



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

TIAGO DA SILVA NUNES

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE MEMBRANAS DE  
GELATINA CONTENDO ÁCIDO ÚSNICO ENCAPSULADO EM LIPOSSOMO**

ARACAJU

2019

TIAGO DA SILVA NUNES

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE MEMBRANAS DE GELATINA CONTENDO ÁCIDO ÚSNICO ENCAPSULADO EM LIPOSSOMO**

Monografia apresentada pelo aluno Tiago da Silva Nunes ao Departamento de Medicina da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Medicina, sob a orientação do Prof. Dr. Diego Moura Tanajura e coorientação da Msc. Luciana Garcez Barretto Teixeira.

**Orientador:** Prof. Dr. Diego Moura Tanajura

**Coorientadora:** Msc. Luciana Garcez Barretto Teixeira

ARACAJU

2019

TIAGO DA SILVA NUNES

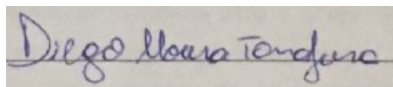
AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE MEMBRANAS DE  
GELATINA CONTENDO ÁCIDO ÚSNICO ENCAPSULADO EM LIPOSSOMO

Monografia apresentada pelo aluno Tiago da  
Silva Nunes ao Departamento de Medicina  
como requisito parcial a obtenção do título de  
Bacharel em Medicina.

---

Tiago da Silva Nunes

Autor



---

Prof. Dr. Diego Moura Tanajura

Orientador

---

Msc. Luciana Garcez Barretto Teixeira

Coorientadora

TIAGO DA SILVA NUNES

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE MEMBRANAS DE GELATINA CONTENDO ÁCIDO ÚSNICO ENCAPSULADO EM LIPOSSOMO

Monografia apresentada pelo aluno Tiago da Silva Nunes ao Departamento de Medicina como requisito parcial a obtenção do título de Bacharel em Medicina, sob orientação do Prof. Dr. Diego Moura Tanajura e coorientação da Msc. Luciana Garcez Barretto Teixeira.

Aprovado em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Universidade Federal de Sergipe

---

Universidade Federal de Sergipe

---

Universidade Federal de Sergipe

À Deus e aos pacientes

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço principalmente à Deus e aos meus pais por sempre estarem ao meu lado, nos momentos mais fáceis, mas também nos momentos mais difíceis, não somente da graduação, mas também de toda uma vida. Não tenho nem palavras para expressar tamanha gratidão. Obrigado também às minhas irmãs e ao meu sobrinho, pelos momentos de diversão e brigas, choros e alegrias, felicidades e decepções. Não sei o que seria de mim sem vocês.

As minhas melhores e mais longas amizades, alguns com quase 20 anos. Além, claro, aos companheiros de jornada do curso e aos companheiros de laboratório.

Ao Professor Diego Tanajura, por ser esse exímio orientador, além de um amigo. Aquele que me criou em mim um desejo de não somente buscar cada vez mais além do conhecimento científico, mas também construí-lo. Por todas oportunidades oferecidas. Por se preocupar mais com minhas obrigações acadêmicas do que eu mesmo em certos momentos. Também não tenho palavras para agradecer.

À Fapitec e a COPES-UFS pelo apoio financeiro para que possibilitasse esses quase 4 anos de Iniciação Científica.

Enfim, foi uma longa jornada... e será cada vez mais longa.

“Até mais, e obrigado pelos peixes”

*Douglas Adams*

## RESUMO

A Leishmaniose Cutânea Localizada é uma das formas clínicas mais comuns de Leishmaniose, sendo caracterizada pela presença de lesões ulcero-crostosas bem localizadas e delimitadas na superfície corpórea. No Brasil, a principal espécie associada a esta forma é a *Leishmania braziliensis*. Para seu tratamento, utilizam-se como primeira linha os Antimoniais Pentavalentes, que são de uso parenteral e associados a importante toxicidade sistêmica. Além disso, destaca-se nos últimos anos, um aumento cada vez maior de parasitos resistentes a esta classe de drogas. Dessa forma, tem-se o estímulo para o desenvolvimento de uma nova forma de tratamento localizada que possua eficácia semelhante ao tradicional, mas com menos efeitos colaterais associados. Neste contexto, o Sistema de Membranas de Gelatina contendo Ácido Úsnico encapsulado em lipossomo apresenta-se como uma proposta viável de tratamento, em decorrência das capacidades anti-inflamatória, antioxidante, cicatrizante e leishmanicida associadas a essa combinação de composto. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial *in vitro* deste sistema como uma nova forma de tratamento para Leishmaniose Cutânea Localizada causadas por isolados de *L. braziliensis*. Para isso, foi avaliada a viabilidade parasitária através de contagem direta após a exposição dos parasitos com o tratamento proposto. Observou-se uma redução significativa da viabilidade parasitária daqueles tratados com o presente sistema de acordo com um efeito dose dependente da concentração do Ácido Úsnico. Ademais, constatou-se que esta forma de tratamento mostrou um caráter irreversível, em que as culturas tratadas com este sistema, mesmo após a suspensão do tratamento, apresentaram menor viabilidade parasitária. Frente os resultados dos experimentos *in vitro* realizados, é possível afirmar que o Sistema de Membranas de Gelatina contendo Ácido Úsnico encapsulado em lipossomo apresenta potencial de servir como uma opção terapêutica para Leishmaniose Cutânea Localizada causada por parasitos da espécie *L. braziliensis*.

**Palavras-chave:** Leishmaniose Cutânea; Membranas Bioativas; Ácido Úsnico.

## ABSTRACT

Localized Cutaneous Leishmaniasis is one of the most common clinical forms of Leishmaniasis, characterized by the presence of ulcer-crust lesions well localized on the body surface. In Brazil, the main species associated with this form is *Leishmania braziliensis*. For its treatment, the Pentavalent Antimonials, which requires parenteral use and are associated with important systemic toxicity, are used as the first line drugs. In addition, in recent years there has been an increasing in parasites resistant to this class of drugs. Thus, there is a global stimulus for the development of a new form of localized treatment that has similar efficacy to the traditional one, but with fewer associated side effects. In this context, the Liposome-encapsulated Usnic Acid Gelatine Membrane System presents as a viable treatment proposal, due to the anti-inflammatory, anti-oxidant, healing and leishmanicidal abilities due to this composition combination. Because of what has been exposed, the present work aimed to evaluate the *in vitro* potential of this system as a new form of treatment for Localized Cutaneous Leishmaniasis caused by *L. braziliensis* isolates. For this, the parasite viability was evaluated by direct counting after the exposure of the parasites with the proposed treatment. A significant reduction in the parasite viability of those treated with the present system was observed according to a dose-dependent effect of the Usnic Acid concentration. In addition, it was found that this form of treatment showed an irreversible character, in which the cultures treated with this system, even after the suspension of the treatment, presented less parasitic viability. Based on the results of the *in vitro* experiments, it is possible to affirm that the Liposome-encapsulated Usnic Acid Gelatine Membrane System presents potential to serve as a therapeutic option for Localized Cutaneous Leishmaniasis caused by parasites of the species *L. braziliensis*.

**Keywords:** Cutaneous Leishmaniasis; Bioactive Membranes; Usnic Acid.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Ciclo de vida dos parasitos do gênero <i>Leishmania</i> .....	21
<b>Figura 2.</b> Distribuição Geográfica da Leishmaniose Cutânea no ano de 2015 .....	22
<b>Figura 3.</b> Lesão ulcerada característica da LCL. ....	23
<b>Figura 4.</b> Presença de parasitos do gênero <i>Leishmania</i> em sua forma amastigota encontrados dentro de Macrófago Humano infectado. ....	25

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Espécies de parasitas do gênero *Leishmania* classificadas de acordo com a forma clínica mais comum de cada uma e com a região do mundo em que são predominantes ..... 18

## LISTA DE ABREVIATURAS

AU – Ácido Úsnico

BOD – Demanda Bioquímica de Oxigênio

EP – Erro Padrão de Média

FIOCRUZ-BA – Fundação Oswaldo Cruz/Bahia

GM-CSF – Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos

IDRM – Intradermoreação de Montenegro

LCD – Leishmaniose Cutânea Difusa

LCL - Leishmaniose Cutânea Localizada

LD – Leishmaniose Cutânea Disseminada

LeFT – Laboratório de Ensaio Farmacêuticos e Toxicidade

LT – Leishmaniose Tegumentar

LV – Leishmaniose Visceral

M+AUl – Membranas de Gelatina contendo Ácido Úsnico encapsulado em Lipossomo

NNN – Meio Ágar-Sangue de Novy e McNeal modificado por Nicole

OMS – Organização Mundial da Saúde

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

RIFI – Reação de Imunoflorescência Indireta

SB<sup>V</sup> – Antimoniais Pentavalentes

SFM – Sistema Fagocítico Mononuclear

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	18
2.1	As Leishmanioses .....	18
2.2	Ciclo de Vida do Parasito .....	20
2.3	Epidemiologia da Leishmaniose Cutânea.....	21
2.4	Apresentação Clínica da Leishmaniose Cutânea Localizada .....	22
2.5	Diagnóstico da Leishmaniose Cutânea Localizada .....	24
2.6	Aspectos Terapêuticos da Leishmaniose Cutânea Localizada .....	27
2.7	Sistemas de Membranas de Gelatina .....	28
2.8	Ácido Úsnico .....	30
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	32
	<b>NORMAS DE PUBLICAÇÃO: REVISTA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL</b> .....	38
	<b>ATIVIDADE LEISHMANICIDA DO ÁCIDO ÚSNICO ENCAPSULADO EM LIPOSSOMOS ADSORVIDOS EM MEMBRANAS DE GELATINA</b> .....	50
	AGRADECIMENTOS.....	50
	SUPORTE FINANCEIRO.....	50
	RESUMO .....	51
	INTRODUÇÃO .....	52
	MÉTODOS .....	53
	RESULTADOS.....	56
	DISCUSSÃO.....	57
	CONFLITOS DE INTERESSE .....	59
	REFERÊNCIAS .....	60

TÍTULOS E LEGENDAS.....	63
ANEXO.....	64
<b>APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO .....</b>	<b>65</b>
<b>APÊNDICE B - PRODUÇÃO CIENTÍFICA DESENVOLVIDA .....</b>	<b>68</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As Leishmanioses são um grupo de doenças infecto parasitárias capazes de apresentar grande variedade de manifestações clínicas, decorrente da infecção dos indivíduos por parasitos do gênero *Leishmania* (DANTAS-TORRES et al, 2006). Dentre as mais diversas formas de classificação destas doenças, a que mais se destaca define duas formas clínicas de Leishmaniose, a depender do principal local de acometimento do parasito, Visceral ou Tegumentar. Esta, por sua vez, pode ser subclassificada em 4 outras formas clínicas: Cutânea Localizada, Cutânea Disseminada, Cutânea Difusa e Mucocutânea (JIRMANUS et al., 2012).

Destas, a forma mais comum corresponde a forma Tegumentar, cuja estimativa anual de casos varia de 600.000 a 1.000.000 mundialmente (DNDi, 2016). No entanto, a maior parte destes casos são encontrados em países considerados subdesenvolvidos, onde há maior exposição dos indivíduos ao vetor da doença (DAVID; CRAFT, 2009). O Brasil tem a Leishmaniose Cutânea Localizada (LCL) como a forma mais comum de Leishmaniose Tegumentar no país, sendo o principal agente etiológico a espécie *Leishmania braziliensis* (BITTENCOURT et al., 2002).

Em todas as formas clínicas, a transmissão se dá através da picada da fêmea do Flebotomíneo, da família *Psychodidae*. No momento do repasto sanguíneo, as formas flageladas, denominadas promastigotas, são inoculadas na corrente sanguínea do ser humano. Este, ativa sua resposta imune, determinando a fagocitose dos parasitos pelas células do Sistema Fagocítico Mononuclear (SFM), em especial pelos macrófagos, quando então os parasitos se tornam amastigotas, aflagelados (BANULS et al., 2007). A depender da disseminação e da extensão do acometimento, variável de acordo com a espécie do parasito e com o estado do sistema imune, o indivíduo apresenta diferentes formas clinicas da doença (LAINSON et al, 1987; YURCHENKO et al., 2000).

No que diz respeito a LCL, o acometimento no indivíduo é bem localizado e delimitado topograficamente, nos quais os parasitos são encontrados infectando macrófagos presentes na camada dérmica da pele (VAN BOCXLAER et al., 2016). Estas lesões, porém, apresentam também um amplo espectro de manifestações clínicas, desde pápulas eritematosas até a lesão descrita como clássica, lesão úlcero-crostosa de bordas elevadas e fundo recoberto por material exsudativo com 5 a 10 mm de diâmetro (BANULS et al., 2007; DAVID; CRAFT, 2009). No geral, são lesões de caráter autolimitado, possuindo regressão espontânea em um período que

varia de 3 a 18 meses, embora possa dar origem a lesões cicatriciais desconfigurantes, que podem comprometer as atividades sociais e de vida diária do indivíduo (OMS, 2010).

O diagnóstico da LCL é realizado a partir da associação entre dados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais da doença (REITHINGER et al., 2007). Dentre os principais exames complementares, destaca-se a pesquisa direta de parasitos através de biópsia ou de aspiração do material da borda da lesão, sendo considerado um método simples e com a maior especificidade dentre as outras técnicas diagnósticas existentes (GONTIJO; CARVALHO, 2003). Outros exames disponíveis vão desde a realização de culturas até métodos de Biologia Molecular e Reações de Imunofluorescência, cada um com suas limitações associadas (COSTA et al., 2009).

Os Antimoniais Pentavalentes (SB<sup>v</sup>), independentemente da forma clínica da Leishmaniose, são as drogas de primeira linha utilizadas no tratamento. Estas atuam comprometendo o metabolismo oxidativo dos parasitos em sua forma amastigotas, prejudicando processos importantes para sua viabilidade (CHULAY et al., 1988; HANDJANI et al., 2017). Este tratamento, porém, está associado com importante toxicidade em órgãos como coração, fígado e rins, limitando, por muitas vezes, a continuidade do tratamento (AMATO et al., 2007). As drogas de segunda linha, como a Anfotericina B e Miltefosina, possuem importantes limitações quanto ao seu uso, tanto decorrente dos efeitos colaterais quanto da eficiência do tratamento a elas associado (CROFT; OLLIARO, 2011; RAKOTOMANGA et al., 2007; SINGH et al., 2012).

Tais formas de tratamento, por sua vez, apresentam uma importante limitação pois correspondem a uma terapêutica sistêmica para o tratamento de uma doença bem localizada, no caso da LCL (VAN BOCXLAER et al., 2016). Ademais, observa-se, nos últimos anos, aumento no número de parasitos considerados resistentes aos tratamentos disponíveis. Frente a isto, o Comitê de Peritos da Organização Mundial da Saúde estimula e fomenta o desenvolvimento de formas de tratamento tópico para a LCL (OMS, 2013; SILVA et al., 2016).

O uso de Membranas Bioativas vem ganhando cada vez mais espaço como opção terapêutica para as mais diversas patologias na prática médica (NEEL et al., 2013; KANOLPANONT et al., 2012). Destes, o uso de Membranas compostas por colágeno hidrolisado, gelatinas, vem sendo amplamente estudada no tratamento de pacientes queimados, com resultados bastante promissores. Isto, por sua vez, se dá pelo poder cicatrizante do colágeno (LAINSON et al, 1987; HELARY et al., 2006; RUSZCZAK et al., 2003). Dessa forma, o uso das Membranas de Gelatina aparenta ser promissor no tratamento da LCL. Além

disso, tais membranas podem ser associadas a fármacos, capazes assim, de potencializar o poder terapêutico das Membranas (LOSS et al., 2000).

O Ácido Úsnico (AU), composto derivado de líquens, apresenta, dentre outras, propriedades anti-inflamatória e cicatrizante (BRUNO et al., 2013). O uso deste composto associado as Membranas de Gelatina mostrou-se já bastante promissor nos pacientes queimados (ARAÚJO et al., 2015). Além disso, é descrito em literatura o poder leishmanicida do AU, ao agir na membrana plasmática do parasito (FOURNET et al., 1997; DERICI et al., 2018). No entanto, o uso do AU apresenta uma importante limitação tendo vista o fato de não ser um composto solúvel em água (FRANCOLINI et al., 2013). Frente a isto, uma alternativa corresponde a utilização de sistemas de distribuição Lipossomal, que apresenta uma natureza anfifílica, capaz de carrear drogas de diferentes naturezas, bem como proporcionar uma liberação controlada das drogas (FERREIRA; RANGEL, 2009; PATEL et al., 2010; KALAT et al., 2014).

Diante do exposto, o sistema de Membranas de Gelatina contendo Ácido Úsnico encapsulado em Lipossomo (M+AU) possui potencial de ser uma alternativa terapêutica viável e eficiente no tratamento da LCL. Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a viabilidade de parasito da espécie *L. braziliensis* ao tratamento, *in vitro*, com o sistema M+AU.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 As Leishmanioses

As leishmanioses compreendem um extenso grupo de doenças infecto parasitárias negligenciadas causadas por parasitos do gênero *Leishmania*, protozoários intracelulares (DANTAS-TORRES, 2006). Dentro deste gênero, é possível encontrar mais de 20 espécies de parasitos, distribuídas em dois subgêneros diferentes: *Leishmania* e *Viannia* (Tabela 1), muito embora, destas cerca de 17 espécies são identificadas como patogênicas no ser humano (CROFT et al., 2006). Cada espécie, por sua vez, apresenta diferentes tropismos entre si, seja por pele, mucosas ou vísceras, o que justifica a extensa variedade de manifestações clínicas características deste grupo de doenças (LAINSON et al, 1987; YURCHENKO et al., 2000; BANULS et al., 2007). Tal fato, associado ao tipo de resposta imunológica de cada indivíduo, seja celular ou humoral, leva a diferentes extensões de acometimento orgânico, podendo-se assim classificar as Leishmanioses em sua forma Visceral ou Tegumentar (LAINSON et al, 1987; BANULS et al., 2007).

**Tabela 1.** Espécies de parasitos do gênero *Leishmania* classificadas de acordo com a forma clínica mais comum de cada uma e com a região do mundo em que são predominantes (Adaptado de Petersen, 2015)

	LCL	LCD	LMC	LV
Espécies do Velho Mundo	<i>L. (L.) major</i> <i>L. (L.) tropica</i> <i>L. (L.) aethiopica</i> <i>L. (L.) infantum</i>	<i>L. (L.) aethiopica</i>	<i>L. (L.) major</i> <i>L. (L.) tropica</i> <i>L. (L.) infantum</i> <i>L. (L.) donovani</i>	<i>L. (L.) infantum</i> <i>L. (L.) donovani</i>
Espécies do Novo Mundo	<i>L. (L.) venezuelensis</i> <i>L. (L.) mexicana</i> <i>L. (L.) amazonensis</i> <i>L. (L.) infantum</i> <i>L. (V.) lainsoni</i> <i>L. (V.) naiffi</i> <i>L. (V.) peruviana</i> <i>L. (V.) shawi</i> <i>L. (V.) braziliensis</i> <i>L. (V.) guyanensis</i> <i>L. (V.) panamensis</i>	<i>L. (L.) mexicana</i> <i>L. (L.) amazonensis</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i> <i>L. (V.) guyanensis</i> <i>L. (V.) panamensis</i>	<i>L. (L.) infantum</i>

**LCL.** Leishmaniose Cutânea Localizada. **LCD.** Leishmaniose Cutânea Difusa. **LMC.** Leishmaniose Mucocutânea. **LV.** Leishmaniose Visceral.

A forma Visceral (LV) é considerada a mais grave da doença, tendo vista que ela se caracteriza pelo comprometimento de órgãos como fígado, baço, linfonodos e medula óssea (FIOCRUZ, 2013). Muito embora a real gravidade da doença varia de acordo com a virulência do parasito, bem como da resposta imune do hospedeiro (LAINSON et al, 1987; YURCHENKO et al., 2000). Em geral, o indivíduo com LV apresenta-se como um paciente crônico, com febre irregular e de longa duração, associada a hepatoesplenomegalia, linfadenopatia, hipergamaglobulinemia, hipoalbuminemia, pancitopenia e debilidade progressiva (BERMAN, 1997). Aproximadamente 90% dos casos estão concentrados em 6 países: Bangladesh, Etiópia, Índia, Sudão, Sudão do Sul e Brasil (OMS, 2016).

Já no que diz respeito a forma Tegumentar (LT) da doença, esta pode ser subclassificada em quatro diferentes formas clínicas: cutânea localizada, cutânea disseminada, cutânea difusa e mucocutânea. Destas, a forma cutânea localizada (LCL) é a mais frequente na população mundial, correspondendo a cerca de 95% dos casos de LT. Esta forma, por sua vez, se caracteriza pela presença de úlceras nas superfícies expostas do corpo, geralmente no rosto e nos membros (JIRMANUS et al., 2012; DNDi, 2016)

A forma cutânea difusa (LCD), em contraste com a LCL, é a forma mais rara de LT, afetando pacientes que apresentam comprometimento importante da sua resposta celular. Em geral, os indivíduos apresentam lesões cutâneas, com intenso parasitismo, disseminadas pelo corpo, com altas taxas de reincidência após o tratamento (COSTA et al., 1992; BARRAL et al., 1996; BANULS et al., 2007).

Já forma cutânea disseminada (LD), também uma forma rara de apresentação da LT, se caracteriza pela presença de inúmeras lesões papulosas disseminadas por todo o corpo, embora acometa de maneira especial tronco e face, pode também comprometer mucosas em até 38% dos casos. As lesões da LD regredem rapidamente a partir da instituição do tratamento, embora raramente alcancem a cura (TURETZ et al., 2002).

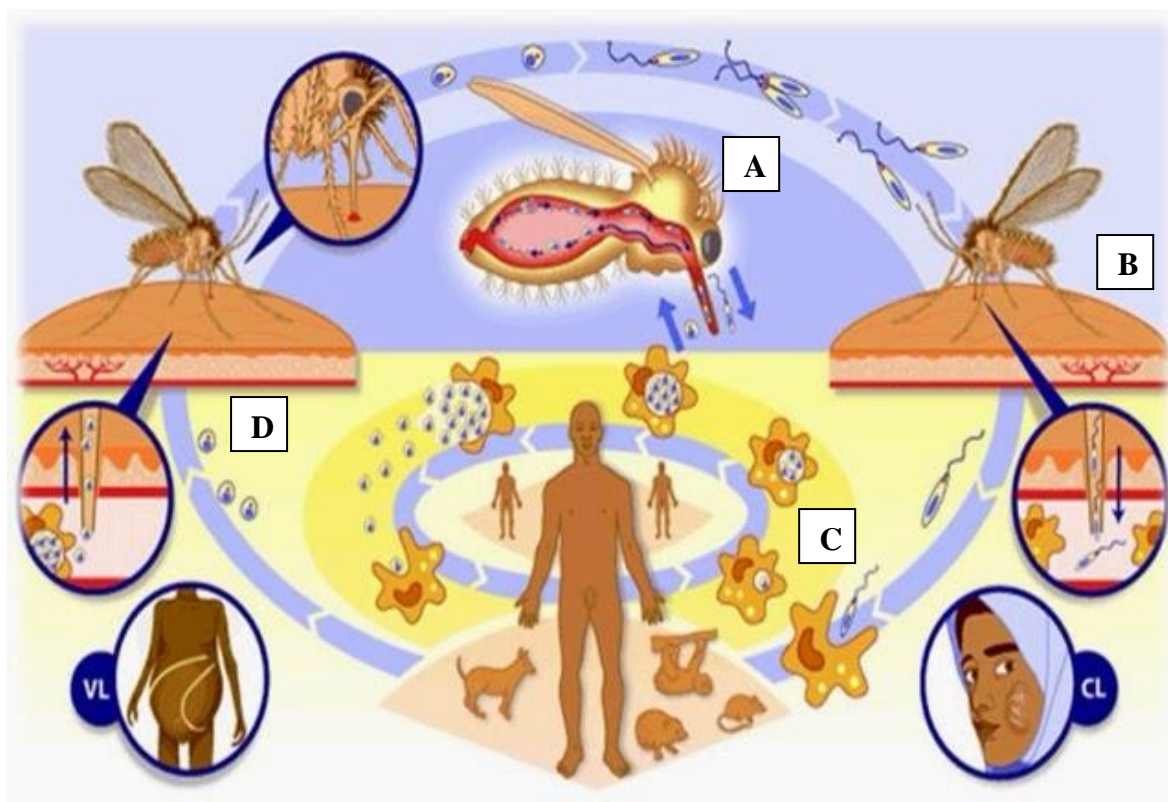
Por fim, a forma muco-cutânea, em muitos casos, são resultados da evolução de casos primários da LCL após cura da lesão inicial, especialmente nos pacientes que apresentam algum tipo de comprometimento imune, como os portadores de HIV (DE OLIVEIRA; BRODSKYN, 2012; STRAZZULLA et al., 2013). As lesões, por sua vez, não se restringem somente a pele, ocasionando intensa destruição de mucosas, como a nasal e a da faringe, bem como a de tecidos circunjacentes (BANULS et al., 2007; da COSTA et al., 2014; MCGWIRE; SATOSKAR, 2014).

## 2.2 Ciclo de Vida do Parasito

Os parasitos do gênero *Leishmania* são caracterizados como digenéticos, tendo em vista que, ao longo do seu ciclo de vida, apresentam duas morfologias distintas a depender da presença ou da ausência de flagelo, denominadas promastigotas e amastigota, respectivamente (HANDMAN et al., 1999). A forma promastigota é encontrada em hospedeiros invertebrados e a forma amastigota em vertebrados. Dessa forma, por alternar entre estes dois tipos de hospedeiros, o ciclo é também caracterizado como um ciclo heteroxênico (BANULS et al., 2007). Ademais, tendo em vista que, em geral, o hospedeiro vertebrado corresponde ao ser humano, é possível classificar as Leishmanioses como antropozoonoses (HANDMAN et al., 1999).

O hospedeiro invertebrado presente no ciclo de vida das espécies do gênero *Leishmania* correspondem às fêmeas dos insetos família *Psychididae*, que compreende os gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia*, em geral, nomeado de Flebotomíneo. Nestas, predominam as formas promastigotas do parasito, encontrada no tubo digestivo, local onde se apresentam em constante divisão e expansão numérica através de fissão binária. Através desse processo, origina-se a forma promastigota metacíclica, morfologicamente semelhante à forma promastigota, mas que agora é considerada infectante. Assim, esta forma, é inoculada na corrente sanguínea do ser humano através da saliva do flebótomo no momento do repasto sanguíneo (BANULS et al., 2007; HANDMAN et al., 1999). Além disso, destaca-se a presença de substâncias anticoagulantes, vasodilatadoras e imunomoduladoras na saliva dos vetores, que facilitam e favorecem a transmissão do parasito e sua interação com as células do ser humanos (KAMHAWI, 2000; SACKS; KAMHAWI, 2001)

Ao ganharem a corrente sanguínea, os parasitos em sua forma promastigota infectam as células do Sistema Fagocítico Monocitário (SFM), especialmente os macrófagos, e originando então a forma amastigota, após a ocorrência da fagocitose (GRIMALDI et al., 1993; MURRAY et al., 2005). Após a infecção, os parasitos expandem-se e disseminam-se para diversos pontos do organismo, em geral, fígado, baço e medula, locais que apresentam grande quantidade de células do SFM e que definem a forma clínica da doença no ser humano. Em um novo repasto sanguíneo, as fêmeas do flebótomo inoculam as formas amastigotas encontradas no interior das células do SFM ou livres na circulação sanguínea, ganhando o tubo digestivo destas, onde se expandem e tornam-se promastigotas, reiniciando assim, o ciclo de vida destes parasitos (Figura 1) (BANULS et al., 2007).

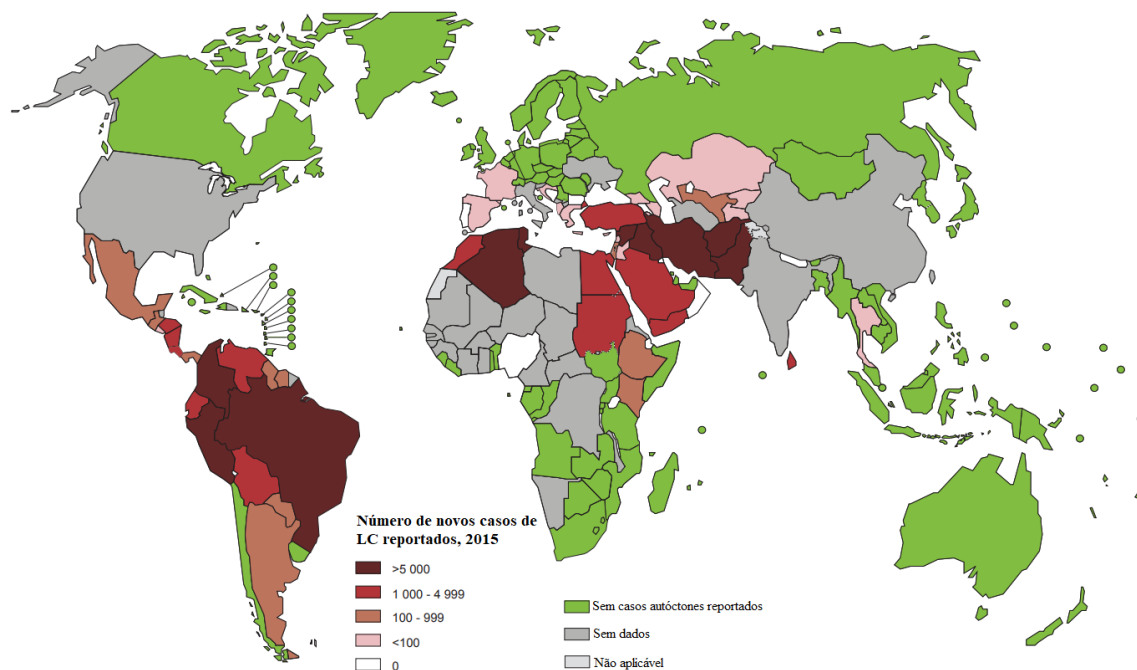


**Figura 1.** Ciclo de vida dos parasitos do gênero *Leishmania*. (A) Os parasitos na forma promastigota multiplicam-se no interior do flebótomo da família *Psychodidae* e tornam-se promastigotas metacíclicas, infectantes. (B) No momento do repasto sanguíneo, os parasitos são inoculados e ganham a corrente sanguínea. (C) Os parasitos são então fagocitados pelas células do SFM e ganham a forma amastigota, se multiplicam e disseminam pelo organismo. (D) Em um novo repasto sanguíneo, as formas amastigotas vão para o tubo digestivo do vetor, onde expandem e tornam promastigotas. **VL.** Leishmaniose Visceral. **CL.** Leishmaniose Cutânea Localizada (Adaptado de TDR – For Research on Diseases of Poverty. Disponível em: <https://www.who.int/tdr/diseases-topics/leishmaniasis/en/>. Acesso em 12 de maio de 2019)

### 2.3 Epidemiologia da Leishmaniose Cutânea

A Leishmaniose Cutânea (LC) apresenta uma ampla distribuição geográfica sendo considerada endêmica em diversas regiões do mundo, com registro de cerca de 600.000-1.000.000 de casos ao ano (DNDi, 2016). Dentre tais regiões, destaca-se a endemicidade característica desta doença nos países considerados subdesenvolvidos, com condições socioeconômicas menos favoráveis (Figura 2) (DAVID; CRAFT, 2009). Estima-se que cerca de dois terços dos casos de LC estejam concentrados em 6 países: Afeganistão, Algéria, Brasil, Colômbia, Irã e Síria (OMS, 2015).

## Endemicidade da Leishmaniose Cutânea no mundo, 2015



**Figura 2.** Distribuição Geográfica da Leishmaniose Cutânea no ano de 2015. Nota-se a presença de maior número de casos em países que apresentam piores condições socioeconômicas, representados em tonalidade mais escura (Adaptado de OMS, 2016).

No que diz respeito ao Brasil, a LCL corresponde a forma mais comum de LT no país. Desde o ano de 2014, quando foram registrados 20.765 casos pelo SINAN/SVS, observou-se uma queda no número de casos confirmados até o ano de 2016, com o registro de 12.977 casos. Os dados mais recentes, que datam de 2017, por sua vez, mostram um aumento no registro de casos confirmados no país, 17.261 casos (BRASIL, 2019).

Na Região Nordeste, por sua vez, a LCL corresponde a cerca de 90% dos casos de LT, acometendo, em geral, homens jovens adultos que trabalham no campo (JIRMANUS et al., 2012; DNDi, 2016). No ano de 2017, esta região representava cerca de 37% dos casos de LCL no país, correspondendo a 4.742 casos registrados. Destes, cerca de 60% (2.832) foram registrados na Bahia. No estado de Sergipe, por sua vez, foram registrados somente 5 casos de LCL neste mesmo ano (BRASIL, 2019).

### 2.4 Apresentação Clínica da Leishmaniose Cutânea Localizada

De modo geral, as Leishmanioses são caracterizadas por possuírem pacientes com quadros crônicos e progressivos, ou seja, com morbidade bastante significativa, enquanto que

a mortalidade da doença é comumente baixa (OMS, 2010). No que diz respeito a LCL, em decorrência das lesões cutâneas e de suas sequelas nos indivíduos, se caracteriza por comprometer as relações sociais e a qualidade de vida dos pacientes, ocasionando significativa taxa de morbidade, ao passo que a de mortalidade não atinge índices considerados expressivos (OMS, 2016).

A LCL se caracteriza por ser uma doença bem localizada e delimitada no organismo, na qual o parasito infecta os macrófagos presentes na camada dérmica da pele, dando origem as lesões características desta forma clínica (VAN BOCXLAER et al., 2016). Ademais, destaca-se o fato de que, predominantemente, tais lesões são encontradas em áreas expostas na superfície da pele do paciente, em geral braços, pernas e face, locais em que o Flebotomíneo entra em contato direto com o paciente (MEARS et al., 2015).

Tais lesões, por sua vez, apresentam um espectro amplo de manifestações clínicas, sendo resultado de fatores que vão desde a virulência da espécie de parasito infectante até o estado do sistema imunológico do hospedeiro. Num primeiro momento, em geral, as lesões se apresentam como formações papulares e eritematosas, cujo diâmetro variam de 5 a 10 mm em regiões delimitadas da superfície corpórea. Em seguida, muitas destas lesões eclodem e ganham a forma de lesões ulcero-crostosas de bordas elevadas e fundo recoberto por material exsudativo, sendo esta a forma clássica de apresentação da LCL (Figura 3) (DAVID; CRAFT, 2009; BANULS et al., 2007)



**Figura 3.** Lesão ulcerada característica da LCL.

(Disponível em [https://www.who.int/leishmaniasis/Cutaneous\\_Leishmaniasis\\_hr.jpg?ua=1](https://www.who.int/leishmaniasis/Cutaneous_Leishmaniasis_hr.jpg?ua=1). Acesso em 13 de maio de 2019)

Outro sinal clínico bastante comum encontrado no quadro clínico da LCL, além das lesões ulcerativas características, corresponde a presença de linfadenopatias regionais, que precedem as ulcerações no período entre 1 a 12 semanas (GONTIJO; CARVALHO, 2003). Estas, por sua vez, se associam com a maior ocorrência de recidiva da doença, tendo em vista a presença de parasitos no interior das células do SFM encontrados nestes gânglios linfáticos (GUIMARÃES et al., 2016).

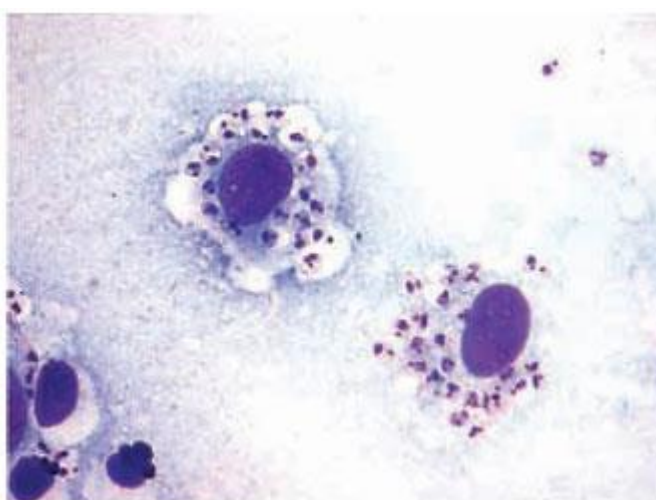
O quadro clínico da LCL, porém, na maioria dos casos, é autolimitado, no qual as lesões apresentam regressão e cura espontânea num período que varia de 3 a 18 meses a partir da lesão inicial. No entanto, após a cura, as lesões de pele resultam na presença de lesões cicatriciais locais desconfigurantes. Estas, por sua vez, são as principais responsáveis pela estigmatização associada a LCL, capazes de comprometer as relações sociais e as atividades de vida diária do indivíduo (OMS, 2010; DAVID; CRAFT, 2009).

Embora diversas espécies possam ocasionar a LCL, as lesões causadas pela *L. braziliensis* se distingue das outras devido a cronicidade, latência e tendência de metástase no hospedeiro, além de ser a espécie mais associada a esta forma clínica no país (BITTENCOURT et al., 2002). Isto se deve em decorrência da capacidade do parasito em persistir na cicatriz da lesão mesmo após cura espontânea ou quimioterápica, persistindo assim sua capacidade de replicação e recidiva da doença (SCHUBACH et al., 1998). Estas lesões, por sua vez, apresentam-se com uma extensa destruição de tecido local bem como apresentam risco de ocasionar a forma cutânea disseminada, caso o parasito ganhe a corrente sanguínea (MENDONÇA et al., 2004).

## 2.5 Diagnóstico da Leishmaniose Cutânea Localizada

O diagnóstico da LCL é decorrente da associação de elementos que compreendam aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais (REITHINGER et al., 2007). Os aspectos clínicos, por sua vez, podem tornar a suspeita não simples ou imediata, em decorrência da grande variabilidade de apresentações clínicas das lesões da LCL, devendo-se realizar o diagnóstico diferencial com outras patologias, baseando-se, sobre tudo, nos aspectos epidemiológicos. Destas, as principais são úlceras traumáticas ou por estase, piodermites, paracoccidiomicose, neoplasias cutâneas, sífilis e tuberculose cutânea (GONTIJO; CARVALHO, 2003).

No que diz respeito aos exames complementares, aqueles que realizam o diagnóstico parasitológico são que possuem maior especificidade, podendo ser divididos em 3 grupos: exame direto, cultura e reação de cadeia da polimerase (PCR) (MOTA; MIRANDA et al., 2011). Destes, o exame direto através da pesquisa das formas amastigotas do parasito através da biópsia ou da aspiração de material da borda da lesão possui especial destaque devido a sua simplicidade, sendo normalmente o primeiro exame a ser realizado na investigação diagnóstica (Figura 4). No entanto, a sensibilidade diagnóstica deste exame é amplamente variável, de 100% até 20%, a depender da duração da lesão e do local em que fora obtida a amostra (GONTIJO; CARVALHO, 2003).



**Figura 4.** Presença de parasitos do gênero *Leishmania* em sua forma amastigota encontrados dentro de Macrófago Humano infectado. (ULHÔA et al., 2013)

Outro método de Diagnóstico Parasitológico corresponde a cultura dos parasitos obtidos de material extraído da borda da lesão, por biópsia ou aspiração, em meio Ágar Sangue de Novy e McNeal modificado por Nicole (NNN) em 26°C. Desta forma, na presença do parasito da lesão, observa-se expansão de sua cultura. No entanto, este método apresenta limitação importante pois necessita de recursos materiais laboratoriais adequados e humanos qualificados, não disponível na realidade de muitos locais, bem como pela sensibilidade global de 50% associada a este método (GONTIJO; CARVALHO, 2003).

É possível também realizar a inoculação do material obtido na pata ou no focinho de animais de laboratórios. O diagnóstico por este método, porém, demanda um longo período de tempo, bem como sua eficácia varia conforme a espécie de *Leishmania* da lesão, sendo, então, um método pouco utilizado na prática. Por fim, é possível a obtenção do diagnóstico

parasitológico através de exames de PCR que apresentam sensibilidade e especificidade elevadas, de 98,4% e 95,6%, respectivamente. Este método, todavia, necessita de exigências técnicas específicas para sua realização, bem como possui um custo bastante elevado, o que limita seu emprego rotineiramente (GONTIJO; CARVALHO, 2003)

O Diagnóstico Imunológico compreende uma outra vertente de exames complementares a serem realizados na investigação clínica da LCL. Dos principais exames, destaca-se a Intradermorreação de Montenegro (IDRM), uma reação de hipersensibilidade tardia a um antígeno comum dos parasitos do gênero *Leishmania*. Após a inoculação deste antígeno na face flexora do antebraço, considera-se o teste como positivo quando, após 48-72 horas, nota-se a presença de uma endureção local com diâmetro maior que 5 mm (REITHINGER et al., 2007). Este método possui elevadas sensibilidade e especificidade nas áreas em que a LCL é endêmica, com positividade estimada de 84% para LCL. No entanto, a IDRM é capaz de realizar o diagnóstico presuntivo da doença, indicando se o indivíduo teve contato com o parasito, não necessariamente manifestando a doença ou indicando um tratamento prévio, situações nas quais o teste apresenta-se positivo, bem como pode manifestar a doença e apresentar-se negativo nos indivíduos imunodeprimidos (GONTIJO; CARVALHO, 2003).

Já no que diz respeito aos métodos de diagnóstico sorológico, a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) apresenta importante sensibilidade diagnóstica para LCL causadas por parasitos da espécie *L. braziliensis*, cerca de 71%, sendo assim o mais utilizado desse grupo (MENDONÇA et al., 1988). Além disso, é possível realizar, através desse exame, o acompanhamento do tratamento, tendo em vista que os títulos podem cair ou desaparecerem durante o tratamento e a cura. No entanto, nas fases iniciais da doença, a RIFI pode apresentar resultado negativo, bem como pode ser positiva em decorrência de reações cruzadas com os agentes etiológicos da Doença de Chagas e da LV (COSTA et al., 2009).

Muito embora os exames diagnósticos possam modificar seus resultados com o estabelecimento do tratamento, o critério de cura da LCL é clínico. Este, por sua vez, corresponde a reepitelização das lesões ulceradas e não ulceradas, com regressão completa da infiltração e do eritema no período de 3 meses após a finalização do esquema terapêutico (GONTIJO; CARVALHO, 2003; COSTA et al., 2009)

## 2.6 Aspectos Terapêuticos da Leishmaniose Cutânea Localizada

Atualmente, o tratamento de primeira linha para LT consiste na administração via parenteral de antimoniais pentavalentes (SB<sup>V</sup>), como o antimoniato de meglumina/Glucantime ou o estibogluconato de sódio/Pensostam. Os antimoniais agem ao interferir no metabolismo oxidativo das formas amastigotas de *Leishmania* promovendo a inibição da glicólise e da oxidação de ácidos graxos, resultando numa produção reduzida de ATP e de GTP. Ademais, estas drogas apresentam ainda outros mecanismos de ação, como ligação inespecífica aos grupos sulfidrílicos das proteínas das amastigotas (CHULAY et al., 1988; BERMAN, 1997; HANDJANI et al., 2017).

Por sua vez, o uso intralesional do SB<sup>V</sup> apresentou resultados extremamente variáveis quanto a cura das lesões dos pacientes, com a taxa de cura variando de 26,3% até 100%. Dentre os fatores que justificam esta grande variabilidade nas taxas de cura, destaca-se tanto a diferença quanto a resposta do paciente quanto às espécies de *Leishmania* envolvidas na infecção (NAVIN et al., 1990; ROMERO et al., 2001). Além desses, o uso em baixas doses dos antimoniais podem também justificar o alto índice de falha terapêutica deste tipo de tratamento. No entanto, mesmo em baixas doses, o uso de SB<sup>V</sup> associado a imunoterapia do tratamento tópico com Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos (GM-CSF) apresentou alta taxa de cura, chegando a cifras de 100%, mesmo em pacientes refratários (MACHADO-PINTO et al. 2002; ALMEIDA et al., 2005).

Entretanto, o uso de SB<sup>V</sup> se associa com significativa toxicidade sistêmica, sendo capaz de acometer coração, fígado, rins e pâncreas (AMATO et al., 2007). Devido a isto, é importante a reavaliação constante do paciente, evitando o agravamento dos efeitos colaterais, capazes de gerar insuficiência renal e arritmias graves, ou, até mesmo, óbito. A toxicidade, por sua vez, apresenta caráter reversível após a suspensão do tratamento (OLIVEIRA et al., 2011). Outros efeitos colaterais associados ao uso dessa classe de drogas compreendem mialgia, náuseas, vômitos, diarreia, febre, cefaleia, anorexia, fadiga, dentre outros (OLIVEIRA et al., 2011).

Ademais, é importante ressaltar que o uso de antimoniais também está associado com a indução para o aparecimento de parasitos resistentes a essa classe de drogas (HANDJANI, et al., 2017; AMATO et al., 2007). Dentre os locais aos quais a presença de parasitos resistentes se destaca, a Índia ganha forte importância. Isto, por sua vez, se associa ao fato de os SB<sup>V</sup> serem comercializados livremente, fazendo com que haja o seu uso indiscriminado e em doses consideradas não efetivas, promovendo assim a seleção dos parasitos considerados resistentes (CROFT; SUNDAR et al., 2006).

No arsenal terapêutico das drogas consideradas de segunda linha para o tratamento, destaca-se a Anfotericina B, tanto em sua apresentação como Deoxicolato quanto na Lipossomal (SANTOS et al., 2014). Esta, por sua vez, está associada com a menor ocorrência dos efeitos colaterais geralmente esperados no tratamento com SB<sup>V</sup>, sendo assim, melhor tolerado pelo paciente (SOLOMON et al., 2013). No entanto, já foi demonstrado anteriormente que, apesar dos menores efeitos colaterais, o tratamento com a Anfotericina Lipossomal apresenta menor taxa de cura quando comparado ao tratamento com SB<sup>V</sup> (MOTTA; SAMPAIO, 2012). Porém, o principal limitador do uso dessa droga corresponde ao custo bastante elevado, sendo muitas vezes inviável o seu uso em locais em que a doença é considerada endêmica (CROFT; OLLIARO, 2011).

Outras drogas de segunda linha compreendem a Pentamidina, Miltefosina e a Paromomicina, cuja indicações de uso para o tratamento da LCL são bastante restritas, em decorrência da alta variabilidade das taxas de curas associadas ao tratamento (SANTOS et al., 2014). Esta variabilidade, por sua vez, é decorrente do perfil de resistência do parasito, que varia tanto a depender da espécie quanto o local geográfico (CROFT; OLLIARO, 2011; RAKOTOMANGA et al., 2007; SINGH et al. 2012). Cabe destacar, porém, que estes tratamentos considerados de segunda linha, quanto o tratamento com SB<sup>V</sup>, são tratamentos em geral administrados via parenteral, embora existam formulação oral da Miltefosina e tópica da Paromomicina, para uma doença cujo acometimento é bem localizado na camada dérmica da pele (VAN BOCXLAER et al., 2016).

Já no que diz respeito aos métodos físicos de tratamento, embora ainda não haja um que possa ser formalmente encontrado dentre as opções terapêuticas para LCL, destacam-se a termoterapia e a crioterapia. Ambas as opções já demonstraram taxas de cura significativas, muitas vezes semelhantes ou, até mesmo, superiores ao tratamento com o uso do antimônio intralesional, porém, com menor intensidade de efeitos colaterais (ARONSON et al., 2010; JOWKAR et al., 2012; AURELIANO et al., 2018). No entanto, tais métodos necessitam de maiores estudos para que possam ser acrescentados no rol de tratamentos disponíveis para a LCL.

## 2.7 Sistemas de Membranas de Gelatina

A Organização Mundial da Saúde (OMS), através de entidades como o seu Comitê de Peritos, fomenta o estímulo para o desenvolvimento de novas formas de tratamentos localizados para a LCL (OMS, 2013). Desta forma, abre-se o caminho para o desenvolvimento de novas

formulações que, mesmo possuindo eficácia semelhante aos tratamentos sistêmicos atualmente empregados, estejam associadas a menores efeitos adversos (SILVA et al., 2016). Algumas alternativas de tratamentos tópicos já foram desenvolvidas, como o uso da Paromomicina e de Anfotericina B, muito embora nenhuma se apresentasse completamente satisfatória em decorrência dos efeitos adversos ou da falta de eficácia dos tratamentos (BEN SALAH et al., 2013; LAYEGH et al., 2011; NEAL et al., 1994; GONZÁLEZ et al., 2008).

Neste contexto, os polímeros naturais vêm ganhando cada vez mais espaço no campo da saúde para o tratamento localizado das mais diversas patologias que acometem a pele. Dentre os principais pontos favoráveis, destaca-se a biocompatibilidade do material com tecidos humanos, bem como pela sua biodisponibilidade, além de satisfazerem algumas das exigências esperadas para um curativo ideal (NEEL et al., 2013; KANOLPANONT et al., 2012). Em relação a outros benefícios associados ao uso de membranas bioativas, destaca-se a prevenção da desidratação da lesão cutânea, aceleração da angiogênese, indução da epitelização e formação do tecido de granulação, além de servir como barreira mecânica, como proteção da lesão contra microrganismos do ambiente (KANOLPANONT et al., 2012; LABOUTA; SCHNEIDER, 2013).

O uso de colágeno hidrolisado, ou gelatina, vem ganhando cada vez mais espaço como um dos tipos de materiais mais utilizados na confecção das membranas bioativas para o tratamento de lesões cutâneas. Dentre outros, a utilização dessas membranas na terapêutica de pacientes queimados é amplamente estudada em ensaios clínicos, possuindo resultados bastante promissores (ARAÚJO et al., 2015). Tal fato, por sua vez, se justifica pelo fato de a gelatina apresentar importante biocompatibilidade tecidual, bem como baixa patogenicidade e imunogenicidade, além de o próprio colágeno ser capaz de estimular a proliferação de miofibroblastos, componente essencial no processo de reparação tecidual da lesão (RUSZCZAK et al., 2003; HELARY et al., 2006).

Outro ponto bastante interessante no que diz respeito às membranas de gelatina corresponde a possibilidade de incorporar diferentes fármacos de liberação prolongada para auxiliar o tratamento (LOSS et al., 2000; NICOLOSI; MORAIS, 2005). Desta forma, torna-se possível potencializar a terapêutica, ao se associar dois mecanismos de ação localizados no tratamento da doença. E é, nesse contexto, que se destaca o uso do Ácido Úsnico.

## 2.8 Ácido Úsnico

O Ácido Úsnico (AU) é um composto natural derivado dos líquens, formas de vida decorrentes da simbiose entre um fungo e uma cianobactéria ou alga. Este material é amplamente estudado devido as suas importantes propriedades biológicas descritas na literatura, dentre as quais anti-inflamatória, cicatrizante, antimicrobiana e antioxidante (BRUNO et al., 2013; FRANCOLINI et al., 2013, ARAÚJO et al., 2015).

Ademais, estudos já descrevem que o AU apresenta poder leishmanicida, atuando diretamente na membrana plasmática dos parasitos (FOURNET et al., 1997). Outro mecanismo através do qual o AU é capaz de exercer sua capacidade leishmanicida corresponde a modificação citoarquitetural de organelas citoplasmáticas, o que, por sua vez, comprometem funções importantes para o parasito, como sua replicação (DA LUZ et al., 2015). Por fim, o AU apresenta a capacidade de aumentar a expressão de genes considerados pró-apoptóticos, como *p53*, *Bax*, *Casp-3* e *Casp-9*, ao passo que suprimem a de genes antiapoptóticos, como a de *Bcl-2* (DERECI et al., 2018).

Frente a isso, o uso do AU apresenta-se como uma possibilidade interessante com capacidade de auxiliar no processo de cicatrização das lesões cutâneas da LCL, ao combinar ações cicatrizante e anti-inflamatória com a capacidade leishmanicida do composto. Todavia, o uso do AU apresenta também limitações ao seu uso, dentre elas o fato de ocasionar importante toxicidade hepática, bem como devida a baixa solubilidade deste composto em água (FRANCOLINI et al., 2013).

Os sistemas de distribuições de drogas compostos por Lipossomos vêm ganhando cada vez mais importância no que diz respeito ao transporte de drogas que apresentam baixa solubilidade em água, como é o caso do AU (DIMER et al., 2013). Tal capacidade, por sua vez, é decorrente das estruturas dos Lipossomos, sendo constituída de estruturas vesiculares compostas de camadas de lipídeos entremeadas por compartimentos aquosos, proporcionando uma propriedade anfifílica a estes compostos (SIQUEIRA-MOURA et al., 2008). Dada esta propriedade, os sistemas lipossomais apresentam-se capazes não somente de carrear drogas de diferentes naturezas, mas também de proporcionar uma liberação controlada destas, diminuindo a toxicidade da droga, e uma melhor penetração nos tecidos (FERREIRA; RANGEL, 2009; PATEL et al., 2010; KALAT et al., 2014).

O Sistema de Membrana de Gelatina contendo Ácido Úsnico encapsulado em Lipossomo, por sua vez, já fora demonstrado sua eficiência no processo de cicatrização de

lesões cutâneas decorrentes de queimaduras em modelos suínos. Além de uma absorção significativa do AU nas camadas da pele, foi observado também o desenvolvimento e a maturação mais eficientes do tecido de granulação da lesão, bem como maior celularidade e deposição de fibras colágenas quando comparados a outros tratamentos (NUNES, 2016).

Neste contexto, o desenvolvimento de um tratamento de ação tópica para LCL constituída por Membranas de Gelatina contendo Ácido Úsnico encapsulado em Lipossomo apresenta-se como uma alternativa terapêutica possivelmente viável, em decorrência do baixo custo associado a formulação, bem como pela capacidade do sistema atuando tanto no processo de combate ao parasito quanto na cicatrização tecidual.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R. P. J. et al. Successful treatment of refractory cutaneous leishmaniasis with GM-CSF and antimonials. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 73, p. 79-81, 2005.
- AMATO, Valdir Sabbaga et al. Treatment of mucosal leishmaniasis in Latin America: systematic review. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 77, n. 2, p. 266-274, 2007.
- ARAÚJO, A. A. S. et al. Review of the biological properties and toxicity of usnic acid. **Natural product research**, v. 29, n. 23, p. 2167-2180, 2015.
- ARONSON, N. E. et al. A randomized controlled trial of local heat therapy versus intravenous sodium stibogluconate for the treatment of cutaneous *Leishmania major* infection. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 4, p. e628, 2010.
- AURELIANO, Débora P. et al. Cell death mechanisms in *Leishmania amazonensis* triggered by methylene blue-mediated antiparasitic photodynamic therapy. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 23, p. 1-8, 2018.
- BANULS, Anne-Laure; HIDE, Mallorie; PRUGNOLLE, Franck. *Leishmania* and the leishmaniases: a parasite genetic update and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in humans. **Advances in parasitology**, v. 64, p. 1-458, 2007.
- BARRAL, A. et al. Polar and subpolar diffuse cutaneous leishmaniasis in Brazil: clinical and immunopathologic aspects. **Int. J. Dermatol.**, v. 34, p. 474-479, 1995.
- BERMAN, J. D. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. **Clinical infectious diseases**, v. 24, n. 4, p. 684-703, 1997.
- BITTENCOURT, Achiléa et al. Post-kala-azar dermal leishmaniasis associated with AIDS. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 6, n. 6, p. 313-316, 2002.
- Brasil. DataSUS. Disponível em:  
<<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinanet/cnv/ltabr.def>>. Acesso em 12 de maio de 2019.
- CHULAY, J. D.; FLECKENSTEIN, L.; SMITH, D. H. Pharmacokinetics of antimony during treatment of visceral leishmaniasis with sodium stibogluconate or meglumine antimoniate. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 82, n. 1, p. 69-72, 1988.
- COSTA, J. M. et al. The current status of diffuse cutaneous leishmaniasis (DCL) in the state of Maranhão. II. The epidemiological and clinico-evolutionary aspects. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 25, p. 115-123, 1992.
- COSTA, Jackson ML et al. Modalidades clínicas, diagnóstico e abordagem terapêutica da leishmaniose tegumentar no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, n. 79, 2009.

CROFT, S. L.; OLLIARO, P. Leishmaniasis chemotherapy--challenges and opportunities. **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 17, p. 1478-1483, 2011.

CROFT, S. L.; SUNDAR, S.; FAIRLAMB, A. H. Drug resistance in leishmaniasis. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 19, p. 111-126, 2006.

DA COSTA, D. C. et al. Oral manifestations in the American tegumentary leishmaniasis. **PLoS One**, v. 9, p. e109790, 2014.

DA LUZ, João SB et al. Ultrastructural analysis of leishmania infantum chagasi Promastigotes forms treated in vitro with usnic acid. **The Scientific World Journal**, v. 2015, 2015.

DANTAS-TORRES, Filipe. Final comments on an interesting taxonomic dilemma: Leishmania infantum versus Leishmania infantum chagasi. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 8, p. 929-930, 2006.

DAVID, Consuelo V.; CRAFT, Noah. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Dermatologic therapy**, v. 22, n. 6, p. 491-502, 2009.

DE MOURA, T.R. et al. Toward a novel experimental model of infection to study American cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania braziliensis. **Infect Immun.**, v.73, p. 5827-5834, 2005.

DE OLIVEIRA, C. I.; BRODSKYN, C. I. The immunobiology of Leishmania braziliensis infection. **Front Immunol.**, v. 3, p. 145, 2012.

DERICI, Mehmet Kürşat; CANSARAN-DUMAN, Demet; TAYLAN-ÖZKAN, Ayşegül. Usnic acid causes apoptotic-like death in Leishmania major, L. infantum and L. tropica. **3 Biotech**, v. 8, n. 9, p. 384, 2018.

DIMER, F. A. et al. Impactos da nanotecnologia na saúde: produção de medicamentos. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1520-1526, 2013.

DNDi. Drugs for Neglected Diseases initiative. Leishmaniasis. Disponível em: <<http://www.dndi.org/diseases-projects/diseases/vl.html>>. Acesso: 01 dez. 2018.

FERREIRA, H. S.; RANGEL, M. D. C. Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1860-1870, 2009.

FIOCRUZ. Leishmaniose. Disponível em: <<http://www.agencia.fiocruzFIOCRUZ.br/leishmaniose>>. Acesso: 02 jun de 2017.

FOURNET, Alain et al. Activity of compounds isolated from Chilean lichens against experimental cutaneous leishmaniasis. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v. 116, n. 1, p. 51-54, 1997.

FRANCOLINI, Iolanda et al. Water soluble usnic acid-polyacrylamide complexes with enhanced antimicrobial activity against Staphylococcus epidermidis. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 4, p. 7356-7369, 2013.

GONTIJO, Bernardo; CARVALHO, MLR de. Leishmaniose tegumentar americana. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 36, n. 1, p. 71-80, 2003.

GONZÁLEZ, Urbà et al. Interventions for Old World cutaneous leishmaniasis. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 4, n. issue, p. CD005067, 2008.

- GRIMALDI, G.; TESH, R. B. Leishmaniasis of the New World: current concepts and implications for future research. **Clinical microbiology reviews**, v. 6, n. 3, p. 230-250, 1993.
- GUIMARÃES, Luiz Henrique et al. Atypical manifestations of cutaneous Leishmaniasis in a region endemic for *Leishmania braziliensis*: clinical, immunological and parasitological aspects. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 12, p. e0005100, 2016.
- HANDJANI, Farhad et al. Interleukin-10 and Interferon- $\gamma$  Levels in Patients with Cutaneous Leishmaniasis Treated with Cryotherapy. **Iranian journal of medical sciences**, v. 42, n. 5, p. 488, 2017.
- HANDMAN, Emanuela. Cell biology of Leishmania. **Advances in parasitology**, v. 44, p. 1-39, 1999.
- HELARY, C.; OVTRACHT, L.; COULOMB, B.; GODEAU, G.; GIRAUD-GUILLE, M. M. Dense fibrillar collagen matrices: A model to study myofibroblast behavior during wound healing. **Biomaterials**, v.27, n.25, p.4443-4452, 2006.
- JIRMANUS, Lara et al. Epidemiological and clinical changes in American tegumentary leishmaniasis in an area of *Leishmania (Viannia) braziliensis* transmission over a 20-year period. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 86, n. 3, p. 426-433, 2012.
- JOWKAR, Farideh; DEGHANI, Farideh; JAMSHIDZADEH, Akram. Is topical nitric oxide and cryotherapy more effective than cryotherapy in the treatment of old world cutaneous leishmaniasis?. **Journal of Dermatological Treatment**, v. 23, n. 2, p. 131-135, 2012.
- KALAT, SA Moosavian et al. Use of topical liposomes containing meglumine antimoniate (Glucantime) for the treatment of L. major lesion in BALB/c mice. **Experimental parasitology**, v. 143, p. 5-10, 2014.
- KAMHAWI, S. The biological and immunomodulatory properties of sand fly saliva and its role in the establishment of Leishmania infections. **Microbes Infect.**, v. 2, p. 1765-1773, 2000.
- KANOLPANONT, Sorada et al. An innovative bi-layered wound dressing made of silk and gelatin for accelerated wound healing. **International journal of pharmaceutics**, v. 436, n. 1, p. 141-153, 2012.
- LABOUTA, Hagar I.; SCHNEIDER, Marc. Interaction of inorganic nanoparticles with the skin barrier: current status and critical review. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 9, n. 1, p. 39-54, 2013.
- LAINSON, R.; SHAW, J. J.; SILVEIRA, F. T. Dermal and visceral leishmaniasis and their causative agents. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 81, p. 702-703, 1987.
- LAYEGH, Pourn et al. Efficacy of topical liposomal amphotericin B versus intralesional meglumine antimoniate (Glucantime) in the treatment of cutaneous leishmaniasis. **Journal of parasitology research**, v. 2011.
- LOSS, M. et al. Artificial skin, split-thickness autograft and cultured autologous keratinocytes combined to treat a severe burn injury of 93% of TBSA. **Burns**, v. 26, n. 7, p. 644-652, 2000.
- MACHADO-PINTO, J. et al. Immunochemotherapy for cutaneous leishmaniasis: a controlled trial using killed *Leishmania (Leishmania) amazonensis* vaccine plus antimonial. **Int. J. Dermatol.**, v. 41, p. 73-78, 2002.

MCGWIRE, B. S.; SATOSKAR, A. R. Leishmaniasis: clinical syndromes and treatment. **QJM**, v. 107, p. 7-14, 2014.

MEARS, Emily Rose et al. A review: The current in vivo models for the discovery and utility of new anti-leishmanial drugs targeting cutaneous leishmaniasis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 9, p. e0003889, 2015.

MENDONÇA, Mitzi G. et al. Persistence of Leishmania parasites in scars after clinical cure of American cutaneous leishmaniasis: is there a sterile cure?. **The Journal of infectious diseases**, v. 189, n. 6, p. 1018-1023, 2004.

MENDONÇA, Sergio CF et al. Indirect immunofluorescence test in new world Leishmaniasis: serological and clinical relation-ship. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 83, n. 3, p. 347-355, 1988.

MOTA, Luiz Alberto Alves; MIRANDA, Roberta Ribeiro. Manifestações dermatológicas e otorrinolaringológicas na Leishmaniose. **Arq. Int. Otorrinolaryngol**, v. 15, n. 3, p. 376-381, 2011.

MOTTA, J. O.; SAMPAIO, R. N. A pilot study comparing low-dose liposomal amphotericin B with N-methyl glucamine for the treatment of American cutaneous leishmaniasis. **J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.**, v. 26, p. 331-335, 2012.

MURRAY, Henry W. et al. Advances in leishmaniasis. **The Lancet**, v. 366, n. 9496, p. 1561-1577, 2005.

NAVIN, T. R. et al. Placebo-controlled clinical trial of meglumine antimonite (glucantime) vs. localized controlled heat in the treatment of cutaneous leishmaniasis in Guatemala. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 42, p. 43-50, 1990.

NEAL, R. A. et al. Aminosidine ointments for the treatment of experimental cutaneous leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 88, n. 2, p. 223-225, 1994.

NEEL, Ensanya A. Abou et al. Collagen—emerging collagen based therapies hit the patient. **Advanced drug delivery reviews**, v. 65, n. 4, p. 429-456, 2013.

NICOLOSI, J. G.; MORAES, A. M. Biomateriais destinados à terapia de queimaduras: Estudo entre o custo e o potencial de efetividade de curativos avançados. **VI Cobeq**. 2005.

NUNES, Paula Santos et al. Gelatin-based membrane containing usnic acid-loaded liposome improves dermal burn healing in a porcine model. **International journal of pharmaceutics**, v. 513, n. 1-2, p. 473-482, 2016.

OLIVEIRA, L. F. et al. Systematic review of the adverse effects of cutaneous leishmaniasis treatment in the New World. **Acta Trop.**, v. 118, p. 87-96, 2011.

OMS. 2013. Control of the Leishmaniasis. Geneva: World Health Organization. Disponível em: <[www.who.int/leishmaniasis/en/](http://www.who.int/leishmaniasis/en/)>. Acesso em: 17 Nov 2017.

OMS. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO expert committee on the control of leishmaniasis. In: **Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO expert committee on the control of leishmaniasis**. World Health Organization, 2010.

OMS. Leishmaniasis in high-burden countries: an epidemiological update based on data reported in 2014. **Weekly epidemiological record**, 2016.

OMS. Leishmaniasis. Disponível em: < <https://www.who.int/tdr/diseases-topics/leishmaniasis/en/>>. Acesso: 12 de maio de 2019.

OMS. Status of endemicity of cutaneous leishmaniasis worldwide, 2015. Disponível em: < [https://www.who.int/leishmaniasis/burden/Status\\_of\\_endemicity\\_of\\_CL\\_worldwide\\_2015\\_with\\_imported\\_cases.pdf?ua=1&ua=1](https://www.who.int/leishmaniasis/burden/Status_of_endemicity_of_CL_worldwide_2015_with_imported_cases.pdf?ua=1&ua=1)>. Acesso em 12 de maio de 2019.

PATELPATEL, S. S. et al. Development and evaluation of liposomes for topical delivery of tacrolimus (Fk-506). **Journal of Scientific Research**, v. 2, n. 3, p. 585-585, 2010.

RAKOTOMANGA, M. et al. Miltefosine affects lipid metabolism in *Leishmania donovani* promastigotes. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 51, p. 1425-1430, 2007.

REITHINGER, Richard et al. Cutaneous leishmaniasis. **The Lancet infectious diseases**, v. 7, n. 9, p. 581-596, 2007.

ROMERO, G. A. et al. Comparison of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L. (V.) guyanensis* in Brazil: therapeutic response to meglumine antimoniate. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 65, p. 456-465, 2001.

RUSZCZAK, Z. Effect of collagen matrices on dermal wound healing. **Advanced Drug Delivery Reviews.**, v.55, p.1595-1611, 2003.

SACKS, D.; KAMHAWI, S. Molecular aspects of parasite-vector and vector-host interactions in leishmaniasis. **Annu. Rev. Microbiol.**, v. 55, p. 453-483, 2001.

SANTOS, D. M. et al. Chemotherapeutic Potential of 17-AAG against Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 8, p. e3275, 2014.

SCHUBACH, A. et al. Cutaneous scars in American tegumentary leishmaniasis patients: a site of *Leishmania (Viannia) braziliensis* persistence and viability eleven years after antimonial therapy and clinical cure. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 58, p. 824-827, 1998.

SILVA, Rosiana Estéfane da et al. Intralesional meglumine antimoniate for the treatment of localized cutaneous leishmaniasis: a retrospective review of a Brazilian referral centre. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, n. 8, p. 512-516, 2016.

SINGH, N.; KUMAR, M.; SINGH, R. K. Leishmaniasis: current status of available drugs and new potential drug targets. **Asian Pac. J. Trop. Med.**, v. 5, p. 485-497, 2012.

SIQUEIRA-MOURA, M.; LIRA, M. C. B.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S. Validação de método analítico espectrofotométrico UV para determinação de ácido úsnico em lipossomas. **Braz J Pharm Sci**, 2008.

SOLOMON, M. et al. Liposomal amphotericin B in comparison to sodium stibogluconate for *Leishmania braziliensis* cutaneous leishmaniasis in travelers. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 68, p. 284-289, 2013.

STRAZZULLA, A. et al. Mucosal leishmaniasis: an underestimated presentation of a neglected disease. **Biomed. Res. Int.**, v. 2013, p. 805108, 2013.

ULHÔA, Juliana da Cunha Pimentel et al. Paciente feminina, 57 anos, natural e residente em Belo Horizonte, é atendida na Unidade Básica de Saúde com queixa de hiporrexia, emagrecimento progressivo. **Rev Med Minas Gerais**, v. 23, n. 3, p. 405-408, 2013.

VAN BOCXLAER, Katrien et al. Drug permeation and barrier damage in Leishmania infected mouse skin. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 71, n. 6, p. 1578-1585, 2016

YURCHENKO, V.; KOLESNIKOV, A. A.; LUKES, J. Phylogenetic analysis of Trypanosomatina (Protozoa: Kinetoplastida) based on minicircle conserved regions. **Folia Parasitol.**, v. 47, p. 1-5, 2000.

## **NORMAS DE PUBLICAÇÃO: REVISTA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL**

### **Escopo**

A Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical é um periódico multidisciplinar, com acesso aberto, que publica pesquisas originais e estudos clínicos sobre Medicina Tropical (incluindo Epidemiologia, Patologia, Imunologia, etc.) e doenças infecciosas. É um periódico oficial da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Os artigos de revisão são a convite do Editor, mas também publica artigos originais, comunicações breves, relatos de caso, editoriais, cartas ao editor, imagens em doenças infecciosas e parasitárias, relatórios técnicos e números especiais (suplementos). A Revista possui um sistema de revisão por pares, é publicada em inglês e sua periodicidade é bimestral e o conteúdo é de acesso livre para os leitores e nenhuma taxa é cobrada dos autores.

Considerando que a partir de 2016, a Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical apenas recebeu suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), não tendo recebido fomento de nenhum outro órgão. O suporte financeiro foi essencial para garantir a qualidade, a melhoria do fator de impacto, número de citações, a geração do XML e revisão/edição do inglês em todos os artigos aceitos, que foram pagos pela própria revista.

A partir de 2017, a Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical estabeleceu que, quando necessário, solicitará gentilmente aos autores que paguem pelo serviço profissional de revisão e edição do inglês realizado por uma empresa especializada, na versão final de seus manuscritos aceitos para publicação.

### **Política de avaliação**

Submissões à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical indicam que não foram publicadas anteriormente (exceto resumo) e que não estão sendo consideradas para publicação em outro periódico.

Os manuscritos submetidos com vistas à publicação em nosso periódico, são avaliados inicialmente pelos profissionais da secretaria, quanto à adequação às normas. Em seguida, se estiverem dentro das Normas para Publicação, serão encaminhados, no mínimo, para dois revisores para avaliação e emissão de parecer fundamentado através do sistema de revisão por pares. Os editores, com base no parecer dos revisores, irão decidir quanto à aceitação ou não do manuscrito. Se houver divergência de opinião entre os revisores, o manuscrito será enviado a um terceiro revisor para validar a decisão editorial final de acordo com o fluxograma da Revista, disponível no seguinte endereço eletrônico: <http://www.scielo.br/revistas/rsbmt/iinstruc.htm#005>

Os manuscritos devem ser escritos em Inglês e submetidos apenas eletronicamente através do endereço: <http://mc04.manuscriptcentral.com/rsbmt-scielo>

A baixa qualidade do inglês é a maior causa de atraso na publicação. Recomendamos fortemente aos autores, com inglês como língua estrangeira, que seus manuscritos sejam preferencialmente traduzidos e editados por um serviço profissional de inglês ou verificados por um cientista com inglês como primeira língua, e uma cópia do certificado deve ser enviada para a Revista.

O contato com a Secretaria da Revista pode ser estabelecido no endereço abaixo:

**Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**

Av. Getúlio Guraritá s/n, Caixa Postal: 118, CEP: 38001-970 Uberaba, Minas Gerais, Brasil

Tel: 55 34 3318-5287; Fax: 55 34 3318-5279

E-mail: [rsbmt@rsbmt.uftm.edu.br](mailto:rsbmt@rsbmt.uftm.edu.br); <http://www.scielo.br/rsbmt>

**Tipos de manuscrito**

A Revista convida à publicação Artigos Originais, Artigos de Revisão e Minirrevisões, Editoriais, Comunicações Breves, Relatos de Casos, Relatórios Técnicos, Imagens em Doenças Infecciosas, Cartas e Números Especiais.

**Artigos Originais:** devem relatar pesquisas originais que não tenham sido publicadas ou consideradas para publicação em outros periódicos. O limite de palavras é de 3.500 (excluindo resumo, título e referências). O manuscrito deve conter resumo estruturado com até 250 palavras, com os tópicos Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões. O Manuscrito deve ser organizado incluindo os seguintes tópicos: Título, Título Corrente, Resumo Estruturado, Palavras-Chaves (máximo de cinco), Texto do Manuscrito (Introdução, Métodos, Resultados, Discussão), Agradecimentos, Conflito de Interesses, Suporte Financeiro, Lista de Referências e Título das Figuras/Legendas. Um total de cinco ilustrações (tabelas e figuras) é permitido.

**Artigos de Revisão:** devem ser uma análise crítica de avanços recentes e não apenas revisão da literatura, geralmente a convite do editor. Artigos de Revisão têm o limite de 3.500 palavras (excluindo resumo, título e referências). Devem ter resumo com até 250 palavras (não estruturado). Cinco ilustrações são permitidas (tabelas e figuras). São publicadas também minirrevisões. Minirrevisões têm no máximo 3.000 palavras (excluindo resumo, título e referências). Devem ter resumo (não estruturado) com até 200 palavras, três ilustrações (tabelas e figuras) e máximo de 3.000 palavras. O Manuscrito deve ser organizado incluindo os seguintes tópicos: Título, Título Corrente, Resumo não estruturado, Palavras-Chaves (máximo de cinco), Texto do Manuscrito, Agradecimentos, Conflito de Interesses, Suporte Financeiro, Lista de Referências e Título das Figuras/Legendas

**Editoriais:** usualmente, escritos a convite, considerando os tópicos da área de enfoque da revista, não excedendo a 1.500 palavras, sem resumo e palavras-chaves e no máximo uma figura ou tabela e dez referências.

**Comunicações Breves:** devem ser relatos sobre novos resultados interessantes dentro da área de abrangência da revista. As comunicações breves devem ter no máximo 2.000 palavras (excluindo resumo, título e referências); Devem conter resumo estruturado com no máximo 100 palavras (com os tópicos Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões) e com até 15 referências. Um máximo de três ilustrações (tabelas e figuras) é permitido. Até três palavras-chaves devem ser fornecidas. O corpo do manuscrito não

deve conter subdivisões ou subtópicos. Agradecimentos, Conflito de Interesses, Suporte Financeiro devem ser incluídos.

**Relatos de Casos:** devem ser relatos breves com extensão máxima de 1.500 palavras (excluindo título, resumo e referências), com máximo de três ilustrações (tabelas e figuras), até 12 referências, resumo não estruturado com no máximo 100 palavras e três palavras-chaves. O Manuscrito deve ser organizado incluindo os seguintes tópicos: Título, Título Corrente, Resumo, Palavras-Chaves, Texto do Manuscrito (Introdução, Relato de Caso, Discussão), Lista de Referências e Título das Figuras/Legendas. Agradecimentos, Conflito de Interesses, Suporte Financeiro devem ser incluídos.

**Relatórios Técnicos:** devem ser precisos e relatar os resultados e recomendações de uma reunião de experts. Será considerado, se formatado como um editorial.

**Imagens em Doenças Infecciosas:** até três figuras com a melhor qualidade possível. Até três autores e até três referências são permitidos. O tamanho máximo é de 250 palavras (excluindo título e referências) com ênfase na descrição da figura. Os temas devem envolver alguma lição clínica, contendo título e a descrição das figuras.

**Cartas:** leitores são encorajados a escrever sobre qualquer tópico relacionado a doenças infecciosas e medicina tropical de acordo com o escopo da Revista. Não devem exceder 1.200 palavras, sem resumo e palavras-chaves, com apenas uma inserção (figura ou tabela) e pode tratar de material anteriormente publicado na revista, com até 12 referências.

**Números Especiais:** Propostas de números especiais devem ser feitas ao o Editor e/ou Editor Convidado. A proposta será analisada levando em consideração o tema, organização do programa ou produção de acordo com escopo da revista.

### **Preparação do manuscrito**

Autores são aconselhados a ler atentamente estas instruções e segui-las para garantir que o processo de revisão e publicação de seu manuscrito seja tão eficiente e rápido quanto possível. Os editores reservam-se o direito de devolver manuscritos que não estejam em conformidade com estas instruções.

**Sistema de Submissão on-line:** Todos os manuscritos a serem considerados para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical devem ser submetidos por via eletrônica através do sistema de submissão on-line no endereço: <http://mc04.manuscriptcentral.com/rsbmt-scielo>. O autor deve escolher dentro do item “Tipos de Manuscrito” uma categoria para o manuscrito: Artigos Originais, Editoriais, Artigos de Revisão, Comunicações Breves, Relatos de Casos, Relatórios Técnicos, Imagens em Doenças Infecciosas, Cartas, Réplica à Carta ou Outros (quando não se encaixar em nenhuma das categorias listadas). A responsabilidade pelo conteúdo do manuscrito é inteiramente do autor e seus coautores.

**Carta de Apresentação:** a) deve conter uma declaração, assegurando de que se trata de pesquisa original e que, ainda, não foi publicada, nem está sendo considerada por outro periódico científico. Devem constar, também, que os dados/resultados do manuscrito não são plágio. b) deve ser assinada por todos os autores e, na impossibilidade restrita, o autor principal e o último autor podem assinar pelos outros coautores, mediante procuração. c) Os autores devem incluir na Cover Letter uma declaração de ciência de que o manuscrito, após submetido, não poderá ter a ordem, nem o número de autores alterados, sem justificativa e/ou informação à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. d) Devem declarar que concordam, caso o manuscrito seja aceito para publicação, transferir todos os direitos autorais para a Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.

**Contribuição dos autores:** Os autores devem incluir, em documento separado, uma declaração de responsabilidade especificando a contribuição, de cada um, no estudo.

**Edição da Pré-Submissão:** todos os manuscritos submetidos à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical devem ser em inglês. É altamente recomendável que os autores utilizem os serviços de uma empresa profissional de edição e/ou tradução. A revisão/edição da língua inglesa não garante que o manuscrito será aceito para publicação.

### **Formatação do manuscrito**

O manuscrito deve ser preparado usando software padrão de processamento de textos e deve ser impresso (fonte Times New Roman tamanho 12) com espaço duplo em todo

o texto, título/legendas para as figuras, e referências, margens com pelos menos 3cm. O manuscrito deve ser dividido nas seguintes seções: Cartão de Apresentação (endereçada ao Editor-Chefe), Página de Título, Título, Resumo, palavras-chaves, Texto do Manuscrito, Agradecimentos, Declaração de Conflito de Interesses, Suporte Financeiro, Lista de Referências, Título das Figuras/Legendas. A Carta de Apresentação, Página de Título, Agradecimentos e Suporte Financeiro devem ser incluídos em documentos separados (estes dois últimos podem ser incluídos junto com a Página de Título). Abreviações devem ser usadas com moderação.

**Página de Título:** deve incluir o nome dos autores na ordem direta e sem abreviações, afiliações institucionais (Departamento, Instituição, Cidade, Estado e País de cada autor). O endereço completo do autor para correspondência deve ser especificado, incluindo telefone, fax e e-mail. Na página de título também podem ser incluídos agradecimentos e suporte financeiro. A quantidade de autores por manuscrito deve ser limitada ao número real de autores que realmente contribuíram com o manuscrito, exceto para estudos multicêntricos nacionais e internacionais, que devem limitar-se a vinte autores. Quando exceder a vinte autores, o restante será publicado em notas de rodapé.

**Indicação de potenciais revisores:** Os autores são convidados a fornecer os nomes e informações de contato (e-mail e telefone) por três potenciais revisores imparciais. Favor informar revisores de instituições diferentes dos autores.

**Título:** deve ser conciso, claro e o mais informativo possível, não deve conter abreviações e não deve exceder a 200 caracteres, incluindo espaços.

**Título Corrente:** com no máximo 40 caracteres.

**Resumo Estruturado:** deve condensar os resultados obtidos e as principais conclusões de tal forma que um leitor, não familiarizado com o assunto tratado no texto, consiga entender as implicações do artigo. O resumo não deve exceder 250 palavras (100 palavras no caso de comunicações breves) e abreviações devem ser evitadas. Deve ser subdividido em: Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões.

**Palavras-chaves:** 3 a 6 palavras devem ser listados em Inglês, imediatamente abaixo do resumo estruturado.

**Introdução:** deve ser curta e destacar os propósitos para o qual o estudo foi realizado. Apenas quando necessário citar estudos anteriores de relevância.

**Métodos:** devem ser suficientemente detalhados para que os leitores e revisores possam compreender precisamente o que foi feito e permitir que seja repetido por outros. Técnicas-padrões precisam apenas ser citadas.

**Ética:** em caso de experimentos em seres humanos, indicar se os procedimentos realizados estão em acordo com os padrões éticos do comitê de experimentação humana responsável (institucional, regional ou nacional) e com a Declaração de Helsinki de 1964, revisada em 1975, 1983, 1989, 1996 e 2000. Quando do relato de experimentos, em animais, indicar se seguiu um guia do conselho nacional de pesquisa, ou qualquer lei sobre o cuidado e uso de animais em laboratório foram seguidas e o número de aprovação deve ser enviado à Revista. No caso de pesquisa em seres humanos, os autores devem incluir na seção métodos no subtítulo Considerações Éticas uma declaração de que o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Institucional.

**Ensaio Clínico:** No caso de Ensaio Clínico, o manuscrito deve ser acompanhado pelo número e órgão de registro do ensaio clínico (Plataforma REBEC). Estes requisitos estão de acordo com a BIREME/OPAS/OMS e o Comitê Internacional dos Editores de Revistas Médicas (<http://www.icmje.org>) e do Workshop ICTPR.

**Resultados:** devem ser um relato conciso e impessoal da nova informação. Evitar repetir no texto os dados apresentados em tabelas e ilustrações.

**Discussão:** deve relacionar-se diretamente com o estudo que está sendo relatado. Não incluir uma revisão geral sobre o assunto, evitando que se torne excessivamente longa.

**Agradecimentos:** devem ser curtos, concisos e restritos aqueles realmente necessários, e, no caso de órgãos de fomento não usar siglas.

**Conflito de Interesse:** todos os autores devem revelar qualquer tipo de conflito de interesse existente durante o desenvolvimento do estudo.

**Suporte Financeiro:** informar todos os tipos de fomento recebidos de agências de fomento ou demais órgãos ou instituições financiadoras da pesquisa.

**Referências:** devem ser numeradas consecutivamente, na medida em que aparecem no texto. Listar todos os autores quando houver até seis. Para sete ou mais, listar os seis

primeiros, seguido por “et al”. Digitar a lista de referências com espaçamento duplo em folha separada e no final do manuscrito. Referências de comunicações pessoais, dados não publicados ou manuscritos “em preparação” ou “submetidos para publicação” não devem constar da lista de referência. Se essenciais, podem ser incorporados em local apropriado no texto, entre parênteses da seguinte forma: (AB Figueiredo: Comunicação Pessoal, 1980); (CD Dias, EF Oliveira: dados não publicados). Citações no texto devem ser feitas pelo respectivo número das referências, acima da palavra correspondente, em ordem numérica crescente, separados por vírgula ou por hífen quando houver uma sequência sem intervalo. Ex.: Mundo<sup>1,2</sup>; Vida<sup>30,42,44-50</sup>. As referências no fim do manuscrito devem estar de acordo com o sistema de requisitos uniformes utilizado para manuscritos enviados para periódicos biomédicos (Consulte: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>). Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus (Consulte: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>).

A responsabilidade pelas citações bibliográficas contidas no texto e na lista de referências recai exclusivamente sobre os autores.

#### **Alguns exemplos de referências:**

1. **Citação de Artigos em Geral:** Sobrenome seguido das iniciais dos seis primeiros autores. Para sete ou mais autores, liste os seis primeiros, seguidos de "et al."), título completo do artigo (no idioma original), título abreviado do periódico (pode ser encontrado Em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>), ano de publicação, volume (número), páginas inicial e final abreviada.

Exemplo 1: Petitti DB, Crooks VC, Buckwalter JG, Chiu V. Blood pressure levels before dementia. Arch Neurol. 2005;62(1):112-6.

Exemplo 2: Freitas EC, Oliveira MF, Vasconcelos ASOB, Filho JDS, Viana CEM, Gomes KCMS, et al. Analysis of the seroprevalence of and factors associated with Chagas disease in an endemic area in northeastern Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2016;50(1):115-21.

2. **Capítulo de livro:** Sobrenome seguido das iniciais dos autores do capítulo, título completo do capítulo, editores, título do livro, Edição, local de publicação: editor, ano de publicação, páginas inicial e final do capítulo abreviada.

Exemplo: Blaxter PS, Farnsworth TP. Social health and class inequalities. In: Carter C, Peel JR, editors. Equalities and inequalities in health. 2nd ed. London: Academic Press; 1976. p. 165-78.

3. **Livro:** Sobrenome seguido das iniciais dos autores do livro, título do livro, edição, local de publicação: editor, ano de publicação e número de páginas do livro.

Exemplo: Carlson BM. Human embryology and developmental biology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2009. 541 p.

4. **Sites:** Nome do autor/organização. Título da página [Internet]. Local de publicação: Nome do editor; Data ou ano de publicação [atualizado ano mês dia; Citado ano mês dia]. Disponível em: endereço.

Exemplo: Diabetes Australia. Diabetes globally [Internet]. Canberra ACT: Diabetes Australia; 2012 [updated 2012 June 15; cited 2012 Nov 5]. Available from: <http://www.diabetesaustralia.com.au/en/Understanding-Diabetes/DiabetesGlobally/>

5. **Dissertação/Tese:** A Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical não aceitará a citação de dissertação/mestrado, teses de doutorado ou similar.

**Ilustrações:** devem ser submetidas, em arquivos separados, nomeados apenas com o número das figuras (exemplo: Figura 1; Figura 2). Todas as figuras devem ter numeração arábica, citadas no texto, pela primeira vez, em ordem numérica crescente.

**Título e Legendas:** devem ser digitados com espaçamento duplo no final do manuscrito.

**Dimensões:** As dimensões das figuras não devem ultrapassar o limite de 18cm de largura por 23cm de altura. Veja abaixo a correta configuração para cada formato de figura:

- **Imagens/Fotografias:** devem ser obrigatoriamente submetidas em alta resolução no formato TIFF. Certifique-se que a mesma foi capturada na resolução mínima de 600 DPI, preferencialmente entre 900-1200dpi, preparadas

utilizando programa de Editoração de Imagens (Adobe Photoshop, Corel Photo Paint, etc).

- **Gráficos:** Devem ser criados usando software estatístico e devem ser salvos/exportados com a extensão original (.xls, .xlsx, .wmf, .eps ou .pdf).
- **Mapas:** devem ser vetorizadas (desenhados) profissionalmente utilizando os softwares Corel Draw ou Illustrator em alta resolução.

**Tabelas:** devem ser digitadas com espaçamento simples, com título curto e descritivo (acima da tabela) e submetidas em arquivos separados. Legendas para cada tabela devem aparecer abaixo da mesma. O significado de todas as siglas e símbolos utilizados na tabela devem constar no rodapé da tabela. Todas as tabelas devem ter numeração arábica, citadas no texto, em ordem numérica crescente. Tabelas não devem ter linhas verticais, e linhas horizontais devem ser limitadas ao mínimo. Tabelas devem ter no máximo 18cm de largura por 23cm de altura, fonte Times New Roman, tamanho 9.

**Processo de Envio:** os artigos submetidos à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical deverão utilizar apenas a via eletrônica. Todos os manuscritos deverão ser enviados via internet para <http://mc04.manuscriptcentral.com/rsbmt-scielo>, seguindo as instruções no topo de cada tela. O processo de revisão pelos pares também será totalmente pela via eletrônica.

**Sobre Reenvio e Revisões:** a revista diferencia entre: a) manuscritos que foram rejeitados e b) manuscritos que serão reavaliados após a realização das correções que foram solicitadas aos autores.

**Reenvio:** caso o autor receba uma carta informando que seu trabalho foi rejeitado e queira que os editores reconsiderem tal decisão, o autor poderá re-enviá-lo. Neste caso será gerado um novo número para o manuscrito.

**Revisão:** caso seja necessário refazer seu manuscrito com base nas recomendações e sugestões dos revisores, ao devolvê-lo, para uma segunda análise, por favor, encaminhe o manuscrito revisado e informe o mesmo número do manuscrito.

**Após a Aceitação:** Uma vez aceito para publicação, o processo de publicação inclui os passos abaixo:

1. Formulário de concessão de direitos autorais, fornecido pela secretaria da revista, deve retornar para a revista assinado pelos autores.

2. Provas: serão enviadas ao autor responsável, mencionado no endereço para correspondência, no formato PDF, para que o texto seja cuidadosamente conferido. Nesta etapa do processo de edição, não serão permitidas mudanças na estrutura do manuscrito. Após os autores receberem as provas, deverão devolvê-las assim que possível.
3. Os artigos aceitos comporão os números impressos obedecendo ao cronograma em que foram submetidos, revisados e aceitos.
4. Todos os artigos aceitos que ainda não tenham sido impressos estarão disponíveis on-line enquanto aguardam publicação na versão impressa (ahead of print).

**Custos de Publicação:** Não haverá custos de publicação.

A Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical não indica qualquer tipo de serviços de tradução.

A tradução de todo manuscrito deve ser realizada antes da submissão do mesmo. A contratação e o pagamento dos serviços de tradução são de responsabilidade dos autores. Custos de publicação de imagens coloridas são de responsabilidade dos autores.

## **Workflow**

### ***Workflow* do processo de submissão da Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**

Todos os manuscritos a serem considerados para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical devem ser submetidos por via eletrônica através do sistema de submissão online no endereço <http://mc04.manuscriptcentral.com/rsbmt-scielo>.

### **Política de Revisão do Periódico (workflow):**

1. Todos os manuscritos submetidos para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical são inicialmente avaliados pela Secretaria quanto à adequação do texto às normas do periódico.
2. Após esta etapa, os manuscritos adequados às Normas Para Publicação da Revista serão avaliados pelo Editor ou Editores Associados quanto ao escopo e a política editorial do periódico. A Secretaria envia o manuscrito para o Editor-Chefe.

3. O Editor-Chefe designa um Editor Associado ou designa revisores.
4. O manuscrito será enviado a pelo menos dois revisores num sistema duplo-cego para avaliação e emissão de um relatório fundamentado (peer review), que será usado pelos Editores para decidir se o manuscrito será aceito ou não. O manuscrito também é enviado para Revisores de Métodos Quantitativos para análise. No caso de conflito de pareceres dos revisores, o manuscrito será enviado a um terceiro parecerista para validar uma decisão final.
5. Comentários dos Revisores (Free Form Review) serão encaminhados ao autor correspondente (autor principal para correspondência editorial) para responder aos questionamentos feitos.
6. Os autores enviam suas respostas aos questionamentos e reenviam a versão revisada do manuscrito. A versão revisada será enviada aos revisores que emitirão um relatório final fundamentado.
7. Os apontamentos dos Revisores e as respostas dos autores serão analisados pelo Editor-Chefe, Editores Associados ou Editores de Seção.
8. O Editor-Chefe emite uma decisão final.
9. A decisão editorial final (aceitação ou rejeição) é enviada aos autores.
10. Após esta etapa, inicia-se o processo de edição. O manuscrito aceito é enviado à edição quanto à qualidade linguística do inglês.
11. A revisão de inglês é enviada aos autores para análise e declaração de aceitação da revisão.
12. Após esta etapa, inicia-se o processo de diagramação, com contato com o autor correspondente no que diz respeito às figuras, tabelas, fotografias, mapas, ilustrações e formatação em geral.
13. Após esta etapa, é requerido aos autores declarar formalmente qualquer conflito de interesse, suporte financeiro e cessão de direitos autorais.
14. Provas são enviadas ao autor correspondente para cuidadosa correção e acuidade tipográfica.
15. A versão final de cada manuscrito é selecionada para compor o próximo número e será enviada ao Ahead of Print na plataforma SciELO.

A versão impressa é publicada a cada dois meses e será disponibilizada em acesso aberto em <http://www.scielo.br/rsbmt>.

## ARTIGO

### **ATIVIDADE LEISHMANICIDA DO ÁCIDO ÚSNICO ENCAPSULADO EM LIPOSSOMOS ADSORVIDOS EM MEMBRANAS DE GELATINA**

Tiago da Silva Nunes<sup>1</sup>, Marcela Alves do Nascimento<sup>2</sup>, Lucas Sousa Magalhães<sup>3</sup>, Tatiana Rodrigues de Moura<sup>4</sup>, Adriano Antunes de Souza Araújo<sup>5</sup>, Luciana Garcez Barretto Teixeira<sup>3</sup>, Diego Moura Tanajura<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Medicina da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão – SE

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária – PROBP da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão – SE

<sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe – SE

<sup>4</sup> Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão – SE

<sup>5</sup> Departamento de Farmácia da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão – SE

<sup>6</sup> Departamento de Educação em Saúde da Universidade Federal de Sergipe – SE

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fapitec e a COPES-UFS pelo apoio financeiro para realização do projeto.

#### SUPORTE FINANCEIRO

Esse trabalho teve fundos da Fapitec e da COPES-UFS.

## RESUMO

**Introdução:** A Leishmaniose Cutânea Localizada é uma das formas clínicas mais comuns de Leishmaniose. No Brasil, a principal espécie associada a esta forma é a *Leishmania braziliensis*. Os Antimoniais Pentavalentes são as drogas de primeira linha para o tratamento, embora estejam associados a importante toxicidade sistêmica, além de aumento no relato de parasitos resistentes a esta classe de drogas. Neste contexto, o Sistema de Membranas de Gelatina contendo Ácido Úsnico encapsulado em lipossomo apresenta-se como uma proposta viável de tratamento tópico para doença, em decorrência das capacidades anti-inflamatória, antioxidante, cicatrizante e leishmanicida associadas a essa combinação de composto. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial *in vitro* deste sistema como uma nova forma de tratamento para Leishmaniose Cutânea Localizada causadas por isolados de *L. braziliensis*.

**Métodos:** Foi avaliada a viabilidade parasitária através de contagem direta após a exposição dos parasitos com o tratamento proposto. **Resultados:** Observou-se uma redução significativa da viabilidade parasitária daqueles tratados com o presente sistema de acordo com um efeito dose dependente da concentração do Ácido Úsnico. Ademais, constatou-se que esta forma de tratamento mostrou um caráter irreversível, em que as culturas tratadas com este sistema, mesmo após a suspensão do tratamento, apresentaram menor viabilidade parasitária.

**Conclusões:** Frente os resultados dos experimentos *in vitro* realizados, é possível afirmar que o Sistema de Membranas de Gelatina contendo Ácido Úsnico encapsulado em lipossomo apresenta potencial de servir como uma opção terapêutica para Leishmaniose Cutânea Localizada causada por parasitos da espécie *L. braziliensis*.

**Palavras-chave:** Leishmaniose Cutânea; Membranas Bioativas; Ácido Úsnico.

## ABSTRACT

Introduction: Localized Cutaneous Leishmaniasis is one of the most common clinical forms of Leishmaniasis. In Brazil, the main species associated with this form is *Leishmania braziliensis*. Pentavalent Antimonials are the first-line drugs for treatment, although it is associated with significant systemic toxicity, as well as an increase in the reporting of parasites resistant to this class of drugs. In this context, the Liposome-encapsulated Usnic Acid Gelatin Membrane System presents as a viable treatment proposal for topical treatment for disease, due to the anti-inflammatory, antioxidant, healing and leishmanicidal abilities associated with this compound combination. The present work aimed to evaluate *in vitro* potential of this system as a new form of treatment for Localized Cutaneous Leishmaniasis caused by *L. braziliensis* isolates. Methods: Parasite viability was evaluated by direct counting after parasite exposure with the proposed treatment. Results: A significant reduction in the parasite viability of those treated with the present system was observed according to a dose-dependent effect of the Usnic Acid concentration. In addition, it was found that this form of treatment showed an irreversible character, in which the cultures treated with this system, even after the suspension of the treatment, presented less parasitic viability. Conclusions: In view of the results of the *in vitro* experiments carried out, it is possible to affirm that the Liposome-encapsulated Usnic Acid Gelatin Membrane System has the potential to serve as a therapeutic option for Localized Cutaneous Leishmaniasis caused by *L. braziliensis* parasites.

Keywords: Cutaneous Leishmaniasis; Bioactives Membranes; Usnic Acid.

## INTRODUÇÃO

As Leishmanioses são um extenso grupo de doenças infecto parasitárias causadas por diferentes espécies de parasitos do gênero *Leishmania*<sup>1</sup>. A Leishmaniose Cutânea Localizada, por sua vez, corresponde a uma das apresentações clínicas mais comuns, com uma estimativa de 600.000 a 1.000.000 de casos por ano mundialmente, concentrados principalmente nos

países considerados subdesenvolvidos<sup>2,3</sup>. No Brasil, foram registrados 17.261 casos de LCL no ano de 2017, sendo a *Leishmania braziliensis* a principal espécie do parasito associada a infecção no país<sup>4,5</sup>. A primeira linha de tratamento compreende o uso dos Antimoniais Pentavalentes que, no entanto, possuem importante toxicidade sistêmica e relatos cada vez mais frequentes de resistência parasitária a esses compostos<sup>6,7,8</sup>. Neste contexto, observa-se um esforço global para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas para o tratamento da LCL<sup>9</sup>.

O Ácido Úsnico (AU) é um composto natural derivado dos líquens que apresentam importantes propriedades anti-inflamatória, cicatrizante, antimicrobiana e antioxidante<sup>10,11,12</sup>. Somado a isso, o AU possui significativa capacidade leishmanicida ao promover alterações ultra estruturais na membrana citoplasmática dos parasitos, bem como em suas organelas, comprometendo, assim, a realizações de processos que garantam a viabilidade parasitária<sup>13</sup>. Outro mecanismo leishmanicida associado ao AU é a sua capacidade de alterar a expressão de genes pró e antiapoptóticos, como *p53* e *Bcl-2*, respectivamente<sup>14</sup>.

No presente trabalho, buscamos avaliar o potencial *in vitro* de um sistema tópico de Membranas de Gelatina contendo Ácido Úsnico encapsulado em Lipossomo (M+AUl) como uma alternativa terapêutica para o tratamento da LCL causada por isolado de *L. braziliensis*. As Membranas de Gelatina são materiais biocompatíveis com importante propriedade de reparação tecidual e imunogênica, possibilitando o desenvolvimento de tratamentos localizados para LCL<sup>15,16</sup>. Ademais, estas Membranas podem incorporar diferentes fármacos, tornando-se mais versáteis quando associadas a natureza anfifílica dos sistemas de distribuição lipossomal<sup>17,18,19</sup>.

## MÉTODOS

Obtenção e Cultura de *L. braziliensis*

O isolado de *L. braziliensis* (MHOM/BR/01/BA788)<sup>20</sup> fora obtido através da parceria do presente grupo de pesquisa com a Fundação Oswaldo Cruz sediada na Bahia (FIOCRUZ-BA). A forma promastigota foi cultivada a 26°C, em meio Schneider (Invitrogen), suplementado com 10% de soro fetal bovino, 1% de penicilina (100 U/mL) e estreptomicina (100ug/mL).

#### Obtenção das Membranas de Gelatina contendo Ácido Úsnico encapsulado em lipossomo

Para a preparação das Membranas de Gelatina contendo Ácido Úsnico encapsulado em lipossomo (M+AU) utilizou-se Ácido Úsnico (AU) (Sigma-Aldrich – 98%, cód. MKBC3299) e gelatina em pó (fornecedor NP Comércio de produtos alimentícios, lote LFP 9766). Para o preparo dos lipossomos, foi utilizada fosfatidilcolina a 75% (Lipoid GMBH 75% Lote 776095-1). As membranas foram preparadas no Laboratório de Ensaios Farmacêuticos e Toxicidade (LeFT) da Universidade Federal de Sergipe, de acordo com o método descrito por Nunes et al. (2010). Prontas, as membranas foram recortas em disco por um *punch* para realização do ensaio *in vitro*, resultando na concentração de 0,4 µg de AU por membrana (Figura 1).

#### Análise da viabilidade de promastigotas de *L. braziliensis* tratados com diferentes concentrações de Ácido Úsnico encapsulado em lipossomo na Membrana de Gelatina

Promastigotas em crescimento exponencial foram semeadas em placas de cultura de 24 poços (Corning) na concentração de  $1 \times 10^6$  parasitos por poço e então tratados com concentrações crescentes de AU (0,4, 0,8 e 2,0 µg/mL). Como controle, foram utilizados também um grupo sem tratamento e um grupo tratado com Membranas de Gelatina pura. Em seguida, as placas foram incubadas em estufa BOD por 48h, quando então o número de parasitos viáveis foi determinado por contagem direta em câmara de Neubauer.

#### Análise de promastigotas de *L. braziliensis* após o tratamento com diferentes concentrações de Ácido Úsnico encapsulado em lipossomo na Membrana de Gelatina

Promastigotas em crescimento exponencial foram semeadas em placas de cultura de 24 poços (Corning) na concentração de  $1 \times 10^6$  parasitos por poço e, então, tratados com concentrações diferente de AU (0,4, 0,8 e 2,0 ug/mL). Como controle, foram utilizados um grupo sem tratamento e um grupo tratado com Membranas de Gelatina pura. Em seguida, as placas foram incubadas em estufa BOD por 48h, quando então as membranas foram retiradas e a culturas lavadas extensivamente com solução salina (NaCl 0,9%) para retirada de droga residual da cultura. Novamente, as placas foram incubadas em estufa BOD, sendo a viabilidade parasitária determinada através de contagem direta por Câmara de Neubauer em 24 e 48h após a troca de meio de cultura.

#### Análise Estatística

Os dados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão (EP). O teste Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para análise da normalidade. Para comparação de três ou mais grupos foi utilizado ANOVA com os pós-testes de Dunnett's, linear trend ou Bonferroni (testes paramétricos). Para os dados não paramétricos, as comparações entre dois grupos foram feitas pelo teste Mann-Whitney. Todos os dados foram analisados pelo software GraphPad Prism 7, San Diego, EUA. Para todas as análises um  $p \leq 0,05$  foi considerado significativo.

#### Aspectos Éticos

O presente projeto possui aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe (CEP-HU-UFS), sob o número do CAAE: 92197218.8.0000.5546.

## RESULTADOS

Para avaliação da atividade leishmanicida da Membrana de Gelatina contendo Ácido Úsnico (M+AU), o isolado fora exposto tanto a Membrana de Gelatina Pura (M0), quanto a diferentes concentrações do AU na apresentação da M+AU. Conforme observa-se na Figura 1, ao se comparar o grupo controle com os grupos tratados com o Sistema M0 e M+AU, observamos que não houve redução significativa da viabilidade parasitária no tratamento com M0, ao passo que observamos reduções de 75,1%, 87,7% e 98,8% da viabilidade parasitária com as concentrações de 0,4, 0,8 e 2,0 µg/mL, respectivamente, de Ácido Úsnico encapsulado em lipossomo. Ou seja, observamos que o sistema M+AU reduz a viabilidade parasitária de forma dose-dependente, em que quanto maior a concentração, menor é a viabilidade do parasito.

Tendo em vista que o tratamento com o sistema M+AU é eficiente para redução da viabilidade parasitária do isolado de *L. braziliensis*, buscou-se então avaliar se este efeito ocorre de forma irreversível ou somente durante a exposição do parasito ao tratamento. Para isso, após 48h de exposição ao sistema M+AU, as culturas foram lavadas extensivamente para retirada da droga. Conforme se observa na Figura 2, o grupo de parasitos que foi tratado com a M0 apresentou redução de 23,8% e de 30,9% de sua viabilidade quando comparado ao grupo sem tratamento após 24 e 48 horas de retirada da droga, respectivamente. Já no que diz respeito ao grupo tratado com 0,8 mg/mL de M+AU, observa-se reduções de 68,3% e 85,6% da viabilidade dos parasitos, nestes mesmos tempos, respectivamente, quando comparado ao grupo sem tratamento.

Dessa forma, é possível afirmar que o tratamento com a M0 apresenta um efeito irreversível na redução da viabilidade parasitária do isolado BA788, além do mais, este efeito pode ser potencializado quando se associa o AU encapsulado em lipossomo a Membrana de Gelatina.

## DISCUSSÃO

Buscamos avaliar o comportamento de culturas axênicas do isolado de BA788 de *L. braziliensis* frente ao tratamento com Membrana de Gelatina pura (M0) e com diferentes concentrações de AU encapsulados em Lipossomos adsorvidos no sistema de Membrana de Gelatina (M+AU). Foi obtida uma menor viabilidade parasitária nos tratamentos com membrana quando associada ao AU, segundo um efeito dose dependente de redução da viabilidade parasitária. O efeito leishmanicida do AU, também de caráter dose dependente, já fora demonstrado em estudos *in vitro* para outras espécies do gênero *Leishmania*, como a *L. major* e *L. tropica*, que causam a forma tegumentar da doença e também para a *L. infantum* responsável pela forma visceral, bem como para o tratamento da *L. braziliensis*, espécie de estudo do presente trabalho<sup>14,21</sup>.

Além do efeito dose dependente, destaca-se que no presente experimento, já é possível observar redução da viabilidade parasitária na concentração de 0,4 µg/mL de AU. Em contrapartida, em outros trabalhos que avaliaram o uso isolado do AU, esta redução só fora demonstrada na concentração de 10 µg/mL, ou seja, uma concentração 25 vezes maior do que a encontrada no presente estudo<sup>21</sup>. Desta forma, observa-se uma potencialização no efeito do AU quando este se encontra encapsulado em lipossomo e associado ao sistema de Membranas de Gelatina. Tal potencialização, por sua vez, pode ser justificada pelas propriedades associadas a natureza anfifílica do sistema lipossomal<sup>19</sup>.

Dentre os mecanismos de ação do AU que justificam a redução a viabilidade parasitária no presente experimento, destaca a sua capacidade de atuar diretamente na membrana plasmática de parasito do gênero *Leishmania*, causando, assim, dano a esta e, conseqüente, levando a morte dos parasitos<sup>13</sup>. Além disso, o AU age reduzindo a viabilidade de parasitos do gênero *Leishmania* ao reduzir a replicação destes, bem como ao promover a apoptose,

induzindo a expressão genes pró-apoptóticos, como *p53*, *Bax*, *Casp-3* e *Casp-9* e suprimindo a de *Bcl-2*, de propriedade anti-apoptótica<sup>14</sup>.

Tendo em vista que o sistema M+AUl apresenta-se eficiente na redução da viabilidade parasitária, buscamos então avaliar a se a ação do presente tratamento é irreversível nestes parasitos. Neste experimento, observamos que os parasitos apresentam menor expansão parasitária comparado ao grupo controle e ao grupo tratado com a M0 quando foram tratados com a menor concentração testada (0,8 µg/mL) de AU no Sistema M+AUl. Situação semelhante, mas com menor eficiência, foi observado no tratamento com a M0, muito embora, mesmo quando comparado a esse grupo, a expansão da cultura foi ainda menor no grupo tratado com o Sistema M+AUl. Dessa forma, podemos concluir que o efeito da redução da viabilidade parasitária é irreversível tanto no tratamento com a M0 quanto com o Sistema M+AUl, sendo ainda mais eficiente neste último grupo.

Outros trabalhos da literatura já avaliaram o potencial terapêutico do AU para outras parasitoses causadas por protozoários das espécies *Plasmodium falciparum* e *Toxoplasma gondii*, agentes etiológicos da Malária e da Toxoplasmose, respectivamente<sup>22,23</sup>. No que diz respeito aos parasitos de *T. gondii*, o tratamento com AU é capaz de promover modificações ultra estruturais no parasito, alterando principalmente a arquitetura das organelas citoplasmáticas<sup>23</sup>. Já no que diz respeito às Leishmanioses, também foi demonstrado que o tratamento com AU promove alterações ultra estruturais, tanto membranosas quanto citoplasmáticas, nos parasitos da espécie *L. infantum*<sup>13</sup>.

Diante disto, é possível que alterações ultra estruturais também possam ter acontecido nos parasitos de *L. braziliensis* testados no presente experimento, justificando assim a menor expansão da cultura do grupo de parasitos tratados com o sistema M+AUl. Isto, por sua vez, decorre do fato de que, por apresentarem possíveis alterações na arquitetura das organelas citoplasmáticas e, conseqüentemente, das funções destas, estes parasitos podem ter funções

importantes para manutenção de sua viabilidade, como a replicação, comprometidas. Somado a isto, é possível que a modificação na expressão de genes pró e antiapoptóticos decorrentes da ação do AU ainda possam estar comprometendo a viabilidade e a capacidade de replicação destes parasitos.

Na literatura, são poucos os trabalhos que avaliam a ação do AU em experimentos *in vivo* tanto em modelo animal quanto em seres humanos. No entanto, já fora demonstrada a capacidade de o AU, quando aplicado de forma intralesional, ser capaz de reduzir tanto o tamanho quanto a carga parasitária das lesões de camundongos infectados por *L. amazonensis*<sup>21</sup>. Já no que diz respeito ao Sistema de M+AUl, este já se mostrou eficiente no tratamento de lesões de queimaduras em modelos suínos, com melhor celularidade, epitelização e deposição de colágeno, além de indicar boa absorção do AU no sistema<sup>24</sup>.

Dessa forma, com base nestes dados e nos experimentos *in vitro* realizados no presente estudo, podemos observar que o tratamento com o sistema de M+AUl apresenta-se como uma alternativa viável para opção terapêutica para LCL causada por parasitos da espécie *L. braziliensis*. No entanto, ainda são necessários maiores estudos a respeito desta opção terapêutica, a exemplo da demonstração da segurança dessa droga para células humanas, bem como para avaliação do tratamento na infecção destes parasitos.

#### CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram que não há conflitos de interesse.

## REFERÊNCIAS

1. BANULS, Anne-Laure; HIDE, Mallorie; PRUGNOLLE, Franck. Leishmania and the leishmaniasis: a parasite genetic update and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in humans. **Advances in parasitology**, v. 64, p. 1-458, 2007.
2. JIRMANUS, Lara et al. Epidemiological and clinical changes in American tegumentary leishmaniasis in an area of *Leishmania (Viannia) braziliensis* transmission over a 20-year period. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 86, n. 3, p. 426-433, 2012.
3. DNDi. Drugs for Neglected Diseases initiative. Leishmaniasis. Disponível em: <<http://www.dndi.org/diseases-projects/diseases/vl.html>>. Acesso: 01 dez. 2018.
4. Brasil. DataSUS. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/ltabr.def>>. Acesso em 12 de maio de 2019.
5. BITTENCOURT, Achiléa et al. Post-kala-azar dermal leishmaniasis associated with AIDS. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 6, n. 6, p. 313-316, 2002.
6. HANDJANI, Farhad et al. Interleukin-10 and Interferon- $\gamma$  Levels in Patients with Cutaneous Leishmaniasis Treated with Cryotherapy. **Iranian journal of medical sciences**, v. 42, n. 5, p. 488, 2017.
7. AMATO, Valdir Sabbaga et al. Treatment of mucosal leishmaniasis in Latin America: systematic review. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 77, n. 2, p. 266-274, 2007.
8. SILVA, Rosiana Estéfane da et al. Intralesional meglumine antimoniate for the treatment of localized cutaneous leishmaniasis: a retrospective review of a Brazilian referral centre. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, n. 8, p. 512-516, 2016.

9. OMS. 2013. Control of the Leishmaniasis. Geneva: World Health Organization.  
Disponível em: <www.who.int/leishmaniasis/en/>. Acesso em: 17 Nov 2017.
10. BRUNO, Michela et al. (+)-Usnic acid enamines with remarkable cicatrizing properties. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 21, n. 7, p. 1834-1843, 2013.
11. FRANCOLINI, Iolanda et al. Water soluble usnic acid-polyacrylamide complexes with enhanced antimicrobial activity against *Staphylococcus epidermidis*. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 4, p. 7356-7369, 2013.
12. ARAUJO, A. A. S. et al. Review of the biological properties and toxicity of usnic acid. **Natural product research**, v. 29, n. 23, p. 2167-2180, 2015.
13. DA LUZ, João SB et al. Ultrastructural analysis of leishmania infantum chagasi Promastigotes forms treated in vitro with usnic acid. **The Scientific World Journal**, v. 2015, 2015.
14. DERICI, Mehmet Kürşat; CANSARAN-DUMAN, Demet; TAYLAN-ÖZKAN, Ayşegül. Usnic acid causes apoptotic-like death in *Leishmania major*, *L. infantum* and *L. tropica*. **3 Biotech**, v. 8, n. 9, p. 384, 2018.
15. RUSZCZAK, Z. Effect of collagen matrices on dermal wound healing. **Advanced Drug Delivery Reviews.**, v.55, p.1595-1611, 2003.
16. HELARY, C.; OVTRACHT, L.; COULOMB, B.; GODEAU, G.; GIRAUD-GUILLE, M. M. Dense fibrillar collagen matrices: A model to study myofibroblast behavior during wound healing. **Biomaterials**, v.27, n.25, p.4443-4452, 2006.
17. LOSS, M. et al. Artificial skin, split-thickness autograft and cultured autologous keratinocytes combined to treat a severe burn injury of 93% of TBSA. **Burns**, v. 26, n. 7, p. 644-652, 2000.
18. NICOLOSI, J. G.; MORAES, A. M. Biomateriais destinados à terapia de queimaduras: Estudo entre o custo e o potencial de efetividade de curativos avançados. **VI Cobeq**. 2005.

19. SIQUEIRA-MOURA, M.; LIRA, M. C. B.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S. Validação de método analítico espectrofotométrico UV para determinação de ácido úsnico em lipossomas. **Braz J Pharm Sci**, 2008.
20. DE MOURA, T.R. et al. Toward a novel experimental model of infection to study American cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis*. **Infect Immun.**, v.73, p. 5827-5834, 2005.
21. FOURNET, Alain et al. Activity of compounds isolated from Chilean lichens against experimental cutaneous leishmaniasis. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v. 116, n. 1, p. 51-54, 1997.
22. PASTRANA-MENA, Rebecca et al. A malaria transmission-blocking (+)-usnic acid derivative prevents *Plasmodium* zygote-to-ookinete maturation in the midgut. **ACS chemical biology**, v. 11, n. 12, p. 3461-3472, 2016.
23. SI, Kaiwei et al. Effects of (+)-usnic acid and (+)-usnic acid-liposome on *Toxoplasma gondii*. **Experimental parasitology**, v. 166, p. 68-74, 2016.
24. NUNES, Paula Santos et al. Gelatin-based membrane containing usnic acid-loaded liposome improves dermal burn healing in a porcine model. **International journal of pharmaceutics**, v. 513, n. 1-2, p. 473-482, 2016.

## TÍTULOS E LEGENDAS

**Figura 1. Tratamento da cultura axênica com Membrana de Gelatina contendo Ácido Úsnico encapsulado em lipossomo.** O isolado de *L. braziliensis* fora exposto ao tratamento com Membrana de Gelatina pura e com crescentes concentrações de AU encapsulado em lipossomo por 48 horas, quando então a viabilidade parasitária foi determinada por contagem direta em Câmara de Neubauer. É possível observar que o tratamento Membrana de Gelatina contendo AU encapsulado em lipossomo apresentou menor viabilidade parasitária quando comparada ao grupo controle, bem como um efeito dose dependente no que diz respeito a concentração de AU na cultura. O gráfico representa as médias e o  $\pm$  EP de 3 experimentos realizados em quintuplicata (\*\* $p \leq 0,01$ ; \*\*\* $p \leq 0,001$ ).

**Figura 2. Efeito após o tratamento de cultura axênica com Membrana de Gelatina contendo Ácido Úsnico encapsulado em lipossomo.** O isolado de *L. braziliensis* fora exposto ao tratamento com Membrana de Gelatina pura e com AU por 48h, quando então a cultura fora lavada para retirada de droga residual e, então, a viabilidade parasitária após 24h e 48h da lavagem foi determinada por contagem direta em Câmara de Neubauer. É possível observar que na cultura tratada com a Membrana de Gelatina contendo Ácido Úsnico encapsulado em lipossomo, houve uma menor viabilidade parasitária mesmo após a lavagem da cultura. O gráfico representa as médias e o  $\pm$  EP de 3 experimentos realizados em triplicata. (\* $p \leq 0,01$ ; \*\*\*\* $p \leq 0,0001$ )

## ANEXO

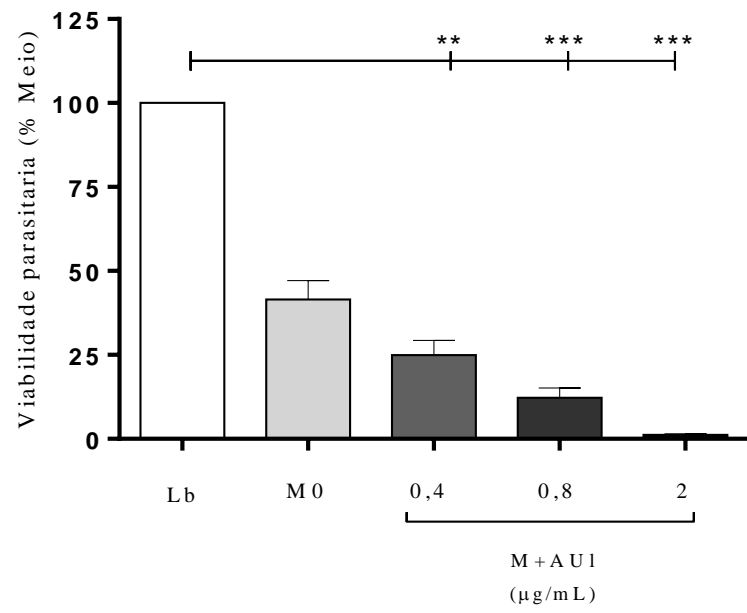


Figura 1.

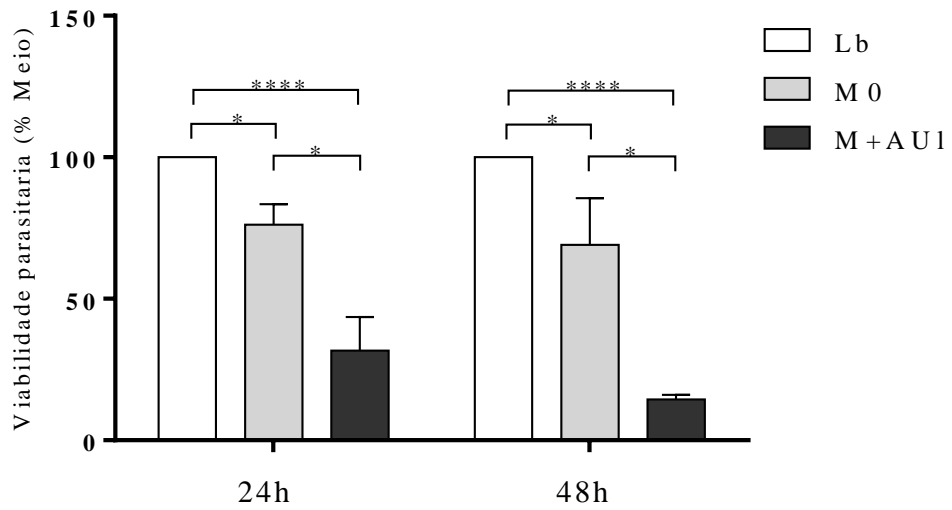


Figura 2.

## APÊNDICE A

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Nome do Projeto:** Uso de membranas bioativas contendo ácido úsnico para tratamento tópico da leishmaniose cutânea causada por *leishmania (viannia) braziliensis*

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO VOLUNTÁRIO E DO RESPONSÁVEL**

NOME DO PACIENTE: \_\_\_\_\_

DOCUMENTO DE IDENTIDADE N°: \_\_\_\_\_ SEXO : M  F

DATA NASCIMENTO (dd/mm/aaaa) \_\_\_\_\_

ENDEREÇO: \_\_\_\_\_ .N° \_\_\_\_\_

BAIRRO: \_\_\_\_\_ CIDADE \_\_\_\_\_

CEP \_\_\_\_\_ TEL: ( ) \_\_\_\_\_

*Instituição:* \_\_\_\_\_

*Data de preenchimento: (dd/mm/aaaa):* \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Assinatura do pesquisador responsável

**Investigador Principal:** Adriano Antunes de Souza Araújo, Hospital Universitário da UFS, Aracaju-Sergipe-Brasil.

**Convite e Objetivo:** Você está sendo convidado a participar de um estudo cujo objetivo é avaliar o potencial terapêutico da membrana de gelatina contendo ácido úsnico incorporado em lipossomas como tratamento tópico da Leishmaniose Cutânea causada por *Leishmania braziliensis*. Após lhe ser explicado o que contém neste documento, você pode perguntar tudo sobre a pesquisa. Caso decida participar do estudo, você será solicitado a assinar este consentimento.

**Participação voluntária:** Sua participação é voluntária. Você pode se recusar a participar ou pode desistir da participação no estudo a qualquer momento.

**Finalidade do estudo:** Este estudo visa determinar a ação leishmanicida do ácido úsnico, sendo um fármaco promissor para o tratamento tópico da Leishmaniose Cutânea.

**Procedimentos:** Caso você aceite participar do estudo, um questionário será feito para saber onde você mora, sua ocupação e seus hábitos. Além disso, seu sangue será utilizado para avaliar a resposta imune frente a antígenos do parasita.

**Confidencialidade:** Qualquer informação obtida durante este estudo será confidencial, sendo apenas compartilhada com outros membros da equipe médica do Comitê de Ética do Hospital Universitário. Embora os resultados obtidos neste estudo sejam publicados, não haverá na apresentação destes resultados meios que possam identificar os participantes. Suas fichas clínicas poderão ser também vistos pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário.

**Análise de riscos e benefícios:** A retirada de sangue pode causar dor no local da punção com a agulha e raramente pode ocorrer sangramento ou formação de hematoma. Porém, ocorrendo complicações, os médicos do projeto e do Hospital cuidarão de você. Este acompanhamento será realizado no Hospital Universitário.

**Retorno de benefício para o sujeito e para a sociedade:** O melhor conhecimento sobre um novo fármaco poderá contribuir no futuro para medidas de controle da doença.

**Custos:** Você não terá custos com a participação no estudo e, caso necessite de tratamento, a medicação lhe será fornecida gratuitamente. Você não receberá nenhum pagamento para participar desta pesquisa.

**Esclarecimentos:** Caso tenha alguma pergunta ou apresente alguma complicação relacionada aos procedimentos realizados na pesquisa, você pode ligar para Dr. Adriano Antunes de Souza Araújo (Tel.: (79)99192-4545). Caso você queira saber alguma coisa sobre os seus direitos, você pode procurar o Comitê de Ética do Hospital Universitário, cujo endereço consta no início deste consentimento.

**Consentimento:** Se você leu o consentimento informado ou este lhe foi explicado e você concorda em participar do estudo, favor assinar o nome abaixo. Uma cópia deste consentimento lhe será entregue. Favor assinalar um dos quadros abaixo para indicar se deseja ou não ter o parasito que causa esta doença armazenado para estudos futuros aprovados sobre Leishmaniose.

**ACEITO** que o meu sangue seja colhido e armazenado para estudos futuros sobre *Leishmania*.

**NÃO ACEITO** que o meu sangue seja colhido e armazenado para estudos futuros sobre *Leishmania*.

_____	_____	_____
Assinatura ou impressão do participante	Data	Hora
_____	_____	_____
Nome/Assinatura do pesquisador	Data	Hora
_____	_____	_____
Nome/Assinatura da testemunha	Data	Hora

## APÊNCIDE B

### PRODUÇÃO CIENTÍFICA DESENVOLVIDA

#### I. EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA

AÇÃO DE EXTENSÃO	VÍNCULO	CONCLUSÃO
Universidade Aberta à Comunidade Escolar: A arte e beleza das células na construção das Ciências Morfológicas e sua interação com a sociedade	Voluntário	2016
Museu de Anatomia Humana: Uma nova abordagem a Saúde da Mulher	Voluntário	2017
Grupo de Pesquisa em Síndromes Coronarianas Agudas – SOLAR	Voluntário	2017
Programa de Educação pelo Trabalho na Saúde – PET-GraduaSUS	Voluntário	2018
Lombalgia: Ações Educativas para melhoria da dor e qualidade de vida dos docentes da Rede Pública de Lagarto-SE	Voluntário	2018

#### II. INICIAÇÃO CIENTÍFICA

PROJETO DE PESQUISA	VÍNCULO	CONCLUSÃO
Avaliação Histomorfométrica da Placenta e Saúde Materno Infantil de Puérperas de diversos estágios de vida	Voluntário	2016
Avaliação do potencial terapêutico e imunomodulador do 17-AAG na infecção <i>in vitro</i> por <i>Leishmania infantum</i> naturalmente resistentes ao antimonial	Bolsista FAPITEC / COPEs	2018
Potencial terapêutico do Ácido Úsnico encapsulado em lipossoma na Leishmaniose Cutânea causada por <i>Leishmania (Viannia) braziliensis</i>	Voluntário	2019
Polimorfismos genéticos na resposta imunológica contra Leishmaniose Visceral e associação com as formas clínicas da doença e resposta terapêutica	Bolsista FAPITEC	Em andamento

## III. APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS EM CONGRESSO E EVENTOS

<b>RESUMO</b>	<b>EVENTO</b>	<b>PARTICIPAÇÃO</b>	<b>ANO</b>
Calibre do Tronco Pulmonar, do Arco da Aorta e seus ramos em fetos humanos: uma análise morfométrica	IV Simpósio Norte, Nordeste e Centro-Oeste de Anatomia Aplicada	Co-autor	2015
Morfometria do forame infraorbital em crânios secos humanos	IV Simpósio Norte, Nordeste e Centro-Oeste de Anatomia Aplicada	Autor	2015
Distância entre os vasos do Arco da Artéria Aorta em fetos: uma análise morfométrica	IV Simpósio Norte, Nordeste e Centro-Oeste de Anatomia Aplicada	Co-autor	2015
Avaliação Morfométrica da Placenta e Saúde Materna de Puérperas de diversos estágios de vida	26º Encontro de Iniciação Científica da UFS	Co-Autor	2016
Avaliação Histológica da Placenta de puérperas de diversos estágios de vida	26º Encontro de Iniciação Científica da UFS	Autor	2016
Critérios para retirada do dreno após Hernioplastia Incisional	20º Congresso Paulista de Cirurgia	Co-autor	2016
Avaliação da dependência a terceiros e da capacidade funcional de pacientes com Distrofia Muscular de Duchenne	I Congresso de Neurologia Clínico-Cirúrgica e Terapias de Sergipe	Autor	2016
Qualidade de vida dos pacientes com Distrofia Muscular de Duchenne	I Congresso de Neurologia Clínico-Cirúrgica e Terapias de Sergipe	Autor	2016

Diagnóstico situacional numa Unidade de Saúde da Família: Uma experiência pelo PET-SAÚDE	5º Congresso de Iniciação a Extensão	Co-autor	2017
Avaliação do Potencial Terapêutico do 17-AAG na infecção <i>in vitro</i> por <i>Leishmania infantum chagasi</i>	27º Encontro de Iniciação Científica da UFS	Autor	2017
Síndrome Coronariana Aguda: Terapêutica e Desfecho clínico em registro Solar	XIII Congresso Sergipano de Cardiologia	Co-autor	2017
Potential therapeutic of 17-AAG <i>in vitro</i> against <i>Leishmania infantum</i> isolates from patients refractory to antimony treatment	6 <sup>th</sup> World Congress on Leishmaniasis	Co-autor	2017
Inguinodinia em pacientes submetidos a Hernioplastia Inguinal pela técnica de Lichtenstein	XXXII Congresso Brasileiro de Cirurgia	Co-autor	2017
Modulação da Resposta Imune de Macrófagos Infectados por isolados de <i>Leishmania infantum</i> resistentes ao antimonial	III Simpósio Nordeste de Doenças Infecciosas e Parasitárias	Co-autor	2018
Resposta Quimioterapêutica em camundongos em tríplice infecção por clones da CEPA 21SF (SÃO FELIPE/BAHIA) do <i>Trypanosoma cruzi</i>	III Simpósio Nordeste de Doenças Infecciosas e Parasitárias	Co-autor	2018
Avaliação da IL-33 e do receptor sST2 nas hepatites crônicas	III Simpósio Nordeste de Doenças Infecciosas e Parasitárias	Co-autor	2018
Potencial terapêutico do 17-AAG na infecção <i>in vitro</i> por <i>Leishmania infantum</i> naturalmente resistentes ao antimonial	III Simpósio Nordeste de Doenças Infecciosas e Parasitárias	Co-autor	2018

Níveis elevados de TioI em <i>Leishmania infantum</i> resistentes ao antimônio isoladas de pacientes com Leishmaniose Visceral refratários ao tratamento	III Simpósio Nordeste de Doenças Infecciosas e Parasitárias	Co-autor	2018
Avaliação do potencial terapêutico do 17-AAG na infecção <i>in vitro</i> por <i>Leishmania infantum</i>	28º Encontro de Iniciação Científica da UFS	Autor	2018
Avaliação Antropométrica e Pressórica de escolares no interior de Sergipe	V Semana Acadêmica-Cultural da Departamento de Medicina da UFS	Autor	2018
Potencial terapêutico do 17-AAG na infecção <i>in vitro</i> por <i>Leishmania infantum</i> naturalmente resistentes ao antimonial	V Semana Acadêmica-Cultural da Departamento de Medicina da UFS	Autor	2018
Gelatin Membranes with Usnic Acid for Tropical Treatments for Cutaneous Leishmaniasis	IV Congress of the Brazilian Association of Pharmaceutical Sciences	Co-autor	2018
Inibição do TREM-1 durante infecção de <i>L. infantum</i> em macrófagos e neutrófilos humanos	54º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical – MEDTROP 2018	Co-autor	2018
Aspectos Epidemiológicos de Mulheres com Lesões Anorretais induzidas pelo Papilomavírus Humano	XXIII Congresso Paulista de Obstetrícia e Ginecologia	Co-Autor	2018

#### IV. PREMIAÇÕES

PRÊMIO	ANO
--------	-----

Melhor Trabalho apresentado “Modulação da Resposta Imune de macrófagos infectados por isolados de <i>Leishmania infantum</i> naturalmente resistentes ao antimonial no III SINDIP, UFS	2018
2º Lugar no Prêmio Destaque pelo desenvolvimento e apresentação do trabalho “Avaliação do potencial terapêutico do 17-AAG na infecção <i>in vitro</i> por <i>Leishmania infantum chagasi</i> ” no 28º EIC-UFS	2018
Menção Honrosa na apresentação do trabalho “Potencial Terapêutico do 17-AAG na infecção <i>in vitro</i> por <i>Leishmania infantum</i> naturalmente resistentes ao antimonial” no III SINDIP-UFS	2018
3º Lugar em Menção Honrosa na apresentação do trabalho “Potencial terapêutico do 17-AAG na infecção <i>in vitro</i> por <i>Leishmania infantum</i> naturalmente resistentes ao antimonial” na V SEMAC do DME-UFS	2018

#### V. PUBLICAÇÃO DE ARTIGOS EM PERIÓDICOS

ARTIGO	REVISTA	ANO
Pesquisa Científica: conhecimento, atitudes e barreiras entre estudantes de medicina brasileiros	Arquivos de Ciências da Saúde	2018
Atitudes e comportamentos dos diabéticos acerca das estratégias de prevenção e controle clínico do Diabetes	Revista de Medicina	2019

#### VI. ORGANIZAÇÃO DE EVENTOS

EVENTO	ANO
I Simpósio da LEOS – Oncologia que todo médico deve saber	2018
VII Curso de Técnicas de Sutura, Incisão e Nós	2018
Minicurso “Técnicas Imunológicas e Moleculares Aplicadas na Pesquisa e Diagnóstico”	2018
I Simpósio Endocrinologia e o Clínico	2019

#### VII. MONITORIAS

DISCIPLINA	VÍNCULO	CONCLUSÃO
Anatomia Humana I	Voluntário	2017
Imunologia	Voluntário	2018
Saúde do Adulto I	Voluntário	Em andamento