

## CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

Está em funcionamento o Curso de Pós-graduação em Medicina Tropical na Universidade Federal do Rio de Janeiro, com o objetivo de formar profissionais altamente qualificados, com ampla base de Clínica, Epidemiologia, Parasitologia, Entomologia, Microbiologia e Imunopatologia das Doenças Infecciosas e Parasitárias, bem como nos aspectos fundamentais da Tropicologia Médica (Ecologia, Antropologia Social, Patologia Geográfica etc.)

O curso terá a duração de 1, 2 ou 3 anos, respectivamente, caso o candidato deseje obter a Especialização, o Mestrado ou o Doutorado. Na primeira fase do curso (Especialização) serão ministradas tôdas as matérias básicas em nível de Pós-graduação. O Mestrado e o Doutorado destinam-se à formação de professores e pesquisadores. Nesta fase de treinamento avançado, além das disciplinas mencionadas, será ministrada em profundidade a Metodologia do Ensino e da Pesquisa. *Haverá um reduzido número de vagas.*

---

Inscrições e informações com o Prof. J. Rodrigues Coura, Diretor-Executivo do Curso. Rua Laura de Araújo, 36, Caixa Postal, 1859, Rio de Janeiro, Brasil.

## POSTGRADUATE COURSE IN TROPICAL MEDICINE

A postgraduate course in Tropical Medicine is being given in the Federal University of Rio de Janeiro. This course aims to prepare qualified professionals with a good knowledge of Tropical Medicine, Epidemiology, Parasitology, Entomology, Microbiology and Immunopathology of Infectious and Parasitic diseases, besides the fundamental aspects of the Medical Tropicology (Ecology, Social Anthropology, Geographic Pathology, etc.).

The length of this course will be one, two or three years respectively, depending whether the candidate wants to obtain a degree in Especialization, Master or Doctorate. All of the basic subjects above mentioned will be given during the first part of the course (Especialization). For the Master and Doctorate degrees, an advanced course including Methodology of Research and Teaching will be added. *There will be a very limited number of vacancies.*

---

Inscriptions and informations can be obtained with Prof. J. Rodrigues Coura, Executive Director of the Course. Rua Laura de Araújo 36, Caixa Postal 1859, Rio de Janeiro, Brazil.

# EFECTO DE LA TEMPERATURA DE LA PIEL EN LA LEISHMANIASIS CUTANEA EXPERIMENTAL \*

Rodrigo Zeledón \*\*

Podemos hacer la hipótesis de que la leishmaniosis cutánea o cutaneo-mucosa es una enfermedad de la piel debido a que ésta tiene una temperatura relativamente baja, lo mismo que las mucosas nasal y faríngea que son enfriadas constantemente por el pasaje del aire. Esto se observa más claramente en los animales susceptibles cubiertos de pelo, puesto que en ellos las diferencias de temperatura de una región a otra de la piel son a veces muy pronunciadas. La tolerancia a ciertos rangos de temperatura es posible que varíe inclusive de una cepa a otra del mismo parásito. Podemos, además, sugerir que las cepas capaces de invadir los órganos internos del hombre y otros animales, productoras de la leishmaniasis visceral, posiblemente se originaron de cepas cutáneas, a través de mecanismos genéticos que permitieron que sus sistemas enzimáticos se adaptaran a cumplir sus funciones a temperaturas más elevadas. Cepas cutáneas de comportamiento intermedio, es decir que pueden producir, bajo ciertas circunstancias, invasiones internas, han sido observadas al menos experimentalmente en algunos animales. El fenómeno es además reversible en el sentido de que en algunas cepas viscerales la adaptación a las temperaturas más bajas de la piel se da sin ninguna dificultad, aunque a veces parecieran revertir al organismo ancestral haciéndose incapaces de invadir los órganos de nuevo (13).

Desde hace varios años algunos autores como Amaral, en 1940 (1), Senekjic y Zebouni, en 1941 (14) habían observado la incapacidad de los promastigotos de *L.*

*brasiliensis* de crecer a temperatura relativamente bajas (arriba de 32°C) en medios comunes de cultivo. Esto puede implicar que los procesos metabólicos son detenidos a esa temperatura; pero además podría significar que los otros elementos necesarios para la transformación de promastigoto a amastigoto, que se inicia cuando la temperatura se eleva hasta un cierto punto, no están presentes en los medios de cultivo comunes. Es un hecho conocido que un organismo se hace más exigente, nutricionalmente hablando, cuando la temperatura se eleva dentro de niveles fisiológicos. Esta hipótesis última recibe su sustento en el hecho de que a temperaturas semejantes (33°C), pero usando medios orgánicos más complejos capaces de mantener células vivas (cultivo de tejidos), los promastigotos se convierten en amastigotos y éstos son capaces de multiplicarse, es decir, de aumentar en número. Sin embargo, aún así, se ha demostrado que *L. enriettii* (4) y *L. braziliensis* (Zeledón y Monge, datos no publicados) tienen dificultades para multiplicarse a temperaturas de 37°C o mayores, indicándonos esto la presencia de algún sistema fisiológico termosensible a esos niveles de temperatura.

Bray y Laison (3) observaron que cepas de *L. donovani*, *L. infantum*, *L. mexicana* y *L. pifanoi* (sic) crecieron satisfactoriamente entre 34.5°C y 37.5°C en cultivo de tejido como amastigotos, pero dos cepas de *L. braziliensis* sólo crecieron como máximo a 35°C.

Frothingham y Lehtimaki (5) confirman que *L. braziliensis* crece mejor como amas-

\* Trabajo presentado a la Mesa redonda "Leishmaniasis", VII Congreso Brasileiro de Medicina Tropical, Manaus, 14-18 febrero, 1971. Parte del trabajo relatado se hizo con la ayuda del subsidio TW 00148 del Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos (NIAID) y con la ayuda del subsidio DADA-17-68-G-9254 de la U.S. Army Medical Research & Development Command.

\*\* Universidad de Costa Rica.

Recibido para publicación el 18.2.71.

tigoto a 33°C, en contraste con *L. donovani* que dio mejores cultivos a 36°C. Esta última temperatura no permitió el crecimiento de la primera, pero sí el de una cepa de *L. mexicana* que nuevamente se comportó diferente de las cepas de *L. braziliensis* probadas. Sería interesante relacionar ésta adaptación de algunas cepas cutáneas con su capacidad de invadir órganos internos de animales como el hamster.

Como quiera que sea es necesario experimentar con un mayor número de cepas antes de llegar a la conclusión de que estas diferencias tienen algún valor específico, puesto que todo apunta a la existencia de una variación muy marcada aún entre cepas que provienen de lugares geográficamente próximos.

Zeledón et al., en 1965 (16), habían observado que el metabolismo respiratorio de promastigotos de *L. braziliensis* decrecía visiblemente a temperaturas arriba de 35°C. Esto ha sido también confirmado para una cepa de *L. mexicana* por Janovy y Poorman (8), en contraste con dos cepas de *L. donovani* cuya respiración alcanzó un máximo de 37°C o aún a temperatura algo más alta. Asimismo, Greenblatt & Glaser (6) notaron que el someter promastigotos de *L. enriettii* a temperaturas de 37°C producía daños celulares serios.

Solo se conoce una experiencia en que los autores lograron la adaptación y transformación de promastigotos a amastigotos "in vitro" y en medios de cultivo comunes. Lemma & Schiller (9) lograron esa transformación en tres especies de leishmanias (incluyendo *L. braziliensis*), en un medio corriente de agar-sangre, por medio de aclimatación a temperaturas crecientes. Sin embargo es necesario demostrar que estas formas realmente corresponden morfológica y fisiológicamente a verdaderos amastigotos.

En lo que respecta a experiencias *in vivo*, recordemos que Pereira et al. (12) demostraron que la leishmaniasis del cobayo no se produce en lugares de la piel con temperaturas próximas a los 37°C, y que se cura en animales sometidos a temperaturas de 37°C. Esto último había sido observado también por Baker y Gutiérrez-Ballesteros en México, en 1957 (2), al tratar animales con calor húmedo (vapor). Esta experiencia fue asimismo puesta en

práctica por los mismos autores y por Gutiérrez-Ballesteros (7) con buen éxito, usando humanos infectados. Es interesante recordar que Silveira y Brener, desde 1950 (15), habían ensayado el tratamiento de leishmaniasis tegumentaria, en dos casos humanos, usando un pirógeno comercial endovenoso, con resultados satisfactorios.

El fenómeno de la termosensibilidad de algunos microorganismos y parásitos a determinados niveles de temperatura, aún fisiológicas para ciertos seres, parece estar más generalizado de lo que se podría creer. Es el mismo fenómeno que se observa en muchas rickettsias, que crecen únicamente en la túnica vaginal del cobayo cuando inoculadas intraperitonealmente, y con algunos hongos de la piel humana (ver revisión de Mackinnon en 1964 (11), y que Lwoff (10) ha tratado de explicar en términos genético-fisiológicos en el caso del virus de la polio.

En nuestras experiencias, hemos podido demostrar que la inoculación de *L. braziliensis* (cepas costarricenses) en el hamster producen lesiones sólo en aquellas áreas que normalmente tienen una temperatura subcutánea menor de 33°C, (nariz, patas, rabo, oreja) a una temperatura ambiente de 22-24°C. El elevar la temperatura de la piel a 37°C (por ejemplo elevando la temperatura ambiente) produce una regresión de las lesiones con tendencia a su desaparición. El efecto fue probado en animales inoculados en la nariz y en la pata, y se observó que el fenómeno era más marcado en los últimos cuando eran tratados con calor seco a 37°C (en cámara de temperatura constante, después de una aclimatación previa), ya que estos animales eliminan más calor por las patas y por lo tanto la temperatura subcutánea llega a 38.1°C, mientras que en la nariz el promedio fue de 36.7°C. En algunos animales la afección es abortada completamente; en otros las tumoraciones desaparecen y luego comienzan a crecer de nuevo si los animales son puestos permanentemente a temperatura ambiente, lo que indica una fase de la reproducción del parásito susceptible al calor. El fenómeno se observa asimismo fácilmente inoculando animales en la pata inferior (con poco pelo) y en la región superior de la pierna arriba de la arti-

culación tibio-tarsal (con pelo), regiones estas con marcada diferencia de temperatura. Mientras que la lesión se produce fácilmente en la pata inferior es difícil que se produzca más arriba (17).

En otros experimentos, y con el fin de evitar la barrera del calor en la espalda del animal (3 a 4 cm arriba de la cola) que resultó ser resistente o muy poco sensible a la inoculación con promastigotos (temperatura alrededor de 37°C), procedimos a remover periódicamente el pelo con una crema depiladora. Esto hizo bajar la temperatura en uno o dos grados a temperatura ambiente, y hasta 6 grados (30°C) cuando los animales eran colocados en nevera (5°C).

Los experimentos realizados en varios grupos de hamsters demostraron que los animales depilados y sometidos por 8-9 horas diárias a temperaturas de refrigerador desarrollan lesiones mayores y más rápido aún que animales depilados y mantenidos a temperatura ambiente. Los controles con pelo no desarrollan lesiones o éstas son muy pequeñas y de evolución

lenta, con una tendencia marcada a sanar. El efecto fue más marcado cuando usamos inóculos relativamente pequeños (55 x 10<sup>6</sup> flagelados/md.) de la cepa costarricense O-CR de *L. braziliensis*.

A pesar de que en los animales con pelo, sometidos a temperatura de nevera, la temperatura subcutánea baja casi tanto como en los depilados, las lesiones no se establecen o se establecen en algunos animales tardamente, con tendencia a curar, indicando que una vez que retornan a temperatura ambiente el efecto inhibitorio se hace evidente. Sin embargo, dependiendo del tamaño del inóculo, ocasionalmente unos pocos animales con pelo muestran lesiones claras y hay pérdida de pelo alrededor de la lesión. Otra manera también de curar o hacer disminuir las lesiones de animales depilados, una vez que los nódulos alcanzan un cierto tamaño y son evidentes, es dejando crecer el pelo de nuevo. En estos casos, si los nódulos no son aún muy grandes, el pelo crece alrededor y encima de los mismos, notándose de inmediato una tendencia a disminuir de tamaño y a sanar completamente.

#### SUMMARY

*The literature on the thermosensitive properties of strains or species of Leishmania and of other microorganisms is revised. Cutaneous or mucocutaneous strains that infect animals in the coldest areas of the skin or mucosa, in general can not grow in tissue culture at 37°C or higher temperatures and their respiratory metabolism decreases at these temperatures. These facts suggest a thermosensitive event in some important metabolism phase of the organism. The strains or species that are able to produce visceral leishmaniasis were probably originated from cutaneous strains after genetically determined physiological adaptation, to warmer temperatures. These strains can not only visceralize in animals and man but will also grow in tissue culture at 36-37°C and the respiratory metabolism will be higher at such temperatures. There are reasons to believe that intermediate strains, i. e., with properties of both groups, do exist.*

*A thermosensitive physiological event is a more general phenomenon and examples of it can also be found in the fields of virology, bacteriology and mycology.*

*It has practical applications since some of the diseases produced by these agents can be cured by treatments with heat or artificial fever.*

*Experiments along these line were performed on hamsters with a Costa Rican strain of *L. braziliensis* as an experimental model. Even after intraperitoneal inoculation lesions appear in the nose, ears, paws and tail with a subcutaneous temperature bellow 33°C at 22-24°C.*

*Healing of the lesion is accomplished by increasing room temperature. A good lesion is produced in the rump of the animal if the area is depilated (comercial cream depilatory) previously and the naked skin cooled artificially. Elevated temperature, or the growing back of the hair will tend to diminish or cure the lesion.*

## REFERENCIAS

- 1) AMARAL, A. D. FRANCO DO — Observações sobre a resistência das culturas de *Leishmania braziliensis* a varias temperaturas. Arq. Inst. Biol. 11: 5-9, 1940.
- 2) BAKER, A. C. & E. GUTIERREZ-BALLESTEROS. — Tratamiento experimental de las úlceras leishmaniásicas por el procedimiento del calor del vapor. (Nota preliminar). Rev. Inst. Salub. Enferm. Trop. 17(3): 115-119, 1957.
- 3) BRAY, R. S. & LAISON, R. — The growth of various strains of *Leishmania* spp. and of *Lankesterella garnhami* in tissue cultures. Proc. 1st. Int. Congr. Parasitol. (Roma 21-26 Sept. — 1964), p. 342. Pergamon Press, 1966.
- 4) CASTRO, M. P. DE & PINTO, S. C. — Influence of the temperature on growth of *Leishmania enrietti* in tissue culture. J. Protozool. 7, suppl. :8., 1960.
- 5) FROTHINGHAM, T. E., LEHTIMAKI, E. — Prolonged growth of *Leishmania* species in cell culture. J. Parasitol 55(1): 196-199, 1969.
- 6) GREENBLATT, CHARLES, L. & GLASER, P. — Temperature effect on *Leishmania enrietti* in vitro. Exptl. Parasitol. 16: 36-52, 1965.
- 7) GUTIERREZ - BALLESTEROS, E. — Tratamiento de la leishmaniasis tegumentaria por medio del calor de vapor de agua. Estudio de 5 casos humanos. Rev. Inst. Salub. Enferm. Trop. Mex. 19(4): 317, 1959.
- 8) JANOVY, J. & POORMAN, A. E. — Temperature and metabolism in *Leishmania*. I. Respiration in *L. donovani*, *L. mexicana*, and *L. tarentolae*. Exptl. Parasitol. 25: 276-282, 1969.
- 9) LEMMA, A. & SCHILLER, E. L. — Extracellular cultivation of the leishmanial bodies of species belonging to the protozoan genus *Leishmania*. — Exptl. Parasitol. 15: 503-513, 1964.
- 10) LWOFF, A. — The thermosensitive critical event of the viral cycle. Cold Spring Harb. Symp. Quart. Biol. 27: 159-172, 1962.
- 11) MACKINNON, JUAN E. — Revisión sobre observaciones experimentales y humanas, demostrativas del efecto de la temperatura en algunas Micosis. El Torax, 13(3-4): 266-270, 1964.
- 12) PEREIRA, C., M. P. DE CASTRO & D. DE MELLO. — Influencia da temperatura cutânea no desenvolvimento de lesões leishmanióticas. Arq. Inst. Biol. S. Paulo. 25: 121-138, 1958.
- 13) SEN GUPTA, P. C. — Pathogenicity of *Leishmania donovani* in man. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo 4, 130-135, 1962.
- 14) SENEKJIE, H. A. & ZEBOUNI, N. — Biochemical reactions of the genus *Leishmania*. Amer. J. Hyg. 34(2): 67-70, 1941.
- 15) SILVEIRA, M. R. DA & BRENER, Z. — Nota preliminar sobre a piroterapia na leishmaniose tegumentar americana. Hospital, 37(4): 637-641, 1950.
- 16) ZELEDON, R., MONGE, E. DE & BLANCO, E. — Temperature of the host skin and physiology of the parasite in the experimental infection by *Leishmania braziliensis* Vianna. Int. Congr. Series N.º 91, Excerpta Med. Found. 133-134, 1965.
- 17) ZELEDON, R., BLANCO, E. & MONGE, E. DE. — Comparative experimental infections with Costa Rican strains of *Leishmania braziliensis* Vianna, 1911. Acta Trop. 26: 136-155, 1969.