

EFEITOS DA OZONIZAÇÃO INTRA-ABDOMINAL E INTRA-RETAL SOBRE A AVALIAÇÃO RENAL DE CÃES ACOMETIDOS POR LEISHMANIOSE VISCERAL.

Tiago Fávero Moda*, Carlos José de Lima*, Adriana Barrinha Fernandes*, Renato Amaro Zângaro*, Livia Helena Moreira*

*Instituto de Engenharia Biomédica, Unicastelo, Parque Tecnológico de São José dos Campos, Estrada Doutor Altino Bondesan, 500 Distrito Eugênio de Melo, São José dos Campos, CEP: 12247-016 e Associação Cidade da Ciência Tecnologia e Educação – CITÉ, Rua Machado Sidney, 160/601, Centro - CEP 12245-650, São José dos Campos – SP, Brasil.
e-mail: lhsil@uol.com.br

Resumo: A Leishmaniose Visceral (LV) é uma enfermidade crônica causada pelo protozoário *Leishmania* sp, que apresenta grande importância em saúde pública. O objetivo deste estudo foi de avaliar a função renal através de exames bioquímicos séricos de cães positivos para a LV através do uso da ozonioterapia pelas vias de aplicação intra-abdominal e intra-retal. Cães positivos LV (n=14) foram divididos em 3 grupos, intra-abdominal, intra-retal e controle. Os grupos, intra-abdominal e intra-retal, foram submetidos a aplicação da mistura gasosa O₂/O₃ uma vez por semana por quatro semanas seguidas com a dose 2,6mg/Kg. Foram colhidas amostras de sangue periférico nos momentos antes (0h), 12h, 24h e 48h após cada tratamento para as análises laboratoriais de uréia e creatinina, nos cães LV do grupo controle sem tratamento, as amostras de sangue foram colhidas no momento 0h de cada semana por 4 semanas. Os cães LV submetidos a ozonização intra-retal apresentaram uma diminuição dos valores séricos de uréia e creatinina ao final do tratamento, mostrando melhor desempenho que a via intra-abdominal, não foram identificadas reações adversas com a ministração do ozônio durante o período de tratamento.

Palavras-chave: Cão, Ozônio, Leishmaniose Visceral, Uréia, Creatinina.

Abstract: Visceral Leishmaniasis (VL) is a chronic disease caused by the protozoan *Leishmania* sp, which has great importance in public health. The objective of this study was to evaluate renal function by serum biochemical tests positive for VL dogs through the use of ozone therapy by means of intra-abdominal and intra-rectal application. LV positive dogs (n = 14) were divided into 3 groups, intra-abdominal, intra-rectal and control. Groups, intra-abdominal and intra-rectal, were subjected to application of O₂/O₃ gas mixture once a week for four consecutive weeks at a dose 2.6 mg/kg. Peripheral blood samples were collected in the moments before (0h), 12h, 24h and 48h after each treatment for laboratory analysis of urea and creatinine in dogs LV untreated control group, blood samples were collected at the time of each 0h week for 4 weeks. The LV dogs undergoing intra-rectal ozonation showed a decrease of

serum urea and creatinine at the end of treatment, showing better performance than the intra-abdominal, via adverse reactions were not identified with the administration of ozone during the treatment period.

Keywords: Dog, Ozone, Visceral Leishmaniasis, Urea, Creatinine.

Introdução

A Leishmaniose é uma doença causada por protozoários do gênero *Leishmania* spp, com três espécies principais: *Leishmania donovani*, *Leishmania infantum* e *Leishmania chagasi*, agrupadas no complexo *Leishmania donovani* [1,2]. De interesse em Saúde Pública para o Brasil, podem ser destacados dois grupos de Leishmanioses: a primeira que acomete os tegumentos e as mucosas, denominada de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), cujo agente etiológico é a *Leishmania brasiliense*, e o segundo tipo que ataca preferencialmente os órgãos viscerais, denominada de Leishmaniose Visceral (LV), tendo como agente etiológico a *Leishmania donovani*, a doença também é conhecida como Calazar [3,4].

No Brasil, a Leishmaniose é considerada uma zoonose em expansão, tendo os cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) e as raposas (*Cerdocyon thous* e *Dusycion vetulus*) como os principais hospedeiros naturais na transmissão desta enfermidade [5,4,6]. Destaca-se na LV cerca de 90% dos casos humanos descritos nas Américas Central e do Sul [5,7,8]. No cão, a LV está incriminada no desenvolvimento de doença sistêmica crônica, podendo, inclusive, causar o óbito do animal [4,9] e, embora alguns cães infectados possam ser assintomáticos [7], acredita-se que estes animais tenham um papel importante na transmissão da LV por abrigar o parasita [10].

A ozonioterapia é um tratamento que está sendo amplamente utilizado em humanos [11,12], sendo considerado de baixo custo [13]. Esta terapia utiliza-se, principalmente, dos efeitos de inibição do estresse oxidativo no tratamento de doenças degenerativas [14,13]. Atualmente tem sido aplicada na medicina veterinária estando relacionada com respostas satisfatórias no tratamento de várias afecções, tanto em

animais de grande porte como de pequeno porte [15,16, 13].

O objetivo deste trabalho foi de comparar e avaliar a função renal através do perfil bioquímico sérico (creatinina, uréia) dos cães com diagnóstico positivo de Leishmaniose Visceral (LV) submetidos à ozonização pelas vias intra-abdominal e intra-retal.

Materiais e métodos

O estudo foi realizado com amostra de conveniência em cães positivos para Leishmaniose Visceral (LV) provenientes da região e município de Fernandópolis/SP, em parceria com a Universidade Camilo Castelo Branco (UNICASTELO) e Secretaria de Saúde do Município de Fernandópolis via Centro de Controle e Zoonose (CCZ).

Os cães foram levados pelos seus proprietários ao Hospital Veterinário Domingos Alves da UNICASTELO para consulta clínica com suspeita de LV. Estes foram submetidos à colheita de sangue periférico para a realização de testes sorológicos, ELISA e RIFI, para a confirmação do diagnóstico, e somente após a confirmação do diagnóstico positivo de LV os cães entraram no estudo. Ao término do estudo, os animais com LV foram eutanasiado de acordo com o CCZ do município de Fernandópolis.

Projeto submetido e aprovado pelo CEUA sob o número: 1-00037/2012.

Foram utilizados 14 cães positivos para LV (n=14) submetidos ao estudo e divididos em três grupos, **Grupo Intra-abdominal**, composto por seis cães (n=6) submetidos ao tratamento com a mistura gasosa oxigênio/ozônio pela via intra-abdominal, **Grupo Intra-retal** composto por seis cães (n=6) submetidos ao tratamento com a mistura gasosa oxigênio/ozônio pela via intra-retal, e o **Grupo Controle**, composto por dois cães positivos LV (n=2) sem tratamento.

Para a realização da ozonioterapia os cães dos grupos intra-abdominal e intra-retal, foram anestesiados com propofol (5 mg/kg) por via intravenosa, até a obtenção de plano anestésico e, se houvesse a necessidade de manutenção anestésica foi reaplicado o propofol na mesma via e dosagem. Na aplicação do gás no grupo intra-abdominal foi realizado a tricotomia no local e assepsia antes do tratamento; e nos cães cujo a aplicação do gás se deu pela via intra-retal foi realizado um enema de limpeza para que ocorresse melhor absorção da mistura gasosa pelo reto.

Para a produção da mistura gasosa O_2/O_3 foi utilizado o equipamento OZONELIFE® que foi acoplado ao cilindro de oxigênio medicinal de $10m^3$. Utilizou-se a concentração de saída do equipamento da mistura gasosa O_2/O_3 de 66 mg/L, onde se estipulou a dosagem de 2,6 mg/Kg. Os animais receberam o volume da mistura gasosa a ser administrado de acordo com o seu peso vivo. O tratamento consistiu em uma aplicação

por semana durante quatro semanas seguidas nos dois grupos de tratamentos (Intra-Abdominal e Intra-Retal).

Foram colhidas amostras de sangue periférico e enviadas ao Laboratório de Bioquímica da UNICASTELO para a realização do perfil bioquímico sérico da creatinina e uréia dos animais tratados com o ozônio, nos tempos 0h (antes da aplicação), 12h, 24h e 48h após os tratamentos, durante as quatro semanas seguidas, no grupo controle foram colhidas amostras de sangue periférico uma vez por semana no tempo 0h, momento zero.

Com os resultados obtidos foram realizados tratamentos estatísticos com as análises laboratoriais da bioquímica sérica (uréia e creatinina) através das análises comparativas de cada grupo (Intra-Abdominal e Intra-Retal) pelo teste T-Student e a análise de correlação entre os dois tratamentos com ozônio pelo teste de Spearman. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos para $p < 0,05$.

Resultados

Após as quatro semanas do tratamento foram obtidos os seguintes resultados no perfil bioquímico sérico da creatinina entre os grupos, tratados com ozônio e controle, apresentados na figura 1.

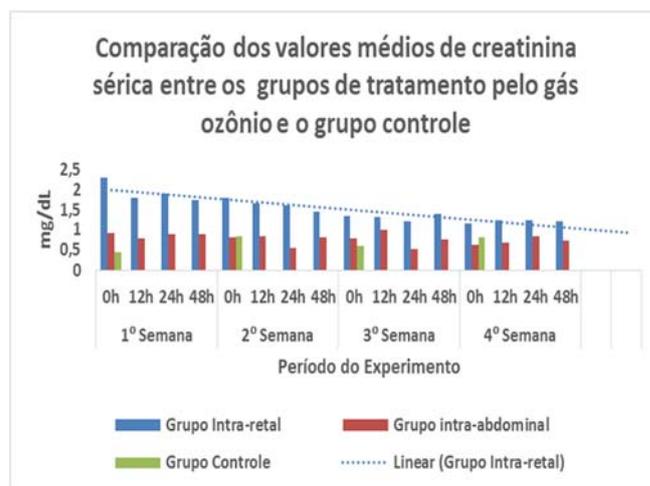


Figura 1: Comparação dos valores médios de creatinina sérica entre os grupos de tratamento (intra-retal e intra-abdominal) com o grupo controle.

A avaliação da função renal pela análise de creatinina sérica mostrou uma tendência de diminuição no início de tratamento pela mistura gasosa O_2/O_3 no grupo intra-retal, seguida pela normalização entre as aplicações durante a terceira e quarta semanas do tratamento, enquanto que nos grupos, intra-abdominal e controle, se mantiveram estáveis durante as quatro semanas.

O perfil bioquímico sérico da uréia após as quatro semanas do tratamento entre os grupos tratados com ozônio e controle estão apresentados na figura 2.

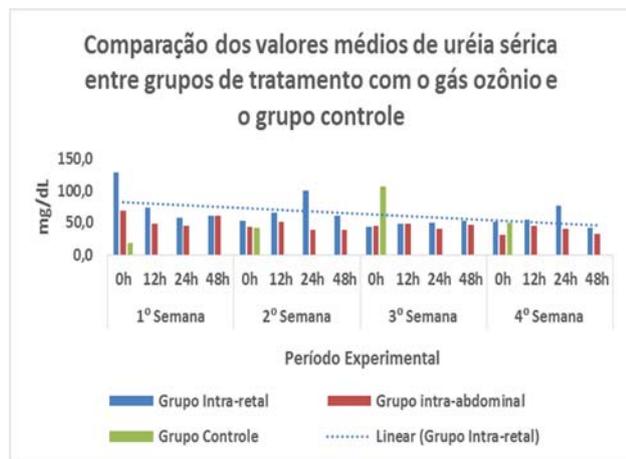


Figura 2: Comparação dos valores médios de uréia sérica entre os grupos tratados (intra-retal e intra-abdominal) com o gás ozônio em relação ao grupo controle.

Os níveis de uréia também diminuíram na primeira semana do tratamento com ozônio no grupo Intra-retal, mantendo-se reduzida nas outras semanas, mas dentro dos valores de normalidade aceitos para a espécie canina. Já no grupo de tratamento com ozônio intra-abdominal manteve-se dentro dos limites de normalidade para a espécie canina durante todo o período de tratamento.

Em relação as vias de aplicação da mistura gasosa, intra-abdominal e intra-retal, apesar de não ter sido verificada uma correlação positiva entre elas, em alguns momentos pode-se observar diferenças nos resultados laboratoriais dependendo da via utilizada, sugerindo haver diferença na absorção da mistura gasosa O_2/O_3 dependendo da via empregada.

Discussão

Na medicina veterinária o uso do ozônio com efeitos terapêuticos é pouco estudado, com envolvimento apenas em pesquisas, há uma necessidade de mais estudos relacionando à ozonioterapia no tratamento de enfermidades crônicas em animais [15,16], entretanto, os poucos estudos apresentados, identificaram respostas satisfatórias no emprego do ozônio no tratamento de algumas afecções em grandes e pequenos animais e animais silvestres [13,15,16] e com ausência de reações adversas [16, 13], dados também observados neste estudo.

As vias de aplicação dos tratamentos, intra-abdominal e intra-retal, são utilizadas rotineiramente [17,18], mostrando ter uma boa absorção do gás ozônio por estas vias. Em geral, o ozônio apresenta rápida absorção sendo bem tolerado por inúmeras vias [17], neste estudo também não foi verificado efeitos

colaterais pela ministração do ozônio nas vias estudadas, intra-abdominal e intra-retal, os animais não mostraram incômodo nas aplicações, durante e após o tratamento.

A LV acarreta alterações importantes de caráter sistêmico comprometendo principalmente o sistema renal [2], dados também observados na pesquisa, sugerindo um efeito mais acentuado da mistura gasosa O_2/O_3 pela via de aplicação intra-retal em resposta aos danos provocados pela doença, melhorando os índices séricos de creatinina e uréia. O tempo de tratamento utilizado neste estudo foi semelhante ao estudado por outros pesquisadores em equinos, que observaram alterações laboratoriais importantes com a ozonioterapia com 27 dias de tratamento [13]. Neste estudo optou-se por uma dosagem da mistura gasosa O_2/O_3 instituída para ação imunomoduladora (2,6mg/Kg), dose mediana, com intenção de estimulação do sistema enzimático de defesa antioxidante [19]. Entretanto, as análises laboratoriais realizadas neste estudo em cães com LV não mostraram resultados estatisticamente significativos. O número pequeno de animais que participaram do experimento pode ter contribuído para estes resultados, uma vez que as amostras analisadas foram de conveniência, dependiam da casuística desta enfermidade e também do proprietário aceitar que o animal participasse deste estudo.

Conclusão

Os cães positivos LV que receberam a aplicação da mistura gasosa oxigênio/ozônio pela via **Intra-Retal** demonstraram uma notável melhora da função renal, observado pela diminuição dos níveis séricos de uréia e creatinina, sugerindo haver melhor absorção por esta via em cães comprometidos pela doença.

Não foram observados efeitos colaterais com a ministração da mistura gasosa oxigênio/ozônio nas duas vias de aplicação, intra-retal e intra-abdominal, nos cães tratados.

O estudo da aplicação gasosa oxigênio/ozônio em cães positivos para LV mostra-se uma terapêutica promissora, entretanto, a literatura científica sobre seus efeitos ainda é escassa, informações adicionais tornam-se necessária para melhor compreensão de seu mecanismo de ação sobre as variáveis clínico-laboratoriais.

Agradecimento

Agradecimento a Prefeitura Municipal de Fernandópolis e ao Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) de Fernandópolis.

Referências

- [1] Who. World Health Organization:Control of the Leishmaniasis. Geneva: World Health Organization, 1990.

- [2] Melo, M.N. Leishmaniose visceral no Brasil: desafios e perspectivas. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 2004, v. 23, suplemento 1.
- [3] Gontijo, B.; Carvalho, M.L.R. Leishmaniose tegumentar americana. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2003, v. 36, n. 1, p. 71-80.
- [4] Baneth, G.; Koutinas, A.; Solano-Gallego, L.; Bourdeau, P.; Ferrer, L. Canine leishmaniasis – new concepts and insights on an expanding zoonosis. Part one. *Trends Parasitol.*, 2008, v. 24, p.324–330.
- [5] Courtenay, O.; Santana, E.W.; Johnson, P.J. et al. Visceral leishmaniasis in the hoary zorro *Dusicyon vetulus*: a case of mistaken identity. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1996, 90, p.498-502.
- [6] Almeida, A.B.P.F.; Faria, R.P.; Pimentel, M.F.A.; Dahroug, M.A.A.; Turbino, N.C.M.R.; Souza, V.R.F. Inquérito soropidemiológico de leishmaniose canina em áreas endêmicas de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [online]. 2009, vol.42, n.2 [cited 2011-11-26], pp. 156-159. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003768220000200012&lng=en&nrm=iso>. I SSN0037-8682. <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822009000200012>. Acesso em: 20 Nov. 2011.
- [7] Alves, W.A.; Bevilacqua, P.D. Reflexões sobre a qualidade do diagnóstico da leishmaniose visceral canina em inquéritos epidemiológicos: o caso da epidemia de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 1993-1997. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro. 20(1): 259-265, 2004.
- [8] Santos, G.P.L. et al. Prevalência da infecção canina em áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar americana, do município de Paracambi, Estado do Rio de Janeiro, no período entre 1992 e 1993. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2005, 38(2), p.161-166.
- [9] Melo, G.D.; Machado, G.F. Choroid plexus involvement in dogs with spontaneous visceral leishmaniasis: a histopathological investigation. *Braz. J. Vet. Pathol.*, 2009 v. 2, p. 69–74.
- [10] Gontijo, C.M.F.; Melo, M.N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, São Paulo, 2004, v.7, n.3, p.338-349.
- [11] Ogata, A.; Nagahata, H. Intramammary application of ozone therapy to acute clinical mastitis in dairy cows. *J. Vet. Med. Sci.*, 2000, v. 62, p. 681-686.
- [12] Hernández, O.D.; González, R.C. Ozonoterapia en úlceras flebotáticas. *Rev. Cubana de Cir*, 2001, 40(2), p. 123-129.
- [13] Haddad MA, Souza, M.V.; Hincapie, J.J.; Ribeiro Junio, J.I.; Ribeiro Filho, J.D.; Benjamin, L.A. Comportamento de componentes bioquímicos do sangue em equinos submetidos à ozonioterapia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 2009, v. 61, n.3, p. 539-546.
- [14] Bocci, V. Ozone as a bioregulator. Pharmacology and toxicology of ozonotherapy today. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 1996, v. 10, n. 3, p. 31-53.
- [15] Alves, G.E.S.; Abreu, J.M.G.; Ribeiro Filho, J.D.; Muzzi, L.A.L.; Oliveira, H.P.; Tannus, R.J.; Buchanan, T. Efeitos do ozônio nas lesões de reperfusão do jejuno em equinos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 2004, v. 56, n. 4, p. 433-437.
- [16] Di Maio, L. V.; Urruchi, W.; Rodríguez, Z.Z. Utilidad potencial de la Ozonoterapia en la Medicina Veterinaria - Potential Usefulness of Ozone Therapy in the Veterinary Medicine. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*. ISSN: 1695-7504 2009 v. 10, n. 10, Oct/2009. Disponível em: <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet><http://revista.veterinaria.org>><<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101009/100909.pdf>> Acessado em 20/11/2011.
- [17] Bocci, V.A. Scientific and medical aspects of ozone therapy. *Rivista Italiana di Ossigeno-Ozonoterapia*. 2006, 5: p.93-104.
- [18] Guanche, D.; Zamora, Z.; Hernández, F.; Mena, K. et al. “Effect of ozone/oxygen mixture on systemic oxidative stress and organic damage”. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 2009, p.1-6p.
- [19] Declaração de Madri sobre ozonioterapia assinada em 04 de junho de 2010, 21p. Disponível em: http://www.aepromo.org/declaracion_madrid/Portuguese_declaration.pdf. Acesso em 20 jun. 2013.