



AVALIAÇÃO DA TERAPIA FOTODINÂMICA PARA O TRATAMENTO DE LEISHMANIOSE CUTÂNEA

Mônica Raquel Sbeghen¹, Tacito Graminha Campos¹, Dayane Tozato Wakimoto¹; Thais Gomes Verzignassi Silveira²

RESUMO: Avaliar a Terapia Fotodinâmica (TFD) no tratamento de lesões de leishmaniose tegumentar americana (LTA). **Materiais e Métodos:** Infectou-se 40 hamster com 4×10^7 promastigotas de *L. braziliensis*. O tratamento iniciou desenvolvimento de lesão em todos os animais. O grupo A recebeu tratamento com TDF e azul de metileno (AM) aplicado intradérmico na lesão, o grupo B recebeu TFD e AM tópico na pata com lesão, o grupo C não recebeu tratamento e o grupo D recebeu Anfotericina B por 25 dias. A fonte luminosa foi LED (655nm, 1h, 3 vezes por semana por 4 meses). Mediram-se as patas semanalmente durante o tratamento e fizeram-se registros fotográficos mensais das lesões. **Resultados:** Os animais do grupo D, tratados com Anfotericina B reduziram a espessura das patas, em 30 dias, atingindo a espessura da pata sem lesão. Houve cicatrização das lesões neste grupo. Os animais do grupo B reduziram a espessura da lesão no segundo mês de tratamento. A cicatrização nestes animais iniciou-se a partir do terceiro mês de tratamento, resultando em uma cicatrização completa das lesões após duas semanas do término do tratamento. Os animais do grupo A, tratados com AM intradérmico não apresentaram redução na espessura da lesão ou cicatrização, as lesões permaneceram muito semelhante aquelas não tratadas. O grupo controle (C) permaneceu com lesão, sem cicatrizar. **Conclusões:** A TFD com AM tópico auxilia no tratamento da LTA, semelhante a Anfotericina B. Porém com AM intradérmico houve benefícios para o tratamento desta parasitose.

PALAVRAS-CHAVE: Azul de metileno, terapia fotodinâmica, leishmanioses.

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença infecto parasitária que representa um problema de saúde pública mundial atingindo cerca de 12 milhões de pessoas no mundo. No Brasil está presente em todos os estados do país, sendo 289 dos 399 municípios do estado do Paraná acometidos pela parasitose. É transmitida ao homem pela picada da fêmea do mosquito do gênero *Phlebotomus* sp ou *Lutzomia* sp, infectada com promastigotas do gênero *Leishmania* sp. (Neves, 2000). As manifestações clínicas dependem da espécie da *Leishmania* sp envolvida, e da resposta imunológica do hospedeiro. As formas mais comuns são a cutânea, a mucocutânea e a visceral. O diagnóstico é feito pelo exame clínico (aspecto da lesão e anamnese), confirmado por ensaios sorológicos (ELISA), imunofluorescência indireta (IFI), e exame parasitológico de material biológico (lesão) (WHO, 2007). Para o tratamento usam-se antimoniais pentavalentes (N metil glucamina), e outras drogas, porém este tratamento pode provocar efeitos colaterais severos, e até

¹ Acadêmicos do curso de pós graduação em Biociências Aplicadas a Farmácia da Universidade Estadual de Maringá – UEM. Maringá Paraná. monica.sbeghen@esefap.edu.br; tacitogc@yahoo.com.br; daywaki@hotmail.com

² Docente, orientadora do curso de pós graduação em Biociências Aplicadas a Farmácia da Universidade Estadual de Maringá – UEM. Maringá, Paraná. tgvsilveira@uem.br

ocasionar o abandono do tratamento pelo paciente. Nos últimos anos têm sido usados tratamentos alternativos para a leishmaniose tegumentar americana (LTA) como a crioterapia, curetagem, eletrodissecação, e Terapia Foto Dinâmica (TFD) (Neves, 2000; WHO, 2007). O uso da Terapia Foto Dinâmica é recente (início dos anos 70). A TFD usa a administração de um composto fotossensível que é introduzido no tecido a ser tratado para em seguida receber o tratamento, com a luz em comprimento de onda adequado, capaz de estimular o composto aplicado, que na presença de oxigênio originará espécies reativas de oxigênio (EROS), que podem reduzir a viabilidade da célula. A reação entre o composto fotossensível e a luz gera uma espécie de oxigênio reativo, (oxigênio singlete), que leva a peroxidação de lipídios (incluindo os presentes na membrana celular, e mitocondrial), formação de radicais livres, e quebra de proteínas, interferindo no metabolismo celular, levando à citólise e morte do microrganismo (Gardlo, et al, 2003). Os efeitos colaterais da TFD são restritos ao desconforto gerado pelo calor durante a terapia, hiperpigmentação e eritema local. Porém seus benefícios são relevantes, pois se acredita não haver recorrência da doença após a TFD. Além disto, este tratamento trás ao paciente um bom resultado estético (Akilov, et al, 2006; Enk, et al, 2003). Esta terapia tem mostrado capacidade de eliminar ambas as formas do parasito. O Azul de Metileno (AM) é uma substância fotossensível útil para a TFD, sendo excitada por ondas na região do vermelho. Este composto tem baixo custo, fácil aquisição e poucos malefícios ao paciente em tratamento (Gardlo, et al, 2003). Este trabalho teve como principal objetivo avaliar o desenvolvimento da leishmaniose cutânea, quando tratada com terapia fotodinâmica (*in vivo*) em hamsters com lesões provocadas por *Leishmania brazileinsis*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas hamsters fêmeas douradas com 90 dias, nas quais foi inoculado 4×10^7 formas promastigotas de *Leishmania braziliensis* em 100 μ l de soro fisiológico na pata direita e na esquerda foram inoculadas 100 μ l de diluente para controle. Os animais infectados foram separados em 4 grupos, sendo A, B, C e D de dez animais cada. O início do tratamento foi após o surgimento da lesão em todos os animais. O grupo A recebeu tratamento com AM aplicado intradérmico na borda da lesão, os animais do grupo B recebiam a TFD com o AM aplicado de forma tópica na lesão. O grupo C não recebeu tratamento nenhum (grupo controle), e o grupo D foi tratado com Anfotericina B (tratamento de segunda escolha para LTA) diariamente por 25 dias, na concentração de 5 mg/Kg por via intraperitoneal. A irradiação foi feita com LED (Diodo emissor de luz EverLighet), que emite a luz em 655nm, com 5mW durante 1h (12 J/cm²), três vezes por semana por quatro meses. Os animais foram eutanasiados seguindo as normas do COBEA. Foi medida a espessura das patas semanalmente, iniciando após a infecção, até o fim do tratamento, com o uso de um paquímetro. Os órgãos como baço e linfonodo regional poplíteo foram retirados e pesados. Durante o período de tratamento foram realizados registros fotográficos mensais das lesões.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao verificar a espessura das patas dos animais podemos verificar que aqueles tratados com TFD em que o azul de metileno foi aplicado topicamente (grupo B) apresentaram redução na medida de espessura da lesão a partir do final do terceiro mês de tratamento, chegando ao final do tratamento, com valores muito próximos a das patas sem lesão. Os animais do grupo A que receberam TFD com o azul de metileno aplicado intradérmico na borda da lesão não apresentaram redução na espessura da pata com lesão. Os animais do grupo controle, sem tratamento não tiveram redução no tamanho da lesão. O grupo que recebeu tratamento com Anfotericina B teve redução da medida das

patas com lesão, desde a primeira semana de tratamento, chegando a igualar-se a espessura da pata sem lesão. Os registros fotográficos demonstram a evolução da lesão de leishmaniose nos animais. A lesão do grupo controle estava com os aspectos característicos de leishmaniose durante todo o processo de acompanhamento. O grupo B tratado com TFD e azul de metileno tópico, após o segundo mês de tratamento apresentou redução na região de edema das bordas da lesão e a partir do terceiro mês houve início do processo de cicatrização da lesão, que foi finalizado no quarto mês, com o término do tratamento. Os animais do grupo A tratados com o azul de metileno aplicado intradérmico não apresentaram redução do edema da borda da lesão, tampouco cicatrização. Os animais do grupo D tratados com Anfotericina B apresentaram redução no edema das patas com lesão, a partir da primeira semana de tratamento, com notável cicatrização da lesão. A cicatrização das lesões estava completa após a terceira semana de tratamento.

4 CONCLUSÃO

Com o presente trabalho podemos sugerir que o uso da TFD de modo tópico pode ser utilizado como forma de tratamento alternativo para leishmaniose cutânea. No entanto o uso do AM intradérmico no local da lesão, para receber TFD, não ocasionou bons resultados, sugerindo que esta forma de aplicação do composto fotossensível não é benéfica para o tratamento da LTA.

REFERÊNCIAS

AKILOV, Oleg et al **The Role of Photosensitizer Molecular Charge and Structure on the Efficacy of Photodynamic Therapy against Leishmania Parasites.** *Chemistry and Biology*, August 2006.

AKILOV, Oleg et al. **Photodynamic therapy for cutaneous Leishmaniasis: The effectiveness of topical phenothiaziniums in parasite eradication and Th1 immune response stimulation.** *Photochemical and Photobiological Sciences*, Boston, July, 2007.

ENK, Claes et al. **Treatment of Cutaneous Leishmaniasis With Photodynamic Therapy.** *Arch Dermatol*, v.139, Apr 2003.

GARDLO, Kerstin et al. **Treatment of cutaneous leishmaniasis by photodynamic therapy.** *Journal American Academic Dermatology*, June 2003.

NEVES D. P. 2000. *Leishmaniose Tegumentar Americana Parasitologia Humana* 10.ed, Editora Ateneu, São Paulo, 36-53.

SNOEK, EM Van Der et al. **A review of photodynamic therapy in cutaneous leishmaniasis.** *European Academy of Dermatology and Venereology*, April 2008

World Health Organization, Leishmaniasis. Disponível em: <http://www.who.int/tdr/svc/diseases/leishmaniasis>. Acesso em 30/03/09.