TRATAMENTO E ACOMPANHAMENTO LABORATORIAL DE PACIENTES COM LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA TRATADOS PELA TERAPIA FOTODINÂMICA

Giovanna Chiqueto Duarte (PIBIC/FA - UEM), Kárin Rosi Reinhold de Castro (Co-autora),Thaís Gomes Verzignassi Silveira (Orientadora), Maria Valdrinez Campana Lonardoni (Co-orientadora), e-mail: tgvsilveira@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá/UEM, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina

Ciências da saúde, medicina.

Palavras-chave: lesão, leishmaniose tegumentar americana, terapia fotodinâmica.

Resumo

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma moléstia infecciosa crônica, não contagiosa geralmente reconhecida por sua forma cutânea que causa lesões desfigurantes, incapacitantes que leva a estigmas no campo psicossocial do indivíduo. O tratamento da LTA apresenta uma série de efeitos colaterais que muitas vezes levam ao abandono do tratamento pelo paciente. Alternativas para o tratamento são estudadas, entre elas a terapia fotodinâmica (TFD). Este projeto teve como objetivo selecionar e acompanhar pacientes no tratamento de LTA com TFD, que abrange um grupo de pacientes tratados com azul de metileno e LED e um grupo controle tratado com Glucantime. A seleção foi realizada pelos resultados dos exames laboratoriais convencionais e reação em cadeia da polimerase (PCR), que foi realizada para detecção de DNA de *Leishmania (Viannia)* em amostras de sangue e lesão dos pacientes. O acompanhamento do tratamento dos pacientes realizou-se por registro de diâmetro e fotográficos da lesão e por exames laboratoriais quando necessário.

Introdução

Segundo orientações do Ministério da Saúde, os antimoniais pentavalentes, são as drogas de primeira escolha para o tratamento das leishmanioses. Os efeitos adversos dos antimoniais pentavalentes são frequentes e resultam da

não completa eliminação da droga dos tecidos. Em casos mais graves de alterações cardíacas, pancreáticas ou renais é recomendada a suspensão do tratamento. Vale enfatizar que, mesmo com o tratamento adequado, a ocorrência de recidivas ou o comprometimento de mucosas pode ocorrer. Além disso, é contra indicado para pessoas idosas e mulheres grávidas.

Tendo em vista as dificuldades relacionadas ao tratamento e ao rápido ritmo de expansão da doença, novas alternativas precisam ser estudadas para o tratamento da LTA. A TFD emprega um composto fotossensibilizador (FS) e luz na presença de oxigênio (O_2) para tratamento de doenças e infecções diversas. O fármaco fotossensibilizador é aplicado no tecido afetado (via intravenosa, intradérmica ou tópica) e que é em seguida foto-excitado com radiação luminosa de energia adequada na região do visível, na presença de oxigênio molecular. Das reações do fotossensibilizador no estado excitado com oxigênio ou substratos biológicos, formam-se espécies reativas de oxigênio ou oxigênio singlete ($^1O_2$), reduzindo a viabilidade celular levando à destruição do tecido *in situ* (Perrusi, 2007).

Os resultados promissores com o corante azul de metileno sob luz LED em estudos, levaram a proposição desse projeto, visando o tratamento de pacientes com LTA pela TFD com azul de metileno e LED vermelho e tendo como grupo controle pacientes tratados com Glucantime. Etapas primordiais foram a seleção dos pacientes para inclusão nos diferentes grupos de tratamento e o acompanhamento laboratorial pós-tratamento, e que foram objeto de estudo do presente projeto.

Materiais e métodos

Os pacientes com suspeita clínica de LTA foram encaminhados pelos profissionais das Unidades Básicas de Saúde ou do CISAMUSEP, ao Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC) da UEM para o diagnóstico laboratorial. Os exames laboratoriais rotineiramente realizados são microscopia direta (PD) para pesquisa do parasito em lesão, intradermorreação de Montenegro (IDRM) e imunofluorescência indireta (IFI) para a pesquisa de anticorpos específicos. Também realizou-se a reação em cadeia da polimerase (PCR) em lesão e sangue.

Os pacientes com resultados positivos na PD e/ou PCR e que atendiam aos critérios de inclusão foram convidados pela equipe executora a participar da pesquisa de tratamento com TFD. Os pacientes que aceitaram foram encaminhados para a avaliação clínica pelas médicas dermatologistas do projeto. Aqueles que atenderam aos critérios clínicos de inclusão e

aceitaram participar do projeto assinaram o Termo de Consentimento de Livre e Esclarecido e foram avaliados por cardiologista e por exames bioquímicos. Os selecionados submeteram-se aos tratamentos previstos no projeto (grupo TFD e grupo Glucamtime). Durante o tratamento e acompanhamento após a cura clínica, os pacientes foram avaliados quanto a evolução da lesão e exames laboratoriais.

Resultados e Discussão

No período de 01/08/2015 a 31/07/2016, 186 pacientes foram encaminhados ao LEPAC, com suspeita clínica de LTA e pedido médico para a coleta e realização dos exames laboratoriais rotineiros para o diagnóstico de LTA (PD, IDRM e IFI).
Destes pacientes, foram selecionados 87 que se encaixavam nos critérios de inclusão e exclusão estabelecidos. Para estes, além dos exames convencionais, foi coletada uma amostra adicional de sangue (PCR-S) e de lesão (PCR-L).
Dos 87 pacientes selecionados, 24 (27,5%) apresentaram PD positiva e 25 (28,7%) IFI positiva. Dentre os 50 pacientes que apresentaram pedido médico de IDRM, 22 (44%) apresentaram resultado positivo. Dos 87 pacientes, 24 (27,5%) eram do sexo feminino e 63 (72,5%) do sexo masculino, com idade média de 48,0 anos. Quanto ao PCR, 24 (27,5%) apresentaram resultado positivo para a PCR-L e dos 63 pacientes que tiveram amostras de sangue colhidas, todos apresentaram resultado negativo para a PCR-S.
Todos pacientes que apresentaram resultado positivo para a PCR-L também apresentaram PD positiva. Segundo Venazzi et al. 2006, a PCR-L possui 100% de sensibilidade quando comparada à PD, 91,1% de positividade quando PD e/ou IDRM são positivas e 27,3% em pacientes com apenas IDRM positiva. Desse modo, a PCR-L pode ser considerada uma alternativa para o diagnóstico de LTA em casos em que a PD é negativa.
Em relação à PCR-S, nenhum dos pacientes avaliados apresentou resultado positivo, embora 24 tenham apresentado PD positiva. Tentativas para isolar *Leishmania* a partir de sangue periférico têm sido o objetivo de vários pesquisadores. Alguns estudos demonstraram que o parasito persiste no sangue após o tratamento e outros, que a doença pode ser reativada por imunossupressão, indicando que o tratamento não erradica os parasitos. Possivelmente, a disseminação hematogênica do parasita ainda não tivesse ocorrendo na fase em que as amostras foram obtidas.

Os 24 pacientes aos critérios de inclusão foram encaminhados para a esquipe de pesquisadores do projeto. No entanto, por exigência da 15ª. Regional de Saúde, o projeto "Uso da terapia fotodinâmica para o tratamento de pacientes com leishmaniose tegumentar americana – estudo clínico" que já havia sido aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital do Trabalhador, foi também submetido ao Comitê Permanente de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (COPEP) da UEM, o que levou atraso para o início do desenvolvimento. O estudo foi aprovado pelo COPEP conforme o Parecer 1.452.013 – 15/03/2016. Nesse sentido, somente os pacientes selecionados a partir desta data foram encaminhados para a participação no projeto.
Dentre os encaminhados, 3 pacientes aceitaram participar do estudo e seguiram para avaliação clínica. Um seguiu para o Grupo TFD e dois para o grupo Glucantime. Aquele tratado pela TFD não apresentou regressão da lesão após 3 sessões de tratamento e, portanto, foi transferido para o tratamento convencional com Glucantime. No momento, este paciente terminou o ciclo de tratamento e está em acompanhamento para avaliação da cura clínica. Os outros dois pacientes estão iniciando o tratamento.

Conclusões

Devido à exigência da 15ª Regional de Saúde houve atraso no início de tratamento dos pacientes e os 3 pacientes selecionados ainda estão em processo de tratamento ou acompanhamento para avaliação da cura clínica.

Agradecimentos

A Fundação Araucária pela concessão da Bolsa PIBIC.

Referências

PERUSSI, J. R. Inativação fotodinâmica de microrganismos. **Química Nova**, v. 30, p. 988-994, 2007.

VENAZZI, E. A. S., ROBERTO, A. C. B. S., BARBOSA-TESSMANN, I. P., ZANZARINI, P. D., LONARDONI, M. V. C., & SILVEIRA, T. G. V. Polymerase chain reaction with lesion scrapping for the diagnosis of human American tegumentary leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101(4), p. 427-430, 2006.