 1974 — Cutaneous Leishmaniasis. The clinical and immunopathological spectrum in South America. In *Trypanosomiasis and Leishmaniasis*. Ciba Foundation Symposium, nr. 20 (New Series).
4. Lainson, R. & Shaw, J.J., 1972 — Leishmaniasis of the New World: taxonomic problems. *Br. Med. Bull.* 44-48.
5. Souza, M.C.M. & Barbosa, W., 1972 — Immunological relationship between *Leptomonas pessoai* (strain principis) *C. fasciculata*, *L. brasiliensis* and *T. cruzi* by agar gel diffusion technique — Previous note — *Rev. pat. trop.* 1: 419.
6. Turk, J.L. and Bryceson, A.D.M., 1971 — *Adv. Immunol.* 13, 209.
7. Zuckerman, A. and Sagher, F., 1963 — *J. Invest. Dermatol.* 40, 193.