

# EFEITO DO LEVAMISOL E DO EXTRATO ETANÓLICO DE FOLHAS DE *Momordica Charantia* SOBRE A DERMATOFITOSE EXPERIMENTAL EM COELHOS

LUZIANA TAVARES BRAGA,<sup>1</sup> DIANA CÉLIA SOUSA NUNES-PINHEIRO,<sup>1\*</sup> JACY AURÉLIA VIEIRA DE SOUSA,<sup>3</sup> FRANCISCO MARTILEUDO SOUSA SILVA,<sup>3</sup> VIVIANE MOURA FARIAS,<sup>1</sup> ANA KARINE ROCHA DE MELO LEITE,<sup>1</sup> CLÁUDIO AFONSO PINHO LOPES,<sup>1</sup> OLIVARDO FAÇO,<sup>2</sup> CLÁUDIO CABRAL CAMPELLO,<sup>1</sup> JOSÉ HÉLIO COSTA<sup>2</sup> E TERESA NEUMA ALBUQUERQUE GOMES NOGUEIRA<sup>3</sup>

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Avenida Paranjana, 1700, Campus do Itaperi, CEP 60740-000, Serrinha, Fortaleza, Ceará.

2. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará, CP1064, Campus do Pici, CEP 60000-000, Fortaleza, Ceará.

3. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Ceará, Avenida Paranjana, 1700, Campus do Itaperi, CEP 60740-000, Serrinha, Fortaleza, Ceará. Trabalho originado da Dissertação de Mestrado do primeiro autor.

\* Autor para correspondência: Diana Célia Sousa Nunes-Pinheiro – Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Avenida Paranjana, 1700, Campus do Itaperi, CEP 60740-000, Serrinha, Fortaleza, Ceará. Fone: (85)3101 9834, Fax (85)3101 9850. E-mail: diana@uece.br

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do levamisol e do extrato etanólico das folhas de *Momordica charantia* na dermatofitose experimental. Para tanto, coelhos jovens, Nova Zelândia, machos, divididos em grupos, receberam, por via oral, durante quinze dias consecutivos Tween 20 (1%, controle; n=5), levamisol (25 mg/Kg/PV; n=4) ou extrato etanólico de *M. charantia* (EE, 10 mg/Kg/PV, n=6) a partir do 15º dia inoculação por *Microsporum canis*. Foram realizadas as contagens total e diferencial de leucócitos do sangue periférico, cultivo do raspado de pele e avaliação histopatológica das lesões. O levamisol e o EE

reduziram os escores de avaliação histológica das lesões provocadas pelo *M. canis* e não induziram modificação dos leucócitos circulantes. O tratamento com levamisol provocou alterações na pele infectada em relação ao controle ( $p<0,01$ ), mas não diferiu do tratamento com EE, o qual não diferiu do controle que recebeu o veículo. Os resultados demonstraram que o levamisol teve melhor desempenho no tratamento da dermatofitose, enfatizando seu potencial imunomodulador, enquanto o EE de *M. charantia* apresentou um efeito bastante promissor, indicando uma alternativa de tratamento da dermatofitose provocada pelo *M. canis*.

PALAVRAS-CHAVES: Cucurbitaceae, imunomodulação, levamisol, *Microsporum canis*, *Momordica charantia*.

## ABSTRACT

EFFECT OF THE LEVAMISOLE AND THE ETHANOLIC EXTRACT OF *Momordica charantia* LEAVES ON THE EXPERIMENTAL DERMATOPHYTOSIS IN RABBITS

The aim of this work was to evaluate the effect of levamisole and ethanolic extract of *Momordica charantia* leaves on experimental dermatophytosis. Young rabbits, New Zealand, males, were divided in groups that received by via oral during 15 days Tween 20 (1%, control; n=5), levamisole (25 mg/kg/LP; n=4) or ethanolic extract of

*M. charantia* leaves (EE, 10 mg/kg/LP; n=6), beginning at 15<sup>th</sup> day of *Microsporum canis* inoculation. Total and differential blood circulating leukocyte counts, cultivate of skin and histopatological evaluation of the lesions were realized. Levamisole and EE reduced the histological evaluation scores of the lesions provoked by *M. canis* and did

not change of the leukocyte counts. The treatment with levamisole promoted alterations in relation to the control ( $p < 0.01$ ), but not differed of the EE treatment, who did not differ to the control that received the vehicle. These results demonstrated that Levamisol has the better performance,

sole, *Microsporum canis*, *Momordica charantia*.

## INTRODUÇÃO

As dermatopatias representam cerca de 30% do atendimento na rotina diária da clínica médica de carnívoros domésticos, independentemente da localização geográfica e do seu desenvolvimento socioeconômico (LARSSON, 1995). Dentre as dermatopatias que acometem os animais domésticos, destacam-se as dermatofitoses (CAVALCANTI et al., 2003).

As dermatofitoses ou tinhas são afecções cutâneas caracterizadas por lesões superficiais sobre os tecidos queratinizados: unhas, garras, pêlos e *stratum corneum* da pele. Elas são causadas pela ação parasitária de fungos denominados dermatófitos (DIAZ et al., 1984). Dentre os dermatófitos, destaca-se *Microsporum canis*, que, por ser zoofílico, está presente preferencialmente em diversos animais domésticos e ocasionalmente no homem, tendo em nosso meio como principal reservatório os felinos jovens (SIDRIM & MOREIRA, 1999).

A interação do sistema imune com organismos infecciosos é uma disputa dinâmica entre os mecanismos efetores do hospedeiro, objetivando eliminar as infecções, e entre as estratégias dos micróbios (ABBAS et al., 2003). As respostas protetoras contra fungos consistem tanto da imunidade adquirida como da imunidade inata, envolvendo a participação de anticorpos e de neutrófilos e macrófagos e da liberação de mediadores (CASONE et al., 1997).

O levamisol é um fármaco pertencente ao grupo dos imidazotiazóis, apresenta propriedades imunomoduladoras e vem sendo utilizado no tratamento de doenças imunológicas (PURZYC & CALKOSINSKI, 1998). Suas propriedades são atribuídas ao aumento de atividade imunológica mediada por células, em que se incluem a dife-

enhasando sua imunomoduladora potencial, enquanto EE de *M. charantia* tem um efeito promissor, indicando uma alternativa de tratamento na dermatofitose induzida por *M. canis*.

KEY-WORDS: Cucurbitaceae, imunomodulação, levami-

renhação e a proliferação dos linfócitos T, e da atividade dos linfócitos T efetores (BRUNNER & MUSCOPLAT, 1980; ANDRADE & SANTA-RÉM, 2002). Embora seja utilizado amplamente como um anti-helmíntico, o levamisol pode potencializar o efeito de vacinas e induzir a remissão de tumores. Foi utilizado em humanos com doenças reumáticas, reações de hipersensibilidade e neoplasias (SCOTT et al., 1996) assim como nos estados de imunodeficiência primária e secundária (ROSENKRANTZ, 1989; BARTA, 1992). No entanto, foi relatado que o levamisol pode desencadear reações farmacodérmicas em cães, o que seria um efeito adverso (SOUSA et al., 2005).

No Brasil, a *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae) é conhecida popularmente como melão-de-são-caetano, erva-de-lavadeira, erva-de-são-vicente, fruta-da-cobra e melãozinho (SOUZA, 2001). A *M. charantia* destaca-se pelas várias propriedades medicinais (JILKA et al., 1983; ; PORRO et al., 1985; GUEVARA et al., 1990; BISWAS et al., 1991; NG et al., 1992; SINGH et al., 1998; BATISTA et al., 1999; GÜRBÜZ et al., 2000). Estudos toxicológicos realizados com extratos de folhas de *M. charantia* demonstraram atividade genotóxica sobre o fungo *Aspergillus nidulans* (RUIZ et al., 1996).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do levamisol e do extrato etanólico obtido das folhas de *Momordica charantia* na dermatofitose experimentalmente induzida em coelhos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Animais

Utilizaram-se quinze coelhos da raça Nova Zelândia, machos e com idade de 2 a 6 meses. Os animais foram mantidos em gaiolas indivi-

duais, sob condições adequadas de higiene, luz e temperatura, recebendo água e ração à vontade.

#### Obtenção do extrato etanólico de *Momordica charantia*

Colheram-se as folhas de *M. charantia* em fevereiro de 2001, nas proximidades do sítio Meus Amores, no município de Eusébio, Ceará. Botânicos do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará identificaram a planta e depositou-se um espécime no Herbário Prisco Bezerra sob o número 31709. As folhas foram colocadas em local arejado para a secagem e posterior obtenção do extrato etanólico.

Às folhas secas de *M. charantia* foram adicionadas etanol a 95% e, após uma semana de repouso, a solução foi filtrada e submetida a um evaporador rotatório a 70°C para evaporação do solvente e obtenção do extrato etanólico (EE), que foi liofilizado e armazenado em *freezer* à temperatura de -4°C. Para uso experimental fizeram-se diluições em salina 0,9% contendo 1% de Tween 20. Para esse protocolo experimental, utilizou-se a dose de 10 mg/Kg/PV, a qual foi escolhida conforme resultados prévios em laboratório.

#### Levamisol

Adquiriu-se o levamisol comercialmente na forma de comprimido e foi utilizado na dose de 25 mg/Kg/PV (RENOUX et al., 1976) dissolvido em salina e administrado por via oral, uma vez ao dia, durante quinze dias consecutivos.

#### Preparo do inóculo

Isolou-se a cepa de *M. canis* n° 41 CEMM 1-3-173, obtida da Micoteca do Centro Especializado de Micologia Médica da Universidade Federal do Ceará, de amostra de raspado de pele de cães naturalmente infectados e cultivada em meio ágar Sabouraud, ágar Sabouraud acrescido de cloranfenicol, ágar Sabouraud acrescido de clorafenicol e cicloheximida a 25°C, por quinze dias. Em seguida, procedeu-se à estocagem em ágar batata, ágar batata acrescido de dimetil sul-

fóxido a 10% e ágar batata acrescido de glicerol à temperatura de -20°C. Para o preparo do inóculo, as amostras de *M. canis* foram colocadas em meio BHI (*Brain and Heart Infusion*), durante sete dias em agitação constante. Após esse período, lavou-se o material obtido em água destilada até a retirada completa do meio de enriquecimento e em seguida foi estocado em solução salina estéril em condições de temperatura, luz e umidade adequada. Esse material foi então ultrassonicado (Ultrasonic homogenizer CPX600), obtendo-se uma solução de aspecto homogêneo (COS et al., 2002). Tomando-se como referência a escala de McFarland, o inóculo obtido ficou correspondente ao padrão 10 da referida escala, que equivale à concentração de  $30 \times 10^8$  partículas infecciosas por mL.

#### Infecção experimental

Para a infecção experimental, utilizou-se a metodologia segundo DEBOER & MORIELLO (1994). Anestesiaram-se os coelhos com quetamina (Vetanarcol® injetável König, 25 mg/Kg) por via intramuscular. Uma área de oito cm<sup>2</sup> da região do flanco direito traseiro foi tricotomizada e escarificada com auxílio de escovas de cerdas duras autoclavadas. Colocou-se uma alíquota de 1 mL do material sobre a pele escarificada. Repetiu-se o procedimento por mais três dias consecutivos após inoculação inicial. No último dia, a área foi coberta com esparadrapo cirúrgico, removendo-se após 72 horas.

Para tanto, infectaram-se 21 animais. Desse, após avaliação macroscópica, dezesseis animais apresentavam sinais de infecção fúngica. O cultivo do raspado de pele foi feito a partir de 42 alíquotas, ou seja, duas alíquotas por animal infectado. O estudo prosseguiu após avaliação macroscópica, utilizando quinze animais para o protocolo experimental.

#### Protocolo experimental

Os animais foram numerados (n=15) e sorteados de maneira aleatória para a formação dos grupos. Iniciaram-se os tratamentos após o

décimo quinto dia da primeira inoculação, obedecendo-se ao seguinte protocolo experimental: (a) animais infectados e tratados com o veículo (Tween 20 a 1%, n=5, controle); (b) animais infectados e tratados com levamisol (25 mg/Kg/PV, n=4); (c) animais infectados e tratados com o EE de *M. charantia* (10 mg/Kg/PV, n=6). Os animais receberam, por via oral, 1,5 mL dos tratamentos durante quinze dias consecutivos. O décimo quinto dia da primeira inoculação foi considerado o dia zero, ou seja, antes do início dos tratamentos, e o décimo quinto dia dos tratamentos como o final dos tratamentos (dia 15).

#### Contagem total e diferencial de leucócitos

Fez-se a contagem total de leucócitos antes e ao final dos tratamentos. Para tanto, colheu-se o sangue com o auxílio de seringa descartável da veia jugular, o qual foi colocado em tubo heparinizado. A contagem dos leucócitos totais do sangue periférico foi realizada em hemocítmetro e a contagem diferencial de células foi feita em esfregaço sangüíneo sem a presença de anticoagulante, corado por May-Grunwald-Giemsa e observado ao microscópio óptico (LIMA et al., 2001).

#### Observação clínica e colheita do material

Inicialmente, avaliou-se a infecção fúngica através do cultivo de raspados de pele no sétimo dia de todos os animais infectados (n=21) após a primeira inoculação, e ao final dos tratamentos de acordo com o protocolo experimental, utilizando-se apenas os quinze animais que prosseguiram ao estudo. O material foi semeado em meio ágar Sabouraud, acrescido de clorafenicol e cicloheximida a 25°C, por quinze dias. Para a identificação do fungo, observou-se o aspecto da colônia em meio de cultivo e verificou-se a morfologia ao microscópio óptico, através da montagem de um fragmento da colônia em lâmina de vidro acrescido de duas gotas do corante azul de lactofenol (SIDRIM & MOREIRA, 1999).

#### Avaliação histológica

Previamente, antes do início do experimento, procedeu-se a uma biópsia da pele dos animais, o que iria caracterizar uma pele normal. Posteriormente, nos dia zero, correspondente ao 15º da inoculação, e no dia 15 dos tratamentos, realizaram-se biópsias das lesões para avaliação histológica (KOTNIK et al., 2001). Colheram-se amostras de cinco milímetros da área da pele infectada por *M. canis* com o auxílio de *punch*. Processaram-se as amostras de acordo com técnicas padronizadas para histologia e coraram-se com Hematoxilina-Eosina. Os cortes histológicos foram avaliados ao microscópio óptico e identificados de acordo com o grau de severidade das lesões, obedecendo-se aos escores segundo a metodologia de ABU-SAMRA & HAGO (1980), modificada: grau 0 - sem mudanças histopatológicas e pele normal; grau 1- discretas mudanças histopatológicas: leve hiperqueratose e infiltração dérmica com leucócitos; grau 2 - moderadas mudanças histopatológicas: acantose e infiltração dérmica moderada com leucócitos; grau 3 - severas mudanças histopatológicas: acantose e hiperqueratose, severa infiltração dérmica com leucócitos e histiócitos com alguns polimorfonucleares, inclusive eosinófilos. Realizou-se a leitura das lâminas em “teste cego”.

#### Análise estatística

Os resultados oriundos das contagens total e diferencial de células foram expressos em média e desvio-padrão, além de ser submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste t de Student ( $p<0,05$ ). Avaliaram-se os escores obtidos das análises histológicas dos diferentes grupos antes e ao final dos tratamentos pelo teste não-paramétrico de Wilcoxon ( $p<0,05$ ), e analisou-se a comparação entre os tratamentos pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ( $p<0,05$ ).

## RESULTADOS

Do total das alíquotas (n=42), em 85,71% (n=36) foram observadas características macroscópicas da infecção fúngica, sendo que a avaliação microscópica confirmou um índice de 76% (n=32) para a presença de estruturas microscópicas características de *M. canis*. Essas estruturas foram caracterizadas como hifas de parede espessa, rugosa e segmentada. Dezesesseis coelhos infectados foram positivos para *M. canis*. Lembre-se que o estudo prosseguiu apenas com quinze animais, cujos resultados dos cultivos foram negativos para todos os tratados com levamisol (25 mg/Kg/PV) e EE (10 mg/Kg/PV). Já os que receberam Tween 20 (1%) permaneceram positivos.

Os tratamentos com Tween 20 (1%), levamisol (25 mg/Kg/PV) e EE (10 mg/Kg/PV) não induziram diferenças significativas sobre as contagens total e diferencial dos leucócitos no sangue periférico dos coelhos infectados por *M. canis*.

Os aspectos histológicos da pele normal dos animais, avaliados antes do início do experimento, foram representados por epiderme normal, com aproximadamente três ou quatro camadas de células e presença de delgada camada córnea. Apoiando a epiderme, visualizou-se uma derme superficial com fibras de colágeno frouxamente dispostas. Abaixo da derme superficial, a derme profunda caracterizou-se por fibras colágenas dispostas com uma maior proximidade entre elas, com presença de folículos pilosos, seccionados longitudinalmente ou tangencialmente. Na derme como um todo, observou-se a presença de linfócitos ocasionais, dispersos.

Os aspectos histológicos da pele infectada por *M. canis*, sem tratamento e avaliados antes do início dos tratamentos, foram caracterizados por epiderme espessada, em virtude de hiperplasia acantótica irregular, papilomatosa e hiperqueratose. Na derme havia congestão e edema apreciáveis, com exsudação leucocitária, presença de células inflamatórias em maior número que o normal, além de edema e congestão importantes.

Os aspectos histológicos da pele de ani-

mais-controle, tratados com Tween, foram caracterizados por acentuada hiperqueratose, com formação de rolas córneas em alguns casos, além de hiperplasia acantótica irregular. Na derme, observaram-se edema difuso dissociando as fibras do colágeno, assim como perifolicular, caracterizando halo claro ao redor dos folículos pilosos. O infiltrado inflamatório mostrou-se acentuado e disposto regularmente na derme.

Os aspectos histológicos da pele de animais tratados com levamisol foram caracterizados por uma epiderme que apresentava um número de camadas celulares semelhante ao normal, com uma camada de córnea menos espessa, enquanto a derme superficial e a profunda mostraram densidade e disposição do colágeno próximos à normalidade. Verificou-se um discreto edema superficial, e os folículos pilosos apresentaram-se dispostos normalmente.

Os aspectos histológicos da pele de animais tratados com EE de *M. charantia* foram caracterizados por uma epiderme próxima à normalidade, não se observando hiperqueratose. Na derme superficial verificou-se uma faixa espessa acidófila, subepitelial correspondente à fibrose, em substituição ao tecido conjuntivo frouxo habitual dessa área. Na derme profunda, as fibras colágenas encontravam-se dispostas em padrão e densidade normais. Evidenciou-se a presença de focos esparsos de exsudato, nos quais predominavam linfócitos. Os vasos sanguíneos apresentavam-se discretamente congestos.

Os resultados obtidos dos escores das lesões histológicas estão demonstrados na Tabela 1 e a comparação entre os tratamentos na Tabela 2.

Avaliando-se as lesões provocadas pelo *M. canis*, antes e ao final dos tratamentos (Tabela 1), verificou-se que tanto o levamisol quanto o EE reduziram os escores das lesões. No entanto, somente o levamisol diferiu significativamente do controle ao nível de 1%, apesar de a diferença entre os escores médios dos referidos tratamentos ser a mesma. Vale ressaltar que, quando os tratamentos são comparados entre si, o levamisol e o EE não são diferentes entre si, embora o EE não tenha diferido do controle (Tabela 2).

**TABELA 1.** Escores de avaliação histológica das lesões induzidas experimentalmente por *Microsporium canis* em coelhos, antes e ao final dos tratamentos com levamisol e extrato etanólico de *Momordica charantia*

Tratamentos	N	Soma dos escores		Escore médio		Valor de p
		Antes	Depois	Antes	Depois	
Controle	5	22,50	23,50	4,50	4,70	1,0000
EE <i>M. charantia</i>	6	51,00	27,00	8,50	4,50	0,0209*
Levamisol	4	26,10	10,00	6,50	2,50	0,0082**

Valores expressos como média das ordenações dos escores das lesões pelo teste não-paramétrico de Wilcoxon (\* $p < 0,05$ ) (\*\* $p < 0,01$ ).

**TABELA 2.** Escores de avaliação histológica das lesões induzidas experimentalmente por *Microsporium canis* em coelhos: comparação entre os diferentes tratamentos

Tratamentos	N	Soma dos escores	Escore médio
Controle	5	23,50	4,70 a
EE <i>M. charantia</i>	6	54,50	9,08 a,b
Levamisol	4	42,00	10,50 b

Letras diferentes indicam a diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os diversos grupos, comparadas por meio do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

## DISCUSSÃO

Em animais e humanos, a dermatofitose é geralmente uma enfermidade autolimitante (DEBOER & MORIELLO, 1995). Dentre os dermatófitos, o *M. canis* destaca-se na medicina veterinária, por acometer diversas espécies como cães, gatos, caprinos, coelhos e cobaias (ABU-SAMRA & HAGO, 1980), sendo também considerada uma zoonose (DEBOER & MORIELLO, 1995; SIDRIM & MOREIRA, 1999; CAVALCANTI et al., 2003).

Os coelhos são naturalmente infectados por *Trichophyton mentagrophytes* e por *M. canis*, embora a ocorrência natural deste último seja rara (VOGTSBERGER et al., 1996). Uma das dificuldades para o estudo de fungos *in vivo* é o emprego de modelos, além de muitas espécies animais fazerem autocura. No presente trabalho, dezesseis coelhos foram comprovadamente positivos para o *M. canis*, através de cultura de raspado de pele e identificação microscópica, confirmando a avaliação macroscópica primeiramente realizada, demonstrando que coelhos podem ser utilizados como modelo para tal fim. A dermatofitose in-

duzida neste estudo apresentou quadro clínico semelhante ao descrito por outros autores em trabalhos com outras espécies (ABU-SAMRA & HAGO 1980; DEBOER & MORIELLO, 1994).

De acordo com trabalhos realizados por DEBOER & MORIELLO (1994, 1995), o modelo ideal para o estudo do desenvolvimento do curso clínico e patológico em procedimentos laboratoriais do *M. canis* é o gato, pois esse animal é capaz de produzir lesões com a mesma duração de uma infecção natural. Entretanto, o uso de gatos naturalmente ou experimentalmente infectados pode ser problemático, por diversas razões, dentre elas o stress natural (MIGNON et al., 1999), razão por que a utilização de coelhos como modelo experimental poderá representar uma boa alternativa.

As formas de tratamento para as dermatofitoses pode ser tópica ou sistêmica (DEBOER & MORIELLO, 1995). O tratamento tópico induz injúria exclusivamente nos elementos fúngicos que parasitam o *stratum corneum*, não atuando sobre as células da bainha do pêlo. Assim, ele não previne a invasão da haste pilosa pelo fungo (BORGES et al., 1993). Quando o tratamento

por via tópica não é efetivo, faz-se necessária a utilização de drogas sistêmicas, como fluconazol, itraconazol e griseofulvina (RAND, 2000). Entretanto, essas drogas apresentam efeitos adversos (SMITH, 2000). Neste trabalho optou-se pelo tratamento oral.

As infecções fúngicas são caracterizadas pela ativação dos linfócitos, macrófagos e da promoção do crescimento epitelial e da ceratinização (TIZARD, 1998). Na pele infectada por *M. canis*, sem tratamento ou que recebeu apenas o veículo Tween, observaram-se epiderme com hiperplasia acantótica, papilomatosa e hiperqueratose e derme com congestão, edema e infiltração leucocitária, caracterizando uma reação inflamatória local, provavelmente provocada pela presença do fungo. Esse modelo de infecção em coelhos apresentou características semelhantes às descritas na literatura. Nos animais tratados tanto com EE quanto com levamisol, a epiderme apresentou-se normal com hiperqueratose discreta, e derme com edema e congestão discretos, mostrando uma recuperação do processo infeccioso. Portanto, os tratamentos com levamisol e EE de *M. charantia* reduziram os parâmetros da infecção, possivelmente por capacitar as células do sistema imune inato e adaptativo, tornando-as efectoras na eliminação do agente infeccioso, que foi observado após quinze dias de tratamento e confirmado pela cultura dos raspados de pele ao final dos tratamentos.

As dermatofitoses caracterizam-se por desencadear tanto a resposta imune celular quanto a resposta imune humoral (ZRIMSEK et al., 1999). Em indivíduos imunossuprimidos, o tratamento tópico das dermatofitoses é, algumas vezes, menos efetivo (SMITH, 2000), de modo que o uso de imunomoduladores poderá auxiliar na terapia antifúngica.

O levamisol é considerado um imunostimulante, por ativar os linfócitos T (FINGER & SCHEINBERG, 2002). Estudos químicos e experimentais demonstraram que o levamisol aumenta a resposta fagocítica, estimulando a resposta cutânea quando aplicado por via subcutânea, e diminui a incidência de infecções sistêmicas (VELASQUEZ et al., 1998). Sua ação depende

da dose e da via de administração (PURZYC & CALKOSINSKI, 1998).

As folhas de *M. charantia* apresentam os seguintes constituintes químicos: octasone, 1-triacontanol, 7-estigmasten-3 $\beta$ -ol, 7,25-estigmastadien-3 $\beta$ -ol, 5,25-estigmastadien-3 $\beta$ -ol, glicosídeo, fitosfingosina, momordicin I, II, III (SCARTEZZINI & SPERONI, 2000). Estudos realizados em laboratório para este trabalho demonstraram a presença de esteróides no extrato etanólico (EE) (dados não mostrados).

A modulação da resposta imune pela *M. charantia* em diferentes protocolos experimentais demonstrou que os constituintes dessa planta exercem efeito variável sobre o sistema imune. Em algumas situações, atua como imunossupressor, retardando a rejeição de aloenxertos (LEUNG et al., 1987). Entretanto, em outras condições (HIV) (SPREAFICO et al., 1983), exibe atividade imunostimulatória que tem sido atribuída a um aumento na produção de interferon e atividade das células natural killer (CUNNICK et al., 1990). A administração intraperitoneal de alfa-momorcharin e beta-momorcharin estimulou a produção de IgE (ZHENG et al., 1999). Assim, estudos enfocando a atuação da *M. charantia* sobre o sistema imune são necessários.

*In vitro*, o extrato aquoso das folhas de *M. charantia* não teve efeito sobre *Epidermophyton floccosum*, *M. canis* e *T. mentagrophytes* (CACERES et al., 1991). O extrato hidroalcoólico da planta inteira seca não apresentou atividade contra *Aspergillus fumigatus* e *T. mentagrophytes* (BHAKUNI et al., 1999). Entretanto, o extrato aquoso das folhas de *M. charantia*, quando utilizada na água de beber de frangos, diminuiu a mortalidade e aumentou o ganho de peso das aves infectadas com *Aspergillus* spp (LANS & BROWN, 1998).

Mediante o exposto, pode-se inferir que tanto o levamisol quanto EE aumentaram a atividade fagocítica dos leucócitos e ativação dos linfócitos T mediados por citocinas, além de regular as interações entre as células da epiderme e da derme. Apesar de a resposta tecidual dos animais tratados com levamisol ter sido mais efetiva que o tratamento com EE na redução dos escores das

lesões histológicas provocadas pelo *M. canis*, não foram observadas diferenças significativas entre eles. Esses resultados podem estar associados ao número de animais utilizados, à variação da idade e também ao fato de os animais do grupo do EE apresentarem o maior número de escores antes do tratamento. Como os animais foram escolhidos aleatoriamente, houve coincidência da maior incidência de lesões no grupo que recebeu tratamento à base de EE, dada a impossibilidade de controle da resposta de cada animal. Além disso, os animais não são geneticamente idênticos.

Mais estudos deverão ser utilizados para avaliar outras doses tanto do levamisol quanto do EE em uma população mais homogênea. Com isso, poderá ser avaliado o efeito estimulante provocado por esses dois agentes diante de uma infecção fúngica, possivelmente associada à estimulação do sistema imune. Contudo, sugere-se a indicação de seus usos como auxiliares na terapia da dermatofitose.

Conclui-se que o levamisol, neste modelo estudado, representa um excelente tratamento para a dermatofitose provocada pelo *M. canis*. Já o EE das folhas de *M. charantia* representa um potencial a ser explorado, pelo efeito apresentado diante de sua atuação sobre o processo inflamatório induzido por *M. canis*.

#### AGRADECIMENTOS

À Fundação Cearense de Amparo à Pesquisa (FUNCAP), pelo apoio financeiro.

#### REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. **Cellular and molecular immunology**. 4. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2003. 544 p.
- ABU-SAMRA, M. T.; HAGO, B. E. D. Experimental infection of goats and guinea pigs with *Microsporium canis* and trials on treatment with Canesten cream and Neguvon solution. **Mycopathologia**, v. 72, p. 79-84, 1980.
- ANDRADE, S. F.; SANTARÉM, V. A. Endoparasiticidas e ectoparasiticidas. In: ANDRADE, S. F. **Manual de terapêutica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2002. p.437- 476.
- BARTA, O. Immuno-adjutant therapy. In: KIRK, R.W.; BONAGURA, J. D. **Kirk's current veterinary therapy**. 11. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1992. 217 p.
- BATISTA, L. B.; BEVILÁQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; VIEIRA, L. S. Atividade ovcida e larvicida *in vitro* das plantas *Spigelia anthelmia* e *Momordica charantia* contra o nematódeo *Haemonchus contortus*. **Ciência Animal**, v. 9, n. 2, 67- 73, 1999.
- BHAKUNI, D. S.; GOEL, A. K., JAIN S.; MEHROTRA, B. N; PATNAIK, G. K.; PRAKASH, V. Screening of Indian plants for biological activity: Part XIII. **Indian Journal Experimental Biology**, v. 26, n. 11, p. 883-904, 1998.
- BISWAS, A. R.; RAMASWAMY, S.; BAPNA, J. S. Analgesic effect of *Momordica charantia* seed extract in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 31, p. 115- 118, 1991.
- BORGES, M.; XHONNEUX, B.; CUTSEM, V. Oral itraconazole versus topical bifonazole treatment in experimental dermatophytosis. **Mycoses**, v. 36, p.105-115, 1993.
- BRUNNER, C. J.; MUSCOPLAT, C. C. Immunomodulatory effects of levamisole. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 176, p. 1159-1162. 1980.
- CACERES, A.; LOPEZ, B. R.; GIRON, M. A.; LOGEMANN H. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. I. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 31, n. 3, p. 263-276, 1991.
- CASONE, A.; CONTI, S.; DE BERNARDIS, F.; POLONELLI, L. Antibodies, killer toxins

and antifungal immunoprotection: a lesson from nature? **Immunology Today**, v. 18, n. 4, p. 164-168, 1997.

CAVALCANTI, M. P.; FAUSTINO, M. A. G.; FILHO, J. B. G.; ALVES, L. C. Frequência de dermatófitos e fungos saprófitas em caninos e felinos com sintomatologia sugestiva de dermatopatia micótica atendidos no Hospital Veterinário da UFRPE. **Clínica Veterinária**, n. 3, p. 24-28, 2003.

COS, P.; HERMANS, N.; DE BRUYNE, T.; APERS, S.; SINDAMBIWE, J. B.; BERGHE, D. V.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A.J. Further evaluation of Rwandan medicinal plant extracts for their antimicrobial and antiviral activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 155-163, 2002.

CUNNICK, J.E.; SAKAMOTO, K.; CHAPES, S. K.; FORTNER, G.W.; TAKEMOTO, D. J. Induction of tumor cytotoxic immune cells using a protein from the bitter melon (*Momordica charantia*). **Cellular Immunology**, v. 126, p. 278-289, 1990.

DEBOER, D. J.; MORIELLO, K. A. Development of an experimental model of *Microsporium canis* infection in cats. **Veterinary Microbiology**, v. 42, p. 289-295, 1994.

DEBOER, D. J.; MORIELLO, K. A. Inability of two topical treatments to influence the course of experimentally induced dermatophytosis in cats. **Small Animal**, v. 207, p. 52-57, 1995.

DIAZ, M. C.; SALAMANCA, L.; PIONTELLI, E. Dermatofitosis: um problema del pasado, um desafio del presente. **Adel Microbiology Enfermedad Infecciosa**, v. 3, p. 212-273, 1984.

FINGER, E.; & SCHEINBERG, M. A. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. 2. ed. São Paulo, Atheneu, p. 33-38, 2002.

GUEVARA, A. P.; LIM-SYLIANCO, C.; DAYRIT, F.; FINCH, P. Antimutagens from *Momordica charantia*. **Mutation Research**, v. 230, p.121-126, 1990.

GÜRBÜZ, I.; AKYUZ, C.; YESILADA, E.; SENNER, B. Anti-ulcerogenic effect of *Momordica charantia* L. fruits on various ulcer models in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, p. 77-82, 2000.

JILKA, C.; STRIFLER, B.; FORTNER, G. W.; HAYS E. F.; TAKEMOTO, D. J. *In vivo* anti-tumor activity of the bitter melon (*Momordica charantia*). **Cancer Research**, v. 43, p. 5151-5155, 1983.

KOTNIK, T.; ERZEN, N. K.; KUZNER, J.; DROBNIC-KOSOROK, M. Terbinafine hydrochloride treatment of *Microsporium canis* experimentally: induced ringworm in cats. **Veterinary Microbiology**, v. 83, p. 161-168, 2001.

LANS, C.; BROWN, G. Observations on ethnoveterinary medicines in Trinidad and Tobago. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 35, p. 125-142, 1998.

LARSSON, C. E. Dermatoparasitoses de cães e gatos: patogenia, diagnóstico diferencial e saúde pública. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 9., 1995, Campo Grande, MS. **Anais...** Campo Grande, 1995. p. 349.

LEUNG, S. O.; YEUNG, H.W.; LEUNG, K. N. The immunosuppressive activities of two abortifacient proteins isolated from the seeds of bitter melon (*Momordica charantia*). **Immunopharmacology**, v. 13, p. 159-171, 1987.

LIMA, A. O.; SOARES, J. B.; GRECO, J. B.; GALIZZI, J. CANÇADO, J. R. **Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica e interpretação**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

- MIGNON, B. R.; LECLIPTEUX, T.; FOCANT, C. H.; NIKKELS, A. J.; PIERARD, G. E.; LOSSON, B. J. Humoral and cellular immune response to a crude exo-antigen and purified keratinase of *Microsporium canis* in experimentally infected guinea pigs. **Medical Mycology**, v. 37, p. 123-129, 1999.
- NG, T. B.; CHAN, W. Y.; YEUNG, H. W. Proteins with abortifacient, ribosome inactivating, immunomodulatory, antitumor and anti-AIDS activities from cucurbitaceae plants. **General Pharmacology**, v. 23, p. 579- 590, 1992.
- PORRO, G.; LENTO, P.; MARCUCCI, F.; GROMO, G.; MODENA, D. Different cytotoxic activity and intracellular fate of an anti-CD5-momordin immunotoxin in normal compared to tumor cells. **Cancer Immunology Immunotherapy**, v. 40, p. 213- 218, 1985.
- PURZYC, L.; CALKOSINSKI, I. Ecto-ATPase from rat lymphocytes: in vivo studies on the influence of levamisole. **Polish Journal of Pharmacology**, v. 50, p.239-251, 1998.
- RAND, S. Overview: the treatment of dermatophytosis. **Journal of American Academy Dermatology**, v. 43, p. S104-112, 2000.
- RENOUX, G.; RENOUX, M.; TELLER, M. N.; McMAHON, S.; GUILLAUMIN, J. M. Potentiation of T-cell mediated immunity by levamisole. **Clinical Experimental Immunology**, v. 25, n. 2, p. 288-96, 1976.
- ROSENKRANTZ, W. Immunomodulating drug in dermatology. In: KIRK, R. W.; BONAGURA, J.D. **Kirk's current veterinary therapy**. 10. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1989. p. 570.
- RUIZ, A. R.; de la TORRE, R. A.; ALONSO, N.; VILLAERSCUSA, A.; BETANCOURT, J.; VIZOSO, A. Screening of medicinal plants for induction of somatic segregation activity in *Aspergillus nidulans*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 52, p. 123-127, 1996.
- SCARTEZZINI, P.; SPERONI, E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, p. 23-43, 2000.
- SCOTT, D. W.; MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E. Doenças imunológicas da pele. In: \_\_\_\_\_. **Muller & Kirk dermatologia de pequenos animais**. 5. ed. Rio de Janeiro: Interlivros, 1996. p. 448-580.
- SIDRIM, J. J. C.; MOREIRA, J. L. B. **Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koo-gan, 1999. p. 107-131.
- SINGH, A.; SINGH, S. P.; BAMEZAI, R. *Momordica charantia* (Bitter Gourd) peel, pulp, seed and whole fruit extract inhibits mouse skin papillomagenesis. **Toxicology Letters**, v. 94, p. 37- 46, 1998.
- SMITH, E. B. Treatment of dermatophytosis: Safety considerations. **Journal of American Academy Dermatology**, v.43, p. S113-119, 2000.
- SOUSA, M.G.; TALIERI, I.C.; JORGE, A.T.B.; COSTA, M.T. Reação farmacodérmica decorrente do uso do levamisol: relato de caso. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, supl. 2, p.154-157, 2005.
- SOUZA, J. A. L. **Plantas medicinais usadas como anti-helmínticas: estudo químico de *Spigelia anthelmia* Linn**. Monografia para obtenção do título de bacharelado em Química pela Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, 2001.
- SPREAFICO, F.; MALFIORE, C.; MORAS, M. L.; MARMONTI, L.; FILIPPESCHI, S.; MARI-BIERI, L.; PEROCCO, P.; STIRPE, F. The immunomodulatory activity of the plant proteins *Momordica charantia* inhibitor and poweed antiviral protein. **International Journal of Immunopharmacology**, v. 5. p. 335-343, 1983.

- TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária**: uma introdução. 5. ed. São Paulo: Roca, 1998.
- VELASQUEZ, J. R. D.; PRECIADO, J. I. S.; CAIRO C, S. M. Efecto del levamisol em la actividad microbica y quimiotaxis em células polimorfonucleares. **Revista Alergia**, México, v. 65, p. 43-48, 1998.
- VOGTSBERGER, L. M.; HARROFF, H. H.; PIERCE, G. E.; WILKINSON, G. E. Spontaneous dermatophytosis due to *Microsporum canis* in rabbits. **Laboratory Animal Science**, v. 36, n. 3, p. 294-297, 1996.
- ZHENG, Y.T.; BEN, K. L.; JIN, S. W. Alpha-momorcharin inhibits HIV-1 replication in acutely but not chronically infected T-lymphocytes. **Zhongguo Yao Li Xue Bao**, v. 20. p. 239-243, 1999.
- ZRIMSEK, P.; KOS, J.; PINTER, L.; DROBNIC-KOSOROK, M. Detection by ELISA of the humoral immune response in rabbits naturally infected with *Trichophyton mentagrophytes*. **Veterinary Microbiology**, v. 70, p. 77-86, 1999.

---

Protocolado em: 25 nov. 2005. Aceito em: 24 abr. 2007.