

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**JORGETH DE OLIVEIRA CARNEIRO DA MOTTA**

**ESTUDO COMPARATIVO DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA E  
CLÍNICA ENTRE A ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL E O N-  
METIL GLUCAMINA EM PACIENTES COM A FORMA  
LOCALIZADA DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR  
AMERICANA (LTA)**

**BRASÍLIA-DF**

**2006**

**Universidade de Brasília**

**Faculdade de Ciências de Saúde**

**Estudo Comparativo da Resposta Imunológica e Clínica entre a Anfotericina B Lipossomal e o N-metil Glucamina em Pacientes com a Forma Localizada da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA)**

**Jorgeth de Oliveira Carneiro da Motta**

**Brasília, DF**

**2006**

**Universidade de Brasília – UnB**

**Faculdade de Ciências da Saúde**

**Curso de Pós – Graduação em Ciências da Saúde**

**Jorgeth de Oliveira Carneiro da Motta**

**Estudo Comparativo da Resposta Imunológica e Clínica entre a Anfotericina B  
Lipossomal e o N-metil Glucamina em Pacientes com a Forma Localizada da  
Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA)**

**Dissertação apresentada como requisito  
parcial à obtenção do grau de Mestre ,  
Curso de Pós – Graduação em Ciências  
da Saúde, Universidade de Brasília**

**Orientadora : Prof. Dra. Raimunda Nonata  
Ribeiro Sampaio**

**Brasília, DF – 2006**

## **Dedicatória**

A Deus, por ter me guiado, protegido e orientado nos momentos mais difíceis, sendo o meu maior Mestre nos caminhos da vida.

À minha família, que é o meu alicerce, minha fonte de inspiração e de força para vencer todas as dificuldades que a vida me apresenta.

Aos meus filhos, Gustavo e Felipe, que são os meus maiores tesouros e deram um novo significado à minha vida, criando sempre um novo dia, uma nova esperança.

Ao meu marido, José Maurício, pela paciência, espera e apoio.

Aos meus pais, José Carneiro e Eudes, que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade, dando-me amor e apoio incondicionais.

Aos meus irmãos, Jadson e Jorgina, amigos de todas as horas.

## **Agradecimentos**

À Prof. Dra. Raimunda Nonata Ribeiro Sampaio, pela sua amizade, palavras de incentivo, orientação e profissionalismo. Por me fazer acreditar e prosseguir em frente nos momentos mais difíceis para a conclusão deste estudo.

Ao Prof. Pedro Luiz Tauil, pela boa vontade em me ajudar, a gentileza com que sempre me tratou e a honra que me deu em aceitar fazer parte da Banca Examinadora.

Ao Prof. João Barberino Santos, por ter aceito participar da Banca Examinadora.

À Dra. Carmen Déa Ribeiro de Paula, pela amizade, gentileza e por ter aceito fazer parte desta Banca.

À Dra. Cláudia Porto, pela amizade e por estar sempre disposta a ajudar.

Ao Sr. Tércio Rodrigues Pereira, técnico do laboratório de Dermatologicologia, pela sua valiosa e fundamental ajuda na realização dos exames diagnósticos, sempre disposto a colaborar e esclarecer minhas dúvidas.

À Dra. Edna Ishikawa, por ter sido tão atenciosa e solícita na realização da identificação das espécies de *Leishmania*.

À Dra. Verônica Maria Gonçalves Furtado, pela ajuda com a revisão da histopatologia, com a imunohistoquímica e pelas palavras de incentivo.

Ao Prof. Dr. Florêncio Figueiredo, por ter utilizado seu precioso tempo, realizando a imunohistoquímica com recursos de seu próprio laboratório (LIBbiópsia).

À toda equipe do LIB, por me ter atendido ou por telefone ou pessoalmente de forma prestativa. Com especial agradecimento para Viviane Montanari Leal, técnica do laboratório.

À Profa. Dra. Anamélia Lorenzetti Bocca, que me ajudou a entender melhor a técnica da imunohistoquímica e colaborou nos resultados.

À United Medical/GILEAD por ter doado a anfotericina B lipossomal (AmBisome) para este estudo.

Ao Dr. Ademir Tesser, Diretor da United Medical, pela simpatia, gentileza com que sempre me recebeu e pelo empenho para que a medicação fosse cedida para este estudo.

À Petra Rangel, representante da United Medical em Brasília, por ter sido sempre tão atenciosa e atender prontamente aos meus pedidos.

À Secretaria de Saúde do Distrito Federal, na pessoa da Dra. Disney Antezana, por ter doado o N-metil glucamina (Glucantime) de um mesmo lote, para este estudo.

Ao Sr. Fernando Vicente de Pádua, técnico do laboratório de nefrologia, por ter realizado os testes nas ampolas do N-metil glucamina.

À Simone Kartz, pelas palavras de incentivo e pelas primeiras referências para o estudo.

Aos residentes do serviço de Dermatologia do Hospital Universitário de Brasília, pela colaboração e amizade.

À Nadja Maria Martins Barros, secretária do serviço de Dermatologia do HUB, pelo atendimento solícito aos meus pedidos em busca dos prontuários dos pacientes deste estudo.

À Viviane Medeiros Silva, técnica do laboratório de Dermatômico-logia da UnB, pela forma delicada e atenção com que sempre me recebeu.

Aos pacientes que aceitaram participar deste estudo, pela colaboração e confiança.

Às funcionárias da Secretaria da Pós-graduação de Ciências da Saúde, Grace, Silvia, Vanessa e Expedita pela gentileza e atenção com que sempre me receberam.

E a todas as pessoas do meu convívio, que de alguma forma, contribuíram para a realização deste estudo.

Muito Obrigada!

O fruto que amadureceu caiu na terra e germinou o ciclo.  
Arrancam-se as folhas secas e as flores murchas.  
Rega-se e expõe-se ao sol.  
Aos ventos. Às tempestades.  
À brisa. Expõe-se à vida.  
Investe-se, arrisca-se, perde-se, ganha-se.  
Aprendendo-se, renunciando para conquistar horizontes  
Serenos, plenos.  
Sendo odiado e amado.  
Crucificado e absolvido.  
Do que fizeram de nós amadurecermos de nossos restos,  
Construiremos de nossas cinzas.  
Haverá sempre algo a renascer.  
Quando erramos, que seja tentando acertar.  
O que nos explora desperta em nós novas defesas.  
O que nos ama nos ensina a perdoar.  
Para que seja alguém como um pedaço do Universo  
Comendo um pedaço do Universo.  
A vida não se digna a ensinar aos tolos.

**Marília Barroso Telles**



## SUMÁRIO

|                                                                               |       |
|-------------------------------------------------------------------------------|-------|
| LISTA DE TABELAS .....                                                        | xii   |
| LISTA DE FIGURAS .....                                                        | xvi   |
| LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS .....                                | xxi   |
| RESUMO .....                                                                  | xxiii |
| ABSTRACT .....                                                                | xxv   |
| 1- INTRODUÇÃO .....                                                           | 1     |
| 2- REVISÃO DA LITERATURA .....                                                | 5     |
| 2.1 - EPIDEMIOLOGIA .....                                                     | 5     |
| 2.2 - INTERAÇÃO HOSPEDEIRO-PARASITA .....                                     | 6     |
| 2.3 - CORRELAÇÃO IMUNOLÓGICA E CLÍNICA .....                                  | 11    |
| 2.3.1 - Leishmaniose cutânea localizada (LCL) .....                           | 12    |
| 2.3.2 - Leishmaniose cutânea difusa (LCD) .....                               | 14    |
| 2.3.3 - Leishmaniose mucocutânea (ou mucosa)-(LMC) .....                      | 15    |
| 2.4. DIAGNÓSTICO .....                                                        | 16    |
| 2.5. TRATAMENTO .....                                                         | 18    |
| 3 - JUSTIFICATIVAS .....                                                      | 24    |
| 4 - OBJETIVOS .....                                                           | 25    |
| 4.1 - OBJETIVO GERAL .....                                                    | 25    |
| 4.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                                             | 25    |
| 5 - PACIENTES E MÉTODOS .....                                                 | 26    |
| 5.1 - TIPOS DE ESTUDO .....                                                   | 26    |
| 5.2 - TAMANHO DA AMOSTRA .....                                                | 26    |
| 5.3 - GRUPOS DE PACIENTES .....                                               | 27    |
| 5.4 - CRITÉRIOS DE INCLUSÃO .....                                             | 28    |
| 5.5 - CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO .....                                             | 28    |
| 5.6 - CRITÉRIOS PARA INTERRUÇÃO DO TRATAMENTO .....                           | 28    |
| 5.7 - CRITÉRIOS PARA REALIZAÇÃO DE SEGUNDO TRATAMENTO<br>COM OUTRA DROGA..... | 29    |
| 5.8 - DIAGNÓSTICO .....                                                       | 29    |
| 5.8.1 - Intradermorreação de Montenegro .....                                 | 29    |

|                                                                                                                        |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.8.2 - Esfregaço do fragmento da lesão.....                                                                           | 29        |
| 5.8.3 - Cultura do aspirado da lesão.....                                                                              | 30        |
| 5.8.4 - Inoculação em hamster .....                                                                                    | 30        |
| 5.8.5 - Imunofluorescência Indireta .....                                                                              | 30        |
| 5.8.6 - Exame histopatológico do fragmento das lesões.....                                                             | 31        |
| <b>5.9 - IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES/ SUBGÊNEROS DE <i>LEISHMANIA</i></b><br><b>USANDO ANTICORPOS MONOCLONAIS .....</b> | <b>31</b> |
| <b>5.10 - AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA .....</b>                                                                  | <b>32</b> |
| 5.10.1. Estudo imunohistoquímico .....                                                                                 | 32        |
| <b>5.11 - AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DOS PACIENTES .....</b>                                                     | <b>33</b> |
| <b>5.12 - CRITÉRIOS DE CURA, FALHA E RECIDIVA .....</b>                                                                | <b>34</b> |
| <b>5.13 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS FÁRMACOS .....</b>                                                                | <b>34</b> |
| <b>5.14 - AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA .....</b>                                                                              | <b>35</b> |
| <b>5.15- ASPECTOS ÉTICOS.....</b>                                                                                      | <b>35</b> |
| <b>6 - RESULTADOS .....</b>                                                                                            | <b>36</b> |
| <b>6.1 - AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS.....</b>                                                    | <b>36</b> |
| 6.1.1- Distribuição quanto ao gênero.....                                                                              | 36        |
| 6.1.2- Distribuição quanto à faixa etária.....                                                                         | 37        |
| 6.1.3- Distribuição quanto à procedência.....                                                                          | 38        |
| 6.1.4- Distribuição quanto à ocupação.....                                                                             | 39        |
| 6.1.5- Distribuição quanto ao número de lesões por paciente.....                                                       | 40        |
| 6.1.6- Distribuição das lesões quanto à localização topográfica.....                                                   | 41        |
| 6.1.7- Distribuição quanto ao tamanho das lesões.....                                                                  | 42        |
| 6.1.8- Distribuição quanto ao tipo das lesões.....                                                                     | 43        |
| 6.1.9- Distribuição quanto ao tempo de evolução das lesões.....                                                        | 44        |
| <b>6.2 - AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS DIAGNÓSTICOS .....</b>                                                                 | <b>45</b> |
| 6.2.1- Resultado da Intradermorreação de Montenegro (IDRM).....                                                        | 45        |
| 6.2.2- Resultado do esfregaço do fragmento das lesões.....                                                             | 46        |
| 6.2.3- Resultado da cultura do aspirado das lesões.....                                                                | 46        |
| 6.2.4- Resultado da inoculação em hamster.....                                                                         | 47        |
| 6.2.5- Resultado da imunofluorescência indireta antes do tratamento.....                                               | 48        |
| 6.2.6- Resultado do exame histopatológico do fragmento das lesões.....                                                 | 48        |

|         |                                                                                                                    |     |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 6.2.7-  | Resultado da identificação das espécies/subgêneros de <i>Leishmania</i> ....                                       | 49  |
| 6.2.8-  | Resultado da imunohistoquímica antes do tratamento.....                                                            | 50  |
| 6.3 -   | AVALIAÇÃO TERAPÊUTICA .....                                                                                        | 53  |
| 6.3.1 - | Resposta clínica .....                                                                                             | 53  |
| 6.3.2 – | Avaliação do aspecto clínico das lesões ao término do tratamento,<br>após 30 e 90 dias do final do tratamento..... | 54  |
| 6.3.3 – | Resposta clínica de acordo com o tempo de evolução das lesões.....                                                 | 56  |
| 6.3.4 – | Resposta clínica de acordo com o número de lesões.....                                                             | 58  |
| 6.3.5 – | Resposta clínica das lesões de acordo com suas localizações<br>topográficas.....                                   | 59  |
| 6.3.6 – | Resposta clínica das lesões de acordo com seus diâmetros.....                                                      | 61  |
| 6.3.7–  | Resposta clínica de acordo com a espécie e subgênero da<br><i>Leishmania</i> .....                                 | 63  |
| 6.3.8-  | Eventos adversos e alterações laboratoriais .....                                                                  | 65  |
| 6.4 -   | AVALIAÇÃO IMUNOLÓGICA .....                                                                                        | 68  |
| 6.4.1 - | Imunofluorescência Indireta após o tratamento .....                                                                | 68  |
| 6.4.2 - | Imunohistoquímica após o tratamento .....                                                                          | 69  |
| 6.5 -   | AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO FÁRMACO .....                                                                            | 71  |
| 7 -     | DISCUSSÃO .....                                                                                                    | 97  |
| 7.1 -   | ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS .....                                                                          | 97  |
| 7.2 -   | ASPECTOS DIAGNÓSTICOS .....                                                                                        | 99  |
| 7.3 -   | RESPOSTA TERAPÊUTICA .....                                                                                         | 103 |
| 7.3.1 - | Resposta clínica .....                                                                                             | 103 |
| 7.3.2 - | Eventos adversos, alterações laboratoriais e eletrocardiográficas...                                               | 106 |
| 7.4 -   | RESPOSTA IMUNOLÓGICA .....                                                                                         | 107 |
| 7.4.1 - | Imunofluorescência Indireta .....                                                                                  | 107 |
| 7.4.2 - | Imunohistoquímica .....                                                                                            | 108 |
| 8 -     | CONCLUSÕES .....                                                                                                   | 110 |
| 9 -     | REFERÊNCIAS .....                                                                                                  | 112 |

## **ANEXOS**

|                                                                                                                                                                                                                                                                          |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>I - Aspectos epidemiológicos e clínicos dos pacientes tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia por 5 dias) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004 .....</b>                                                                                     | <b>127</b> |
| <b>II - Aspectos epidemiológicos e clínicos dos pacientes tratados com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia por 20 dias) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004 .....</b>                                                                                        | <b>129</b> |
| <b>III - Resultados dos exames diagnósticos dos pacientes tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia por 5 dias) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004 .....</b>                                                                                    | <b>131</b> |
| <b>IV - Resultados dos exames diagnósticos dos pacientes tratados com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia por 20 dias) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004 .....</b>                                                                                         | <b>133</b> |
| <b>V - Eventos adversos, alterações laboratoriais e eletrocardiográficas nos pacientes tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia por 5 dias) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia por 20 dias) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004 .....</b> | <b>135</b> |
| <b>VI - Fotografias das lesões dos pacientes .....</b>                                                                                                                                                                                                                   | <b>137</b> |
| <b>VII - Termo de consentimento esclarecido .....</b>                                                                                                                                                                                                                    | <b>140</b> |
| <b>VIII - Ficha do paciente .....</b>                                                                                                                                                                                                                                    | <b>143</b> |
| <b>IX - Aprovação do Comitê de Ética .....</b>                                                                                                                                                                                                                           | <b>146</b> |

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com o gênero, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....**36**

Tabela 2 - Distribuição dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a faixa etária, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....**37**

Tabela 3 - Distribuição dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a procedência, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....**38**

Tabela 4 - Distribuição de 13 pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, procedentes do Distrito Federal, de acordo com a cidade satélite de procedência, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....**39**

Tabela 5 - Distribuição dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a ocupação, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....**40**

Tabela 6 - Distribuição dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com o número de lesões, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....**41**

Tabela 7 - Distribuição das lesões, de acordo com a localização topográfica, nos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....**42**

Tabela 8 - Distribuição das lesões, de acordo com o diâmetro, nos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....**43**

Tabela 9 - Distribuição das lesões, de acordo com o tipo (úlceras ou placa), nos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004..... **44**

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Tabela 10 - Distribuição dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com o tempo de evolução das lesões, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-Metil Glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004..... | <b>45</b> |
| Tabela 11 - Resultado da intradermorreação de Montenegro nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                  | <b>45</b> |
| Tabela 12 – Resultado do esfregaço do fragmento das lesões nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                | <b>46</b> |
| Tabela 13 – Resultado da cultura do aspirado das lesões nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                   | <b>47</b> |
| Tabela 14 - Resultado da inoculação em hamster nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                            | <b>47</b> |
| Tabela 15 - Resultado da imunofluorescência indireta (IFI) nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                | <b>48</b> |
| Tabela 16- Resultado do exame histopatológico nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                             | <b>49</b> |
| Tabela 17 - Resultado da identificação das espécies / subgêneros de <i>Leishmania</i> nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                     | <b>50</b> |
| Tabela 18: Distribuição percentual dos resultados da imunohistoquímica, antes do tratamento, em treze pacientes com leishmaniose tegumentar americana tratados com anfotericina B lipossomal* (1,5mg/kg/dia) e N-metil glucamina** (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004..... | <b>52</b> |
| Tabela 19 - Resultado do tratamento de pacientes com leishmaniose tegumentar americana tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                               | <b>53</b> |
| Tabela 20 - Distribuição dos pacientes, de acordo com os aspectos clínicos das lesões, ao término do tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                               | <b>54</b> |
| Tabela 21 - Distribuição dos pacientes, de acordo com os aspectos clínicos das lesões, trinta dias após tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                            | <b>55</b> |

|                                                                                                                                                                                                                                                                     |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Tabela 22 - Distribuição dos pacientes, de acordo com os aspectos clínicos das lesões, noventa dias após o tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia ) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004..... | <b>55</b> |
| Tabela 23 - Distribuição dos pacientes, de acordo com a resposta clínica e o tempo de evolução das lesões, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                      | <b>56</b> |
| Tabela 24 - Distribuição dos pacientes, de acordo com a resposta clínica e o tempo de evolução das lesões, no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                          | <b>57</b> |
| Tabela 25 - Distribuição dos pacientes, de acordo com a resposta clínica e o número de lesões, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                  | <b>58</b> |
| Tabela 26 - Distribuição dos pacientes, de acordo com a resposta clínica e o número de lesões, no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                      | <b>59</b> |
| Tabela 27 - Distribuição das lesões, de acordo com suas localizações topográficas e resposta clínica, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5 mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                          | <b>60</b> |
| Tabela 28 - Distribuição das lesões, de acordo com suas localizações topográficas e resposta clínica, no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                               | <b>61</b> |
| Tabela 29 - Distribuição das lesões, de acordo com seus diâmetros e resposta clínica, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5 mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                          | <b>62</b> |
| Tabela 30 - Distribuição das lesões, de acordo com seus diâmetros e resposta clínica, no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/ kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                              | <b>63</b> |
| Tabela 31 - Distribuição dos pacientes, de acordo com a resposta clínica e a espécie/subgênero de <i>Leishmania</i> , no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5 mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                          | <b>64</b> |
| Tabela 32 - Distribuição dos pacientes, de acordo com a resposta clínica e a espécie/subgênero de <i>Leishmania</i> , no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/ kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                              | <b>65</b> |
| Tabela 33 - Distribuição dos eventos adversos, nos pacientes com leishmaniose tegumentar americana, durante o tratamento com anfotericina B lipossomal                                                                                                              |           |

(1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....**66**

Tabela 34 - Distribuição das alterações dos exames laboratoriais, nos pacientes com leishmaniose tegumentar americana, durante o tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....**67**

Tabela 35 - Distribuição dos resultados da imunofluorescência indireta (IFI), nos pacientes com leishmaniose tegumentar americana, três meses após o tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....**68**

Tabela 36: Distribuição percentual dos resultados da imunohistoquímica, trinta dias após o tratamento em doze pacientes com leishmaniose tegumentar americana, tratados com anfotericina B lipossomal\* (1,5mg/kg/dia) e N-metil glucamina\*\* (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....**70**



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Frequência absoluta e relativa dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com o gênero, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....72

Figura 2: Frequência absoluta e relativa dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a faixa etária, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....72

Figura 3: Frequência absoluta e relativa dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana, de acordo com a procedência, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....73

Figura 4: Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a procedência, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....73

Figura 5: Frequência absoluta e relativa dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana, de acordo com a ocupação, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....74

Figura 6: Frequência absoluta e relativa dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a ocupação, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....74

Figura 7: Frequência absoluta e relativa dos pacientes de incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana, de acordo com o número de lesões, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....75

Figura 8: Frequência absoluta e relativa dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com o número de lesões, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....75

Figura 9: Frequência absoluta e relativa das lesões, de acordo com o localização topográfica, nos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....76

Figura 10: Distribuição percentual das lesões dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a localização topográfica, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....76

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Figura 11: Freqüência absoluta e relativa das lesões, de acordo com seus diâmetros em centímetros, nos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                  | <b>77</b> |
| Figura 12: Distribuição percentual das lesões dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com seus diâmetros em centímetros, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004..... | <b>77</b> |
| Figura 13: Freqüência absoluta e relativa das lesões, de acordo com o tipo (úlceras ou placa), nos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                      | <b>78</b> |
| Figura 14: Distribuição percentual das lesões dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com o tipo (úlceras ou placa), nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....     | <b>78</b> |
| Figura 15: Freqüência absoluta e relativa das lesões, de acordo com o tempo de evolução, nos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                            | <b>79</b> |
| Figura 16: Distribuição percentual das lesões dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com o tempo de evolução, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....           | <b>79</b> |
| Figura 17: Freqüência absoluta e relativa do resultado da intradermoreação de Montenegro nos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                            | <b>80</b> |
| Figura 18: Distribuição percentual do resultado da intradermoreação de Montenegro nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                            | <b>80</b> |
| Figura 19: Freqüência absoluta e relativa do resultado do esfregaço do fragmento das lesões dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                        | <b>81</b> |
| Figura 20: Distribuição percentual do resultado do esfregaço do fragmento das lesões nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                         | <b>81</b> |

|                                                                                                                                                                                                                                                            |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Figura 21: Frequência absoluta e relativa do resultado da cultura do aspirado das lesões dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                        | <b>82</b> |
| Figura 22: Distribuição percentual do resultado da cultura do aspirado das lesões nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....         | <b>82</b> |
| Figura 23: Frequência absoluta e relativa do resultado da inoculação em hamster dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                | <b>83</b> |
| Figura 24: Distribuição percentual do resultado da inoculação em hamster nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                 | <b>83</b> |
| Figura 25: Distribuição percentual do resultado da imunofluorescência indireta dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                  | <b>84</b> |
| Figura 26: Distribuição percentual do resultado da imunofluorescência indireta nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....           | <b>84</b> |
| Figura 27: Distribuição percentual do resultado do exame histopatológico do fragmento das lesões dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....               | <b>85</b> |
| Figura 28: Distribuição percentual do resultado do exame histopatológico nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                 | <b>85</b> |
| Figura 29: Frequência absoluta e relativa das Espécies e Subgêneros de <i>Leishmania</i> nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004..... | <b>86</b> |
| Figura 30: Distribuição dos pacientes, de acordo com o número de exames diagnósticos positivos de cada um deles, no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                        | <b>86</b> |
| Figura 31: Frequência absoluta e relativa dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana, de acordo com a resposta clínica ao tratamento, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                       | <b>87</b> |
| Figura 32: Distribuição percentual da resposta clínica ao tratamento nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                     | <b>87</b> |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Figura 33: Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com os aspectos clínicos das lesões, ao término do tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....       | <b>88</b> |
| Figura 34: Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com os aspectos clínicos das lesões, trinta dias após tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....    | <b>88</b> |
| Figura 35: Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com os aspectos clínicos das lesões, noventa dias após o tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004..... | <b>89</b> |
| Figura 36: Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a resposta clínica e o tempo de evolução das lesões, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                     | <b>89</b> |
| Figura 37: Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a resposta clínica e o tempo de evolução das lesões, no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                         | <b>90</b> |
| Figura 38: Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a resposta clínica e o número de lesões, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                 | <b>90</b> |
| Figura 39: Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a resposta clínica e o número de lesões, no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                     | <b>91</b> |
| Figura 40: Distribuição percentual das lesões, de acordo com suas localizações topográficas e resposta clínica, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                              | <b>91</b> |
| Figura 41: Distribuição percentual das lesões, de acordo com suas localizações topográficas e resposta clínica, no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                                  | <b>92</b> |
| Figura 42: Distribuição percentual das lesões, de acordo com seus diâmetros e resposta clínica, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5 mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                                             | <b>92</b> |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| Figura 43: Distribuição percentual das lesões, de acordo com seus diâmetros e resposta clínica, no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/ kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                 | <b>93</b>  |
| Figura 44: Distribuição percentual das Espécies e Subgêneros de <i>Leishmania</i> e resposta clínica, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5 mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                       | <b>93</b>  |
| Figura 45: Distribuição percentual das Espécies e Subgêneros de <i>Leishmania</i> e resposta clínica no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/ kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                           | <b>94</b>  |
| Figura 46: Distribuição percentual dos eventos adversos no grupo tratado com N-metil glucamina no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                                                                             | <b>94</b>  |
| Figura 47: Distribuição percentual das alterações laboratoriais no grupo tratado com N-metil glucamina no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                                                                                                     | <b>95</b>  |
| Figura 48: Frequência absoluta e relativa da imunofluorescência indireta, três meses após o tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e N–metil glucamina (20 mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.....                                                 | <b>95</b>  |
| Figura 49: Distribuição percentual da imunofluorescência indireta nos pacientes com leishmaniose tegumentar americana, três meses após o tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004..... | <b>96</b>  |
| Figura 50: Úlcera em membro inferior direito do paciente No. 1 (Anexo I) antes e 90 dias após o tratamento com anfotericina B lipossomal (cura clínica).....                                                                                                                                     | <b>137</b> |
| Figura 51: Úlceras em membro inferior esquerdo do paciente No. 3 (Anexo I) antes e 90 dias após o tratamento com anfotericina B lipossomal (falha).....                                                                                                                                          | <b>137</b> |
| Figura 52: Úlceras em membros superiores do paciente No. 7 (Anexo I) antes , com 30, 60 e 90 dias após o tratamento com anfotericina B lipossomal (falha).....                                                                                                                                   | <b>138</b> |
| Figura 53: Úlcera em membro inferior direito do paciente No. 4 (Anexo I) antes, com 30 e 60 dias após tratamento com anfotericina B lipossomal (cura clínica).....                                                                                                                               | <b>139</b> |
| Figura 54: Úlcera em membro superior direito do paciente No. 14 (Anexo I) antes e 30 dias após tratamento com anfotericina B lipossomal (cura clínica).....                                                                                                                                      | <b>139</b> |

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- $\alpha$ -Leish – marcador de leishmania
- BALB/C – raça de camundongo susceptível
- CBA/C57- raças de camundongos resistentes
- CD – *Cluster of Differentiation*
- CD3 – marcador de linfócito T
- CD15 – marcador de neutrófilo
- CD20 – marcador de linfócito B
- CD25 – marcador de linfócito T ativado e macrófago ativado
- CD45 – marcador de linfócito T ativado
- CD68 – marcador de macrófago
- CTLA-4 – marcador de linfócito T regulatório
- GP63 – glicoproteína de superfície 63
- ICAM 1 – molécula de adesão intercelular
- IDRM – intradermorreação de Montenegro
- IFI – imunofluorescência indireta
- IFN - interferon
- IL – interleucina
- IMC - imunidade mediada por células
- iNOS – óxido nítrico sintetase induzida
- LCL - leishmaniose cutânea localizada
- LDPC – leishmaniose dérmica pós-calazar
- LFA-1 – antígeno 1 associado á função leucocitária
- LMC – leishmaniose mucocutânea
- L(L)a – Leishmania (Leishmania) amazonensis*
- LPG - lipofosfoglicosídeo
- LTA – leishmaniose tegumentar americana
- L(V)b – Leishmania (Viannia) braziliensis*

*L(V)s - Leishmania (Viannia) shawi*

*Lu – Lutzomia*

MHC – complexos de histocompatibilidade

MI – membro inferior

MS – membro superior

Mac - receptores de macrófago

NK – natural killer cell

OMS - Organização Mundial de Saúde

ON - óxido nítrico

RNA – ácido ribonucléico

SbV- antimônio pentavalente

TA – linfócito T auxiliar

TGF – fator de transformação do crescimento

## RESUMO

A leishmaniose tegumentar americana é uma doença infecciosa, não contagiosa, de pele e mucosas, cujo agente etiológico é um protozoário do gênero *Leishmania*. Esta doença representa um importante problema de saúde pública, com mais de 12 milhões de pessoas acometidas no Mundo. Tem aumentado em incidência, sendo a prevalência no Brasil a mais alta em todo o Novo Mundo. Dentre as cinco regiões brasileiras, o Centro-Oeste figura como a terceira em incidência e a primeira em crescimento da doença. No Distrito Federal, os casos de leishmaniose têm aumentado nos últimos anos, havendo fortes indícios de autoctonia da doença.

Apesar do N-metil glucamina já estar sendo usado na leishmaniose por mais de 60 anos e serem bem conhecidos seus efeitos hepato, nefro e cardiotóxicos, ele permanece como a primeira linha de tratamento para esta doença. Este estudo foi realizado com o objetivo de testar uma outra medicação, a anfotericina B lipossomal, num esquema terapêutico curto e com menor risco de toxicidade. Comparou-se a resposta clínica e imunológica, nos pacientes portadores de leishmaniose tegumentar americana, forma localizada, tratados com anfotericina B lipossomal, na dose de 1,5mg/kg/dia, por via endovenosa, durante 5 dias (grupo de estudo) com os pacientes tratados com N-metil glucamina, na dose de 20 mg SbV/kg/dia, por via endovenosa, durante 20 dias (grupo controle). Foram incluídos 35 pacientes sem tratamento prévio ou doenças como diabetes, hepato, nefro ou cardiopatias, alocados de forma randomizada para os dois grupos.

Os dois grupos foram considerados homogêneos em relação aos aspectos epidemiológicos e clínicos. O diagnóstico foi confirmado pela positividade de dois ou mais exames parasitológicos e imunológicos em todos os pacientes. Identificou-se as espécies e subgêneros de *Leishmania* em vinte e uma amostras provenientes de pacientes, havendo predominância da *Leishmania (Viannia) braziliensis*.

Quanto á resposta terapêutica, no grupo tratado com a anfotericina B lipossomal, a taxa de cura foi mais baixa (50%) do que a encontrada no grupo controle. Entretanto, a mesma induziu uma resposta clínica em cerca de 81% dos pacientes em até 90 dias



após o tratamento. Além disto, no período de acompanhamento de um ano, nenhum dos pacientes curados com esta medicação apresentou recidiva, mostrando que a mesma é eficaz, mas foi usada, provavelmente, em dose baixa. Sendo segura, com baixa incidência de eventos adversos e alterações laboratoriais. Porém, são necessários estudos usando doses mais altas da anfotericina B lipossomal. Já no grupo tratado com N-metil glucamina, todos tiveram suas lesões cicatrizadas, mas a maioria apresentou eventos adversos e/ou alterações laboratoriais, demonstrando sua elevada toxicidade.

Em relação à resposta imunológica, houve diminuição ou negatização dos títulos da imunofluorescência indireta após o tratamento nos dois grupos, indicando uma diminuição dos parasitos com as duas medicações, com conseqüente diminuição ou não produção de anticorpos. Por meio da imunohistoquímica, observou-se aumento do número de células T e macrófagos ativados, número inalterado de linfócitos B e diminuição dos parasitos nas lesões. Houve negatização dos parasitos com o N-metil-glucamina em alguns casos, mas isto, não ocorreu com a anfotericina B lipossomal. Sugerindo que ambas as medicações induziram uma resposta no sentido da cicatrização, mas aparentemente o N-metil glucamina foi mais eficaz.

Entretanto, mais estudos, com número maior de casos, são necessários para uma conclusão definitiva sobre a resposta clínica e imunológica induzida pela anfotericina B lipossomal em pacientes portadores de LTA forma cutânea localizada.

## ABSTRACT

American Cutaneous Leishmaniasis is a non-contagious, infectious disease of skin and mucosa, whose aetiologic agent is a protozoa of the genus *Leishmania*. This disease represents an important public health problem, affecting more than 12 million people worldwide. It has increased in incidence, with the highest prevalence occurring in Brazil around the New World. The Center-West region, one of the five regions of Brazil, is the third in incidence and first in growing of the disease. Cases of Leishmaniasis have increased in the last years at Distrito Federal, with strong suspicion of autoctony of the disease.

Despite of the usage of N-metil glucamine for Leishmaniasis for more than 60 years and its liver, nephron and cardiotoxicity has been already well known it still remains as the first line drug for the treatment of this disease. This study was performed with the aim at testing a new medication, Liposomal Amphotericin B, at a short therapeutic scheme with low risk of toxicity. The clinical and immunological response was compared in patients with a localized form of American Cutaneous Leishmaniasis treated with Liposomal Amphotericin B in a dose of 1,5 mg/kg/day by endovenous via for 5 days (study group) with those treated with N-metil glucamine in a dose of 20 mg SbV/mg/day by endovenous via for 20 days (control group). Thirty-five patients were included without previous treatment or diseases such as diabetes, liver, nephron or heart pathologies that were randomly assigned to the two groups.

The two groups were considered homogeneous in relation to epidemiological and clinical features. The diagnosis was confirmed by positivity of two or more parasitological and immunological tests in all patients. It was identified species and subgenus of *Leishmania* in twenty-one samples from patients, with predominance of *Leishmania (Viannia) braziliensis*.

As to therapeutic response, the rate of cure in the group treated with Liposomal Amphotericin B was lower (50%) than that one in the control group. However, it induced a clinical response in approximately 81% of the patients in 90 days after the treatment. Moreover, none of the patients who had cured presented recurrence in one

year of following up, showing that this drug is effective, but it was used in a low dose. And, it showed to be safe due to low incidence of side effects and laboratorial alterations. But, studies using higher doses of Liposomal Amphotericin B are necessary. In the group treated with N-metil glucamine, all patients had their lesions healed, but the majority of them presented side effects and/or laboratorial alterations, demonstrating its high toxicity.

In relation to immunological response, there was decreasing or negativation of titles of indirect immunofluorescency after treatment in the two groups, showing that there was a decreasing of parasites with both medications, with consequently decreasing or no production of antibodies. Through immunohystochemic test after treatment, it was observed that activated T cells and macrophages increased in number, but the number of B lymphocytes remained the same. Moreover, there was reduction of parasites in the lesions with negativation in a few cases treated with N-metil Glucamine but not with Liposomal Amphotericin B. Suggesting, that both medications caused a healing response but it seems that N-metil Glucamine was more effective.

Moreover, other studies, with higher number of cases, are necessary to reach a definite conclusion about clinical and immunological response induced by Liposomal Amphotericin B in patients with localized cutaneous form of American Cutaneous Leishmaniasis.

## 1 – INTRODUÇÃO

A leishmaniose tegumentar americana é uma doença infecciosa, não contagiosa, de pele e mucosas, cujo agente etiológico é um protozoário do gênero *Leishmania*. A transmissão se dá pela picada de fêmeas, durante o repasto sanguíneo, de várias espécies de flebotomíneos, dependendo da localização geográfica. É uma infecção zoonótica que afeta vários animais silvestres e domésticos, tendo o homem como hospedeiro secundário (RODRIGUES *et al*, 2006).

As leishmanioses representam um importante problema de saúde pública, com 12 milhões de pessoas acometidas no mundo e com incidência de 1 a 1,5 milhão de casos novos por ano (DESJEUX, 1996). Por isto, e pelas sérias conseqüências das formas graves da doença, é que a Organização Mundial de Saúde (OMS) incluiu as leishmanioses entre as seis doenças parasitárias para estudo prioritário (WHO, 1990).

A interação *Leishmania*-homem, dependendo das características do parasito, bem como das características genéticas e do estado imunológico do indivíduo, pode se apresentar como um estado subclínico ou de doença, nas suas diferentes formas clínicas (cutânea, cutâneomucosa e difusa) (BARRAL-NETO *et al*, 1986; BOGDAN *et al*, 1990; RIBEIRO-DE-JESUS *et al*, 1998).

A manifestação da doença pode ocorrer então, por uma susceptibilidade do hospedeiro e/ou por mecanismos de escape apresentados pelo parasito. O primeiro evento na interação parasito-homem é a penetração de formas promastigotas metacíclicas de *Leishmania* no organismo humano, através da picada do flebótomo (BOGDAN *et al* 1990 e 1996). Em seguida, há a adesão de *Leishmania* ao macrófago, o que pode levar a uma fagocitose rápida. Amastigotas e promastigotas metacíclicas parecem escapar da destruição dependente de oxigênio por desencadear uma combustão respiratória mínima durante acoplamento e fagocitose (BARRAL-NETO *et al*, 1986; BOGDAN *et al*, 1996; DIAS-COELHO, 2003). Após a fagocitose, o parasito reside no vacúolo parasitóforo, o qual então funde-se com o lisossoma secundário para formar um fagolisossoma, onde os organismos sobrevivem e replicam. (BARRAL-NETTO *et al*, 1986).

Outros mecanismos que *Leishmania* poderia utilizar para facilitar sua sobrevivência logo após a infecção, incluem a modulação da produção de citocinas (inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos) e a apresentação do antígeno pelos macrófagos, retardando, portanto, o início da resposta imune efetiva (BOGDAN *et al*, 1996; BARRAL-NETO *et al*, 1986).

A interação entre as leishmânias e as células do hospedeiro constitui a parte mais importante da resposta imune contra o parasito. Desse modo, a patogênese da leishmaniose depende da interação parasito-hospedeiro e esta, por sua vez, essencialmente, da imunidade mediada por células (IMC).

A importância da resposta imune no aparecimento das diversas formas clínicas de leishmaniose cutânea passou a ocupar uma posição de destaque após documentação da existência de formas polares de leishmaniose (CONVIT *et al*, 2004), tal como se observa na hanseníase. Estas formas polares estão representadas de um lado pela leishmaniose cutânea localizada (LCL), histologicamente caracterizada como um processo granulomatoso tipo tuberculóide com proliferação linfocitária e plasmocitária e ausência ou escassez de parasitos, e de outro lado, pela leishmaniose cutânea difusa (LCD), onde existe uma infiltração dérmica de macrófagos, habitualmente vacuolados, cheios de parasitos, e com ausência de linfócitos.

A LCL é endêmica nas Américas Central, do Sul e México, sendo causada por dois subgêneros de leishmânia, *L.(Viannia)* e *L.(Leishmania)*. A doença tem evolução clínica típica com formação de úlcera regular, em “moldura” em área exposta, progredindo para a cicatrização espontânea ou evolução para a forma crônica (FUNASA, 2000).

Na LCL, é observada uma expressão predominante de RNAs mensageiro para IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, TNF- $\beta$  e IL-2 em alguns casos, e uma baixa expressão de IL-4, IL-5 e IL-10. Este perfil de linfocinas corresponde ao padrão observado na maioria dos já conhecidos clones de células humanas T CD4+ de indivíduos saudáveis após ativação policlonal (CÁCERES-DITTMAR *et al*, 1993).

Imunologicamente, na LCL há uma resposta imune mediada por células (IMC) adequada, havendo uma reação de hipersensibilidade tardia positiva (MODLIN *et al*, 1985), com conseqüente cicatrização da úlcera.

Os achados histológicos precoces na doença cutânea são de um granuloma macrofágico, no qual o parasito multiplica e aumenta a carga antigênica. Os eventos histológicos finais são caracterizados por um granuloma pós-necrótico de células epitelíóides gigantes, marcando a eliminação de parasitos e o início da cicatrização.

Para o tratamento da leishmaniose, os antimoniais pentavalentes tornaram-se disponíveis na década de 20 do Século XX, sendo atualmente a droga de primeira escolha. Vários esquemas têm sido propostos para o tratamento da leishmaniose cutânea, todos eles baseados em dosagens empiricamente determinadas para leishmaniose visceral (OLIVEIRA-NETO *et al*, 2006a). No Brasil, utiliza-se como primeira escolha, o antimonial N-metil glucamina, que é distribuído pelo Ministério da Saúde. A recomendação atual da Organização Mundial de Saúde (OMS) é de 10 a 20 mg de antimonial pentavalente (SbV) por quilo, por dia, por 3 a 4 semanas (WHO, 1990). Apesar das doses já estabelecidas para o tratamento com o antimonial pentavalente na LTA mostrarem elevada taxa de cura, variando de 70 a 100%, vários estudos (OLIVEIRA-NETO *et al*, 1996; AZEREDO-COUTINHO & MENDONÇA, 2002; OLIVEIRA-NETO *et al*, 2006(a)(b)) têm sido realizados com o uso de doses mais baixas de N-metil glucamina, procurando com isto uma cura clínica com a menor incidência de efeitos adversos, já que o antimonial pentavalente é cardio, nefro e hepatotóxico.

Quando não ocorre terapêutica satisfatória com o antimonial, ou no impedimento de sua prescrição, a anfotericina B constitui droga de segunda escolha para o tratamento da leishmaniose, sendo sua toxicidade bem conhecida (HASHIM *et al*, 1995). Desta forma, na tentativa de atenuar a nefrotoxicidade e aumentar o potencial terapêutico da anfotericina B, Lopez-Berenstein *et al* desenvolveram a primeira formulação lipídica de anfotericina B (WONG-BERINGER *et al*, 1998).

A anfotericina B lipossomal (AmBisome) é constituída por vesículas unilamelares feitas a partir de uma membrana de dupla camada de fosfatidilcolina de soja

hidrogenada e distearolfosfatidilglicerol estabilizado com colesterol combinada com anfotericina B (HIEMENZ & WALSH, 1996). Ela é significativamente bem mais tolerada que a anfotericina B convencional, visto que age especificamente sobre as células alvo (macrófagos), sendo incorporada ao meio intracelular, diminuindo assim, os efeitos colaterais e atingindo maior eficácia terapêutica.

No presente estudo, comparou-se a resposta clínica e imunológica em pacientes portadores de leishmaniose tegumentar americana forma cutânea localizada, tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia por 5 dias) e N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia por 20 dias) atendidos no Hospital Universitário de Brasília (HUB), entre 2000 e 2004. Foi objetivo observar-se a eficácia de um esquema terapêutico curto (5 dias) para o tratamento da forma cutânea de LTA com anfotericina B lipossomal, comparando-se a incidência de eventos adversos entre os dois grupos.

## 2- REVISÃO DA LITERATURA

A leishmaniose tegumentar americana é uma doença infecciosa crônica, não contagiosa, caracterizada pelo comprometimento cutâneo, ganglionar e mucoso, resultante do parasitismo dos macrófagos por um protozoário flagelado do gênero *Leishmania* (PIRMEZ *et al*, 1992), inoculado no organismo pela picada da fêmea do inseto flebótomo (MAUEL *et al*, 1990; BOGDAN *et al*, 1996).

### 2.1 - EPIDEMIOLOGIA

A leishmaniose é uma doença parasitária visada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) porque ocupa o segundo lugar entre as seis doenças infecto-parasitárias mais freqüentes no Mundo (BARRAL-NETO *et al*, 1986; BERMAN *et al*, 1997; FLOETER-WINTER & SHAW, 2004). Constitui um grave problema de saúde pública, já que afeta aproximadamente 12 milhões de pessoas, em 88 países (21 no Novo Mundo e 66 no Velho Mundo), com mais de 300 mil novos casos de LTA ao ano no mundo e com tendência crescente (WHO, 1990; DESJEUX, 1996).

Estudos epidemiológicos indicam que a doença nas Américas é freqüente e de maior importância para a saúde pública (GRIMALDI JR, 1995). Distribui-se por toda a América desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina, sem atingir o Canadá e Chile, sendo a prevalência no Brasil a mais alta em todo o Novo Mundo. Entre 1984 e 1996 foram notificados 218.979 casos no Brasil, número provavelmente subestimado devido às dificuldades e falhas relativas à notificação compulsória no país. Além disso, a assistência médica precária nas zonas rurais faz com que muitos doentes deixem que as lesões se curem espontaneamente, passando sem registro (FALQUETO *et al*, 2003).

A leishmaniose tegumentar americana (LTA), com incidência média anual de 35.000 casos, vem apresentando mudanças de padrão epidemiológico, atingindo também a periferia das cidades, sendo registrada em todos os Estados do Brasil (SAMPAIO *et al*, 2000; NAME *et al*, 2004). Dentre as cinco regiões brasileiras, a região Centro-Oeste figura como a terceira em incidência e a primeira em crescimento da doença,



aumentando de 130 casos novos em 1980 para 4.640 em 1997, segundo dados do Ministério da Saúde (FUNASA, 2000).

Há dois padrões epidemiológicos da doença no país. O primeiro é representado pelos surtos epidêmicos associados à derrubada de matas para a construção de estradas e povoados em regiões pioneiras (forma silvestre); e, o segundo, pela leishmaniose em regiões de colonização antiga, não associada à derrubada de matas (forma urbana). Neste último padrão, os cães, eqüinos e roedores parecem ter importante papel como reservatórios (MAZZA, 1927 *apud*: PORTO, 2004).

A *Leishmania* é um protozoário pertencente à ordem *Kinetoplastidea* e à família *Trypanosomatidae* com duas formas principais: uma flagelada ou promastigota, encontrada no tubo digestivo do inseto vetor (geralmente a fêmea de *Phlebotomus* no Velho Mundo ou *Lutzomya* no Novo Mundo) e em alguns meios de cultura artificiais, e outra aflagelada ou amastigota, vista nos tecidos dos hospedeiros vertebrados (BALÃNA-FOUCE *et al*, 1998).

.Até o momento, seis espécies de leishmânia, pertencentes aos subgêneros *Leishmania* e *Viannia*, já foram identificadas no Brasil como agentes etiológicos da LTA humana (*Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Viannia) guyanensis*, *Leishmania (Viannia) naiffi*, *Leishmania (Viannia) shawi*, *Leishmania (Viannia) lainsoni* e *Leishmania (Leishmania) amazonensis*)(*Apud* GONTIJO & CARVALHO, 2003).

## 2.2 - INTERAÇÃO HOSPEDEIRO-PARASITO

A leishmaniose cutânea é doença primária de pequenos mamíferos, principalmente roedores, edentados e marsupiais. A infecção, na maioria das espécies-reservatório, tende a ser benigna e inaparente, pois há uma relação parasito-hospedeiro equilibrada, enquanto no hospedeiro acidental (homem), a infecção pode levar a lesões destrutivas.

A interação leishmânia-homem, dependendo das características do parasito, (virulência, patogenicidade) e das características do hospedeiro (estado imunológico e fatores genéticos) pode ser de equilíbrio (não doença) ou de desequilíbrio (leishmaniose) (BOGDAN, 1990).

A relação de equilíbrio entre o parasito e o homem tem sido observada em regiões endêmicas, onde se encontram indivíduos com reação de Montenegro positiva, sem nunca terem apresentado lesão, ao lado de indivíduos que apresentam as mais variadas formas de leishmaniose tegumentar. Outra prova de que haveria este equilíbrio é a demonstração de culturas positivas do aspirado de cicatrizes de lesões prévias de leishmaniose cutânea (SCHUBACH *et al*, 2001).

Essa interação, quando desequilibrada, vai gerar desde infecção subclínica, lesões localizadas, lesões generalizadas, lesões mucosas, até a forma anérgica da doença (BOGDAN *et al*, 1990).

O curso da infecção por *Leishmania* é dependente do tipo de resposta celular (células T) que se desenvolve após inoculação do parasito. No caso de predominância de linfócitos T auxiliar do tipo 1 (TA<sub>1</sub>), a doença ocorre de forma localizada, por outro lado se houver predominância de resposta T auxiliar do tipo 2 (TA<sub>2</sub>), a forma da doença é generalizada. Sendo esta resposta bem documentada em estudos experimentais, entretanto, em seres humanos, esta resposta imune polarizada não se encontra totalmente esclarecida (BARRAL-NETTO *et al*, 1986).

Fatores que influenciam na evolução da infecção incluem: cepa do parasito, número de parasitos inoculados, sítio da inoculação, gênero do hospedeiro, gravidez, imunossupressão adquirida e mais importante, as predisposições do hospedeiro determinadas geneticamente (BARRAL-NETTO *et al*, 1986; BOGDAN *et al*, 1996).

A importância das características genéticas do hospedeiro na evolução da infecção por *Leishmania*, tem sido evidenciada pela existência de raças de camundongos que são susceptíveis (BALB/C) ou resistentes (CBA, C57) ao parasito (COUTINHO *et al*, 1987). Existem genes específicos para a resistência e para funções efetoras, mas ainda não se conseguiu associar esses dois fatores. Uma questão que tem mantido imunologistas pesquisando por muitos anos é o mecanismo sob o qual se “assenta” a susceptibilidade do camundongo BALB/C às infecções por *L. major* (BOGDAN, 1996). A resistência natural do hospedeiro à infecção foi bem determinada em camundongos infectados com *L. donovani*, quando Bradley mostrou que a capacidade de resistir à

infecção, nas quatro primeiras semanas após a inoculação, era controlada por um gen autossômico dominante localizado no cromossomo I e denominado de LSH 1 (BARRAL-NETO *et al*, 1986).

Quanto à resposta imunológica, pode haver um distúrbio da resistência inata (natural) do compartimento de células, bem como um distúrbio na regulação de citocinas no compartimento de células T. Em experimento com camundongos BALB/C, que são susceptíveis, foi observado que quando há uma expressão de TGF- $\beta$  alterada, a IL-12 produzida é não funcional, ocasionando uma atividade deficiente de células NK, tendo como consequência uma diminuição da produção de IFN- $\gamma$  e, com isto, uma disseminação dos parasitos pelo organismo (SCOTT, 1991; PIRMEZ, 1992; RIBEIRO-DE-JESUS *et al*, 1998).

No compartimento de células T, exuberante produção de IL-4 durante fases precoces da infecção tem sido demonstrada repetida em camundongos BALB/C, sendo responsável por uma resposta TA<sub>2</sub> e posterior disseminação da infecção (SCOTT, 1991; BOGDAN *et al*, 1996; RIBEIRO-DE-JESUS *et al*, 1998).

A manifestação da doença pode ocorrer, então, por uma susceptibilidade do hospedeiro e/ou por mecanismos de escape apresentados pelo parasito. A infecção por *Leishmania* é caracterizada pela habilidade de alguns parasitos de evadirem dos mecanismos microbicidas extracelulares, que incluem os efeitos líticos do soro normal, no qual há ativação do complemento pela via clássica ou alternativa e entrar nas células fagocitárias, resistindo inicialmente às defesas antimicrobianas dos macrófagos, dependentes e independentes de oxigênio e a persistir mesmo em um organismo hospedeiro com resposta imune celular intacta (BOGDAN *et al*, 1996).

Sabe-se, atualmente, que a interação de *Leishmania* com o sistema de complemento pode ser influenciada dramaticamente pelas espécies e estágio de desenvolvimento do parasito. Além disto, Pearson *et al* sugerem que a saliva e outros elementos do flebótomo podem revestir ou proteger o promastigota ou alternativamente, inativar, localmente, o complemento (*apud*: BARRAL-NETO *et al*, 1986). Até recentemente acreditava-se que promastigotas de todas as espécies de leishmânia eram susceptíveis à lise pelo soro não imune, por sua habilidade de ativar a via alternativa do complemento.

A exceção é a forma promastigota de *L. donovani*, a qual parece se ligar naturalmente ou por reação cruzada a anticorpos IgM do soro humano normal e ativar complemento pela via clássica. Em contraste à forma promastigota, a amastigota da maioria das espécies é relativamente resistente ao soro. Foi demonstrado que as formas amastigotas mais resistentes ativam o complemento pela via alternativa e fixam C<sub>3</sub> eficientemente (BOGDAN *et al*, 1990). Foi postulado que a fixação de C<sub>3</sub> pode representar um mecanismo desenvolvido pelo parasito para facilitar a reentrada em células fagocitárias.

O primeiro evento na interação parasito-homem é a penetração de formas promastigotas metacíclicas de *Leishmania* no organismo humano, através da picada do flebótomo (BOGDAN *et al*, 1990 e 1996), as quais se ligam a um ou mais receptores dos macrófagos, sendo fagocitadas e encapsuladas no vacúolo parasitóforo que se funde com o lisossomo. Ocorre então a perda do flagelo, com o encolhimento dos parasitos, que se transformam numa forma amastigota e se multiplicam, podendo ou não romper o vacúolo para infectar outros macrófagos.

A adesão da leishmânia ao macrófago pode levar a uma fagocitose extremamente rápida, particularmente quando os organismos foram opsonizados no soro. A fagocitose é geralmente acompanhada por uma explosão (combustão) respiratória e a posterior produção de metabólitos de oxigênio, como peróxido de hidrogênio e o superóxido, os quais são tóxicos para todos os estágios do parasito. Amastigotas e promastigotas metacíclicas parecem escapar da destruição dependente de oxigênio por desencadear uma combustão respiratória mínima durante acoplamento e fagocitose (BARRALNETO *et al*, 1986; BOGDAN *et al*, 1996). Isto pode ocorrer pelo uso de receptores não desencadeantes da combustão, como o CR<sub>1</sub> e CR<sub>3</sub> e/ou a presença de lipofosfoglicosídeo (LPG) e uma fosfatase ácida (GP63) ligada à membrana do parasito, os quais inibem a combustão de O<sub>2</sub> (BOGDAN *et al*, 1990). A GP63 consiste na principal glicoproteína de superfície da *Leishmania*, e pode interagir diretamente com receptores dos macrófagos Mac 1 ou CR3 (CD11bCD18) que funciona como um receptor de fibrinogênio e um receptor do complemento em células fagocitárias (CASTELLANO, 2005).

Após a fagocitose, o parasito reside no vacúolo parasitóforo que se funde com o lisossoma secundário para formar um fagolisossoma, onde os organismos sobrevivem e

replicam. Tem sido postulado que a sobrevivência do parasito neste meio seria promovida pela resistência de sua superfície exposta a enzimas de ataque, talvez pela presença do lipofosfoglicosídeo (LPG), o qual é um glicoconjugado de superfície, sendo responsável pela alta carga negativa desta superfície (BARRAL-NETO *et al*, 1986). A estrutura e composição do LPG varia entre as espécies de *Leishmania*, o que pode influenciar no curso da infecção e doença que caracteriza particular espécie ou grupo taxonômico do parasito (WEIGLE & SARAIVA, 1996). Por outro lado, o parasito pode excretar inibidores de enzimas lisossômicas, como uma forma liberável de LPG ou fator excretor. Recentemente, foi mostrado que a GP63, o maior antígeno glicoprotéico de superfície de *L. mexicana*, é uma metaloenzima capaz de proteger proteínas encapsuladas da degradação fagolisossomal pelo macrófago. Sua atividade como protease, com um pH ótimo de 4, inativa enzimas proteolíticas do hospedeiro e então protege as proteínas do parasito da degradação fagolisossomal. Assim, as amastigotas são altamente adaptadas ao meio ácido dentro do fagolisossoma, e não bloqueiam sua acidificação como outros parasitos intracelulares (BOGDAN *et al*, 1990).

As células de Langerhans, por não produzirem uma citocina indutora do óxido nítrico sintetase (iONS), a qual geraria moléculas antimicrobianas, poderia inicialmente funcionar como um habitat seguro, transportando os parasitos da pele infectada para o linfonodo de drenagem. Em contraste, no macrófago há a expressão de iONS e com isto a síntese de altos níveis de óxido nítrico (ON) a partir de L-arginina. Foi demonstrado que *L. major* pode inibir a produção de óxido nítrico pelo macrófago, por apresentar expressão abundante de glicoinositolfosfolipídios em sua superfície. Além disto, outra molécula que teria o efeito de inibir a atividade da iONS seria o LPG associado à proteína 11 da membrana do cinetoplasto. Esta proteína contém uma estrutura análoga da L-arginina e é bem conhecida como inibidora da iONS (BOGDAN *et al*, 1996).

Outros mecanismos que *Leishmania* poderia utilizar para facilitar sua sobrevivência logo após a infecção incluem a modulação da produção de citocinas e da apresentação do antígeno pelos macrófagos, retardando, portanto, o início da resposta imune efetiva (BOGDAN *et al*, 1996). Isto é evidenciado pela indução do fator de transformação do crescimento -  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), uma citocina com capacidade inibidora ou de inativação sobre o macrófago, dentro dos primeiros três dias de infecção por *L. braziliensis* ou *L. major* (BARRAL *et al*, 1995).

A IL-12 é outra citocina crítica para a fase inicial da infecção e parece ser regulada pela *Leishmania*. A maior função da IL-12 é seu efeito estimulador sobre a citotoxicidade das células NK, e produção de IFN- $\gamma$  pelas mesmas, bem como no desenvolvimento de células T auxiliares 1 (TA<sub>1</sub>) e supressão da produção de IL-4 e da diferenciação TA<sub>2</sub> (CASTELLANO, 2005). Carrera *et al* demonstraram que promastigotas de *L. major* são capazes de suprimir ativamente a indução de IL-12 em macrófagos murinos por um estímulo secundário (*apud*: BOGDAN *et al*, 1996).

Após infecção com promastigotas de *L. major*, macrófagos murinos em cultura expressam elevados níveis de RNAm para IL-10. A IL-10 é conhecida por suprimir a atividade antimicrobiana dos macrófagos e das células dendríticas, sendo responsável pela diminuição da apresentação do antígeno pelos macrófagos e inibição da produção de citocinas pela TA<sub>1</sub> e outras células, incluindo células NK (BOGDAN *et al*, 1996).

Um mecanismo alternativo para uma inibição de antígenos ligados ao complexo principal de histocompatibilidade classe II (CPH<sub>2</sub>) por *Leishmania* foi demonstrado recentemente nos macrófagos de camundongos infectados por *L. mexicana*. Neste estudo, as moléculas de CPH<sub>2</sub> do vacúolo parasitóforo eram aparentemente internalizadas e degradadas por amastigotas intracelulares (BOGDAN *et al*, 1996).

### **2.3 – CORRELAÇÃO IMUNOLÓGICA E CLÍNICA**

A interação entre as leishmânias e as células do hospedeiro constitui a parte mais importante da resposta imune contra o parasito. Desse modo, a patogênese da leishmaniose depende da interação parasito-hospedeiro e esta, por sua vez, essencialmente da imunidade mediada por células (IMC).

A importância da resposta imune no aparecimento das diversas formas clínicas de leishmaniose cutânea passou a ocupar uma posição de destaque após documentação da existência de formas polares de leishmaniose (CONVIT *et al*, 2004), como se observa na hanseníase. Estas formas polares estão representadas de um lado pela leishmaniose cutânea localizada (LCL), histologicamente caracterizada como um processo granulomatoso tipo tuberculóide com proliferação linfocitária e plasmocitária e ausência

ou escassez de parasitos, e de outro lado, pela leishmaniose cutânea difusa (LCD), onde existe uma infiltração dérmica de macrófagos, habitualmente vacuolados, cheios de parasitos, e com ausência de linfócitos. Isto é similar à hanseníase virchowiana, na qual os macrófagos estão repletos com *M. leprae* e predomina na pele a ausência de resposta imune mediada por células. Bryceson, Ridley e Magalhães *et al* propuseram classificações imunológicas na LTA, todavia a grande dificuldade de aplicabilidade destas classificações é a falta de correlação entre a histopatologia e a resposta imune analisada por testes *in vivo* e *in vitro* nas formas intermediárias e na forma tuberculóide, às quais representam as formas clínicas mais comuns da leishmaniose tegumentar. Faz exceção a esta regra a leishmaniose cutânea difusa na qual muitos parasitos são encontrados na lesão, e onde é bem documentada *in vivo* e *in vitro* a incapacidade dos pacientes de responder a antígenos de *Leishmania* (MODLIN *et al*, 1985; BARRAL-NETO *et al*, 1986; ALMEIDA *et al*, 1995).

Por outro lado, o padrão de citocina nos granulomas da LTA é muito similar aquele encontrado nas lesões de hanseníase, onde a forma tuberculóide é caracterizada por uma resposta TA1 e a forma virchowiana por uma resposta TA2 (CÁCERES-DITTMAR, 1993).

### **2.3.1 - Leishmaniose cutânea localizada (LCL)**

O protótipo de infecção causada por *Leishmania* é a leishmaniose cutânea simples (botão-do-orient), a qual é uma doença auto-cicatrizante que ocorre no Velho Mundo, sendo causada por *L. major* e *L. tropica* (AEBISCHER, 1994). Geralmente, a lesão evolui para cura espontânea em 6 a 8 meses, mas pode cronicar. Algumas dessas formas adquirem aspecto semelhante ao lupus vulgar, apresentando-se como cicatriz plana, mais freqüentemente em face, com vários nódulos na periferia.

A leishmaniose cutânea localizada (LCL) é endêmica nas Américas Central e do Sul, sendo causada por espécies pertencentes a dois subgêneros de importância relevante: *Viannia* e *Leishmania*. Após período de incubação variável, o qual pode durar de duas semanas a anos, uma série de eventos celulares ocorre, culminando na primeira manifestação cutânea, uma pápula ou pequeno nódulo indolor. A doença tem evolução clínica típica com formação de úlcera regular, em “moldura” em área exposta,

progredindo para a cicatrização espontânea deixando cicatrizes planas, atróficas, hipo ou hipercrômicas, ou evolução para a forma crônica. Lesões satélites são comumente causadas por múltiplas picadas ou associadas à disseminação linfática de amastigotas.

*L. (L.) mexicana* geralmente produz úlceras cutâneas menores e que têm maior número de parasitos quando comparadas às lesões causadas por *L. (V.) braziliensis*. Esta espécie produz mais freqüentemente lesões na face e orelhas, incluindo lesões crônicas características da orelha e da cartilagem da orelha, denominada “úlceras de los chicleros”. Lesões cutâneas produzidas pela *L.(L.) mexicana* têm sido descritas nos Estados Unidos, México, Belize e Guatemala (WEIGLE & SARAIVA, 1996).

Lesões causadas por *L. (L.) amazonensis* usualmente se apresentam como lesão ulcerada única, a qual é muito responsiva ao tratamento e pode cicatrizar espontaneamente.

Na LCL, é observada uma expressão predominante de RNAs mensageiros para IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, TNF- $\beta$  e IL-2 em alguns casos, e uma baixa expressão de IL-4, IL-5 e IL-10. Este perfil de linfocinas corresponde ao padrão observado na maioria dos já conhecidos clones de células humanas T CD4<sup>+</sup> de indivíduos saudáveis após ativação policlonal (CÁCERES-DITTMAR, 1993).

Como na LCL há uma resposta imune mediada por células (IMC) adequada, a reação de hipersensibilidade tardia tende a ser positiva (MODLIN *et al*, 1985). Nesta forma clínica, a presença dos parasitos na pele induz à produção de IFN- $\gamma$ , a qual é uma citocina indispensável para o controle da leishmaniose (PIRMEZ *et al*, 1990; PIRMEZ, 1992; BOGDAN *et al*, 1996; RIBEIRO-DE-JESUS *et al*, 1998). Portanto, os linfócitos são capazes de proliferar e produzir IFN- $\gamma$  em resposta aos antígenos da *Leishmania*, bem como os macrófagos são capazes de destruir amastigotas intracelulares (DIAS-COELHO, 2003; REIS *et al*, 2006). Esta e outras citocinas, como a TNF- $\alpha$  causam uma expressão da ICAM-1 e CPH HLA-DR nos queratinócitos e promovem a migração de células T epidermotrópicas. A expressão de ICAM-1 na epiderme é associada com uma maior produção de IFN- $\gamma$ . As células de Langerhans são potentes estimuladores de células T específicas para *Leishmania*. Na lesão da LCL há um número apropriado de células de Langerhans CD1a<sup>+</sup> além de um subgrupo dessas



células que expressam o HB15, um novo membro identificado da superfamília de imunoglobulinas, que também ativam linfócitos, produzindo como consequência uma resposta TA<sub>1</sub> efetiva contra o parasito (PIRMEZ *et al*, 1990; TAPIA *et al*, 1994). Uma vez que o parasito é eliminado ou “escondido” do reconhecimento pelo sistema imune do hospedeiro, os sinais acessórios epidérmicos são inibidos e isto induz à cicatrização da imunopatologia cutânea que causou a lesão. Entretanto, reepitelização e um padrão histológico de cicatrização não é garantia de eliminação de *Leishmania* (WEIGLE & SARAIVA, 1996).

O quadro histopatológico da leishmaniose tegumentar está representado por um infiltrado celular histiolinfoplasmocitário (padrão exsudativo celular), acompanhado por uma reação granulomatosa que pode surgir associada ou não à necrose (MAGALHÃES *et al*, 1986). Esta deve representar elemento fugaz e associa-se ao granuloma reacional para constituir o padrão exsudativo necrótico-granulomatoso que surge em até dois meses de evolução da doença. O padrão de reação exsudativo granulomatoso pode ser considerado resíduo do padrão exsudativo necrótico e este pode evoluir para exsudativo necrótico-granulomatoso. Todos eles são etapas de um mesmo processo, de caráter transitório, que se superpõem à reação de base.

Estudos de seções de lesões cutâneas com imunofluorescência e imunoperoxidase mostram que estes granulomas na LCL apresentam uma mistura de resposta TA1 e TA0, com uma predominância de citocinas geradas pela resposta TA1, com mais IFN- $\gamma$  do que IL-4, e baixos níveis de IL-5 e IL-10 (PIRMEZ, 1992; CÁCERES-DITTMAR *et al*, 1993; TAPIA *et al*, 1994; COUTINHO *et al*, 1998).

### **2.3.2 - Leishmaniose cutânea difusa (LCD)**

A LCD tem sido descrita na América e África (Etiópia), como uma forma clínica rara da leishmaniose cutânea, sendo *L. (L.) amazonensis* a principal espécie implicada na América do Sul. Nesta forma, não há responsividade imunológica mediada por células ao antígeno (anergia seletiva), sendo assim, a reação de hipersensibilidade tardia à leishmanina é negativa (MODLIN *et al*, 1985; BARRAL-NETO *et al*, 1986; CÁCERES-DITTMAR *et al*, 1993; TAPIA *et al*, 1994; ALMEIDA *et al*, 1995). As

lesões são ricas em macrófagos, com abundantes parasitos e poucos linfócitos pequenos e células epitelíoides, embora células plasmáticas estejam usualmente presentes.

Estudos imunohistológicos mostram que a epiderme na LCD tem poucas células de Langerhans CD1+ e HB15+ e os queratinócitos são incapazes de expressar CPH2 e ICAM-1. Além disso, a IL-6 está ausente e apenas poucos pacientes expressam RNAm para IL-1 $\beta$  e FNT- $\alpha$  indicando a possibilidade de disfunção das células apresentadoras de antígeno. De fato, a ausência de IL-6 pode ser o resultado de uma pouca expressão de IL-1 $\beta$  e FNT- $\alpha$ , já que estas citocinas são necessárias na indução da produção de IL-6. As lesões mostram uma preponderância do padrão de citocinas tipo 2 com abundância de IL-4, IL-5 e IL-10, com um elevado número de células virgens e nenhum arranjo microanatômico em particular (MARTINEZ-ARENDS *et al*, 1991; CÁCERES-DITTMAR *et al*, 1993; TAPIA *et al*, 1994). Há também um defeito aparente na expressão do antígeno 1 associado à função leucocitária (LFA-1), que é essencial para uma variedade de funções linfocitárias dependentes de aderência. Estes eventos criam um estado de não responsividade progressiva específica ao parasito, resultando na paralisia de células T cutâneas.

### 2.3.3 - Leishmaniose mucocutânea (ou mucosa)-(LMC)

A LMC tem como agente mais comum a *L.(V.) braziliensis*, mas *L.(V.) panamensis* tem sido freqüentemente isolada de casos de LMC na Colômbia . O envolvimento mucoso pode ocorrer por extensão direta das lesões cutâneas de regiões próximas ou devido à disseminação linfática ou hematogênica, surgindo meses ou anos após a cicatrização da lesão cutânea inicial que se localiza a distância. Entretanto 8 a 16% de casos de LMC não têm história de lesões cutâneas, sugerindo que a picada produziu inicialmente uma infecção assintomática que mais tarde se disseminou.

Dois aspectos característicos da LMC são a presença de raros parasitos na lesão mucosa e uma forte resposta imune mediada por células contra *Leishmania* (BARRAL-NETO *et al*, 1986). O traço mais marcante nas lesões de LMC é a ausência de células de Langerhans CD1a+ e HB15+. Isto pode refletir a migração seletiva de células de Langerhans do epitélio para os linfonodos regionais, ou pode ser o resultado de um efeito citolítico direto do parasito, nestas células, durante o curso prolongado da LMC

(PIRMEZ *et al*, 1990; MARTINEZ-ARENDIS *et al*, 1991). Na epiderme da LMC, o CPH2 e ICAM-1 são expressos uniformemente, confirmando a hiperreatividade associada com esta forma clínica da leishmaniose (TAPIA *et al*, 1994).

Nas lesões da LMC, a ativação da doença pode estar associada à hiperprodução de citocinas derivadas de queratinócitos, como a IL-1 e FNT- $\alpha$ . Estas citocinas são capazes de aumentar a expressão de ICAM-1 e CPH2 nos queratinócitos e células endoteliais, e de iniciar o tráfego de células T sem a apresentação concomitante do antígeno. A ausência de células de Langerhans epiteliais pode causar uma tradução insuficiente ou inadequada de sinais para completar a fase efetora da resposta imune. Maior liberação das monocinas pelos queratinócitos poderia promover a persistência do estado pró-inflamatório, com dano tissular associado (TAPIA *et al*, 1994).

O granuloma na LMC é uma mistura de linfócitos e macrófagos com poucos parasitos e alterações epidérmicas moderadas, mostrando padrões de citocinas tipo 1 e tipo 2, caracterizada por uma elevada abundância de IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10. A IL-4 promove a proliferação de células apresentadoras de antígeno, bem como a produção de citocinas de TA1 e portanto evita que o IFN- $\gamma$  seja efetivo (TAPIA *et al*, 1994). Estes perfis podem coincidir com a elevada proporção de células T CD4+ observadas nestes granulomas. Estas lesões são caracterizadas por um alto grau de susceptibilidade, onde a hipersensibilidade do tipo tardia pode estar associada com o dano tissular. Além disto, este tipo de resposta pode também explicar o elevado nível de anticorpos parasito-específicos detectados em pacientes com LMC (CÁCERES-DITTMAR *et al*, 1993).

## 2.4 - DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da leishmaniose é baseado em aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais. O diagnóstico laboratorial envolve identificação do parasito, provas sorológicas e caracterização das espécies de *Leishmania* por detecção de DNA, através de técnicas de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) e anticorpos monoclonais.

O exame histopatológico mostra desde infiltrado celular do tipo linfohistioplasmocitário, o que ocorre mais frequentemente, até a formação de granulomas com ou sem necrose. O achado de parasitos não é comum, com incidência

de 38% (MAGALHÃES *et al*, 1986; MARSDEN, 1986). Segundo os critérios de MAGALHÃES *et al* (1986), os achados histopatológicos podem ser classificados em cinco padrões de reação inflamatória: 1) Reação exsudativa celular: infiltrado histiolinfoplasmocitário dérmico ou no córion, com proporções celulares que tendem para a equivalência; 2) Reação exsudativa e necrótica: necrose tissular de amplitude e formato variáveis associada à vasculite aguda, no seio do infiltrado histiolinfoplasmocitário; 3) Reação exsudativa necrótico-granulomatosa: reação granulomatosa organizada nas proximidades de área de necrose tissular, com presença de células gigantes, macrófagos ativados e infiltrado histiolinfoplasmocitário associado; 4) Reação exsudativa e granulomatosa: reação granulomatosa desorganizada, sem a presença de necrose tissular, no seio do infiltrado histiolinfoplasmocitário; e 5) Reação cicatricial: reação observada após a cura clínica, com presença de escassos linfócitos em meio à fibrose da derme.

Outro exame imunohistopatológico que tem sido empregado com a finalidade de caracterizar fenotípicamente as subpopulações de células T na lesão inflamatória da leishmaniose, é a imunohistoquímica que pode dar uma importante informação sobre a composição celular na área onde o parasito se encontra (FURTADO, 2006). Neste exame são usados marcadores celulares (anticorpos) contra moléculas da superfície (antígenos) das células envolvidas na resposta imunológica, linfócitos e outros leucócitos. A estas moléculas de superfície foi dada a denominação de CD (*Cluster of Differentiation*), referindo-se a uma molécula reconhecida por um “agrupamento” de anticorpos monoclonais (ABBAS, 2000).

O antígeno associado aos granulócitos CD-15 identifica neutrófilos e células dendríticas, mas não linfócitos e macrófagos. Para os linfócitos B, os marcadores CD-45RO e CD-20 são os ideais. O CD45 ou antígeno leucocitário comum é uma glicoproteína transmembrânica restrita aos leucócitos e usada como marcador genérico das lesões com proliferação de linfócitos. Ele apresenta múltiplas isoformas, entre elas o CD45RO e o CD45RA e o CD45RB. A variante de baixo peso molecular, CD-45RO, é altamente sensível e específica e é freqüente a co-expressão com lesões de células B. Para estas lesões (de células B), o melhor e mais usado marcador imunohistoquímico, altamente sensível e específico, é o CD-20, o qual é responsável pela ativação ou regulação das células B.

O CD3 identifica linfócitos T, sendo uma proteína associada ao receptor de células T (TCR) que faz a transdução de sinal em resultado do reconhecimento do antígeno pela célula T. O antígeno CD25 é uma proteína expressa por células T e B ativadas, bem como macrófagos ativados, que seria responsável pelo crescimento de células T. O CTLA-4 é também um marcador das células T, porém transmite sinais que inibem a ativação destas células e não é encontrado na superfície das células T em repouso. Sua expressão é induzida após a ativação da célula T.

Os macrófagos podem ser expressos pelo antígeno CD-4 que identifica células T auxiliares servindo como receptor para moléculas MHC tipo II. Porém, o CD-68 é o marcador de macrófago mais confiável. O antígeno é expresso por uma proteína citoplasmática associada aos lisossomos. É capaz de marcar também neutrófilos e células de Langerhans (BISHOP, 2006 *apud*: FURTADO, 2006).

O  $\alpha$ -Leish, um dos marcadores utilizado no presente estudo, é um anticorpo policlonal anti-*Leishmania*.

## 2.5 - TRATAMENTO

Os antimoniais foram introduzidos antes da Segunda Guerra Mundial, sendo Gaspar Vianna o primeiro a utilizá-los para o tratamento da leishmaniose (BERMAN, 1997), o que ocorreu há 93 anos (1912), com o tártaro emético, um antimonial trivalente, para os casos de LMC da América do Sul. Os antimoniais pentavalentes tornaram-se disponíveis por volta de 1920, sendo atualmente as drogas de primeira escolha para o tratamento de LTA. Vários esquemas têm sido propostos para o tratamento de leishmaniose cutânea, todos eles baseados em dosagens empiricamente determinadas para leishmaniose visceral (OLIVEIRA-NETO & MATTOS, 2006a). Os dois comumente mais usados são o estibogluconato de sódio (Pentostam)<sup>®</sup> e o antimoniato de N-metil-glucamina (Glucantime)<sup>®</sup>. O primeiro foi introduzido entre 1935 e 1945, sendo o antimonial mais utilizado em países de língua inglesa, em concentração de 100mg de SbV/ml enquanto o antimoniato de meglumina é empregado nos países de língua não inglesa, em concentração de 85mg de SbV/ml.

No Brasil, utiliza-se como primeira escolha o antimonial N-metil glucamina, que é distribuído pelo Ministério da Saúde. A recomendação atual da Organização Mundial de Saúde (OMS) é de 10 a 20 mg de antimônio (SbV) por quilo, por dia, por 3 a 4 semanas (OLIVEIRA-NETO & MATTOS, 2006a e 2006b).

Apesar das doses já estabelecidas para o tratamento com o antimonial pentavalente na LTA mostrarem elevada taxa de cura, variando de 70 a 100%, vários estudos (OLIVEIRA-NETO *et al*, 1996; OLIVEIRA-NETTO & MATTOS 2006a e 2006b; AZEREDO-COUTINHO & MENDONÇA, 2002) têm sido realizados com o uso de doses mais baixas de N-metil glucamina, procurando com isto uma cura clínica com a menor incidência de efeitos adversos, já que o antimonial pentavalente é cardio, nefro e hepatotóxico, e que seja mais fácil de se aplicar. Sabe-se que após a administração de 10mg SbV/kg via intramuscular desta droga, a sua meia-vida é de 0,85 hora, com pico sanguíneo de 10 microgramas de SbV/ml, sendo eliminada, em seguida, com meia vida de duas horas. Após a fase rápida de excreção, o antimonial residual é eliminado lentamente, com meia-vida de 76 horas. O mecanismo bioquímico da eficácia dos antimoniais é pouco conhecido. Acredita-se que esteja envolvida a inibição da síntese de ATP e GTP pela inibição do ciclo do ácido cítrico. (BERMAN, 1985 *apud*: PAULA, 1999)

Os efeitos colaterais mais comuns e que não necessitam de interrupção do tratamento são: reação cutânea local, anorexia, náuseas, vômitos, artralgias, mialgia e elevação transitória das enzimas hepáticas. Alterações de eletrocardiograma, como achatamento ou inversão da onda T, também são comuns. Prolongamento do intervalo QT corrigido e concavidade do segmento ST são considerados sinais de risco (ZILBERSTEIN, 2001). Embora raros, existem relatos de morte súbita desencadeada pela cardiotoxicidade dos antimoniais (SAMPAIO, 1986). Estas drogas são contra-indicadas na gravidez, insuficiência renal, insuficiência hepática ou doença cardíaca.

OLIVEIRA-NETO & MATTOS (2006 a) mostraram o resultado do emprego de uma ampola de N-metil glucamina intramuscular, em dias alternados, até a cura clínica, numa série de 40 casos com LTA cutânea. A dose total utilizada por paciente, variou de 1.822,5 a 12.150mg de antimônio pentavalente, e o tempo de tratamento de 3 a 10 semanas, com eficácia de 86%. OLIVEIRA-NETO & MATOS (2006 b) relataram

também, dois casos de LTA forma mucocutânea resistentes às terapêuticas iniciais (antimônio, anfotericina B e/ou pentamidina), que curaram com uma ampola de N-metil glucamina intramuscular, três vezes por semana, durante 10 e 12 semanas respectivamente, quando apresentaram cicatrização completa das lesões.

Quando não ocorre terapêutica satisfatória com o antimonial ou no impedimento de sua prescrição, a anfotericina B ou a pentamidina constituem drogas de segunda escolha para o tratamento da leishmaniose.

A anfotericina B, um antibiótico poliênico, foi introduzida no tratamento da leishmaniose visceral por Aluizio Prata (1963) e atestada por Berman (1988), sendo sua toxicidade bem conhecida (*Apud*: HASHIM *et al*, 1995). Seus efeitos colaterais imediatos são febre, arrepios, tremores, náuseas, vômitos, hiperpirexia, mal-estar severo, hipotensão, tromboflebite, anemia e hepatite. Estes efeitos adversos tendem a diminuir com a progressão do tratamento, mas em alguns pacientes a dose tem que ser reduzida ou o tratamento deve ser interrompido. Nefrotoxicidade é o mais comum efeito colateral observado com a anfotericina B convencional.

Com a finalidade de aumentar o potencial terapêutico da anfotericina B e de atenuar a nefrotoxicidade, Lopez-Berenstein *et al* desenvolveram a primeira formulação lipídica de anfotericina B (*Apud*: WONG-BERINGER *et al*, 1998). A anfotericina B lipossomal (AmBisome), a terceira formulação lipídica, é constituída por pequenas vesículas unilamelares feitas a partir de uma membrana de dupla camada de fosfatidilcolina de soja hidrogenada e distearolfosfatidilglicerol estabilizado com colesterol, combinada com anfotericina B (HIEMENZ & WALSH, 1996). Ela é significativamente mais bem tolerada que a anfotericina B convencional, visto que, age especificamente sobre as células alvo (macrófagos), sendo incorporada ao meio intracelular, diminuindo assim, os efeitos colaterais e atingindo maior eficácia terapêutica. Estudos farmacocinéticos mostram que a anfotericina B lipossomal alcança pico elevado de concentração de anfotericina B no fígado e baço, com menores quantidades nos pulmões e rins. Grandes áreas abaixo da curva concentração-soro e uma meia-vida de 26 a 38 horas na dose entre 3 a 5 mg/kg sugerem que o nível sanguíneo terapêutico da droga pode ser mantido com uma única dose endovenosa diária. Em administrações crônicas, a meia vida da droga é de aproximadamente 15 dias (ATKINSON, 1978 *apud*: JANKEGT *et al*, 1992).

Esta medicação tem sido empregada em casos de leishmaniose visceral resistente ao antimonial, em pacientes infectados pelo HIV com micoses profundas e disseminadas e leishmaniose tegumentar refratária ao tratamento usual, com bons resultados (HIEMENZ & WALSH, 1996; CASTAGNOLA *et al*, 1996).

A primeira avaliação da segurança da anfotericina B lipossomal foi relatada por MEUNIER *et al* (1991), como resultado de um amplo estudo multicêntrico, em que foram realizados 133 cursos da medicação (dose média de 2,1 mg/kg/dia por 21 dias) em 126 pacientes com idade média de 37,5 anos, portadores de malignidade hematológica, AIDS ou transplantados. Noventa e seis pacientes tinham recebido anfotericina B convencional previamente, com duração média de 17 dias, e uma dose cumulativa de 472 mg, em média. O número total de eventos adversos possivelmente relacionadas à anfotericina B lipossomal foi 13 (9,8%), entre elas náuseas, vômitos, pancreatite, febre, tremores, dor no local da aplicação, dor lombar, fraqueza, neuropatia periférica, arritmia, cefaléia e confusão. Arritmia foi provavelmente relacionada à hipóxia e uma doença de base do que à administração da anfotericina B lipossomal. Confusão e cefaléia surgiram quando a dosagem foi aumentada para 4 mg/kg/dia, e desapareceram quando foi reduzida para 3 mg/kg/dia novamente.

Um grande número de estudos foi realizado comparando as reações agudas causadas pela anfotericina B convencional com aquelas causadas pela anfotericina B lipossomal, mostrando com esta última uma reduzida incidência de reações agudas relacionadas com infusão, reduzida incidência de nefrotoxicidade e a habilidade de ser administrada em pacientes que já apresentem dano renal ou que estejam em uso de medicação nefrotóxica concomitante (WONG-BERINGER *et al*, 1998). A anfotericina B lipossomal tem sido bem tolerada em uma variedade de pacientes seriamente doentes e imunocomprometidos, incluindo pacientes transplantados, neonatos e pacientes neutropênicos.

A eficácia e segurança de três regimes de anfotericina B lipossomal no tratamento de leishmaniose visceral indiana foram comparados em um estudo aberto randomizado e prospectivo. Trinta pacientes foram divididos randomicamente em 3 grupos: o grupo 1 recebeu 2mg/kg /dia do 1° ao 6° dia e no 10° dia; o grupo 2 recebeu 2mg/kg/dia do 1° ao 4° dia e no 10° dia; e o grupo 3 recebeu a mesma dose nos 1° , 5° e 10° dias. Todos



os pacientes se curaram clinicamente por volta do 24º dia. Nenhum paciente apresentou recidiva no período de 12 meses do seguimento. Efeitos adversos foram mínimos (THAKUR *et al*, 1996). SUNDAR *et al* (2001 b) testaram baixas doses de anfotericina B lipossomal em pacientes indianos nos quais o antimonial pentavalente falhou. Um curso curto de 5 dias de tratamento com 0,75 e com 1,5 mg/kg/dia induziu cura por longo período em 89% e 93% dos pacientes, respectivamente. O aumento da dose para 3 mg/kg/dia resultou em 97% de cura. Em outro estudo (SUNDAR *et al*, 2001a) foi testada a dose única de 5mg/kg/dia em 46 pacientes com 91% de cura, e 5 doses de 5mg/kg/dia em 45 pacientes com 93% de cura. A taxa de resposta nos dois grupos não foi significativamente diferente.

A anfotericina B lipossomal tem sido empregada com sucesso em vários casos de leishmaniose não-visceral onde o tratamento usual tem falhado, incluindo leishmaniose da língua (BAILY *et al*, 1994) e laringe (GRANT *et al*, 1994). SAMPAIO & MARSDEN (1997) utilizaram a anfotericina B lipossomal para tratar seis pacientes com leishmaniose mucosa que não tinham respondido ao tratamento com o N-metil glucamina previamente, obtendo cura em cinco dos pacientes, que não apresentaram recorrência em 2 a 3 anos de acompanhamento, e um paciente com recorrência em 6 meses. HUEB *et al* (2004), relataram 4 casos de LTA tratada com anfotericina B lipossomal. O primeiro, portador de leishmaniose cutânea difusa, não respondeu ao tratamento com 0,9g da medicação. O segundo com SIDA e leishmaniose visceral fez dose total de 2,7g, com regressão total do quadro. O terceiro paciente com LTA mucocutânea utilizou 1,5g com boa resposta clínica, permanecendo cicatrizada em 2 anos de acompanhamento. E, o quarto paciente, portador de LTA cutânea localizada, usou 1,1g com boa resposta terapêutica. AMATO *et al* (2000), relataram também um caso de paciente com HIV e LTA mucocutânea tratado com anfotericina B lipossomal com cura clínica.

A anfotericina B lipossomal tem sido utilizada com sucesso no tratamento de leishmaniose dérmica pós calazar (LDPC), a qual é uma variante clínica rara de leishmaniose cutânea. É muito comum na Índia e menos freqüente na África, mas excepcional na América e Europa. HASHIM *et al* (1995) e ROUSTAN *et al* (1998) relataram casos de LDPC tratados com anfotericina B lipossomal com boa resposta

clínica, inclusive com completa resolução de lesões mucosas no caso descrito pelo último autor.

Em suma , os estudos mostram que a N-metil glucamina é uma medicação eficaz, porém com elevada toxicidade quando utilizada no esquema clássico (20mg SbV/kg/dia por 20 dias). Além disto casos de recidiva de LTA e resistência a esta droga têm surgido. Já a anfotericina B lipossomal surgiu com o objetivo de aumentar a eficácia da anfotericina B e atenuar sua toxicidade. Os estudos têm mostrado seu uso com sucesso em várias patologias tais como micoses profundas disseminadas, leishmaniose visceral resistente ao antimonial, leishmaniose dérmica pós calazar e leishmaniose mucocutânea, mas não na leishmaniose tegumentar americana forma cutânea localizada como no presente estudo.

### 3 - JUSTIFICATIVAS

- 1) A LTA tem aumentado em incidência, ocorrendo em todos os estados brasileiros, sendo registrada uma média de 35.000 casos novos ao ano no Brasil, e o tratamento é a medida de controle disponível, justificando a busca por uma terapia mais eficaz e menos tóxica.
- 2) Há a necessidade de procurar um esquema terapêutico curto e conseqüentemente menos tóxico, já que o tratamento com N-metil glucamina, droga de primeira escolha, é longo (vinte dias para forma cutânea e trinta dias para forma mucosa) e desta forma, apresenta elevada cardio, nefro e hepatotoxicidade.
- 3) A anfotericina B convencional é uma droga eficaz contra a LTA, mas é usada como segunda linha de tratamento devido à sua toxicidade. O uso da anfotericina B lipossomal, que é bem menos tóxica, em curto esquema, poderá representar uma boa alternativa.
- 4) Sendo a anfotericina B uma droga leishmanicida por sua ação direta sobre a *Leishmania*, portanto sem depender da resposta imune celular, pode ser usada inclusive em pacientes imunossuprimidos como àqueles com AIDS e LTA, justificando utilizá-la em pacientes com a forma cutânea localizada da LTA, em um esquema curto.
- 5) Por causa do aumento do percentual de recidiva e resistência ao antimonial, tanto na LTA cutânea, como na mucosa, justifica-se a busca por outra medicação que possa ser eficaz, sem recidiva ou resistência.

## **4 – OBJETIVOS**

### **4.1 - OBJETIVO GERAL**

Comparar a resposta terapêutica entre pacientes com a forma cutânea localizada de LTA tratados com anfotericina B lipossomal com os tratados com N-metil-glucamina.

### **4.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1) Comparar a resposta imunológica entre pacientes com a forma cutânea localizada de LTA tratados com anfotericina B Lipossomal com os tratados com N-metil-glucamina.
- 2) Comparar a resposta clínica (cura, falha e recidiva) entre os dois grupos acima citados, verificando se a anfotericina B lipossomal é tão eficaz quanto a N-metil glucamina em um esquema curto (cinco dias).
- 3) Comparar a incidência de eventos adversos entre os dois grupos.

## 5 – PACIENTES E MÉTODOS

### 5.1 - TIPO DE ESTUDO

Foi realizado um estudo randomizado em pacientes portadores de leishmaniose tegumentar americana (LTA) forma cutânea localizada, no qual os pacientes foram alocados a partir de um sorteio inicial. Tratou-se de um estudo aberto, já que tanto o pesquisador como o paciente sabiam a medicação que estava sendo utilizada. Entretanto, cego para a realização da imunohistoquímica pelo patologista.

### 5.2 - TAMANHO DA AMOSTRA

Dados da literatura mostram uma taxa de cura clínica entre 70 e 100% com o esquema clássico de N-metil glucamina (20 mg SbV/kg/dia por 20 dias) para as formas cutâneas de LTA. NAME *et al* (2005) mostraram, em um estudo retrospectivo, taxa de cura de 81% nos pacientes com LCL atendidos no HUB entre 1994 e 2003. Já a taxa de cura clínica com a anfotericina B lipossomal variava entre 89 e 96% em leishmaniose visceral resistente ao antimônio pentavalente (SUNDAR *et al*, 1989 e 2001), no início do presente estudo. Não existem estudos mostrando a taxa de cura com anfotericina B lipossomal na LTA forma cutânea. Então, presumiu-se uma taxa de cura em torno de 85% com N-metil glucamina e anfotericina B lipossomal neste estudo. Assim, partiu-se do princípio da nulidade para o cálculo da amostra.

O tamanho da amostra foi calculado inicialmente usando a fórmula que correlaciona desvio-padrão (D), erro-padrão (E) e tamanho da amostra (n). O erro padrão assumido foi estabelecido em 5% (desvio em torno da média = 10%) (PEREIRA, 1995). Considerando que  $p$  é a proporção de indivíduos que se curam (0,85) e  $q$  é a proporção de indivíduos que não se curam (0,15), pode-se calcular o número de indivíduos da amostra pelas equações abaixo:

$$E = \frac{D}{\sqrt{n}} \quad ; \quad D = \sqrt{p \cdot q}$$

o que produz

$$E = \sqrt{\frac{p \cdot q}{n}} \implies E^2 = \frac{p \cdot q}{n} \implies \boxed{n = \frac{p \cdot q}{E^2}}$$

Substituindo os valores

$$n = \frac{0,85 \cdot 0,15}{0,05^2} = 51$$

Portanto, para um erro-padrão de 5% a amostra deveria ser de 51 pacientes. Porém, quando o erro padrão assumido é de 6%, o tamanho da amostra é de 35 pacientes (tamanho final da amostra, já que o estudo teve que ser interrompido por questões éticas). Desta forma, substituindo o E por 0,06 obtém-se:

$$n = \frac{0,85 \cdot 0,15}{0,06^2} = 35,4$$

### 5.3 - GRUPOS DE PACIENTES

Foram incluídos 35 pacientes portadores de LTA com a forma cutânea localizada, atendidos no ambulatório de Dermatologia do Hospital Universitário de Brasília (HUB), no período de 2000 a 2004.

Grupo 1: 16 pacientes foram tratados com anfotericina B lipossomal, na dose de 1,5 mg/kg/dia durante 5 dias, diluída em soro glicosado a 5%, com infusão venosa durante 60 minutos em veia periférica. A anfotericina B lipossomal utilizada foi o AmBisome (Nextar Pharmaceuticals).

Grupo 2: 19 pacientes foram tratados com N-metil glucamina, na dose de 20 mg de SbV/kg/dia, via venosa, sem diluição, aplicado durante 15 minutos por 20 dias. O N-metil glucamina utilizado foi o Glucantime (Rhodia Farma).

#### **5.4 - CRITÉRIOS DE INCLUSÃO**

- 1) Pacientes com a forma cutânea localizada de LTA, virgens de tratamento;
- 2) Que apresentavam somente lesões ulceradas ou placas;
- 3) Que tinham no máximo 6 lesões, com um período de evolução de até 2 anos;
- 3) Com idade de 14 anos (o pai ou responsável assinou termo de consentimento juntamente com o menor) até 61 anos;
- 4) Que concordaram em participar do estudo, assinando termo de consentimento (Anexo VII).

#### **5.5 - CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO**

- 1) Pacientes submetidos a tratamento específico prévio;
- 2) Portadores de doenças hepática, renal, cardíaca, que fossem diabéticos e/ou portadores de dislipidemias;
- 3) Alérgicos à anfotericina B e/ou ao antimonial pentavalente;
- 4) Grávidas e nutrízes;
- 5) Pacientes com menos de 14 e mais de 61 anos;
- 6) Que não concordaram em assinar o termo de consentimento.

#### **5.6 - CRITÉRIOS PARA INTERRUPTÃO DO TRATAMENTO**

- 1) Reação alérgica;
- 2) Cardio, nefro, pancreato e/ou hepatotoxicidade;

3) Recusa do paciente em continuar o tratamento.

### **5.7- CRITÉRIOS PARA REALIZAÇÃO DE SEGUNDO TRATAMENTO COM OUTRA DROGA**

- 1) Não resposta à anfotericina B lipossomal após 90 dias do tratamento;
- 2) Não resposta ao N-metil-glucamina após 90 dias de tratamento.

### **5.8 - DIAGNÓSTICO**

A investigação clínica foi realizada por meio de história clínica e epidemiológica, exame físico compatível com LTA, além de prova diagnóstica imunológica, parasitológica ou histopatológica com positividade de pelo menos dois dos seguintes métodos, os quais foram realizados em todos os pacientes.

#### **5.8.1 - Intradermoreação de Montenegro (IDRM)**

A técnica consistiu em aplicar 0,1 ml do inóculo (promastigotas de cultura), via intradérmica, na face anterior do antebraço esquerdo do paciente, após prévia antissepsia local com álcool etílico a 70%. A leitura foi realizada 48 horas após a aplicação, utilizando caneta esferográfica, limitando-se a endureção central com riscos radiais. Sendo positiva quando a endureção foi maior ou igual a 5mm.

#### **5.8.2 – Esfregaço do fragmento da lesão**

Do fragmento de pele, obtido por biópsia, retirava-se o excesso de sangue com papel de filtro e em seguida, o mesmo era pressionado contra uma lâmina de vidro. As lâminas foram fixadas em metanol por cinco minutos, coradas pelo Giemsa a 50%, e examinadas.



### 5.8.3 - Cultura do aspirado da lesão

Para aspiração do material do mesmo local da biópsia, foi utilizada agulha montada em seringa de 20ml contendo solução salina. O aspirado era colocado em meio de cultura NNN (Mc Neal, Novy e Nicolli), o qual é composto por 18% de sangue de coelho, ágar-sangue base a 4% e gentamicina, sendo conservado sob refrigeração a 4° C. O material era então encaminhado ao laboratório de Dermatocologia da UnB, onde era mantido em estufa a 24°C, para ser examinado semanalmente.

### 5.8.4 - Inoculação em hamster

Um fragmento da lesão, retirado pela mesma técnica de biópsia para exame histopatológico e esfregaço, porém colocado em solução fisiológica estéril, era triturado juntamente com solução salina e então inoculado na pata traseira do hamster (*Mesocricetus auratus*). Era realizada inspeção semanal até que se observasse lesão no local de inoculação, a partir da qual era feito aspirado para cultura utilizando-se a técnica já descrita.

### 5.8.5 - Imunofluorescência Indireta (IFI)

Foi coletada amostra do sangue (5 ml) do paciente sem anticoagulante para a realização deste método e encaminhada para o laboratório de dermatocologia da UnB. O antígeno utilizado foi um preparado de promastigotas de *L(L)amazonensis*. À temperatura ambiente, os soros foram diluídos em placa de diluição, com capacidade para 200 µl em cada orifício. Para a diluição, foi empregado tampão PBS (composto por cloreto de sódio, fosfato de potássio, fosfato de sódio, cloreto de potássio e água destilada). Amostra do soro de cada paciente era diluída 5 vezes, sendo que na primeira linha ficava a menor diluição que era de 1:20, enquanto que na última linha ficava a maior diluição de 1:320. Depois de prontas, as lâminas foram incubadas a 37°C por 30 minutos. O conjugado IgG anti-humano, marcado com isotiocianato de fluoresceína, diluído a 1:60 com PBS era colocado em cima das lâminas, sendo incubado a 37°C por 30 minutos, para reagir com os antígenos nas lâminas. Após serem lavadas, as lâminas foram coradas com azul de Evans e novamente lavadas. O processo era concluído com aplicação de uma gota de glicerina tamponada com PBS e colocação de lamínula sobre

a lâmina. O título era obtido da maior diluição na qual o resultado da leitura ainda era positivo.

### **5.8.6 - Exame histopatológico do fragmento das lesões**

Foi realizada biópsia na borda da lesão ativa, após antissepsia prévia com solução de povidine, álcool e soro fisiológico. A anestesia local foi realizada com xilocaína a 2%. A incisão foi feita em cunha, com lâmina 15 de bisturi. O fragmento era colocado em solução de formol a 10% e enviado à patologia onde foi processado, corado pela hematoxilina-eosina (HE) e examinado.

### **5.9 - IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES/ SUBGÊNEROS DE *LEISHMANIA* USANDO ANTICORPOS MONOCLONAIS**

Foram realizadas culturas (técnica descrita no item 5.8.3) de cada amostra de todos os pacientes dos dois grupos, sendo que as positivas foram criopreservadas. Após descriopreservação, as amostras foram colocadas novamente em meio de cultura NNN. Observando o crescimento, o material foi enviado para o Instituto Evandro Chagas (Belém-Pará), onde as lâminas com o antígeno de cada paciente foram preparadas e as cepas foram identificadas pela técnica de imunofluorescência indireta utilizando anticorpos monoclonais, da seguinte forma: 1) Os antígenos das lâminas eram incubados com 10 µl de PBS contendo soro normal (soro de cavalo-1,5 a 3%) por 15 minutos e, em seguida, as lâminas eram lavadas para retirada do excesso de soro; 2) Logo após, eram incubadas com 10µl de anticorpos monoclonais leishmânicos (anticorpo primário) por 15 minutos e lavadas rapidamente com PBS; 3) O passo seguinte consistia em incubar com 10µl de imunoglobulina anti-camundongo marcada com biotina (anticorpo secundário) por 15 minutos e lavar rapidamente com PBS; 4) Depois, as lâminas foram incubadas com avidina D marcada com fluoresceína por 15 minutos e lavadas rapidamente com PBS; 5) Foram colocadas em tampão alcalino (pH 9.5) contendo glicerol a 30% e, 6) Examinadas ao microscópio de imunofluorescência, com objetiva de 40X.

## 5.10 - AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA

A resposta imunológica dos pacientes ao tratamento foi avaliada pela realização da imunofluorescência indireta (técnica descrita no item 5.8.5) antes e 3 meses após o tratamento e pelo estudo imunohistoquímico realizado antes e 1 mês após o final do tratamento.

### 5.10.1 - Estudo Imunohistoquímico

Biópsia da borda da lesão ativa foi realizada antes e 30 dias após o final do tratamento dos pacientes sorteados para imunohistoquímica. Cada amostra foi fixada em formol tamponado a 10% e incluída em parafina e os cortes consecutivos de 4 micrômetros foram obtidos para análise. Para a confirmação do diagnóstico e análise histopatológica, os cortes foram corados pela hematoxilina-eosina (HE), e PAS para identificação de parasitos.

Os fragmentos obtidos foram colocados sobre lâminas de vidro previamente preparadas com poli-L Lisina. A técnica utilizada foi a de imunoperoxidase para a identificação das moléculas CD20, CD68, CD15, CD25, CD45RO, CD3, CTLA-4,  $\alpha$ -Leish.

Inicialmente, os cortes sobre as lâminas foram desparafinados e hidratados de acordo com os seguintes passos: 1<sup>o</sup>) Xilol, 3 vezes, 5 minutos cada vez; 2<sup>o</sup>) Álcool absoluto, 3 vezes, 5 minutos cada vez; 3<sup>o</sup>) Álcool etílico 95%, 1 vez, por 2 minutos; 4<sup>o</sup>) Água destilada. Em seguida, as lâminas foram incubadas em peróxido de hidrogênio (Merck) a 3% em metanol (Vetec), por 17 minutos, para o bloqueio da peroxidase endógena. Após lavagem com água destilada, as lâminas foram incubadas em tampão citrato (Sigma), pH = 6.2 e aquecidas a uma temperatura de 120°C sob pressão, para exposição antigênica, por 1 minuto e 30 segundos.

Após exposição antigênica, as lâminas permaneceram no tampão citrato por 30 minutos, em banho Maria à temperatura ambiente. A seguir, as lâminas foram incubadas com soro de leite a 3% em PBS (leite desnatado Molico) por 30 minutos, a fim de se obter o bloqueio das ligações protéicas inespecíficas. As lâminas foram então secadas e incubadas com os anticorpos primários (monoclonais de camundongo anti-linfócito B

humano CD20, monoclonais de camundongo anti-macrófago humano CD 68, monoclonais de camundongo anti-neutrófilo CD15, monoclonais de camundongo anti-linfócito T ativado humano CD25, monoclonais de camundongo anti-linfócito T ativado humano CD45RO, monoclonais de camundongo anti-linfócito T humano CD3, monoclonais de camundongo anti-linfócito T regulador CTLA-4, policlonal de cabra anti-*Leishmania*  $\alpha$ -Leish) por 18 horas e mantidas à temperatura de 4°C. Todas as diluições foram realizadas utilizando PBS associado a soro albumina bovina (PBS-BSA) a 1%. Após o período de 18 horas, realizaram-se as lavagens consecutivas e, posteriormente, a incubação com os anticorpos secundários anti-IgG de coelho/camundongo/cabra por 20 minutos, à temperatura de 22 a 25°C, seguido pela incubação com a *streptoavidina* marcada com peroxidase (Kit DAKO LSAB+, Peroxidase-Universal-K0690) por 20 minutos à temperatura de 22 a 25°C.

Posteriormente, às lavagens consecutivas com PBS-BSA a 1%, procedeu-se a revelação da reação utilizando o substrato 3,3'-Diaminobenzidina (DAB) pronto para uso (Kit DAKO). A revelação foi feita por 15 minutos, à temperatura ambiente e protegida da luz. A reação foi interrompida com água destilada e as lâminas contra-coradas com hematoxilina de Mayer, por 10 minutos, à temperatura ambiente. Após serem lavadas com água destilada por duas vezes, as lâminas foram incubadas por mais 10 minutos em água destilada, desidratadas com álcoois (95° e 100° GL), passadas em xilol (3 vezes) e montadas com solução de resina não aquosa (Entellan-Mikroskopie-Merck).

Todas as lâminas foram examinadas utilizando um microscópio biocular Axiolab-Zeiss associado a ocular com retículo de integração quadrado, em forma de rede (Carl Zeiss-474068000000-Netzmikrometer 12,5x), sob a objetiva de 100X, utilizando óleo de imersão. A intensidade da imunomarcagem foi expressa em porcentagem(%) para os marcadores celulares, e em cruzes (+) para o marcador de parasitos.

### **5.11 - AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DOS PACIENTES**

Os pacientes foram avaliados clinicamente antes, durante o período do tratamento, após 30, 60, 90, 180 dias e 1 ano após o final do tratamento. Atualmente, os pacientes fazem controle anual no ambulatório de Dermatologia do HUB.

Foram realizadas medidas dos diâmetros das lesões e fotografias das mesmas antes, com 30, 90 e 180 dias após o tratamento.

As lesões foram classificadas de acordo com o aspecto clínico (ativa, em cicatrização e cicatrizada) ao término do tratamento, com 30, 60 e 90 dias após o tratamento, sendo ativa aquela que mantinha borda infiltrada e sem sinais de reepitelização, se era ulcerada ou quando se apresentava infiltrada, sob forma de placas; em cicatrização aquela com redução da infiltração e presença de tecido de granulação e cicatrizada, a lesão completamente reepitelizada, sem infiltração e eritema.

Foram realizados os seguintes exames laboratoriais: hemograma completo, bioquímicos do sangue (glicose, sódio, potássio, creatinina, uréia, transaminases, bilirrubinas, fosfatase alcalina, amilase, lipidograma completo) em todos os pacientes antes, semanalmente no grupo controle (exceto lipidograma), ao término do tratamento e após 30 dias em ambos os grupos. Os pacientes que receberam anfotericina B lipossomal foram submetidos ao eletrocardiograma antes e no final do tratamento. Aqueles tratados com N-metil glucamina foram submetidos ao eletrocardiograma semanalmente até à conclusão do tratamento.

### **5.12 - CRITÉRIOS DE CURA, FALHA E RECIDIVA**

- 1) Cura: lesões cicatrizadas até 90 dias após o tratamento.
- 2) Falha: não cicatrização após 90 dias do tratamento.
- 3) Recidiva: cicatrização inicial com reaparecimento da lesão até um ano após o final do tratamento.

### **5.13 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS FÁRMACOS**

Neste estudo foram utilizadas ampolas de N-metil glucamina (Glucantime) doadas pelo Ministério da Saúde, de um único lote (102480/ Fab 05/2001 e Val 05/2006). Para avaliar o N-metil glucamina, foram escolhidas aleatoriamente 10 ampolas, às quais

foram submetidas à dois testes no laboratório de nefrologia da Universidade de Brasília-UnB: 1) Medida da pressão osmótica e; 2) Medida do pH.

A anfotericina B lipossomal (AmBisome) foi doada pela United Medical / Gilead (lote 042252AA/ Fab 07/2002 e Val 12/2004).

#### **5.14 - AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA**

Foram utilizados nas análises estatísticas os programas *The SAS System for Windows v8* e o *Microsoft Excel*. Os testes estatísticos realizados foram o teste exato do Qui-quadrado e o teste de Fisher, para a análise da homogeneidade entre os grupos. O Risco Relativo(RR) para verificar a razão das probabilidades de sucesso entre os dois grupos e o teste de Mann Whitney para verificar se duas amostras são provenientes ou não de uma mesma população. Para todas as comparações foi estabelecido um limite de significância igual a 0,05.

#### **5.15 - ASPECTOS ÉTICOS**

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (CEP-FM/UnB), e aprovado (Anexo IX) em novembro de 2000 (No. 011/00).

## 6 - RESULTADOS

### 6.1 - AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS

Foram incluídos no estudo 35 pacientes (31 homens e 4 mulheres) com o diagnóstico de leishmaniose tegumentar americana (LTA) forma cutânea localizada, atendidos no ambulatório de Dermatologia-LTA do Hospital Universitário de Brasília (HUB) no período de novembro de 2000 a dezembro de 2004. Os 35 pacientes foram distribuídos de forma aleatória para dois grupos, após sorteio inicial.

#### 6.1.1- Distribuição quanto ao gênero

O primeiro grupo, o grupo de estudo, foi constituído por 16 pacientes (15 homens e 1 mulher), que foram tratados com anfotericina B lipossomal na dose de 1,5mg/kg/dia durante 5 dias. E o segundo grupo (controle) com 19 pacientes (16 homens e 3 mulheres), que foram tratados com N-metil glucamina na dose de 20 mg SbV/kg/dia durante 20 dias (Tabela 1 e figura 1).

**Tabela 1 - Distribuição dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com o gênero, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | GÊNERO    |          | TOTAL |
|---------------------------|-----------|----------|-------|
|                           | Masculino | Feminino |       |
| Anfotericina B lipossomal | 15        | 1        | 16    |
| N-metil glucamina         | 16        | 3        | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 31        | 4        | 35    |

Foi empregado o teste de Fisher, teste similar ao Qui-quadrado para verificar se a proporção de pacientes do gênero masculino no grupo da anfotericina B lipossomal é equivalente à proporção deste gênero no grupo N-metil glucamina. O resultado do teste

mostrou que há um forte indício de que os grupos sejam homogêneos em relação ao gênero já que o p-valor foi 0,608.

### 6.1.2- Distribuição quanto à faixa etária

A idade média dos pacientes da amostra foi 31 anos, desvio padrão de 13,2, idade máxima de 61 e mínima de 14 anos. No grupo com anfotericina B lipossomal foi observada uma idade média de 29,1 anos, desvio padrão de 13,6, idade mínima de 14 e máxima de 58 anos. No grupo controle observou-se média de 32,6 anos, desvio padrão de 12,9, mínima de 15 e máxima de 61 anos (anexo I e II).

No grupo tratado com anfotericina B lipossomal 4 (25%) pacientes tinham entre 14 e 20 anos de idade, 9 (56,25%) tinham entre 21 e 40 anos e 3 (18,75%) entre 41 e 60 anos. No grupo controle, 5 (26,3%) pacientes tinham entre 14 e 20 anos, 9 (47,4 %) tinham entre 21 e 40 anos, 4 (21,1%) tinham entre 41 e 60 anos e apenas 1 (5,3%) com mais de 60 anos de idade (Tabela 2 e Figura 2).

**Tabela 2 - Distribuição dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a faixa etária, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | FAIXA ETÁRIA (anos) |        |       |      | TOTAL |
|---------------------------|---------------------|--------|-------|------|-------|
|                           | 14- 20              | 21- 40 | 41-60 | > 60 |       |
| Anfotericina B lipossomal | 4                   | 9      | 3     | 0    | 16    |
| N-metil glucamina         | 5                   | 9      | 4     | 1    | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 9                   | 18     | 7     | 1    | 35    |

Foi aplicado o teste do Qui-quadrado (valor = 0,050; GL = 2; p-valor = 0,975) para verificar se a distribuição das idades era homogênea entre os dois grupos. E concluiu-se que os dois grupos eram homogêneos entre si em relação à faixa etária, já que o p-valor foi maior que 0,05.



### 6.1.3- Distribuição quanto à procedência

Quanto à procedência, observou-se na amostra que um pouco mais da metade dos pacientes (54%) procediam do Distrito Federal (DF) e Goiás (GO), como mostra a Figura 3. No grupo em estudo, 9 (56%) pacientes procediam do Distrito Federal (DF), 2 (13%) de Goiás (GO) e do Pará (PA), 1(6%) de Tocantins (TO), Minas Gerais (MG) e Venezuela. No grupo controle, 4 (21%) eram procedentes do DF e de GO, 3 (16%) do PA, de TO e da Bahia (BA), 1(5%) do Maranhão (MA) e de MG (Tabela 3 e figura 4).

Dos 13 (37%) pacientes procedentes do DF, 7 eram de São Sebastião, 3 de Planaltina, 2 de Sobradinho, 1 do Paranoá. Portanto, dentre os pacientes do DF 53,8% eram de São Sebastião (Tabela 4).

**Tabela 3 - Distribuição dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a procedência, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | PROCEDÊNCIA (unidades da Federação) |    |    |    |    |    |    | TOTAL |
|---------------------------|-------------------------------------|----|----|----|----|----|----|-------|
|                           | DF                                  | GO | PA | TO | BA | MG | MA |       |
| Anfotericina B lipossomal | 9                                   | 2  | 2  | 1  | 0  | 1  | 0  | 15    |
| N-metil glucamina         | 4                                   | 4  | 3  | 3  | 3  | 1  | 1  | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 13                                  | 6  | 5  | 4  | 3  | 2  | 1  | 34    |

**Tabela 4 - Distribuição de 13 pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, procedentes do Distrito Federal de acordo com a cidade satélite de procedência, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | ÁREAS DE PROCEDÊNCIA NO DF |            |            |         | TOTAL |
|---------------------------|----------------------------|------------|------------|---------|-------|
|                           | São Sebastião              | Planaltina | Sobradinho | Paranoá |       |
| Anfotericina B lipossomal | 4                          | 2          | 2          | 1       | 9     |
| N-metil glucamina         | 3                          | 1          | 0          | 0       | 4     |
| <b>TOTAL</b>              | 7                          | 3          | 2          | 1       | 13    |

Para análise da homogeneidade dos pacientes quanto à procedência agrupou-se os dados quanto aos Estados de procedência e aplicou-se o teste do Qui-quadrado (Valor = 6,263; GL = 4; p-valor = 0,160). O teste mostrou que há evidências de que os dois grupos são homogêneos quanto à procedência.

#### 6.1.4- Distribuição quanto à ocupação

No que se refere à ocupação, foram observados no total 13 (37%) agricultores, 6 (7%) estudantes e 16 (46%) com outros tipos de ocupação (Figura 5), como pedreiro, pintor, militar, motorista, confeitoiro, funileiro, do lar, camelô e servente (Anexo I). No grupo tratado com anfotericina B lipossomal 5 pacientes eram agricultores, 4 estudantes e os 7 restantes tinham ocupação variada. No grupo tratado com N-metil glucamina 8 eram agricultores, 2 estudantes e os 9 restantes tinham ocupação diversa (Tabela 5 e Figura 6).

**Tabela 5 - Distribuição dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a ocupação, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | OCUPAÇÃO   |           |        | TOTAL |
|---------------------------|------------|-----------|--------|-------|
|                           | Agricultor | Estudante | Outras |       |
| Anfotericina B lipossomal | 5          | 4         | 7      | 16    |
| N-metil glucamina         | 8          | 2         | 9      | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 13         | 6         | 16     | 35    |

De acordo com os resultados do teste do Qui-quadrado (valor = 1,362; GL = 2; p-valor = 0,506) para homogeneidade concluiu-se que os dois grupos eram homogêneos entre si em relação a ocupação.

#### **6.1.5- Distribuição quanto ao número de lesões por paciente**

Quanto ao número de lesões, no estudo 18 (51%) pacientes apresentavam uma única lesão enquanto 17 (49%) apresentavam mais de 1 lesão até no máximo 6 lesões (Tabela 6 e Figura 7). No grupo de estudo 10 (62,5%) pacientes apresentavam apenas 1 lesão, os outros 6 apresentavam 2 lesões. Enquanto no grupo controle, 8 (42,10%) pacientes apresentavam apenas 1 lesão e os outros 11 (57,9%) apresentavam de 2 a 6 lesões (Tabela 6 e Figura 8). Sendo que entre os 17 pacientes que apresentavam mais de 1 lesão, a maioria das lesões se encontrava na mesma área topográfica anatômica. Por exemplo, no Anexo I os pacientes No. 1, 2, 3 e 10 tratados com anfotericina B lipossomal apresentavam 2 lesões em membro inferior e o No. 7 apresentava 2 lesões em membro superior. No Anexo II, dos pacientes tratados com N-metil glucamina, o paciente No. 2 apresentava 5 lesões no membro inferior, o No. 3 com 3 lesões em face, o No. 6 e o No. 18 apresentavam 4 lesões em membro superior, o No. 10 e 17 com 2 lesões em membros superiores, o No. 8 com 4 em membro inferior e 2 em membro superior e o No. 19 com 2 em membro inferior.

**Tabela 6 - Distribuição dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com o número de lesões, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | NÚMERO DE LESÕES |                 |       |
|---------------------------|------------------|-----------------|-------|
|                           | Lesão única      | Mais de 1 lesão | TOTAL |
| Anfotericina B lipossomal | 10               | 6               | 16    |
| N-metil glucamina         | 8                | 11              | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 18               | 17              | 35    |

Ao aplicar o teste do Qui-quadrado (Valor = 1,446; GL = 1; p-valor = 0,229) observou-se que os dois grupos são homogêneos entre si em relação ao número de lesões.

#### **6.1.6- Distribuição das lesões quanto à localização topográfica**

Ao todo, foram observadas 66 lesões, 22 no grupo tratado com anfotericina B lipossomal, as quais estavam distribuídas topograficamente da seguinte forma: 13 (59%) em membros inferiores, 6 (27%) em membros superiores, 2 (9%) na cabeça e 1 (5%) em tronco. No total foram tratadas com N-metil glucamina 44 lesões, sendo que foram observadas 16 (36%) lesões nos membros inferiores, 15 (34%) nos membros superiores, 8 (18%) na cabeça e 5 (11%) no tronco (Tabela 7 e Figura 10).

Nos dois grupos a maioria das lesões se localizava em membros inferiores. Foram observadas 29 lesões nos membros inferiores nos dois grupos, representando 44 % do total de lesões, 21 (32%) nos membros superiores, 10 (15%) na cabeça e 6 (9%) no tronco (Figura 9).

**Tabela 7 - Distribuição das lesões, de acordo com a localização topográfica, nos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | LOCALIZAÇÃO DAS LESÕES |                    |                                        |        | TOTAL |
|---------------------------|------------------------|--------------------|----------------------------------------|--------|-------|
|                           | Membros Inferiores     | Membros Superiores | Cabeça (face, região cervical, orelha) | Tronco |       |
| Anfotericina B lipossomal | 13                     | 6                  | 2                                      | 1      | 22    |
| N-metil glucamina         | 16                     | 15                 | 8                                      | 5      | 44    |
| <b>TOTAL</b>              | 29                     | 21                 | 10                                     | 6      | 66    |

Foi testada a homogeneidade entre os dois grupos em relação à localização das lesões para cada região topográfica. Empregou-se o teste de Fisher (p-valor = 0,505 no membro inferior; 1,000 no membro superior; 0,608 na face; 0,347 no tronco; 1,000 na região cervical e 1,000 na orelha) e observou-se que os dois grupos são homogêneos entre si, em relação à localização topográfica.

#### **6.1.7- Distribuição quanto ao tamanho das lesões**

Quanto ao tamanho das lesões, 41% das lesões mediam até 2 cm, 35% mediam entre 2,1 a 4 cm, 21% mediam entre 4,1 e 6 cm e apenas 3% mediam mais de 6 cm (Figura 11). No grupo tratado com anfotericina B lipossomal, 6 tinham até 2 cm de diâmetro, 10 tinham entre 2,1 e 4 cm e outras 6 tinham entre 4,1 e 6 cm (Tabela 8). Ou seja, 45 % das lesões apresentava diâmetro entre 2,1 a 4 cm (Figura 12). Já no grupo controle, 21 lesões tinham até 2 cm, 13 tinham entre 2,1 e 4 cm, 8 mediam entre 4,1 e 6 cm, e 2 lesões tinham 8 cm (Tabela 8). Portanto, 48 % das lesões no grupo tratado com N-metil glucamina tinham até 2 cm de diâmetro (Figura 12).

**Tabela 8 - Distribuição das lesões, de acordo com o diâmetro, nos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | DIÂMETRO DAS LESÕES (cm) |           |           |           | TOTAL |
|---------------------------|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-------|
|                           | Até 2                    | 2,1 até 4 | 4,1 até 6 | 6,1 até 8 |       |
| Anfotericina B lipossomal | 6                        | 10        | 6         | 0         | 22    |
| N-metil glucamina         | 21                       | 13        | 8         | 2         | 44    |
| <b>TOTAL</b>              | 27                       | 23        | 14        | 2         | 66    |

De acordo com os resultados do teste exato do Qui-quadrado (Valor = 2,690; GL = 2; p-valor = 0,273), os dois grupos são homogêneos entre si em relação ao diâmetro das lesões.

#### 6.1.8- Distribuição quanto ao tipo das lesões

A maioria das lesões era constituída por úlceras (58) em relação às placas (8) na população incluída no estudo (Figura 13). Das 22 lesões do grupo de estudo 20 (91%) eram úlceras e 2 eram placas, enquanto das 44 do grupo controle, 38 (86%) eram úlceras e 6 (14%) placas (Tabela 9 e Figura 14).

O teste do Qui-quadrado ( Valor = 0,284; GL=1; p- valor = 0,594) mostrou que os dois grupos são homogêneos em relação ao tipo de lesões, já que obteve-se um p- valor relativamente alto (0,594)

**Tabela 9 - Distribuição das lesões, de acordo com o tipo (úlceras ou placas), nos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | TIPO DE LESÕES |       | TOTAL |
|---------------------------|----------------|-------|-------|
|                           | Úlcera         | Placa |       |
| Anfotericina B lipossomal | 20             | 2     | 22    |
| N-metil glucamina         | 38             | 6     | 44    |
| <b>TOTAL</b>              | 58             | 8     | 66    |

#### 6.1.9- Distribuição quanto ao tempo de evolução das lesões

Quanto ao tempo de evolução das lesões, a maior parte dos pacientes (57%) apresentava lesões com evolução entre 2 a 6 meses (Figura 15). Eram 11 (69%) pacientes no grupo de estudo e 9 (47%) no grupo controle (Tabela 10 e Figura 16). Sendo que 26 pacientes tinham até 6 meses de evolução das lesões, correspondendo a 74,2% dos casos.

O tempo de evolução variou de 1 até 24 meses, com uma média de 5,2 meses e desvio padrão 5,4 no grupo tratado com anfotericina B lipossomal. Enquanto no grupo tratado com N-metil glucamina, o tempo de evolução variou de 25 dias a 24 meses, com uma média de 6,3 meses e desvio padrão de 5,9 meses (Anexo I e II).

**Tabela 10 - Distribuição dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com o tempo de evolução das lesões, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | TEMPO DE EVOLUÇÃO DAS LESÕES |           |            |             | TOTAL |
|---------------------------|------------------------------|-----------|------------|-------------|-------|
|                           | < 2 meses                    | 2-6 meses | 7-12 meses | 13-24 meses |       |
| Anfotericina B lipossomal | 2                            | 11        | 2          | 1           | 16    |
| N-metil glucamina         | 4                            | 9         | 5          | 1           | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 6                            | 20        | 7          | 2           | 35    |

De acordo com o resultado do teste do Qui-quadrado (Valor = 0,748; GL = 2; p-valor = 0,688) de homogeneidade observou-se que os dois grupos de pacientes eram homogêneos quanto ao tempo de evolução das lesões já que se obteve um alto valor para o p-valor.

## 6.2- AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS DIAGNÓSTICOS

### 6.2.1- Resultado da Intradermorreação de Montenegro (IDRM)

A intradermorreação de Montenegro (IDRM) foi realizada em todos os pacientes dos dois grupos. Sua positividade foi 91% (Figura 17).

**Tabela 11 – Distribuição do resultado da intradermorreação de Montenegro nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | IDRM     |          | TOTAL |
|---------------------------|----------|----------|-------|
|                           | Positiva | Negativa |       |
| Anfotericina B lipossomal | 15       | 1        | 16    |
| N-metil glucamina         | 17       | 2        | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 32       | 3        | 35    |



Foi positiva em 15 pacientes (94%) do grupo de estudo e negativa em 1 (6%). No grupo controle foi positiva em 17 (89%) e negativa em 2 (11%) pacientes (Tabela 11 e Figura 18).

### 6.2.2- Resultado do esfregaço do fragmento das lesões

Houve 60% de positividade (21 pacientes de 35) no esfregaço do fragmento das lesões neste estudo (Figura 19). Sendo que foi positivo em 10 (63%) pacientes do grupo tratado com anfotericina B lipossomal e negativo em 6 (37%). No grupo tratado com N-metil glucamina 11 (58%) pacientes com esfregaços positivos e 8 (42%) negativos (Tabela 12 e Figura 20).

**Tabela 12 – Distribuição dos resultados do esfregaço do fragmento das lesões nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia ) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| Grupos                    | ESFREGAÇO DO FRAGMENTO DAS LESÕES |          |       |
|---------------------------|-----------------------------------|----------|-------|
|                           | Positivo                          | Negativo | TOTAL |
| Anfotericina B lipossomal | 10                                | 6        | 16    |
| N-metil glucamina         | 11                                | 8        | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 21                                | 14       | 35    |

### 6.2.3- Resultado da cultura do aspirado das lesões

Quanto à cultura do aspirado das lesões, 24 foram positivas correspondendo a 68% das amostras (Figura 21). Sendo que no grupo de estudo foi positiva em 12 (75%) pacientes e negativa em 4 (25%). Enquanto no grupo controle foi positiva também em 12 (63%) pacientes, negativa em 5 (26%), contaminada em 1 (5,5%) e sem descrição em outro (5,5%) paciente (Tabela 13 e Figura 22).

**Tabela 13 – Distribuição dos resultados da cultura do aspirado das lesões nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | CULTURA DO ASPIRADO DAS LESÕES |          |                |       |
|---------------------------|--------------------------------|----------|----------------|-------|
|                           | Positiva                       | Negativa | SD/contaminada | TOTAL |
| Anfotericina B lipossomal | 12                             | 4        | 0              | 16    |
| N-metil glucamina         | 12                             | 5        | 2              | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 24                             | 9        | 2              | 35    |

SD = sem descrição

#### 6.2.4- Resultado da inoculação em hamster

Quanto à inoculação em hamster, houve 66% (23 amostras) de positividade (Figura 23). No grupo tratado com anfotericina B lipossomal 11 (69%) pacientes foram positivos, dos quais 3 tiveram culturas negativas. Ainda no grupo de estudo 5 (31%) tiveram inoculação negativa. No grupo tratado com N-metil glucamina, 12 (63%) tiveram inoculação positiva, 6 (32%) inoculações foram negativas e 1 (5%) sem descrição (Tabela 14 e Figura 24).

**Tabela 14 – Distribuição dos resultados da inoculação em hamster nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | INOCULAÇÃO EM HAMSTER |          |               |       |
|---------------------------|-----------------------|----------|---------------|-------|
|                           | Positiva              | Negativa | Sem descrição | TOTAL |
| Anfotericina B lipossomal | 11                    | 5        | 0             | 16    |
| N-metil glucamina         | 12                    | 6        | 1             | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 23                    | 11       | 1             | 35    |

### 6.2.5- Resultado da imunofluorescência indireta antes do tratamento

A imunofluorescência indireta (IFI) foi considerada positiva quando os títulos foram iguais ou superiores a 1:40. Nos dois grupos, a IFI variou de negativa até 1:320. A positividade da IFI foi 43%. Sendo de 1:40 em 14% dos pacientes incluídos no estudo, 1:80 em 11%, 1:160 em 9% e 1:320 em outros 9% (Figura 25).

No grupo de estudo 8 (50%) pacientes tinham títulos positivos, 3 (19%) foram negativos, 2 (13%) tinham títulos baixos (1:20) e em 3 (19%) não foi realizada a IFI. Dos 8 pacientes com títulos positivos, 4 (25%) tinham títulos de 1:40, 1 (6%) tinha título de 1:80, 2 (13%) tinham títulos de 1:160 e 1 (6%) tinha título de 1:320. No grupo controle, 7 (36,8%) pacientes tinham títulos positivos, 10 negativos (53%) e 2 (11%) títulos abaixo do limite considerado. Dos 7 pacientes que tinham títulos positivos, 1 (5%) tinha título de 1:40, 3 (16%) tinham títulos de 1:80, 1 (5%) tinha título 1:160 e 2 (11%) tinham títulos de 1:320 (Tabela 15 e Figura 26).

**Tabela 15 – Distribuição dos resultados da imunofluorescência indireta (IFI) nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | IFI      |      |      |      |       |       |    | TOTAL |
|---------------------------|----------|------|------|------|-------|-------|----|-------|
|                           | Negativa | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | 1:320 | NR |       |
| Anfotericina B lipossomal | 3        | 2    | 4    | 1    | 2     | 1     | 3  | 16    |
| N-metil glucamina         | 10       | 2    | 1    | 3    | 1     | 2     | 0  | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 13       | 4    | 5    | 4    | 3     | 3     | 3  | 35    |

NR = não realizada

### 6.2.6- Resultado do exame histopatológico do fragmento das lesões

Quanto ao exame histopatológico do fragmento das lesões, no total de 35 pacientes, apenas 17% (6 pacientes) tinham amastigotas no histopatológico (Figura 27). Parasitos

(amastigotas) foram encontrados no histopatológico de 6 (37,5%) pacientes tratados com anfotericina B lipossomal e em nenhum paciente do grupo controle (Tabela 16). No geral houve predomínio da reação exsudativa celular (42%) em relação aos outros padrões histopatológicos. Foi observado reação exsudativa celular em 7 (44%) pacientes do grupo de estudo e 8 (42%) no grupo controle. Reação exsudativa e granulomatosa em 5 (31%) pacientes do grupo tratado com anfotericina B lipossomal e em 9 (47%) pacientes do grupo tratado com N-metil glucamina. Reação exsudativa necrótico-granulomatosa em 2 pacientes do grupo controle e em nenhum do grupo de estudo (Tabela 16 e Figura 28). Ainda no grupo de estudo não houve descrição do histopatológico em 4 (25%) pacientes.

**Tabela 16- Distribuição dos resultados do exame histopatológico do fragmento das lesões nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | EXAME HISTOPATOLÓGICO     |    |                                   |    |                                           |    | SD | TOTAL |
|---------------------------|---------------------------|----|-----------------------------------|----|-------------------------------------------|----|----|-------|
|                           | Reação exsudativa celular |    | Reação exsudativa e granulomatosa |    | Reação exsudativa necrótico-granulomatosa |    |    |       |
|                           | SP                        | CP | SP                                | CP | SP                                        | CP |    |       |
| Anfotericina B lipossomal | 3                         | 4  | 3                                 | 2  | 0                                         | 0  | 4  | 16    |
| N-metil glucamina         | 8                         | 0  | 9                                 | 0  | 1                                         | 0  | 0  | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 11                        | 4  | 12                                | 2  | 1                                         | 0  | 4  | 35    |

SP= sem parasito

CP= com parasito

SD = sem descrição

#### 6.2.7- Resultado da identificação das espécies/subgêneros de *Leishmania*

Quanto à identificação das espécies de leishmânia, de um total de 24 culturas positivas e 23 inoculações positivas, 25 (71,42%) amostras foram criopreservadas e destas 21

foram identificadas. Das amostras de 11 (69%) pacientes tratados com anfotericina B lipossomal, 6 (55%) foram identificadas como *Leishmania (Viannia) braziliensis (LVb)*, 3 (27%) identificadas como *Leishmania (Leishmania) amazonensis (LLa)*, 1 (9%) como sendo do subgênero *Viannia* e outra (9%) com características de *Leishmania (Viannia) shawi (LVs)* (Figura 29) . Das amostras de 10 pacientes tratados com N-metil glucamina, todas foram identificadas como *L(V)b* . Portanto, 16 pacientes , 76% das 21 amostras foram identificadas como *L(V)b* (Tabela 17).

**Tabela 17 – Distribuição dos resultados da identificação das espécies / subgêneros de *leishmania* em amostras de 21 pacientes dos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia ) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | ESPÉCIES/SUBGÊNERO |              |                |              | TOTAL |
|---------------------------|--------------------|--------------|----------------|--------------|-------|
|                           | <i>L(V)b</i>       | <i>L(L)a</i> | <i>Viannia</i> | <i>L(V)s</i> |       |
| Anfotericina B lipossomal | 6                  | 3            | 1              | 1            | 11    |
| N-metil glucamina         | 10                 | 0            | 0              | 0            | 10    |
| <b>TOTAL</b>              | 16                 | 3            | 1              | 1            | 21    |

*L(V)b* = *Leishmania (Viannia) braziliensis*

*L(L)a* = *Leishmania (Leishmania) amazonensis*

*L(V)s* = *Leishmania (Viannia) shawi*

### 6.2.8- Resultado da imunohistoquímica antes do tratamento

A imunohistoquímica foi realizada em 13 pacientes antes do tratamento, sendo que 6 eram do grupo da anfotericina B lipossomal e 7 do grupo tratado com N-metil glucamina.

A imunomarcacão com o CD25 foi negativa em 12 (92%) pacientes. Somente 1 (8%), paciente teve marcao com CD25 positiva de 20%, o qual era do grupo da anfotericina B lipossomal.

O CD3 foi positivo em 12 pacientes, sendo que 7 (54%) pacientes tiveram CD3 entre 60 e 70%, destes 4 eram do grupo da anfotericina B lipossomal. Outros 4 (31%) pacientes tiveram CD3 entre 30 e 40%, e 1 (8%) paciente teve CD3 de 10%.

O CD15 foi negativo em 12 (92%) pacientes e positivo em 1, o qual era do grupo da anfotericina B lipossomal.

O CD20 foi positivo em 11 (84%) pacientes, sendo que 2 pacientes tinham CD20 de 60 e 40% respectivamente, os quais eram do grupo do N-metil glucamina. Outros 4 pacientes tinham CD20 de 20%, sendo que 3 pertenciam ao grupo da anfotericina B lipossomal, 4 tinham CD20 de 10% e 1 paciente tinha CD20 de 5%.

A imunomarcacão para o CD68 foi positiva em 12 (92%) pacientes, sendo que 2 pacientes tinham CD68 de 100% e os mesmos eram do grupo da anfotericina B lipossomal, 4 pacientes tinham CD68 entre 60 e 70%, sendo que 3 eram do grupo do N-metil glucamina. Quatro pacientes tinham CD68 entre 30 e 40% e 2 pacientes tinham CD68 de 20%.

Quanto ao CTLA-4, foi positivo em 9 (69%) pacientes, sendo de 40% em 1 paciente, de 20% em 3 pacientes, de 10% em 4 pacientes e de 5% em 1 paciente. Foi negativo em 4 pacientes, dos quais 2 eram do grupo da anfotericina B lipossomal e 2 do N-metil glucamina.

A imunomarcacão para o  $\alpha$ -leish, anticorpo policlonal, foi positiva nas amostras de 11 (84,6%) pacientes, com intensidade de 4+ em 2 pacientes, os quais eram do grupo da anfotericina B lipossomal. Com 3+ em outros 2 pacientes, de 2+ em 6 pacientes, dos quais 4 pertenciam ao grupo da anfotericina B lipossomal e de 1+ em 1 paciente. Em 2 pacientes a imunomarcacão foi negativa (Tabela 18).

**Tabela 18: Distribuição percentual dos resultados da imunohistoquímica antes do tratamento em treze pacientes com leishmaniose tegumentar americana tratados com anfotericina B lipossomal\* (1,5mg/kg/dia) e N-metil glucamina\*\* (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| Pacientes | Marcadores celulares (%) |     |      |      |      |        |                 |
|-----------|--------------------------|-----|------|------|------|--------|-----------------|
|           | CD25                     | CD3 | CD15 | CD20 | CD68 | CTLA-4 | $\alpha$ -leish |
| 1         | N                        | 70  | N    | 20   | 30   | 20     | 2+              |
| 2         | N                        | 70  | N    | 10   | 100  | 40     | 2+              |
| 3         | N                        | 70  | N    | 20   | 100  | N      | 2+              |
| 4         | N                        | 60  | N    | 10   | 40   | N      | 4+              |
| 5         | 20                       | 40  | 20   | 10   | 40   | 10     | 4+              |
| 6         | N                        | 30  | N    | 20   | 60   | 10     | 2+              |
| 7         | N                        | 60  | N    | 20   | 40   | N      | 2+              |
| 8         | N                        | 70  | N    | 10   | 60   | 10     | 3+              |
| 9         | N                        | 40  | N    | 40   | 60   | 5      | 1+              |
| 10        | N                        | 70  | N    | N    | 20   | 20     | N               |
| 11        | N                        | 10  | N    | 60   | 20   | 20     | 3+              |
| 12        | N                        | 30  | N    | 5    | 70   | 10     | 2+              |
| 13        | N                        | N   | N    | N    | N    | N      | N               |

\*Grupo da anfotericina B lipossomal: do primeiro ao sexto paciente correspondendo aos pacientes Nos. 8, 9, 5, 13, 14 e 3 respectivamente dos Anexos I e III .

\*\*Grupo do N-metil glucamina: do sétimo ao décimo terceiro paciente correspondendo aos pacientes Nos. 6, 2, 13, 16, 1, 18 e 19 respectivamente dos Anexos II e IV.

N = negativo

Na avaliação dos resultados dos exames diagnósticos todos os 35 pacientes foram considerados portadores de leishmaniose tegumentar americana, já que a prova diagnóstica parasitológica, imunológica ou histopatológica seria alcançada com a

positividade de pelo menos dois dos métodos acima. A Figura 30 mostra a distribuição dos pacientes de acordo com o número de exames diagnósticos positivos em cada um deles.

### 6.3- AVALIAÇÃO TERAPÊUTICA

#### 6.3.1 - Resposta clínica

No estudo houve 77% de cura em até 90 dias após o tratamento, com falha em 23% e não houve recidiva (Figura 31). No grupo tratado com anfotericina B lipossomal, 8 (50%) pacientes curaram até 90 dias após o tratamento, ou seja, obtiveram cicatrização completa de suas lesões e 8 apresentaram falha terapêutica, caracterizada por não cicatrização completa das lesões no período de 90 dias. Enquanto no grupo controle houve 100% de cura clínica (Tabela 19 e Figura 32). Não houve recidiva em nenhum dos pacientes curados nos dois grupos num período de 1 ano de acompanhamento.

**Tabela 19 – Distribuição dos pacientes, de acordo com a resposta clínica ao tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | RESPOSTA CLÍNICA |       |          |       |
|---------------------------|------------------|-------|----------|-------|
|                           | Cura clínica     | Falha | Recidiva | TOTAL |
| Anfotericina B lipossomal | 8                | 8     | 0        | 16    |
| N-metil glucamina         | 19               | 0     | 0        | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 27               | 8     | 0        | 35    |

Inicialmente, quando foi realizado o cálculo do tamanho da amostra da população deste estudo esperava-se uma taxa de cura com anfotericina B lipossomal e N-metil glucamina de pelo menos 85%, com um erro padrão assumido de 5%. Ao se avaliar, em 2004, que a taxa de cura estava muito mais baixa do que o esperado (50%) com a anfotericina B lipossomal e bem superior com o N-metil glucamina (100%), com pouco



mais da metade da amostra proposta para cada grupo, a qual seria de 30 pacientes, o estudo foi interrompido. Refazendo os cálculos do tamanho da amostra, observou-se que com a amostra de 35 pacientes o erro padrão assumido é de 6%.

Portanto, calculando o Risco Relativo observa-se que a probabilidade de cura dos pacientes tratados com N-metil glucamina foi 2 vezes maior do que daqueles pacientes tratados com a anfotericina B lipossomal (RR = 2; IC95% [1,23 < RR < 3,26]; p-valor < 0,001).

### 6.3.2 – Avaliação do aspecto clínico das lesões ao término do tratamento, após 30 e 90 dias do final do tratamento

Ao final do tratamento foi observado que 4 (21%) pacientes do grupo controle tiveram suas lesões completamente cicatrizadas enquanto no grupo da anfotericina B lipossomal nenhuma lesão cicatrizou por completo no mesmo período, mas 8 (50%) apresentavam sinais de regressão em relação à 9 (47%) do grupo tratado com N-metil glucamina. Oito 8 (50%) pacientes do grupo de estudo e 6 (32%) do grupo controle apresentavam lesões ativas ao término do tratamento (Tabela 20 e Figura 33).

**Tabela 20 - Distribuição dos pacientes, de acordo com o aspecto clínico das lesões, ao término do tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia ) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | ASPECTOS CLÍNICOS DAS LESÕES POR PACIENTE |                       |                   |       |
|---------------------------|-------------------------------------------|-----------------------|-------------------|-------|
|                           | Lesão ativa                               | Lesão em cicatrização | Lesão cicatrizada | TOTAL |
| Anfotericina B Lipossomal | 8                                         | 8                     | 0                 | 16    |
| N-metil Glucamina         | 6                                         | 9                     | 4                 | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 14                                        | 17                    | 4                 | 35    |

Em até 30 dias, 13 (68%) pacientes tratados com N-metil-glucamina já tinham suas lesões completamente cicatrizadas enquanto no grupo de anfotericina B lipossomal apenas 3 (19%) pacientes apresentavam o mesmo aspecto clínico. Em cicatrização, 10 (63%) pacientes do grupo de estudo e 5 (26%) do grupo controle e lesões ativas em 3

(19%) pacientes do grupo de estudo e em 1 (5%) do grupo controle. (Tabela 21 e Figura 34).

**Tabela 21 - Distribuição dos pacientes, de acordo com o aspecto clínico das lesões, trinta dias após tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | ASPECTOS CLÍNICOS DAS LESÕES POR PACIENTE |                       |                   |       |
|---------------------------|-------------------------------------------|-----------------------|-------------------|-------|
|                           | Lesão ativa                               | Lesão em cicatrização | Lesão cicatrizada | TOTAL |
| Anfotericina B lipossomal | 3                                         | 10                    | 3                 | 16    |
| N-metil Glucamina         | 1                                         | 5                     | 13                | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 4                                         | 15                    | 16                | 35    |

Noventa dias após o tratamento, 8 (50%) pacientes tinham cicatrizado completamente suas lesões no grupo de estudo contra 19 (100%), no grupo controle. Evidenciando uma diferença bem significativa. Apesar de se observar que 5 (31%) pacientes do grupo tratado com anfotericina B lipossomal estavam em processo de cicatrização (Tabela 22 e Figura 35). Todos os pacientes do grupo de estudo que não tiveram suas lesões completamente cicatrizadas no período de 90 dias, foram tratados com N-metil glucamina por 20 dias e curaram.

**Tabela 22 - Distribuição dos pacientes, de acordo com os aspectos clínicos das lesões, noventa dias após o tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | ASPECTOS CLÍNICOS DAS LESÕES POR PACIENTE |                       |                   |       |
|---------------------------|-------------------------------------------|-----------------------|-------------------|-------|
|                           | Lesão ativa                               | Lesão em cicatrização | Lesão cicatrizada | TOTAL |
| Anfotericina B lipossomal | 3                                         | 5                     | 8                 | 16    |
| N-metil Glucamina         | 0                                         | 0                     | 19                | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 3                                         | 5                     | 27                | 35    |

Testou-se a homogeneidade das distribuições dos pacientes em relação ao aspecto clínico das lesões ao término, com 30 dias e com 90 dias e foi obtido o P-valor de 0,0069 para o grupo tratado com anfotericina B lipossomal e P-valor menor que 0,0001 para o grupo do N-metil glucamina, constatando que em ambos os grupos os pacientes tenderam a cicatrização das lesões, comprovando a ação das duas medicações, tendo sido o N-metil glucamina mais eficaz que a anfotericina B lipossomal nas doses usadas respectivamente.

### 6.3.3 – Resposta clínica de acordo com o tempo de evolução das lesões

No grupo tratado com a anfotericina B lipossomal, dos 13 pacientes com tempo de evolução das lesões de até 6 meses, 3 (23%) pacientes curaram com até 30 dias, 1 (8%) curou entre 31 e 60 dias, 2 (15%) curaram entre 61 e 90 dias e 7(54%) não curaram (Tabela 23 e Figura 36). Ou seja, 46,13% dos pacientes com até 6 meses de evolução curaram. Dos 3 pacientes com lesões com mais de 6 meses de evolução, 1 paciente curou entre 31 e 60 dias, outro curou entre 61 e 90 dias e 1 não curou (Tabela 23).

**Tabela 23 - Distribuição dos pacientes, de acordo com a resposta clínica e o tempo de evolução das lesões, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| Resposta clínica (dias) | TRATAMENTO COM ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL |           | TOTAL |
|-------------------------|------------------------------------------|-----------|-------|
|                         | Tempo de evolução das lesões (meses)     |           |       |
|                         | Até 6 meses                              | > 6 meses |       |
| Cura ao término         | 0                                        | 0         | 0     |
| Cura em até 30 dias     | 3                                        | 0         | 3     |
| Cura entre 31 e 60 dias | 1                                        | 1         | 2     |
| Cura entre 61 e 90 dias | 2                                        | 1         | 3     |
| Falha                   | 7                                        | 1         | 8     |
| Recidiva                | 0                                        | 0         | 0     |
| <b>TOTAL</b>            | 13                                       | 3         | 16    |

No grupo controle, todos os 19 pacientes obtiveram cura em até 90 dias, sendo que 13 (68,42%) pacientes tinham até 6 meses de evolução das lesões e 6 (31,57%) outros tinham mais de 6 meses de evolução. Dos pacientes com até 6 meses de evolução das lesões, 3 (23%) curaram ao término, 6 (46%) curaram em até 30 dias, 1(8%) entre 31 e 60 dias e 3 (23%) curaram entre 61 e 90 dias (Tabela 24 e Figura 37). Portanto, a maioria dos pacientes (69%) com até 6 meses de evolução curaram no período de 30 dias. Dos 6 pacientes com mais de 6 meses de evolução, 1 curou ao término, 3 curaram em até 30 dias 1 curou entre 31 e 60 dias e outro curou entre 61 e 90 dias (Tabela 24). Não houve recidiva em nenhum caso no período de 1 ano de acompanhamento.

**Tabela 24 - Distribuição dos pacientes, de acordo com a resposta clínica e o tempo de evolução das lesões, no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| <b>TRATAMENTO COM N-METIL GLUCAMINA</b> |                                      |           |              |
|-----------------------------------------|--------------------------------------|-----------|--------------|
| Resposta clínica (dias)                 | Tempo de evolução das lesões (meses) |           |              |
|                                         | Até 6 meses                          | > 6 meses | <b>TOTAL</b> |
| Cura ao término                         | 3                                    | 1         | 4            |
| Cura até 30 dias                        | 6                                    | 3         | 9            |
| Cura entre 31 e 60 dias                 | 1                                    | 1         | 2            |
| Cura entre 61 e 90 dias                 | 3                                    | 1         | 4            |
| Falha                                   | 0                                    | 0         | 0            |
| Recidiva                                | 0                                    | 0         | 0            |
| <b>TOTAL</b>                            | 13                                   | 6         | 19           |

Comparando estatisticamente os dois grupos em relação ao tempo de evolução das lesões, observou-se que nos pacientes com evolução das lesões de até 6 meses, os tratados com N-metil glucamina tiveram 2,17 vezes mais probabilidade de se curarem do que os tratados com anfotericina B lipossomal (RR = 2,17; IC 95% [1,20 – 3,90]; p-valor = 0,0006). Com relação aos pacientes com evolução de mais de 6 meses, os tratados com N-metil glucamina tiveram 1,5 vez mais probabilidade de se curarem , porém esta diferença não foi estatisticamente significativa (RR = 1,5; IC 95% [0,67-

3,34]; p-valor = 0,3), já que o p-valor foi maior que 0,05. Provavelmente, devido ao pequeno número de casos.

#### 6.3.4 – Resposta clínica de acordo com o número de lesões

No grupo de estudo 10 (62%) pacientes apresentavam apenas uma lesão enquanto 6 (38%) pacientes tinham mais de uma lesão. Dos 10 pacientes, 3 (30%) curaram com até 30 dias do início do tratamento, 1 (10%) em até 60 dias e outros 2 (20%) em até 90 dias e 4 (40%) pacientes não curaram (Tabela 25 e Figura 38). Não houve cura clínica ao término do tratamento em nenhum paciente. Dos pacientes com mais de uma lesão, 1 (17%) curou em até 60 dias e outro (17%) em até 90 dias e 4 (67%) dos 6 pacientes não curaram (Tabela 25 e Figura 38).

**Tabela 25 - Distribuição dos pacientes, de acordo com a resposta clínica e o número de lesões, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| <b>TRATAMENTO COM ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL</b> |                               |                       |              |
|-------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|--------------|
| Resposta clínica (dias)                         | Número de lesões por paciente |                       |              |
|                                                 | Com uma lesão                 | Com mais de uma lesão | <b>TOTAL</b> |
| Cura ao término                                 | 0                             | 0                     | 0            |
| Cura até 30 dias                                | 3                             | 0                     | 3            |
| Cura com 31 à 60 dias                           | 1                             | 1                     | 2            |
| Cura com 61 à 90 dias                           | 2                             | 1                     | 3            |
| Falha                                           | 4                             | 4                     | 8            |
| Recidiva                                        | 0                             | 0                     | 0            |
| <b>TOTAL</b>                                    | 10                            | 6                     | 16           |

No grupo controle, 8 (42%) pacientes apresentavam uma lesão e 11 (58%) tinham mais de uma lesão. Dos pacientes com uma lesão 3 (38%) curaram ao término do tratamento, 4 (50%) curaram em até 30 dias e 1 (13%) em até 90 dias (Tabela 26 e Figura 39). Dos 11 pacientes com mais de uma lesão 1 (9%) curou ao término do tratamento, 5 (45%)

em até 30 dias, 2 (18%) em até 60 dias e 3 (27%) em até 90 dias. Não houve falha ou recidiva neste grupo (Tabela 26 e Figura 39).

**Tabela 26 - Distribuição dos pacientes, de acordo com a resposta clínica e o número de lesões, no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| <b>TRATAMENTO COM N-METIL GLUCAMINA</b> |                               |                       |              |
|-----------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|--------------|
| Resposta clínica (dias)                 | Número de lesões por paciente |                       |              |
|                                         | Com uma lesão                 | Com mais de uma lesão | <b>TOTAL</b> |
| Cura ao término                         | 3                             | 1                     | 4            |
| Cura até 30 dias                        | 4                             | 5                     | 9            |
| Cura de 31 à 60 dias                    | 0                             | 2                     | 2            |
| Cura com 61 à 90 dias                   | 1                             | 3                     | 4            |
| Falha                                   | 0                             | 0                     | 0            |
| Recidiva                                | 0                             | 0                     | 0            |
| <b>TOTAL</b>                            | <b>8</b>                      | <b>11</b>             | <b>19</b>    |

Quanto ao número de lesões, a probabilidade de cura dos pacientes com 1 lesão no grupo tratado com N-metil glucamina foi 1,66 vez maior do que no tratado com anfotericina B lipossomal (RR = 1,66; IC 95% [1,05 - 2,76]; p-valor = 0,009). E nos pacientes com mais de 1 lesão, a probabilidade de cura no grupo do N-metil glucamina foi de 3 vezes em relação ao grupo da anfotericina B lipossomal (RR = 3,00; IC 95% [0,96- 9,30]; p-valor = 0,063), porém esta diferença não foi estatisticamente significativa. Atribui-se a esta não significância o pequeno tamanho da amostra testada.

### **6.3.5 – Resposta clínica das lesões de acordo com suas localizações topográficas**

No grupo de estudo foram observadas 13 (59 %) lesões nos membros inferiores, sendo que 1 (8%) cicatrizou completamente em 30 dias, 3 (23%) cicatrizaram entre 31 a 60 dias, outras 3 (23%) entre 61 e 90 dias. A não cicatrização (falha) ocorreu em 6 (46%).

Das 6 (28,57%) lesões observadas em membros superiores, 1 (17%) cicatrizou em 30 dias, 1 (17%) entre 61 e 90 dias e 4 (67%) não cicatrizaram. Foram observadas 2 (9,52%) lesões no segmento cefálico, 1 (50%) curou em 30 dias e outra (50%) entre 61 e 90 dias. A única (4,76%) lesão observada em tronco não cicatrizou (Tabela 27 e Figura 40).

**Tabela 27 - Distribuição das lesões de acordo com suas localizações topográficas e resposta clínica no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5 mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| <b>TRATAMENTO COM ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL</b> |                        |                    |        |        |              |
|-------------------------------------------------|------------------------|--------------------|--------|--------|--------------|
| Resposta clínica (dias)                         | Localização das lesões |                    |        |        | <b>TOTAL</b> |
|                                                 | Membros inferiores     | Membros superiores | Cabeça | Tronco |              |
| Cura ao término                                 | 0                      | 0                  | 0      | 0      | 0            |
| Cura em 30 dias                                 | 1                      | 1                  | 1      | 0      | 3            |
| Cura entre 31 e 60 dias                         | 3                      | 0                  | 0      | 0      | 3            |
| Cura entre 61 e 90 dias                         | 3                      | 1                  | 1      | 0      | 5            |
| Falha                                           | 6                      | 4                  | 0      | 1      | 11           |
| Recidiva                                        | 0                      | 0                  | 0      | 0      | 0            |
| <b>TOTAL</b>                                    | 13                     | 6                  | 2      | 1      | 22           |

No grupo tratado com N-metil glucamina foram observadas 16 lesões nos membros inferiores, 1(6%) com cicatrização completa ao término do tratamento, 5 (31%) com cicatrização em 30 dias, outras 5 (31%) com cura entre 31 a 60 dias e 5 (31%) com cura entre 61 e 90 dias. Nos membros superiores foram observadas 15 lesões das quais 9 (60%) cicatrizaram em até 30 dias e 6 (40%) curaram entre 61 e 90 dias. Das 8 lesões observadas na cabeça, 3 (38%) curaram ao término do tratamento, 1 (13%) em 30 dias, 3 (38%) entre 31 e 60 dias e 1 (13%) entre 61 e 90 dias. Em tronco foram observadas 5 lesões, 1 (20%) curou ao término do tratamento, 1(20%) em 30 dias e 3(60%) entre 61 e 90 dias (Tabela 28 e Figura 41).

**Tabela 28 - Distribuição das lesões, de acordo com suas localizações topográficas e resposta clínica, no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| <b>TRATAMENTO COM N-METIL GLUCAMINA</b> |                        |                    |        |        |              |
|-----------------------------------------|------------------------|--------------------|--------|--------|--------------|
| Resposta clínica (dias)                 | Localização das lesões |                    |        |        |              |
|                                         | Membros inferiores     | Membros superiores | Cabeça | Tronco | <b>TOTAL</b> |
| Cura ao término                         | 1                      | 0                  | 3      | 1      | 5            |
| Cura em 30 dias                         | 5                      | 9                  | 1      | 1      | 16           |
| Cura entre 31 e 60 dias                 | 5                      | 0                  | 3      | 0      | 8            |
| Cura entre 61 e 90 dias                 | 5                      | 6                  | 1      | 3      | 15           |
| Falha                                   | 0                      | 0                  | 0      | 0      | 0            |
| Recidiva                                | 0                      | 0                  | 0      | 0      | 0            |
| <b>TOTAL</b>                            | 16                     | 15                 | 8      | 5      | 44           |

Calculou-se o Risco Relativo (RR = 1,80; IC95% [1,01- 3,22]; p-valor = 0,00824) em relação a topografia anatômica mais afetada no estudo e concluiu-se que a probabilidade de cura nos pacientes com lesões nos membros inferiores do grupo tratado com N-metil glucamina era 1,80 vez maior do que no grupo tratado com anfotericina B lipossomal. Houve diferença significativa, já que o p-valor foi de 0,00824.

### **6.3.6 – Resposta clínica das lesões de acordo com seus diâmetros**

No grupo tratado com anfotericina B lipossomal foram observadas 6 lesões com diâmetro de até 2 cm, sendo que 3 (50%) não curaram, 2 (33%) curaram em 30 dias e 1 (17%) curou entre 31 e 60 dias. Outras 10 lesões com diâmetro entre 2,1 e 4 cm, sendo que 5 (50%) lesões não curaram, 3 (20%) curaram no período entre 61 e 90 dias e 2 (30%) entre 31 e 60 dias. Ainda no grupo de estudo, 6 lesões tinham diâmetro entre 4,1 e 6 cm, com 4 (67%) lesões que não curaram, 1 (17%) curou com 30 dias e outra (17%) no período de 61 a 90 dias (Tabela 29 e Figura 42).



**Tabela 29 - Distribuição das lesões, de acordo com seus diâmetros e resposta clínica, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5 mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| <b>TRATAMENTO COM ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL</b> |                          |           |           |           |              |
|-------------------------------------------------|--------------------------|-----------|-----------|-----------|--------------|
| Resposta clínica (dias)                         | Diâmetro das lesões (cm) |           |           |           | <b>TOTAL</b> |
|                                                 | Até 2                    | 2,1 até 4 | 4,1 até 6 | 6,1 até 8 |              |
| Cura ao término                                 | 0                        | 0         | 0         | 0         | 0            |
| Cura em 30 dias                                 | 2                        | 0         | 1         | 0         | 3            |
| Cura entre 31 e 60 dias                         | 1                        | 2         | 0         | 0         | 3            |
| Cura entre 61 e 90 dias                         | 0                        | 3         | 1         | 0         | 4            |
| Falha                                           | 3                        | 5         | 4         | 0         | 12           |
| Recidiva                                        | 0                        | 0         | 0         | 0         | 0            |
| <b>TOTAL</b>                                    | 6                        | 10        | 6         | 0         | 22           |

No grupo tratado com N-metil glucamina foram observadas 21 lesões de até 2 cm de diâmetro, sendo que 7 (33%) cicatrizaram entre 31 e 60 dias e outras 7 (33%) entre 61 e 90 dias, 6 (29%) curaram com 30 dias e 1 (5%) cicatrizou completamente ao término do tratamento. Treze lesões tinham diâmetros entre 2,1 e 4 cm, sendo que 6 (46%) curaram entre 61 e 90 dias, 4 (31%) curaram com 30 dias e 3 (23%) curaram ao término do tratamento. Oito lesões tinham diâmetros entre 4,1 até 6 cm, com cicatrização de 5 (63%) lesões no período de 30 dias, 2 (25%) entre 61 e 90 dias e 1 (13%) entre 31 e 60 dias. Duas lesões tinham diâmetro entre 6,1 até 8 cm, sendo que 1 (50%) curou ao término e outra (50%) com 30 dias após o tratamento (Tabela 30 e Figura 43).

**Tabela 30 - Distribuição das lesões de acordo com seus diâmetros e resposta clínica no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/ kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| <b>TRATAMENTO COM N-METIL GLUCAMINA</b> |                          |           |           |           |              |
|-----------------------------------------|--------------------------|-----------|-----------|-----------|--------------|
| Resposta clínica (dias)                 | Diâmetro das lesões (cm) |           |           |           | <b>TOTAL</b> |
|                                         | Até 2                    | 2,1 até 4 | 4,1 até 6 | 6,1 até 8 |              |
| Cura ao término                         | 1                        | 3         | 0         | 1         | 5            |
| Cura em 30 dias                         | 6                        | 4         | 5         | 1         | 16           |
| Cura entre 31 à 60 dias                 | 7                        | 0         | 1         | 0         | 8            |
| Cura entre 61 à 90 dias                 | 7                        | 6         | 2         | 0         | 15           |
| Falha                                   | 0                        | 0         | 0         | 0         | 0            |
| Recidiva                                | 0                        | 0         | 0         | 0         | 0            |
| <b>TOTAL</b>                            | 21                       | 13        | 8         | 2         | 44           |

Foi calculado o Risco Relativo (RR = 2,66; IC95% [1,09- 6,52]; p-valor = 0,0048) em relação aos diâmetros das lesões mais frequentes no estudo, que foram entre 2,1 e 4 cm. Concluiu-se que a probabilidade de cura nos pacientes com lesões entre 2,1 a 4 cm no grupo tratado com N-metil glucamina foi 2,66 vezes maior do que no grupo tratado com anfotericina B lipossomal. Portanto, houve diferença significativa, já que o p-valor obtido foi muito menor que 0,05.

### **6.3.7 – Resposta clínica de acordo com a espécie e subgênero da *Leishmania***

Quanto à espécie e ao subgênero da *Leishmania*, foram identificadas no grupo de estudo *Leishmania (Viannia) braziliensis* nas amostras de 6 pacientes, dos quais 4 (66%) não curaram, 1 (17%) curou entre 31 a 60 dias e outro (17%) curou entre 61 e 90 dias. Ainda no grupo de estudo, na amostra de 1 paciente foi identificada *Leishmania* do subgênero *Viannia*, o qual curou entre 31 e 60 dias. Nas amostras de 3 pacientes, dos quais 2 (67%) curaram com 30 dias e 1 (33%) não curou, foram identificadas *Leishmania*

(*Leishmania*) *amazonensis*. E um caso com características de *Leishmania* (*Viannia*) *shawi* que curou entre 61 e 90 dias (Tabela 31 e Figura 44).

**Tabela 31 - Distribuição dos pacientes, de acordo com a resposta clínica e a espécie/ subgênero de *Leishmania*, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5 mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| TRATAMENTO COM ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL |                     |                |              |              |       |
|------------------------------------------|---------------------|----------------|--------------|--------------|-------|
| Resposta clínica (dias)                  | Espécie e subgênero |                |              |              | TOTAL |
|                                          | <i>L(V)b</i>        | <i>Viannia</i> | <i>L(L)a</i> | <i>L(V)s</i> |       |
| Cura ao término                          | 0                   | 0              | 0            | 0            | 0     |
| Cura em 30 dias                          | 0                   | 0              | 2            | 0            | 2     |
| Cura entre 31 e 60 dias                  | 1                   | 1              | 0            | 0            | 2     |
| Cura entre 61 e 90 dias                  | 1                   | 0              | 0            | 1            | 2     |
| Falha                                    | 4                   | 0              | 1            | 0            | 5     |
| Recidiva                                 | 0                   | 0              | 0            | 0            | 0     |
| <b>TOTAL</b>                             | 6                   | 1              | 3            | 1            | 11    |

No grupo controle, as amostras de 10 pacientes foram identificadas como *L(V)b*, das quais 3 pacientes curaram ao término do tratamento, 3 curaram em até 30 dias, 1 curou entre 31 e 60 dias e 3 curaram entre 61 e 90 dias. Nenhuma outra espécie foi identificada no grupo controle (Tabela 32 e Figura 45).

**Tabela 32 - Distribuição dos pacientes, de acordo com a resposta clínica e a espécie/ subgênero de *Leishmania*, no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/ kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| <b>TRATAMENTO COM N-METIL GLUCAMINA</b> |                     |              |
|-----------------------------------------|---------------------|--------------|
| Resposta clínica (dias)                 | Espécie e subgênero |              |
|                                         | <i>L(V)b</i>        | <b>TOTAL</b> |
| Cura ao término                         | 3                   | 3            |
| Cura em 30 dias                         | 3                   | 3            |
| Cura entre 31 e 60 dias                 | 1                   | 1            |
| Cura entre 61 e 90 dias                 | 3                   | 3            |
| Falha                                   | 0                   | 0            |
| Recidiva                                | 0                   | 0            |
| <b>TOTAL</b>                            | 10                  | 10           |

### 6.3.8 - Eventos adversos e alterações laboratoriais

Quanto aos eventos adversos, apenas 1(6%) paciente dos 16 tratados com anfotericina B lipossomal queixou-se de dor lombar, que cessou com a diminuição da velocidade de infusão da medicação. Dos pacientes tratados com N-metil glucamina, a maioria apresentou algum efeito colateral. Dos 13 (68,42%) pacientes que queixaram-se de algum paraefeito, ocorreram 8 queixas de mialgia, 4 de artralgia, 1 de taquicardia, 1 de cefaléia. Um paciente apresentou nas primeiras 24 horas de tratamento uma exacerbação das lesões (reação de J.Hexheimer). Um paciente queixou-se de gosto amargo durante o tratamento (Tabela 33 e Figura 46). Portanto, apenas 6 (31,57%) pacientes do grupo tratado com N-metil glucamina não apresentaram eventos adversos comparado a 15 (93,75%) pacientes do grupo em estudo.

De acordo com o resultado do teste de Mann Whitney ( $p < 0,0001$ ), há evidências de que o grupo tratado com N-metil glucamina apresenta maior número de eventos adversos do que o grupo tratado com anfotericina B lipossomal. Analisando o Risco Relativo (RR = 2,97; IC95%[1,51-5,82]; p-valor <0,001) observou-se que a probabilidade de eventos adversos nos pacientes tratados com N-metil glucamina era 2,97 vezes maior que nos tratados com anfotericina B lipossomal. Como o p-valor foi menor que 0,05 houve diferença significativa.

**Tabela 33 - Distribuição dos eventos adversos nos pacientes com leishmaniose tegumentar americana durante o tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                       | EVENTOS ADVERSOS |                |                  |               |                |           |                 | TOTAL |
|------------------------------|------------------|----------------|------------------|---------------|----------------|-----------|-----------------|-------|
|                              | Mial-<br>gia     | Artral-<br>gia | Taqui-<br>cardia | Cefa-<br>léia | Lombal-<br>gia | Hexheimer | Gosto<br>Amargo |       |
| Anfotericina<br>B lipossomal | 0                | 0              | 0                | 0             | 1              | 0         | 0               | 1     |
| N-metil<br>glucamina         | 8                | 4              | 1                | 1             | 0              | 1         | 1               | 16    |
| <b>TOTAL</b>                 | 8                | 4              | 1                | 1             | 1              | 1         | 1               | 17    |

Foram realizados exames de laboratório pré, durante e pós-tratamento imediato. As alterações observadas na Tabela 34, ocorreram no final do tratamento e não exigiram suspensão do mesmo, em nenhum caso, nos dois grupos. Os exames foram repetidos 30 dias depois do tratamento nos pacientes que apresentaram alguma alteração e os valores tinham retornado ao normal. No grupo em estudo foi observado elevação da creatinina em apenas 1 (6,25%) paciente. Não ocorreu nenhuma outra alteração laboratorial naquele grupo.

Quanto ao grupo controle, foram observadas alterações em exames laboratoriais de 8 (42,10%) pacientes, sendo 3 (33%) casos de elevação da creatinina, 1 (11%) caso de

aumento da uréia, outro (11%) de bilirrubinas, outro (11%) de transaminases. Um caso (11%) de elevação da fosfatase alcalina e outro (11%) de amilase (Figura 47).

Quanto ao eletrocardiograma, não foi observada nenhuma alteração em nenhum dos pacientes do grupo tratado com anfotericina B lipossomal, e foram observadas extrassístoles em 1 paciente tratado com N-metil glucamina.

**Tabela 34 - Distribuição das alterações dos exames laboratoriais nos pacientes com leishmaniose tegumentar americana durante o tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | ALTERAÇÕES LABORATORIAIS (elevação das escórias) |       |              |               |     |         |       |
|---------------------------|--------------------------------------------------|-------|--------------|---------------|-----|---------|-------|
|                           | Creatinina                                       | Uréia | Bilirrubinas | Transaminases | FAL | Amilase | TOTAL |
| Anfotericina B lipossomal | 1                                                | 0     | 0            | 0             | 0   | 0       | 1     |
| N-metil Glucamina         | 3                                                | 1     | 1            | 1             | 1   | 1       | 8     |
| <b>TOTAL</b>              | 4                                                | 1     | 1            | 1             | 1   | 1       | 9     |

FAL = fosfatase alcalina

De acordo com o resultado do teste de Mann Whitney ( $p < 0,0091$ ), há evidências de que o grupo tratado com N-metil glucamina apresenta maior número de alterações laboratoriais do que o grupo tratado com anfotericina B lipossomal. Analisando o Risco Relativo (RR = 1,61; IC95% [1,08- 2,42]; p-valor = 0,0221) observou-se que a probabilidade de alterações laboratoriais no grupo tratado com N-metil glucamina era 1,61 vez maior do que no grupo tratado com anfotericina B lipossomal. Portanto, houve diferença significativa, já que o p-valor foi menor que 0,05.

## 6.4 - AVALIAÇÃO IMUNOLÓGICA

### 6.4.1 - Imunofluorescência indireta após o tratamento

A imunofluorescência indireta (IFI) foi realizada também 3 meses após o tratamento. Observou-se que 21 (60%) pacientes tiveram a IFI negativa e 10 (28%) positiva (Figura 48). No grupo tratado com anfotericina B lipossomal 8 (50%) pacientes tiveram resultados positivos, sendo IFI de 1:40 em 5 (31%) pacientes e 1:80 em 3 (19%) pacientes. A IFI foi negativa em 6 (38%) pacientes, baixa (1:20) em 1 (6%) paciente e não foi realizada em outro (6%) paciente neste grupo.

Já no grupo tratado com N-metil glucamina 15 (79%) pacientes tiveram IFI negativa, 2 (11%) pacientes tiveram positiva (1:80) e 2 (11%) tiveram títulos abaixo do limite considerado (1:20) (Tabela 35 e Figura 49).

**Tabela 35 - Distribuição dos resultados da imunofluorescência indireta (IFI) dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana três meses após o tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| GRUPOS                    | IFI 3 MESES PÓS-TRATAMENTO |      |      |      |    | TOTAL |
|---------------------------|----------------------------|------|------|------|----|-------|
|                           | Negativa                   | 1:20 | 1:40 | 1:80 | NR |       |
| Anfotericina B lipossomal | 6                          | 1    | 5    | 3    | 1  | 16    |
| N-metil Glucamina         | 15                         | 2    | 0    | 2    | 0  | 19    |
| <b>TOTAL</b>              | 21                         | 3    | 5    | 5    | 1  | 35    |

IFI = imunofluorescência indireta

#### **6.4.2 - Imunohistoquímica após o tratamento**

Após 30 dias do tratamento, a marcação fenotípica em doze dos treze pacientes, nos quais a imunohistoquímica foi realizada, se distribuiu da seguinte forma:

O CD25 foi negativo em 7 (58%) pacientes e positivo em 5 pacientes, dos quais 2 tinham sido tratados com anfotericina B lipossomal. Com positividade de 10% em 2 pacientes, de 20% em 1 paciente e de 5% em outro.

O CD3 foi positivo em 11 (91%) pacientes e negativo em 1. Sendo entre 70% e 60% em 5 pacientes, dos quais 4 tinham sido tratados com N-metil glucamina. Foi 50% em 1 paciente, de 40% em 3 pacientes, os quais tinham sido tratados com anfotericina B lipossomal, e de 30% em outros 2 pacientes.

O CD15 foi negativo em 11 (91%) pacientes e positivo em 1 paciente tratado com anfotericina B lipossomal, sendo a intensidade da imunomarcção de 10%.

O CD20 foi positivo em 10 (83%) pacientes, sendo de 50,40 e 30% em 3 pacientes respectivamente, de 20% em outros 3 pacientes e de 10% em 4 pacientes. Foi negativo em 2 pacientes tratados com N-metil glucamina.

O CD68 foi positivo em 11 (91%) pacientes, sendo de 70 e 60% em 2 pacientes respectivamente e de 40% em 3 pacientes. Todos os cinco pacientes tinham sido tratados com anfotericina B lipossomal. A intensidade de expressão da imunomarcção do CD68 foi ainda de 30% em mais 2 pacientes, de 20% em 1 paciente e 10% em outros 2, os quais tinham sido tratados com N-metil glucamina.

Quanto ao CTLA-4, foi negativo em 6 pacientes, dos quais 4 tinham sido tratados com N-metil glucamina e estes eram positivos no pré-tratamento. A intensidade da imunomarcção do CTLA-4 nos outros 6 pacientes foi distribuída da seguinte forma: de 40 e 30% em 2 pacientes respectivamente, de 20% em outros 2, de 10% em 1 paciente e menos que 5 % em outro.



O  $\alpha$ -leish, 30 dias após o tratamento, marcou parasitos em 9 (75%) pacientes e foi negativo em 3. Sendo que a intensidade da imunomarcção foi de 3+ em 3 pacientes, dos quais 2 tinham sido tratados com anfotericina B lipossomal, de 2+ em outros 3 e de 1+ em 3 pacientes (Tabela 36).

**Tabela 36: Distribuição percentual dos resultados da imunohistoquímica trinta dias após o tratamento em doze pacientes com leishmaniose tegumentar americana tratados com anfotericina B lipossomal\* (1,5mg/kg/dia ) e N-metil glucamina\*\* (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

| Pacientes | Marcadores celulares (%) |     |      |      |      |        |                 |
|-----------|--------------------------|-----|------|------|------|--------|-----------------|
|           | CD25                     | CD3 | CD15 | CD20 | CD68 | CTLA-4 | $\alpha$ -leish |
| 1         | N                        | 40  | N    | 20   | 40   | N      | 1+              |
| 2         | 10                       | 60  | N    | 40   | 40   | 20     | 3+              |
| 3         | NR                       | NR  | NR   | NR   | NR   | NR     | NR              |
| 4         | 20                       | 30  | N    | 10   | 40   | 30     | 1+              |
| 5         | N                        | 40  | 10   | 10   | 60   | 40     | 3+              |
| 6         | N                        | 40  | N    | 20   | 70   | N      | 2+              |
| 7         | < 10                     | 70  | N    | 10   | 20   | <5     | N               |
| 8         | N                        | 50  | N    | 10   | 30   | N      | 2+              |
| 9         | N                        | 30  | N    | 50   | 30   | 10     | N               |
| 10        | N                        | 60  | N    | 20   | 20   | 20     | 1+              |
| 11        | N                        | N   | N    | N    | N    | N      | N               |
| 12        | 5                        | 60  | N    | 30   | 10   | N      | 3+              |
| 13        | 30                       | 60  | N    | N    | 10   | N      | 2+              |

\*Grupo da anfotericina B lipossomal: do primeiro ao sexto paciente correspondendo aos pacientes Nos. 8, 9, 5, 13, 14 e 3 respectivamente dos Anexos I e III .

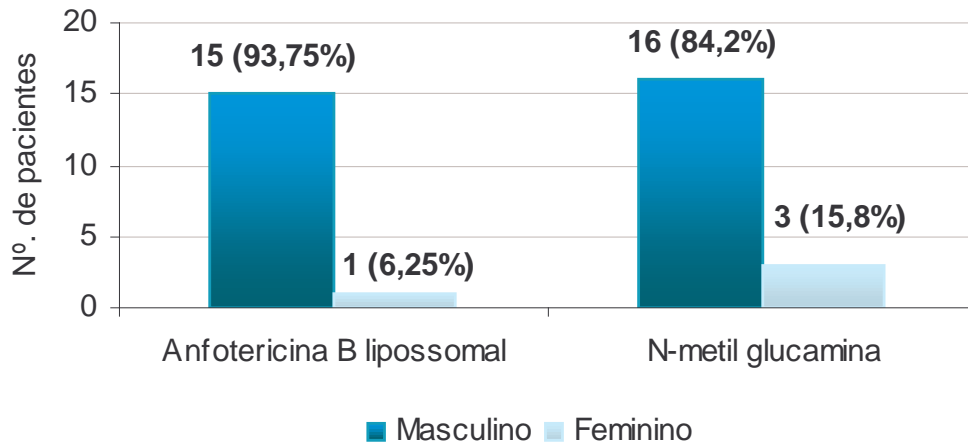
\*\*Grupo do N-metil glucamina: do sétimo ao décimo terceiro paciente correspondendo aos pacientes Nos. 6, 2, 13, 16, 1, 18 e 19 respectivamente dos Anexos II e IV.

N = negativo

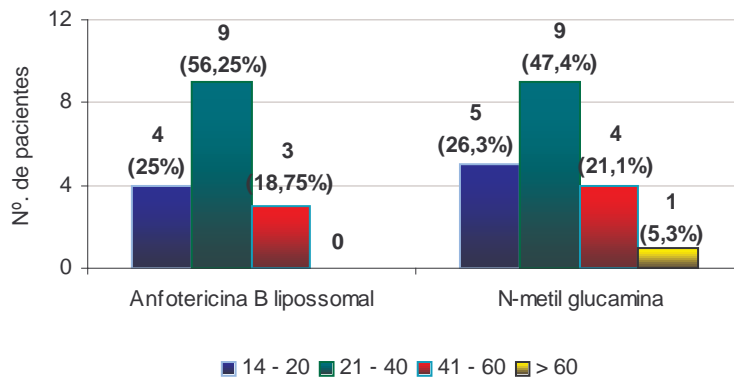
NR = não realizado

### **6.5 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO FÁRMACO**

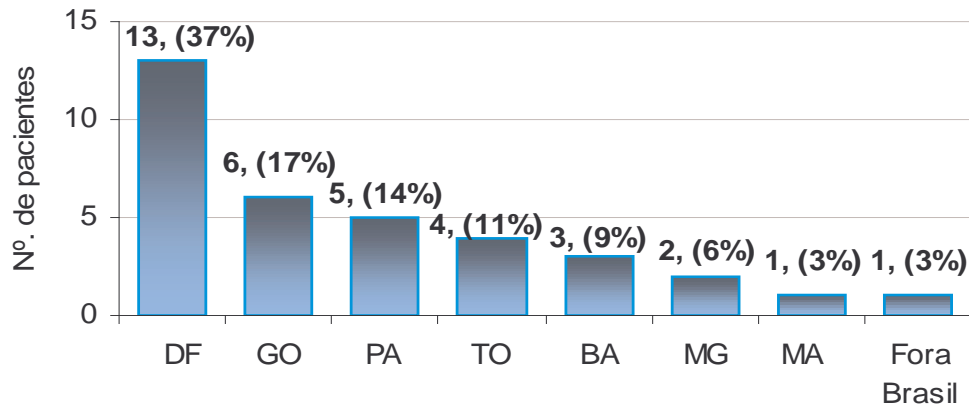
Dez amostras de N-metil glucamina foram analisadas quanto a osmolaridade e ao pH. A osmolaridade variou de 892 a 915 mOsm, com a média de 907,9, e o pH oscilou de 6,48 a 6,6 (com uma média de 6,5). Estes valores foram considerados normais.



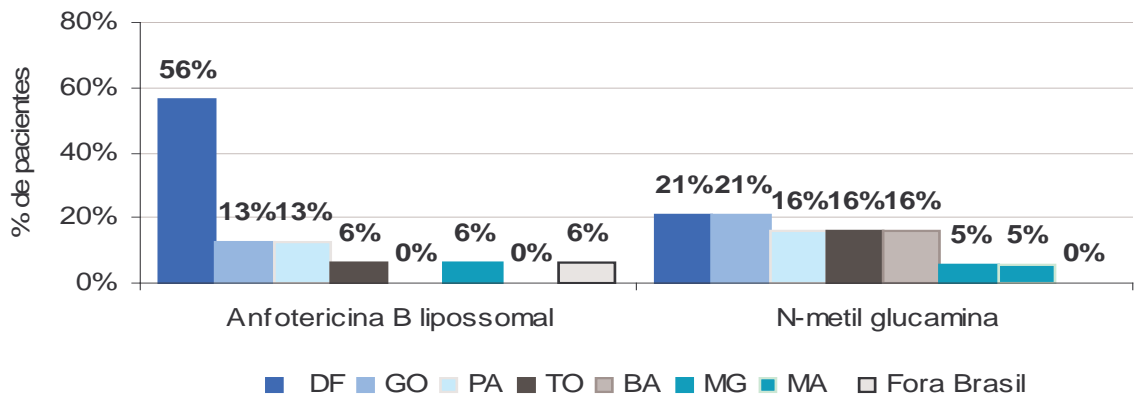
**Figura 1:** Frequência absoluta e relativa dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com o gênero, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



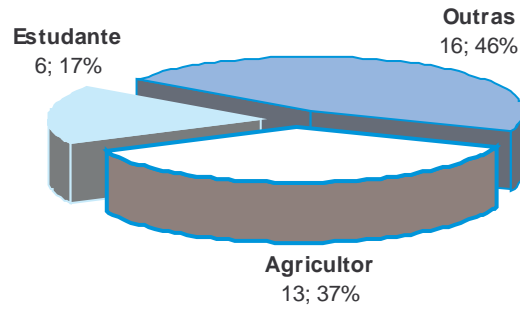
**Figura 2:** Frequência absoluta e relativa dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a faixa etária, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



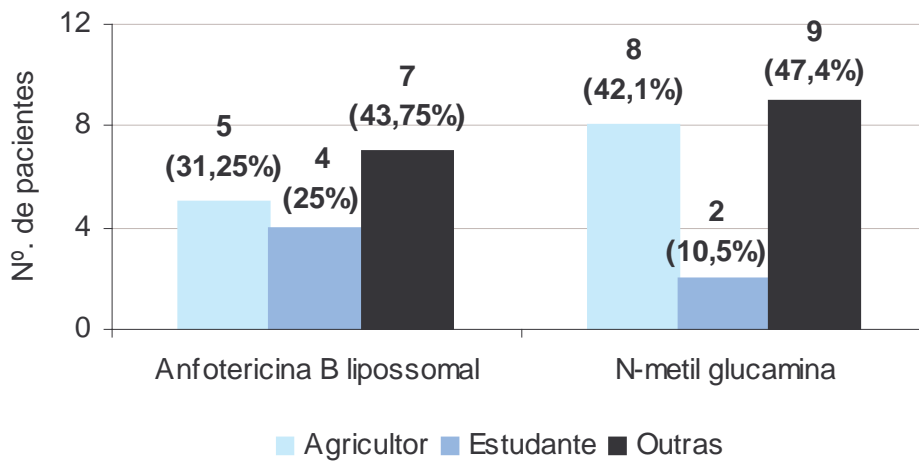
**Figura 3:** Freqüência absoluta e relativa dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana, de acordo com a procedência, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



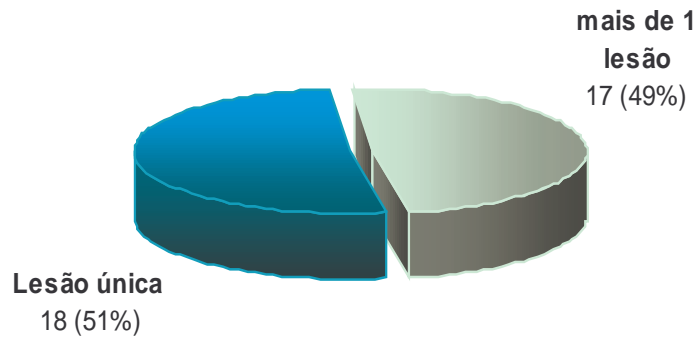
**Figura 4:** Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a procedência, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



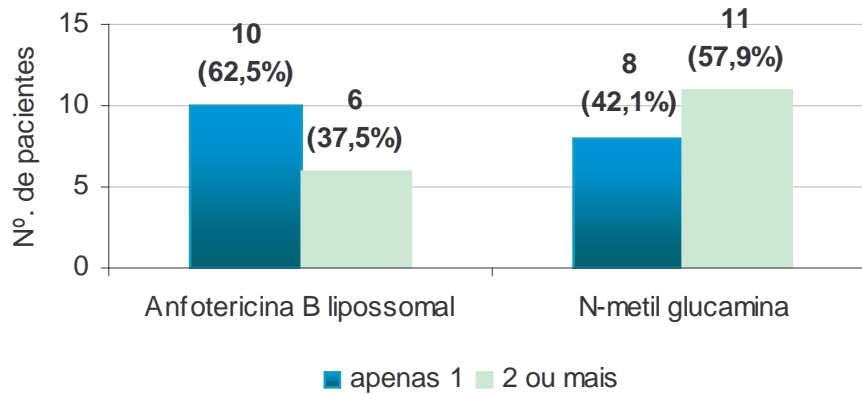
**Figura 5:** Frequência absoluta e relativa dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana, de acordo com a ocupação, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



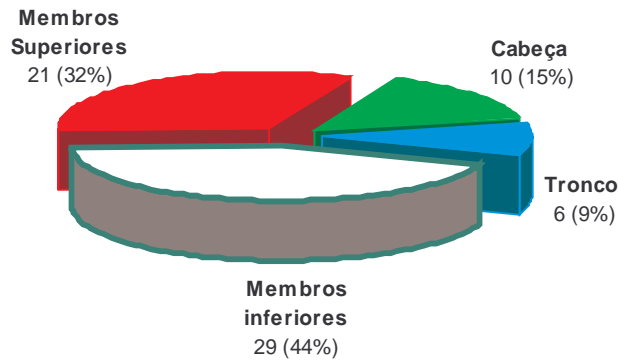
**Figura 6:** Frequência absoluta e relativa dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a ocupação, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



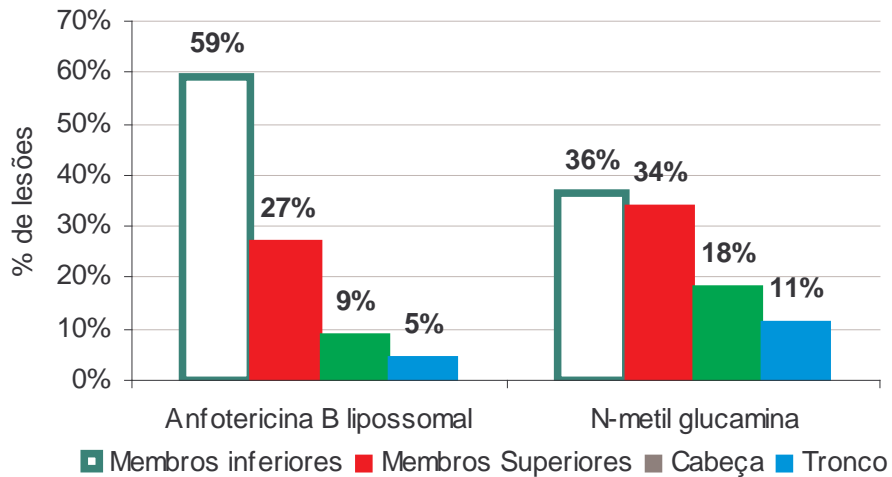
**Figura 7:** Frequência absoluta e relativa dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana, de acordo com o número de lesões, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



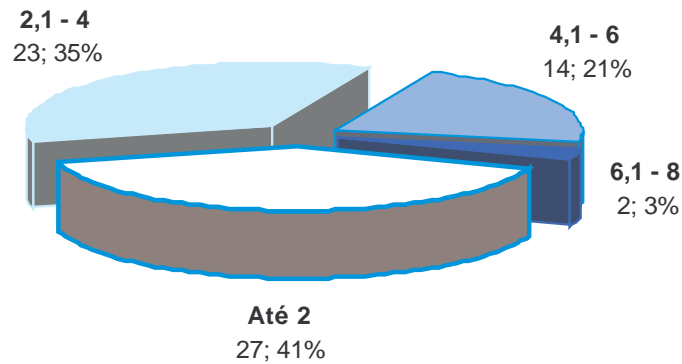
**Figura 8:** Frequência absoluta e relativa dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com o número de lesões, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



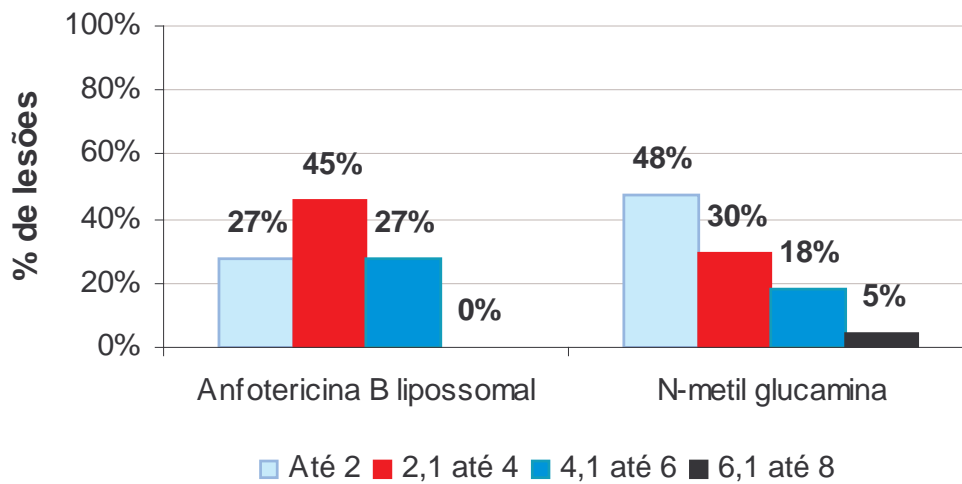
**Figura 9:** Frequência absoluta e relativa das lesões, de acordo com o localização topográfica, nos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



**Figura 10:** Distribuição percentual das lesões dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a localização topográfica, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.

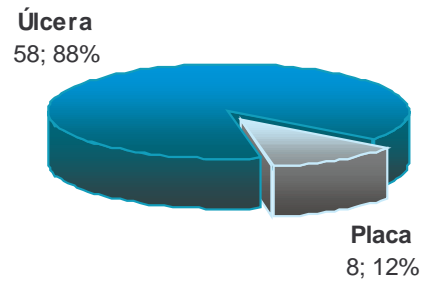


**Figura 11:** Frequência absoluta e relativa das lesões, de acordo com seus diâmetros em centímetros, nos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.

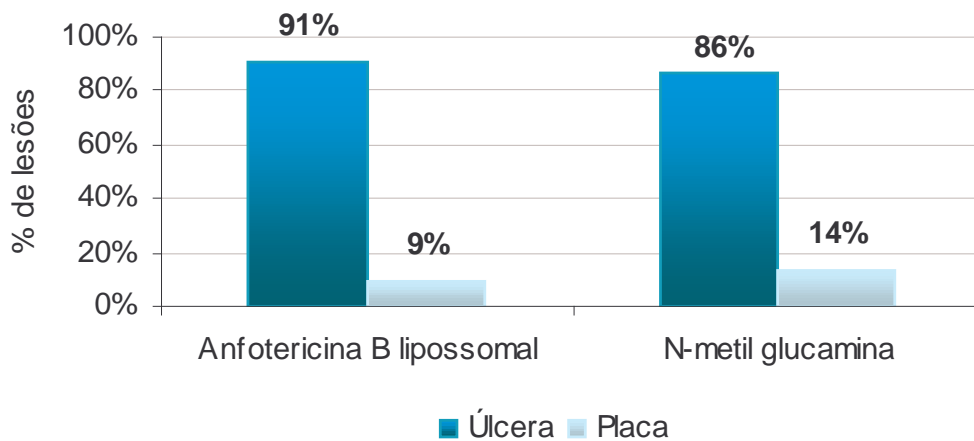


**Figura 12:** Distribuição percentual das lesões dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com seus diâmetros em centímetros, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.

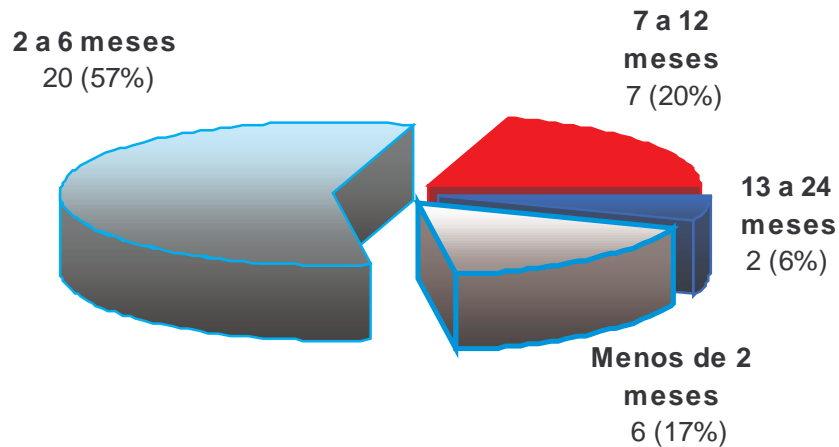




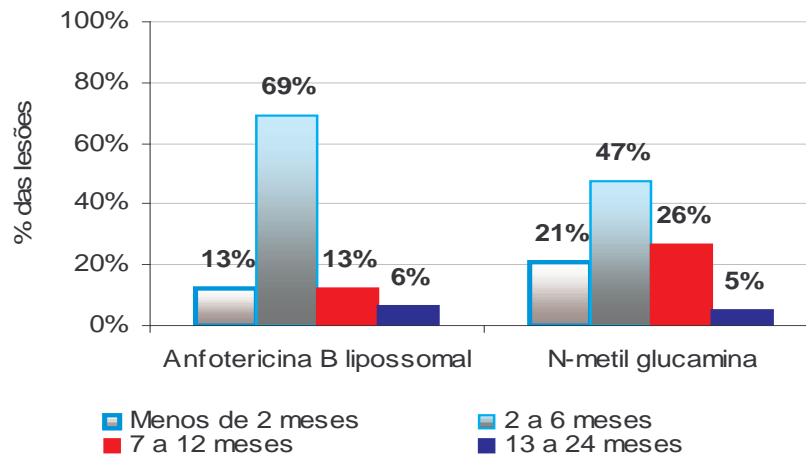
**Figura 13:** Frequência absoluta e relativa das lesões, de acordo com o tipo (úlceras ou placa), nos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



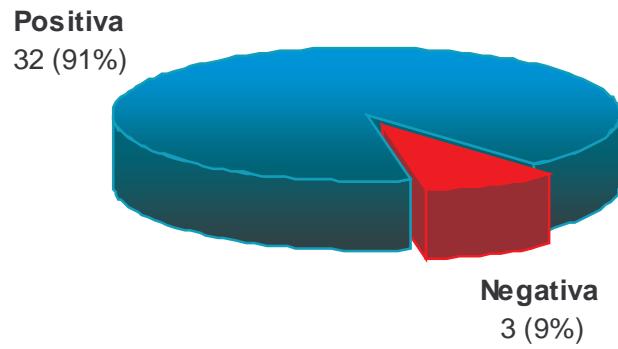
**Figura 14:** Distribuição percentual das lesões dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com o tipo (úlceras ou placa), nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



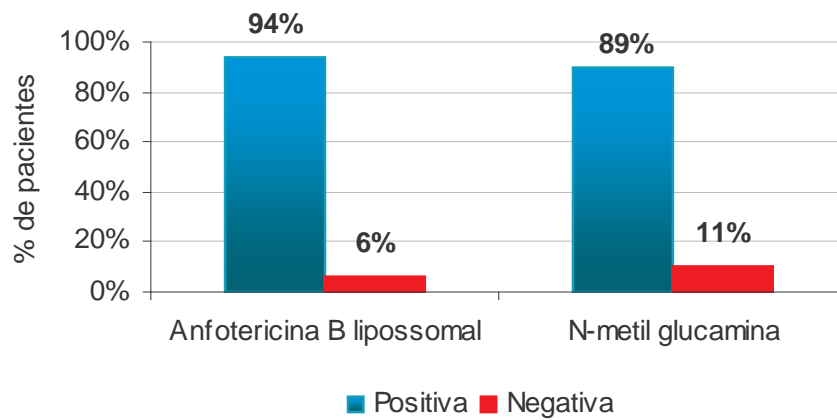
**Figura 15:** Frequência absoluta e relativa das lesões, de acordo com o tempo de evolução, nos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



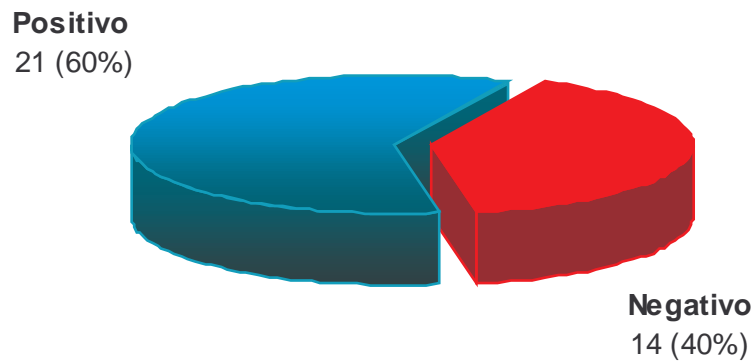
**Figura 16:** Distribuição percentual das lesões dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com o tempo de evolução, nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia ) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



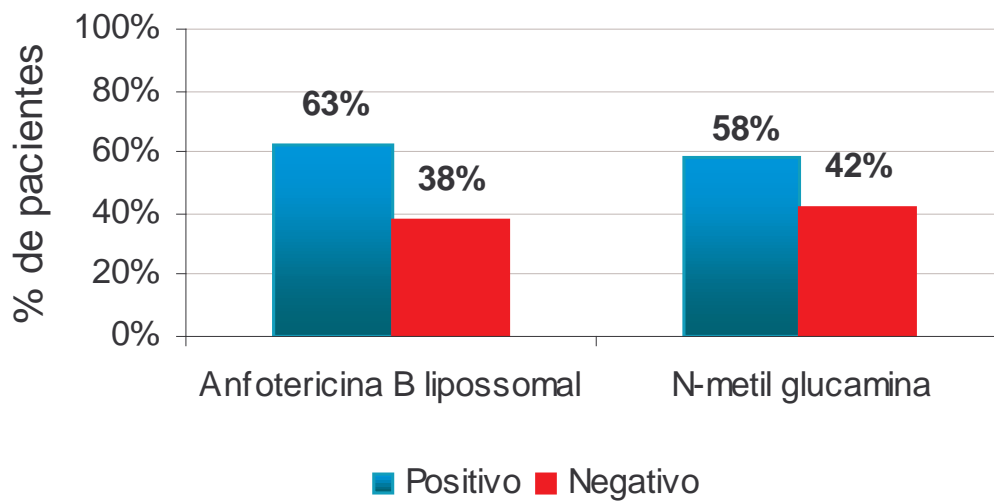
**Figura 17:** Frequência absoluta e relativa do resultado da intradermorreação de Montenegro dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



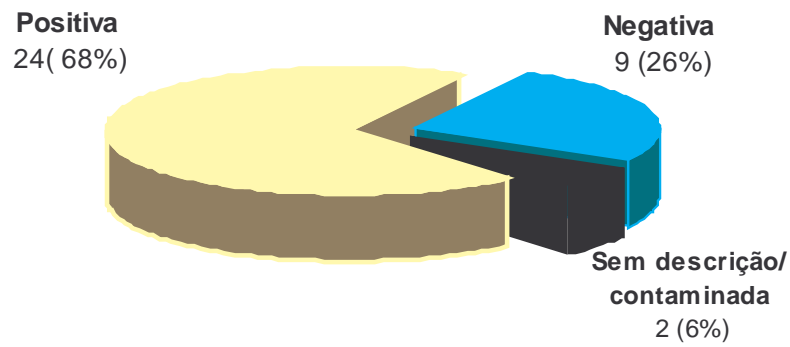
**Figura 18:** Distribuição percentual do resultado da intradermorreação de Montenegro nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



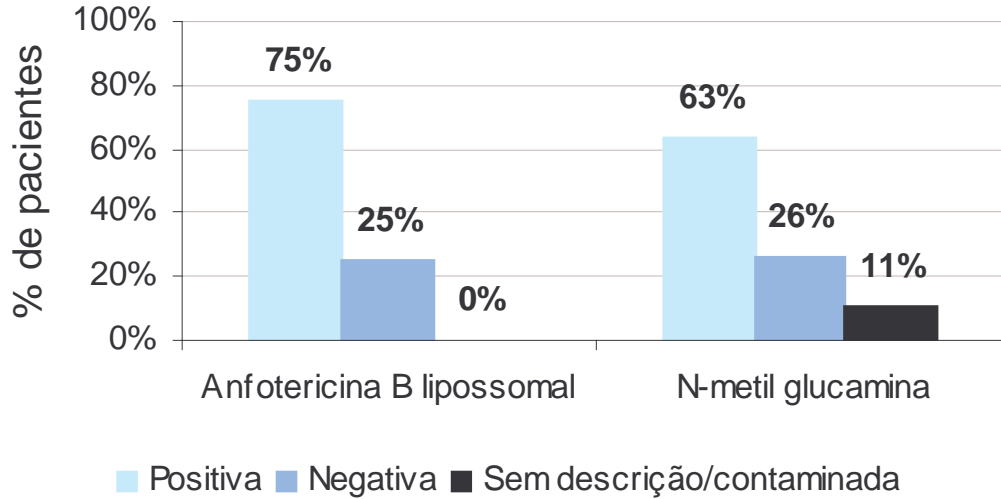
**Figura 19:** Frequência absoluta e relativa do resultado do esfregaço do fragmento das lesões dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



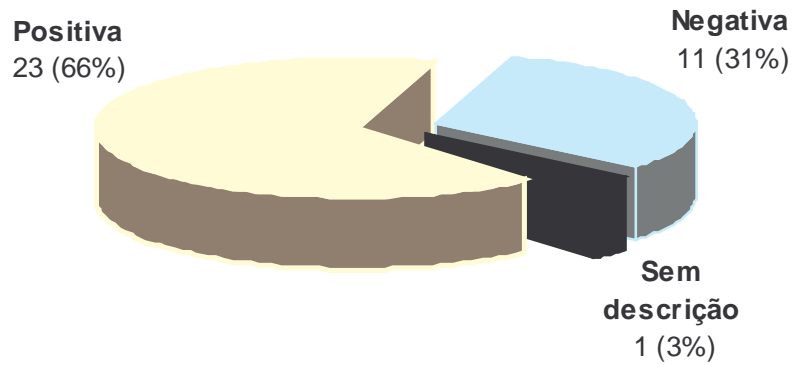
**Figura 20:** Distribuição percentual do resultado do esfregaço do fragmento das lesões nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



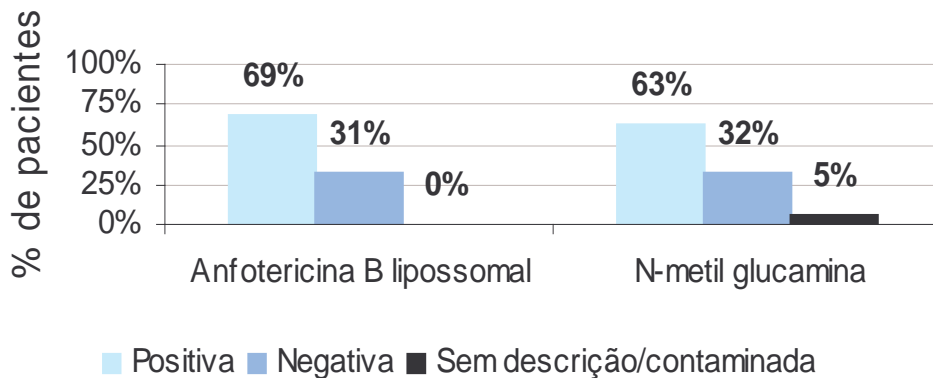
**Figura 21:** Frequência absoluta e relativa do resultado da cultura do aspirado das lesões dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



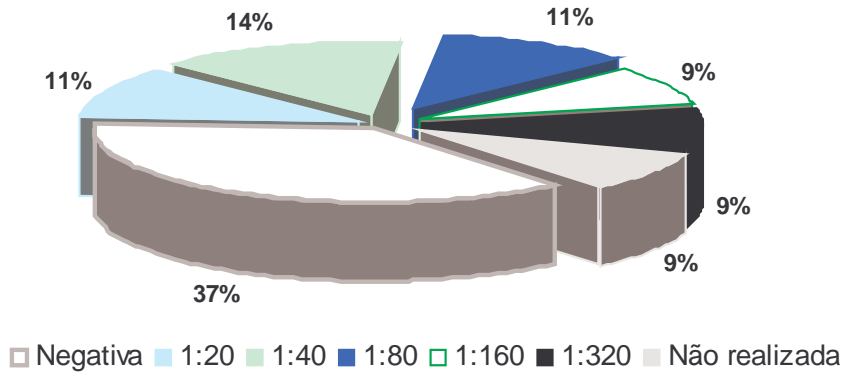
**Figura 22:** Distribuição percentual do resultado da cultura do aspirado das lesões nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



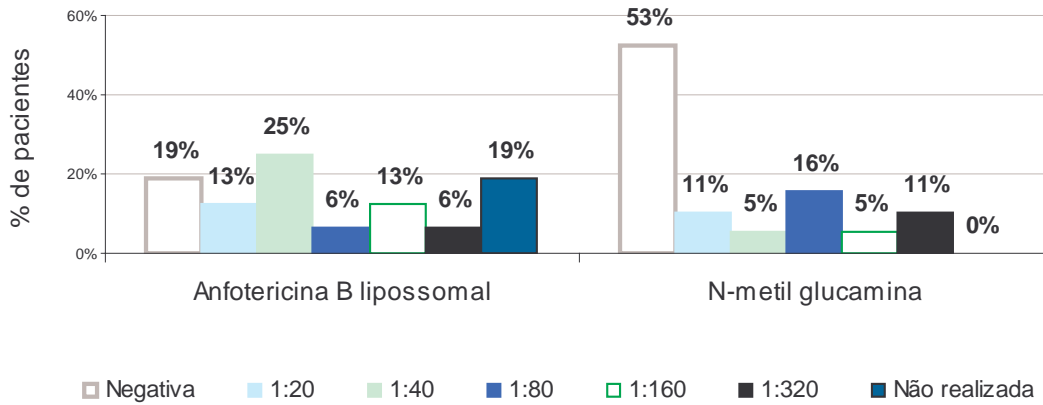
**Figura 23:** Frequência absoluta e relativa do resultado da inoculação em hamster dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



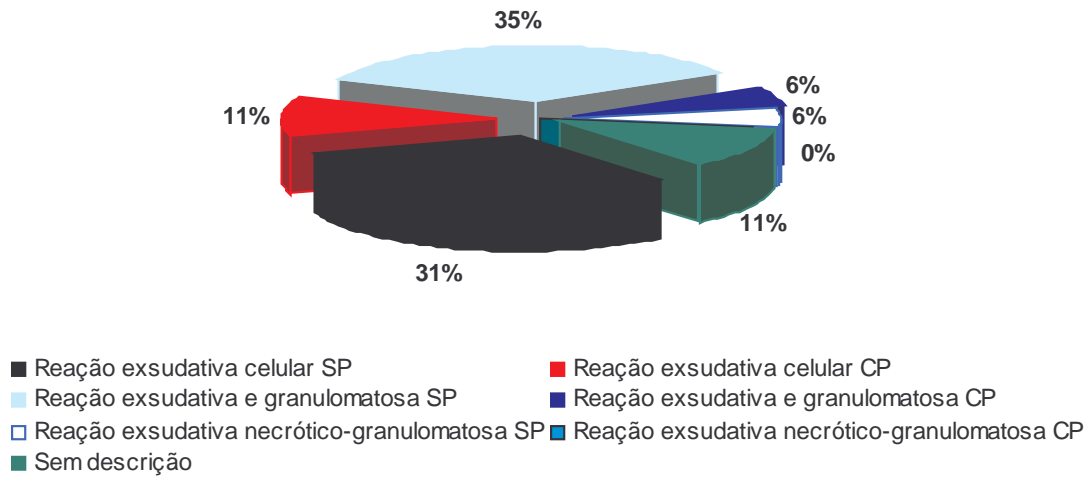
**Figura 24:** Distribuição percentual do resultado da inoculação em hamster nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



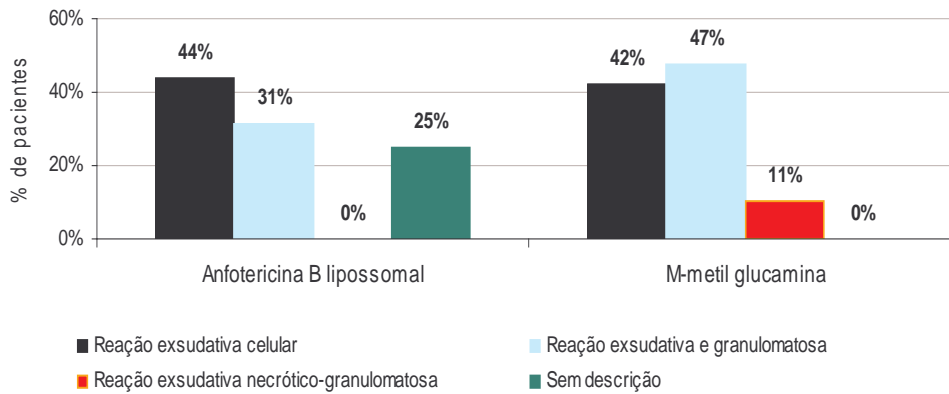
**Figura 25: Distribuição percentual do resultado da imunofluorescência indireta dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**



**Figura 26: Distribuição percentual do resultado da imunofluorescência indireta nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

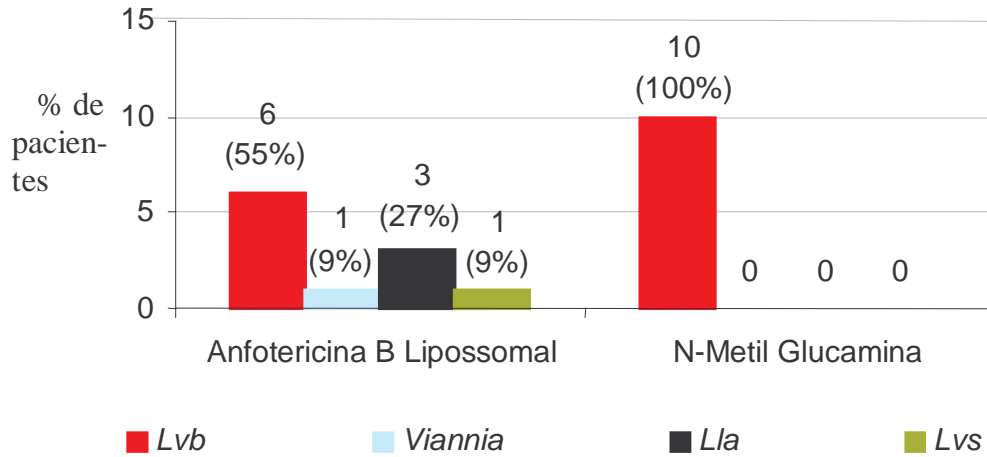


**Figura 27:** Distribuição percentual do resultado do exame histopatológico do fragmento das lesões dos pacientes incluídos no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.

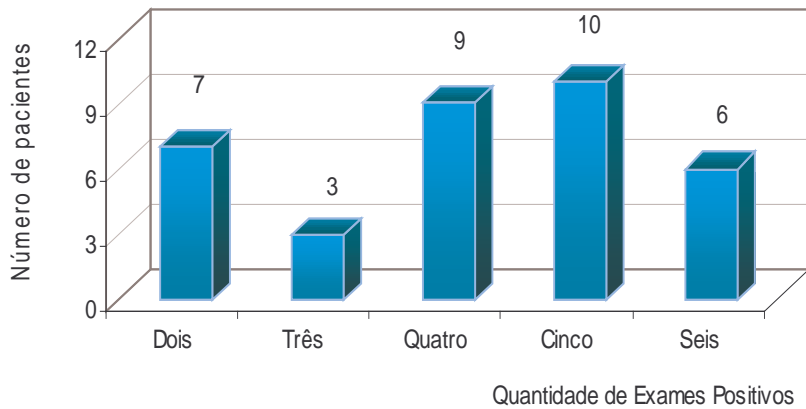


**Figura 28:** Distribuição percentual do resultado do exame histopatológico do fragmento das lesões nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.

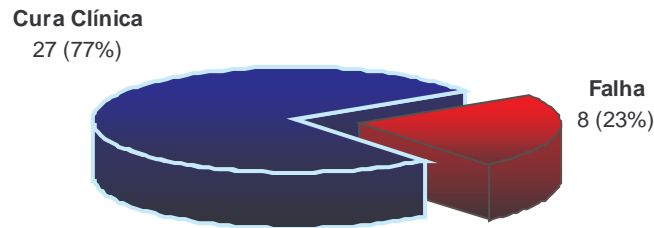




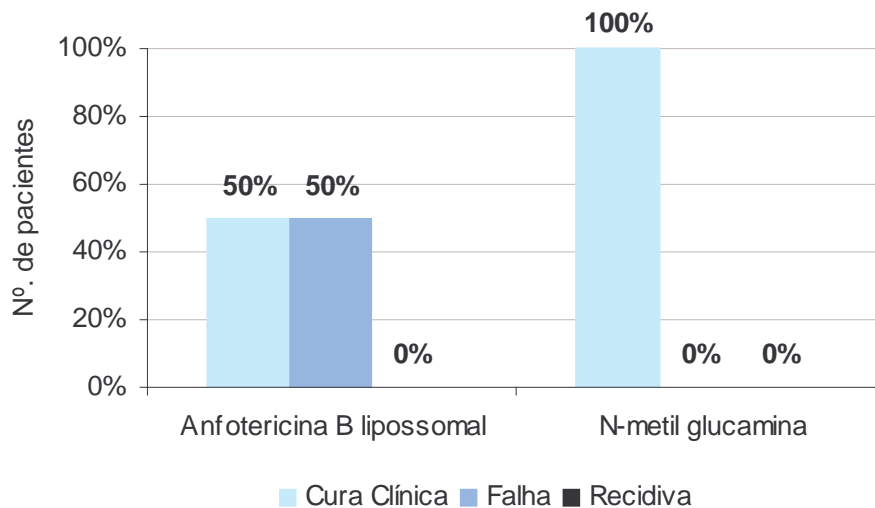
**Figura 29:** Frequência absoluta e relativa das Espécies e Subgêneros de *Leishmania* nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia ) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



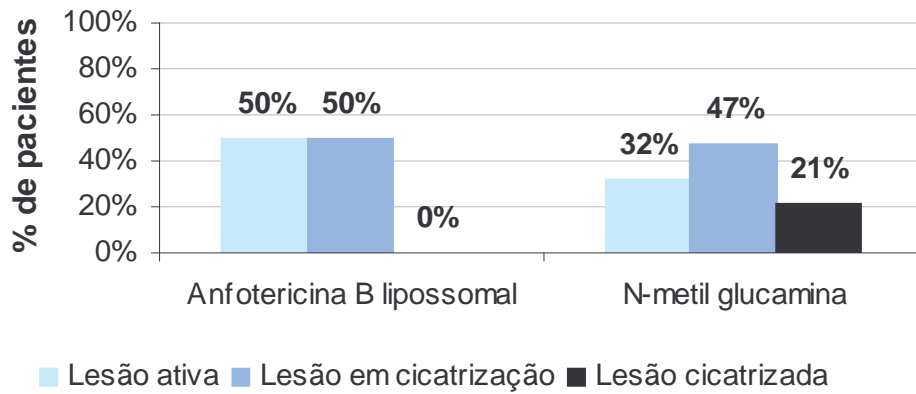
**Figura 30:** Distribuição dos pacientes, de acordo com o número de exames diagnósticos positivos de cada um deles, no estudo de tratamento da leishmaniose tegumentar americana no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004



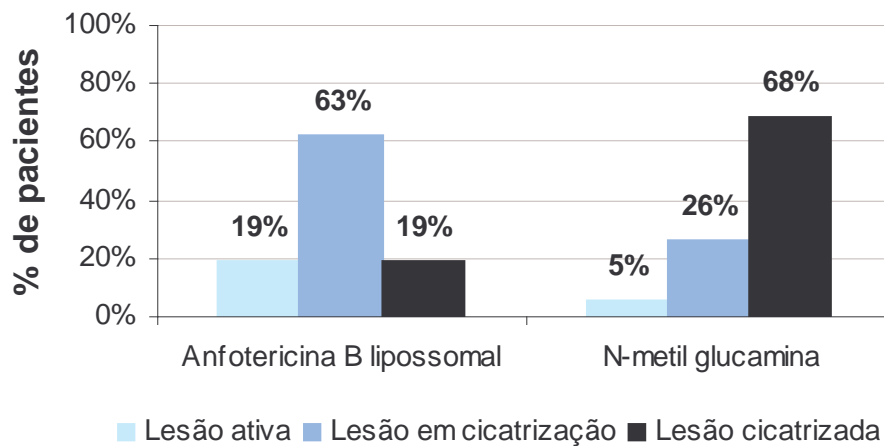
**Figura 31:** Frequência absoluta e relativa dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana, de acordo com a resposta clínica ao tratamento, no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



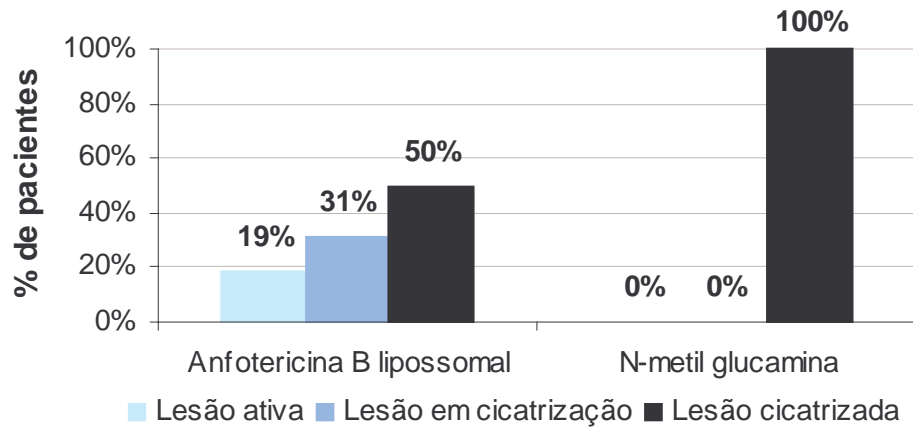
**Figura 32:** Distribuição percentual da resposta clínica ao tratamento nos grupos tratados com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



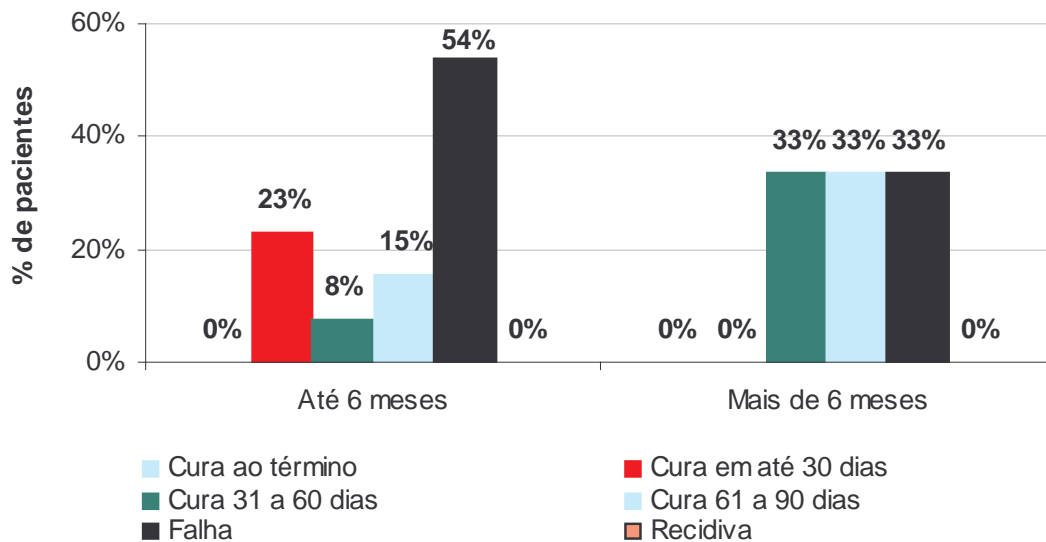
**Figura 33:** Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com os aspectos clínicos das lesões, ao término do tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



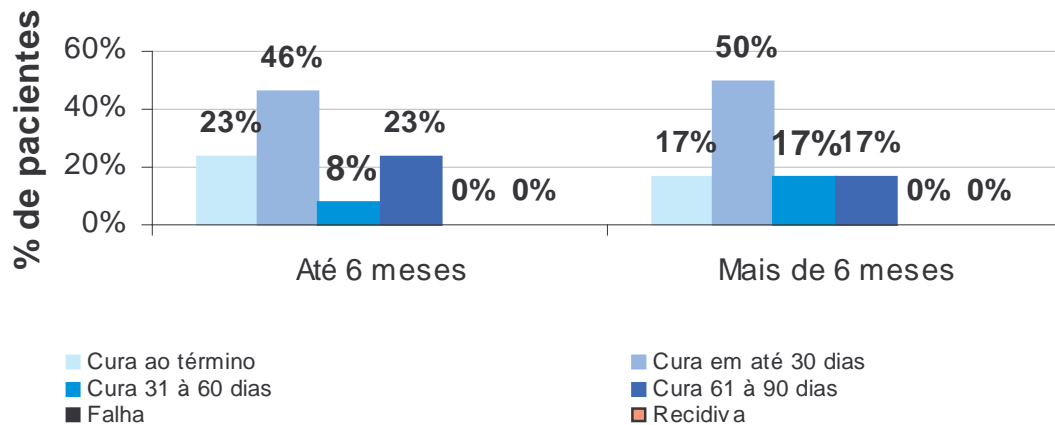
**Figura 34:** Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com os aspectos clínicos das lesões, trinta dias após tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



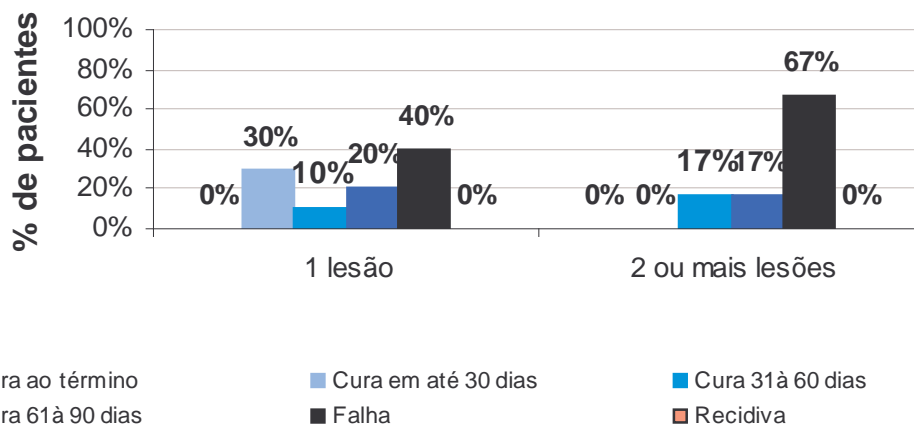
**Figura 35:** Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com os aspectos clínicos das lesões, noventa dias após o tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



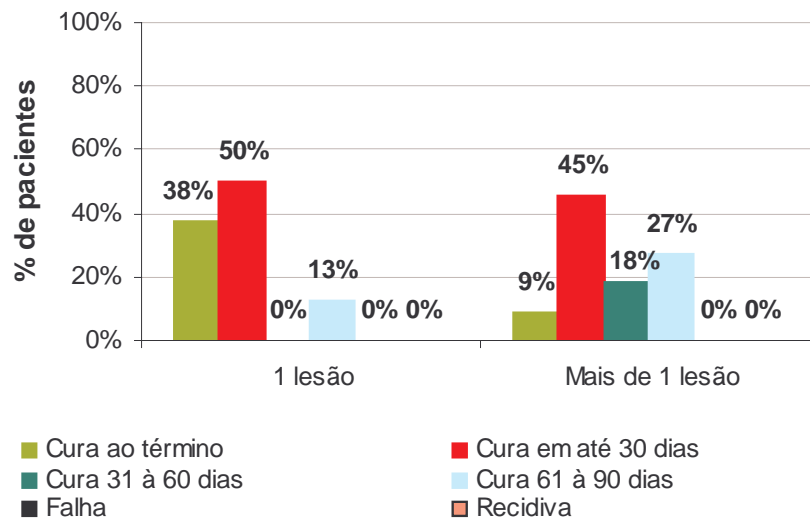
**Figura 36:** Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a resposta clínica e o tempo de evolução das lesões, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



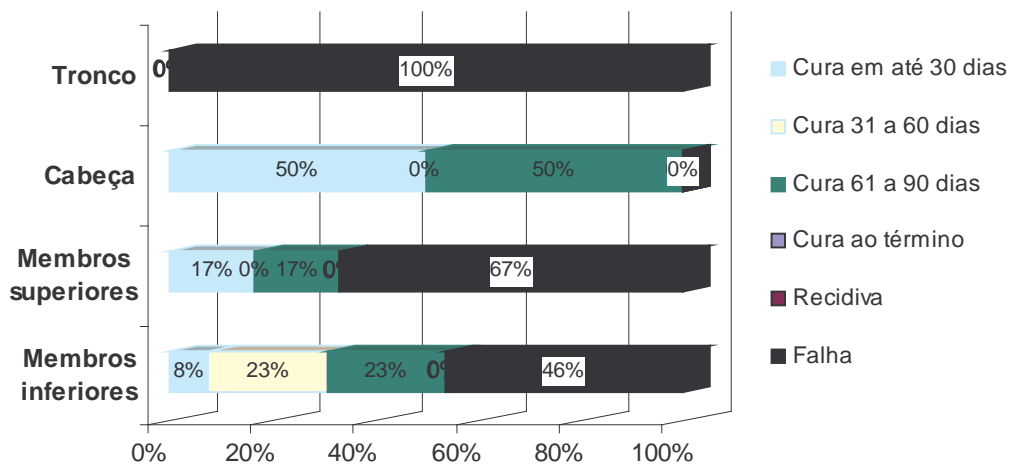
**Figura 37:** Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a resposta clínica e o tempo de evolução das lesões, no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



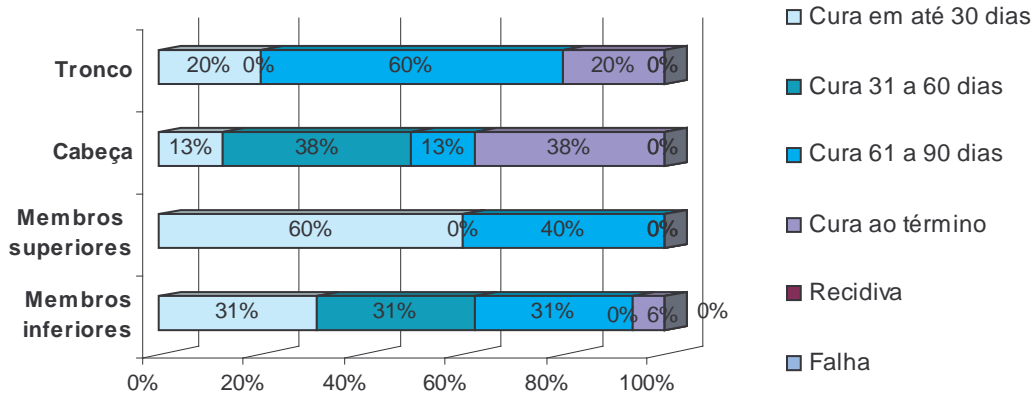
**Figura 38:** Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea, de acordo com a resposta clínica e o número de lesões, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



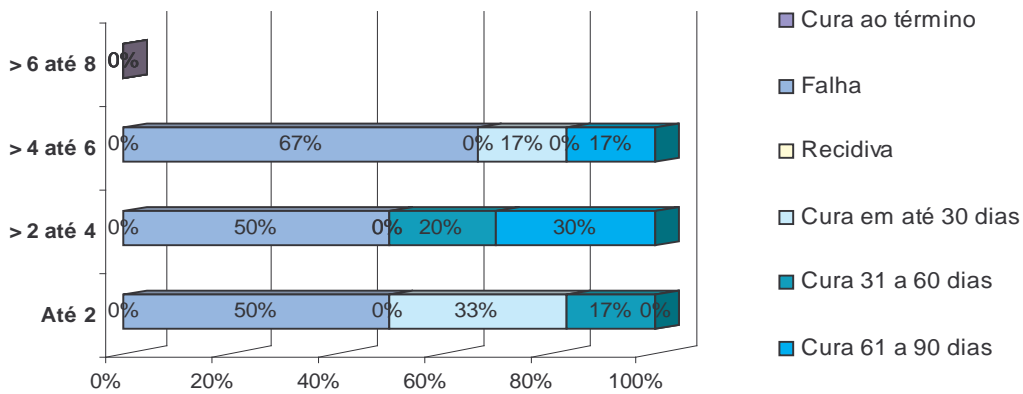
**Figura 39:** Distribuição percentual dos pacientes com leishmaniose tegumentar americana forma cutânea de acordo com a resposta clínica e o número de lesões no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg sbv/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



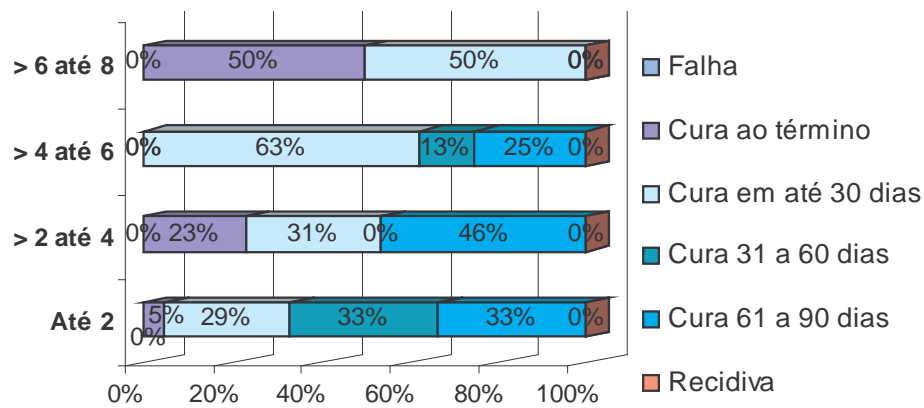
**Figura 40:** Distribuição percentual das lesões, de acordo com suas localizações topográficas e resposta clínica, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.



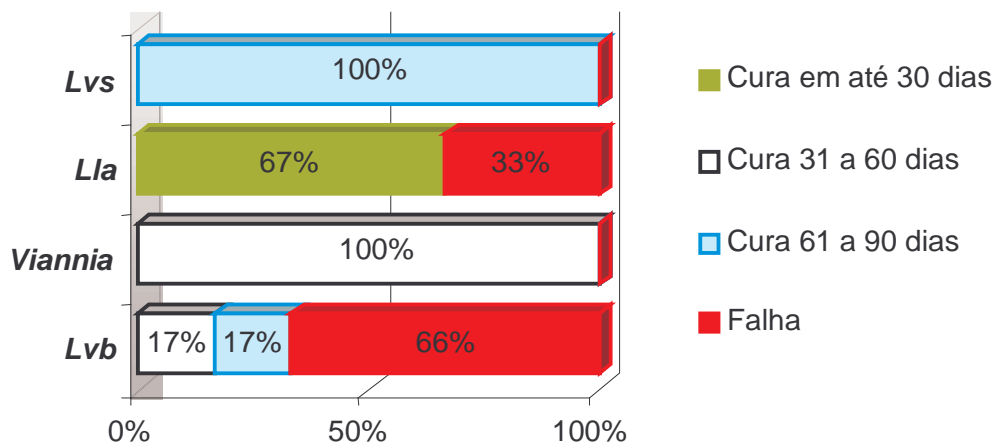
**Figura 41: Distribuição percentual das lesões, de acordo com suas localizações topográficas e resposta clínica, no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**



**Figura 42: Distribuição percentual das lesões, de acordo com seus diâmetros em centímetros e resposta clínica, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5 mg/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**

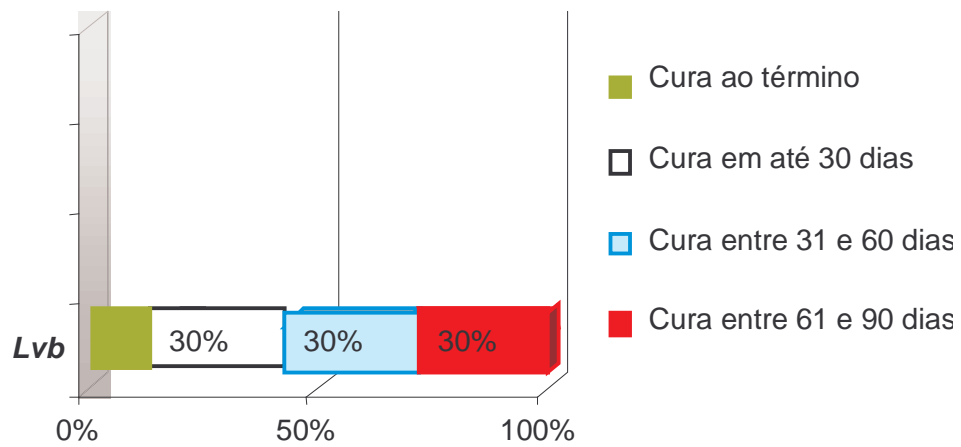


**Figura 43:** Distribuição percentual das lesões, de acordo com seus diâmetros em centímetros e resposta clínica, no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/ kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.

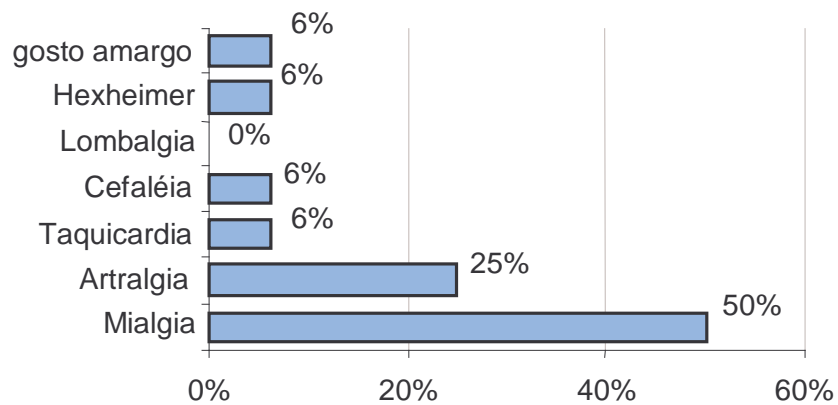


**Figura 44:** Distribuição percentual das Espécies e Subgêneros de *Leishmania* e resposta clínica no grupo tratado com anfotericina B lipossomal (1,5 mg/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.

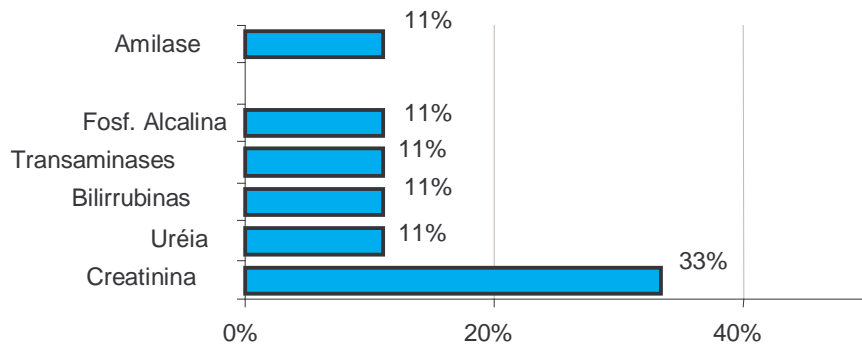




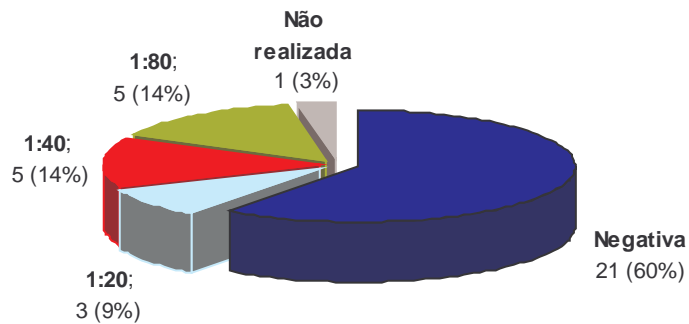
**Figura 45: Distribuição percentual das Espécies e Subgêneros de *Leishmania* e resposta clínica no grupo tratado com N-metil glucamina (20 mg SbV/ kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**



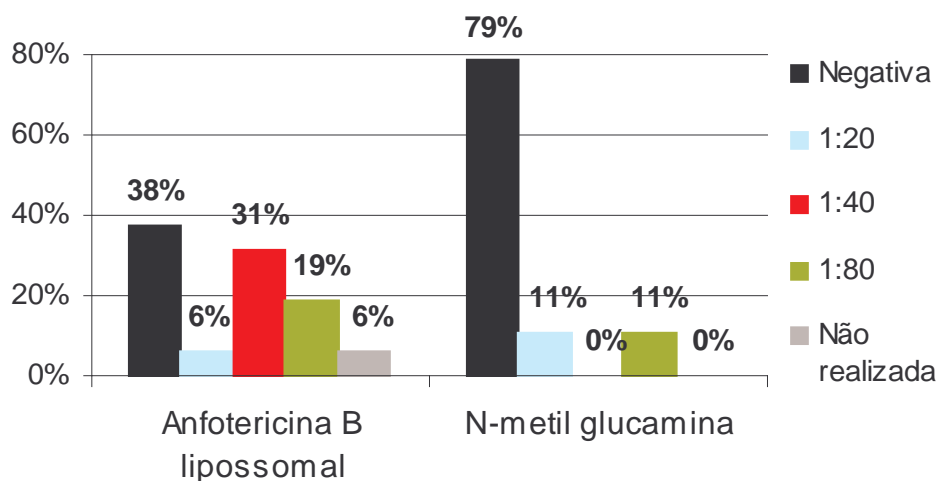
**Figura 46: Distribuição percentual dos eventos adversos no grupo tratado com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004**



**Figura 47: Distribuição percentual das alterações laboratoriais no grupo tratado com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004**



**Figura 48: Frequência absoluta e relativa do resultado da imunofluorescência indireta, nos pacientes com leishmaniose tegumentar americana, três meses após o tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e N-metil glucamina (20 mg SbV/kg/dia), no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.**



**Figura 49:** Distribuição percentual do resultado da imunofluorescência indireta, nos pacientes com leishmaniose tegumentar americana, três meses após o tratamento com anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia) e com N-metil glucamina (20mg SbV/kg/dia) no Hospital Universitário de Brasília, 2000-2004.

## 7 - DISCUSSÃO

Este estudo teve a finalidade de comparar a resposta clínica e imunológica de pacientes portadores de LTA forma cutânea localizada tratados com duas diferentes medicações, sendo assim, a eficácia e os eventos adversos das duas drogas foram também comparados. Para isso, os pacientes foram aleatoriamente alocados em dois grupos, a partir de sorteio inicial (estudo randomizado). No grupo de estudo, no qual os pacientes foram tratados com anfotericina B lipossomal (AmBisome) e no grupo controle, no qual os pacientes foram tratados com N-metil glucamina (Glucantime).

### 7.1 - ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS

Foram incluídos 35 pacientes no estudo, sendo a maioria do gênero masculino. O predomínio de homens nos dois grupos confirma os dados da literatura que apontam o gênero masculino como o mais acometido na leishmaniose (TALHARI *et al*, 1995; NAME *et al*, 2005). Sabe-se que a transmissão da LTA está associada a dois padrões epidemiológicos, o primeiro relacionado à derrubada de matas e entrada do homem em ambiente de selva, onde os reservatórios são animais silvestres e os hospedeiros acidentais são homens adultos. E o segundo, ocorre em áreas previamente desmatadas, onde há mudanças de hábito dos vetores, os quais passam a habitar áreas próximas às residências, ocorrendo a transmissão no peridomicílio ou no domicílio, acometendo principalmente mulheres e crianças.( SAMPAIO & PAULA, 1999; PASSOS *et al*, 2001; PORTO, 2004; NAME *et al*, 2004).

A faixa etária predominante nos dois grupos foi dos 21 aos 40 anos. A LTA pode atingir indivíduos de qualquer idade, sendo mais freqüente dos 20 aos 40 anos (VELOZO *et al*, 2006). A idade média dos pacientes no grupo de estudo e no grupo controle indica que a população deste estudo é jovem. Não havendo diferença significativa entre os dois grupos. Portanto, mostrou predomínio da faixa etária da população economicamente ativa representando um problema econômico grave para o país, confirmando dados da literatura (LLANOS-CUENTAS *et al*, 1984; NAME *et al*, 2005; FURTADO, 2006).

Comparando os dois grupos em relação à procedência, observamos que no grupo tratado com anfotericina B lipossomal, a maioria dos pacientes eram do Distrito Federal. Enquanto no grupo controle, Distrito Federal e Goiás foram as unidades da Federação de onde vieram 42% dos pacientes, seguidos pelo Pará, Tocantins e Bahia. Há alguns anos, os pacientes atendidos no HUB eram procedentes principalmente de Goiás, Bahia e Minas Gerais (SAMPAIO & PAULA, 1999). Atualmente tem ocorrido um aumento de casos provenientes do DF, o qual está localizado dentro do estado de Goiás. O DF tem, também fronteira com Minas Gerais. Os dois estados citados têm altas incidências de LTA. SAMPAIO & PAULA (1999) relataram 11 casos de LTA em pacientes que residiam no DF, sendo 6 de Planaltina, os quais não tinham saído de suas áreas durante um período de tempo de 6 a 24 meses antes do início da doença. No presente estudo, no total foram 13 pacientes do Distrito Federal, sendo 7 procedentes de São Sebastião. VEXENAT (1991) encontrou o vetor *Lutzomia whitmani* largamente distribuído no Distrito Federal, enquanto JOHN *et al* (2002), constataram que nos estados de GO, MG e BA a transmissão da LTA é feita predominantemente por *Lutzomia whitmani* e em seu estudo foram capturados 13 flebotomos, sendo todos *Lutzomia whitmani*. Portanto, há importantes indícios sobre a endemicidade e autoctonia da LTA no DF, particularmente em São Sebastião, onde houve um surto em 2003, agravado pela formação de assentamentos, condomínios e chácaras próximas às matas e ao Rio São Bartolomeu (PORTO, 2004; NAME *et al*, 2005).

Quanto à ocupação, cerca de 37% da população, deste estudo, executava atividade rural, enquanto 63% tinha profissões não ligadas ao meio rural. Este fato vem sendo observado nos pacientes tratados no ambulatório de LTA do HUB. NAME *et al* (2004) observaram em um estudo tipo série de casos, no qual foram incluídos 478 pacientes, atendidos no HUB no período de 1994 à 2004, que a LTA vem apresentando mudanças de padrão epidemiológico, atingindo também a periferia das cidades, onde há a transmissão peridomiciliar da doença. Outra possibilidade é que os pacientes com profissões não ligadas ao meio rural, tenham contato com o meio rural em alguma atividade de lazer, como pescaria ou acampamento e entrem em contato com o vetor.

Quanto ao número de lesões, no grupo de estudo houve predomínio de lesão única por paciente (62,5%), enquanto no grupo controle 42% dos pacientes tinham uma lesão. Não houve diferença estatística significativa entre os dois grupos. A literatura mostra

que na leishmaniose tegumentar americana, a lesão pode ser única ou haver múltiplas lesões devido à várias picadas do vetor infectado e à disseminação hemática e/ou linfática das amastigotas (WEIGLE & SARAIVA, 1996; PASSOS *et al*, 2001; RODRIGUES *et al*, 2006). Nos pacientes com múltiplas lesões, as mesmas predominaram em uma mesma área anatômica, sendo que os membros inferiores foram os mais acometidos. Outros estudos com pacientes atendidos no HUB também mostram um acometimento maior de membros inferiores (PAULA, 1999; NOGUEIRA *et al*, 2001; NAME *et al*, 2005) bem como em estudos em áreas endêmicas de LTA no Brasil (MERCHAN-HAMANN, 1989; PASSOS *et al*, 2001; CARVALHO *et al*, 2002). Sabe-se que os flebotomínios têm vôos curtos e baixos, caracterizando-se por um aspecto saltitante em um raio da ação não superior a 200 metros (LEMOS *et al*, 2001), desta forma estaria explicado o fato do membro inferior ser o mais atingido na LTA.

Apesar de não ter havido diferença estatística significativa em relação ao diâmetro das lesões entre os dois grupos, a maioria das lesões tinha diâmetro entre 2,1 a 4 cm no grupo de estudo e menor que 2 cm no grupo controle, o que pode ter propiciado uma taxa de cura inferior no grupo tratado com anfotericina B lipossomal. Por outro lado, o grupo controle tinha duas vezes mais lesões do que o grupo de estudo.

O tipo de lesão predominante foi a úlcera, confirmando dados da literatura (PAULA, 1999; PASSOS *et al*, 2001; NAME *et al*, 2005).

Os dois grupos foram homogêneos em relação ao período de evolução das lesões. Vinte e seis (74%) pacientes tinham até 6 meses de evolução, confirmando dados de outros estudos realizados com pacientes atendidos no HUB (NOGUEIRA *et al*, 2001). Sabe-se que o tempo de evolução é o fator biológico que determina a disseminação do parasito, portanto quanto menor o tempo de evolução da lesão (< 6 meses) maior tende ser a eficácia da terapêutica (PASSOS *et al*, 2001).

## **7.2- ASPECTOS DIAGNÓSTICOS**

A intradermorreação de Montenegro (IDRM) foi positiva em 91,42% dos pacientes, concordando com dados da literatura em que a positividade da IDRM varia de 82 a 100% no momento do diagnóstico (WANKE *et al*, 1991; CARVALHO *et al*, 2002;

VELOZO *et al*, 2006). Apenas um paciente (No. 12- ANEXO III) do grupo tratado com anfotericina B lipossomal e dois do grupo tratado com N-metil glucamina (Nos. 10 e 11- ANEXO IV) tiveram a IDRМ negativa. O paciente No. 12 tinha a lesão há 3 meses, o No. 10 há 1 mês e o No. 11 há 1 mês e 15 dias. Ou seja, todos com lesões com menos de 4 meses de evolução, quando a IDRМ ainda pode ser negativa (PASSOS *et al*, 2001; VELOZO *et al*, 2006).

Quanto ao esfregaço do fragmento das lesões, a positividade foi de 60%, portanto, mais elevada do que os dados mostrados pela literatura. CUBA *et al* (1981) encontraram 38,3% (*apud*: PAULA, 1999) e NAVIM *et al* (1990) encontraram 47% de positividade. Sabe-se que o esfregaço apresenta maior positividade quanto mais recentes forem as lesões (PORTO, 2004). Nos dez pacientes do grupo de estudo com esfregaço positivo, a média do tempo de evolução das lesões foi 3,5 meses. E nos 11 pacientes com esfregaço positivo do grupo controle, a média foi 3,18 meses de evolução da lesão. Ou seja, lesões recentes, o que justificaria a elevada positividade do esfregaço neste estudo.

A cultura do aspirado das lesões e a inoculação em hamster tiveram positividade semelhante. Em geral, a cultura tem uma sensibilidade de 30 % enquanto na inoculação a sensibilidade é de 50% (VELOZO *et al*, 2006). PORTO (2004) encontrou cultura positiva em 76% dos pacientes e positividade da inoculação de 41%. Em seu estudo, os casos foram diagnosticados precocemente como neste estudo, sendo a sensibilidade maior e com isto apresentando maior positividade.

A imunofluorescência indireta (IFI) foi positiva em 43% dos pacientes. Sua sensibilidade é de 71% nas formas cutâneas e de 100% nas formas mucosas (MENDONÇA, 1988 *apud* PORTO, 2004 e VELOZO *et al*, 2006). Dos 6 pacientes com os mais elevados títulos de IFI (1:320 e 1:160), 5 tinham 2 lesões e 1 tinha apenas 1 lesão. CARVALHO *et al* (2002), encontraram títulos mais altos naqueles pacientes com lesões múltiplas. Ainda em relação aos pacientes com mais elevados títulos de IFI, 3 tinham as lesões com tempo de evolução de até 6 meses e os outros 3 com mais de 6 meses de duração. Geralmente, a IFI é negativa até o sexto mês de evolução da doença e quando positiva seus títulos tendem a cair ou desaparecer após o tratamento específico (VEXENAT, 1993 *apud* PORTO, 2004).

Quanto aos achados histopatológicos foram observados 3 tipos de padrões básicos da classificação de MAGALHÃES *et al* (1986). O padrão mais frequentemente encontrado foi a reação exsudativa celular (43%), resultado semelhante ao obtido no clássico trabalho de MAGALHÃES, que estudou 378 pacientes com leishmaniose tegumentar causada por *Leishmania braziliensis*. Como no estudo de MERCHAN-HAMANN (1989) em que foi evidenciado o predomínio deste tipo de reação e no de CARVALHO *et al* (2002) que encontraram 67,5% de reação exsudativa celular. O achado de parasitos no histopatológico não é comum, com incidência de 38% (MAGALHÃES *et al*, 1986). Neste estudo apenas 17,14% dos pacientes tinham amastigotas no exame histopatológico.

Foram identificadas espécies e subgênero de leishmânia em 21 pacientes das 25 amostras criopreservadas. E destas 16 (76%) eram *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Estudos prévios (PAULA, 1999; PORTO, 2004) demonstraram que a espécie responsável pela maioria dos casos avaliados no HUB é a *Leishmania (Viannia) braziliensis*, podendo ocorrer em menor proporção casos de *Leishmania (Leishmania) amazonensis* e até de outras espécies, como a *Leishmania (Viannia) shawi* (NOGUEIRA *et al*, 2001; PAULA *et al*, 2003; NAME *et al*, 2005). A leishmaniose tegumentar no Novo Mundo é devida principalmente às espécies do complexo *L. braziliensis*. Essas espécies constituem o subgênero *Viannia*, e, delas cinco são encontradas causando a LTA no Brasil, *L. braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. lainsoni*, *L. shawi* e *L. naiff*, sendo a *L. braziliensis* a principal responsável pela LTA no Brasil e na América (CARVALHO *et al*, 2002). Neste estudo *L (L) amazonensis* foi identificada em amostras de 3 pacientes e *L.(V) shawi* na amostra de 1 paciente. Além disto, os estados de procedência da maioria dos pacientes estudados também têm maior prevalência de *L (V) braziliensis*.

Na imunohistoquímica realizada antes do tratamento, observou-se que o CD25 era negativo na maioria dos pacientes, como este anticorpo marca tanto células T ativadas como macrófagos ativados, esta negatividade demonstra que na lesão antes do tratamento estas células não estavam ativadas. Porém, o CD68, que também marca macrófagos, foi de moderado a fortemente positivo na maioria dos pacientes, demonstrando elevado número de macrófagos nas lesões. Entretanto, aparentemente estes macrófagos não estavam ativados, já que o CD25 foi negativo. VIEIRA *et al* (2002)



também observaram um grande número de macrófagos CD68+ no infiltrado das lesões de leishmaniose cutânea localizada (LCL). O CD68 é também capaz de marcar neutrófilos e células de Langerhans (BISHOP, 2006 *apud*: FURTADO, 2006). Geralmente células de Langerhans estão presentes em elevado número nas lesões de LCL (PIRMEZ, 1992), sendo potentes estimuladores de células T específicas para *Leishmania* (PIRMEZ *et al*, 1990; TAPIA *et al*, 1994).

Observou-se que o CD3, que é marcador de linfócito T foi de moderado a fortemente positivo na maioria dos pacientes. Isto, demonstra que havia um número elevado de células T nas lesões de LTA, porém a maioria destas células não estavam ativadas, já que o CD25 era negativo. Sendo este resultado corroborado pela intensidade da imunomarcção do CTLA-4 que foi positiva mas com fraca intensidade ou negativa, demonstrando que havia reduzido número de linfócitos T ativados com função regulatória. O CTLA-4 não é encontrado nas células T em repouso (ABBAS *et al*, 2000).

Sabe-se que os linfócitos T são as células mais encontradas no infiltrado das lesões de leishmaniose cutânea localizada (VIEIRA *et al*, 2002). MARTÍNEZ-ARENDIS *et al* (1991) demonstraram que pacientes com LCL têm valores similares de células T auxiliares e células T citotóxicas e que estas células não têm distribuição característica no granuloma da LCL. A presença de células T “virgens” neste tipo de lesão sugere que o granuloma possa ser o sítio de educação das células T, mesmo que um recrutamento de linfócitos não possa ser excluído.

O CD20 foi positivo de forma fraca na maioria dos pacientes, demonstrando presença de poucos linfócitos B nas lesões. Somente em dois pacientes do grupo controle havia número moderado destas células. VIEIRA *et al* (2002) encontraram um número elevado de células B CD20+ no infiltrado das lesões de LCL. O papel das células B na leishmaniose ainda não está esclarecido. Além da produção de anticorpos, estas células têm sido implicadas na indução da resposta de células Th1 CD4+ anti-leishmânia, na apresentação do antígeno e na expressão de moléculas co-estimuladoras (VIEIRA *et al*, 2002).

O CD15, o qual identifica neutrófilos e células dendríticas, foi negativo na maioria dos pacientes, demonstrando um infiltrado com poucos ou sem neutrófilos nas lesões.

Já o  $\alpha$ -leish foi positivo de forma moderada na maioria dos pacientes, demonstrando a presença de parasitos nas lesões. Sabe-se que na LCL, a presença do parasito é maior quanto menor o tempo de evolução da lesão. Como neste estudo a maioria dos pacientes tinha até 6 meses de evolução da doença, era de se esperar esta presença maior de parasitos como demonstrado pelo  $\alpha$ -leish.

### **7.3- RESPOSTA TERAPÊUTICA**

#### **7.3.1- Resposta clínica**

A primeira análise a ser feita em relação à resposta ao tratamento é se houve ou não cura espontânea entre os pacientes do estudo. A literatura mostra que as lesões de LTA podem cicatrizar de forma espontânea e que este processo ocorre geralmente entre 6 meses a um ano de evolução da lesão (MARSDEN *et al*, 1984 e 1991; COSTA *et al*, 1990). OLIVEIRA-NETO *et al* (1996) relataram que embora a cicatrização espontânea de lesões de LTA forma cutânea ocorra, pode levar de meses a muitos anos e que no Brasil, a cura espontânea já tinha sido bem documentada por MARSDEN *et al* (1984) e COSTA *et al* (1990). Neste estudo 26 (74%) pacientes apresentavam lesões com tempo de evolução de até 6 meses e destes 19 (73%) pacientes curaram com o tratamento. Além disto, entre os 9 pacientes com mais de 6 meses de evolução, nos quais a chance de cura espontânea seria maior, 1 (11,1%) não curou, 4 (44,4%) curaram em até 30 dias e 4 (44,4%) curaram entre 31 e 90 dias após o tratamento. Portanto, é difícil ter ocorrido cura espontânea neste estudo.

Observou-se uma taxa de cura igual à taxa de falha no grupo tratado com anfotericina B lipossomal, a qual foi de 50%, enquanto no grupo controle a taxa de cura foi 100%. Portanto, a probabilidade de curar com o N-metil glucamina nesse esquema de tratamento (20mg SbV/kg/dia por 20 dias) foi duas vezes maior do que com a anfotericina B lipossomal (1,5mg/kg/dia por 5 dias). Sabe-se que a taxa de cura na LTA forma cutânea localizada com o antimomial pentavalente varia de 70 a 100% (NOGUEIRA *et al*, 2001; AZEREDO-COUTINHO & MENDONÇA, 2002; NAME *et*

al, 2005). No caso da anfotericina B lipossomal, até 2000, quando teve início este estudo, não havia uma dose preconizada para seu uso em LTA forma cutânea localizada, porém a medicação já vinha sendo bem estudada na leishmaniose visceral com taxa de cura elevada com doses variando de 1 a 4mg/kg/day (DAVIDSON *et al*, 1994; TORRE-CISNEROS *et al*, 1994; GRADONI *et al*, 1995; DI MARTINO *et al*, 1997). SUNDAR *et al* (1998), obtiveram taxas de cura de 89%, 93% e 96% em grupos tratados com 0,75mg/kg/dia, 1,5mg/kg/dia e 3,0mg/kg/dia por 5 dias de anfotericina B lipossomal, respectivamente. Demonstrando portanto, que quanto maior a dose diária, num mesmo período de tempo, maior a taxa de cura.

Deve-se ressaltar que apesar da taxa de cura no grupo de estudo ter sido mais baixa do que o esperado, provavelmente devido a baixa dose, no final de 1 ano de seguimento, nenhum dos 8 pacientes que curaram apresentaram recidiva das lesões, mostrando a eficácia da anfotericina B lipossomal, naqueles pacientes curados.

No grupo tratado com anfotericina B lipossomal, observando o aspecto clínico das lesões após noventa dias do tratamento, cinco pacientes tinham lesões em cicatrização e oito pacientes tinham suas lesões completamente cicatrizadas. Ou seja, treze pacientes dos dezesseis apresentavam sinais de cicatrização 90 dias após o tratamento. Portanto, a anfotericina B lipossomal induziu uma resposta em 81% dos pacientes mas curou completamente somente 50% deles.

Uma taxa de cura tão elevada (100%) no grupo tratado com N-metil glucamina pode refletir a junção de vários fatores como: tratar-se de população jovem, sem comorbidades, que procurou o serviço precocemente e ausência de tratamentos prévios para LTA.

Ao comparar o tempo de evolução das lesões e a resposta ao tratamento, observa-se que um pouco menos da metade (46%) dos pacientes que tinham lesões com até 6 meses de duração curaram com a anfotericina B lipossomal. No grupo tratado com N-metil glucamina, 69% dos pacientes com o tempo de evolução das lesões de até 6 meses cicatrizaram com até 30 dias. Portanto, 73% dos pacientes do estudo, com tempo de evolução de até 6 meses, curaram. A boa eficácia terapêutica com o antimonial pentavalente pode estar relacionada ao pouco tempo de evolução das lesões na maioria

dos pacientes, o que tem sido comprovado por outros estudos (PASSOS *et al*, 2001; CARVALHO *et al*, 2002; NAME *et al*, 2005). Além disto, o tempo entre o início das lesões e o início da terapêutica parece interferir no prognóstico da doença (NAME *et al*, 2005).

Quanto ao número de lesões e a resposta terapêutica, tanto no grupo de estudo quanto no grupo controle, observou-se uma melhor resposta entre os pacientes que apresentavam apenas uma lesão. No grupo tratado com anfotericina B lipossomal, 60% dos pacientes com 1 lesão curaram. No grupo tratado com N-metil glucamina, 87,5% dos pacientes com 1 lesão curaram em até 30 dias. Segundo LLANOS-CUENTAS *et al* (1984), quanto maior o número de lesões cutâneas, mais improvável é a cura do doente. RODRIGUES *et al* (2006), mostraram que o número de lesões superior a 3 é um dos fatores associados ao insucesso do tratamento. No presente estudo, foi observado que pacientes com 3 ou mais lesões tenderam a cicatrizar suas lesões mais tardiamente do que aqueles com até 2 lesões (ANEXO II).

Observando a localização das lesões e a resposta ao tratamento, constatamos 54% de cura clínica das lesões dos membros inferiores no grupo de estudo, com maior porcentagem de cura neste grupo de lesões no segmento cefálico. Já no grupo tratado com N-metil glucamina a cura ocorreu mais precocemente nas lesões dos membros superiores. Estudos mostram que a localização das lesões é um dos fatores que influencia na resposta terapêutica (MERCHAN-HAMANN, 1989; DAVIES *et al*, 1997). Acredita-se que as lesões em membros inferiores teriam uma resposta mais lenta, devido a uma irrigação sanguínea precária em relação a outras partes do corpo, pela pressão hidrostática maior do sangue na posição ortostática e maior exposição ao trauma neste local. Com isto, a resposta imune local estaria prejudicada (MERCHAN-HAMANN, 1989).

Em relação ao diâmetro das lesões e a resposta terapêutica, observou-se uma melhor resposta com as lesões menores em relação às maiores no grupo tratado com anfotericina B lipossomal. Já no grupo tratado com N-metil glucamina observou-se uma resposta mais rápida nas lesões com os maiores diâmetros. Na literatura, o diâmetro das lesões tem sido um dos fatores que influencia na cura, como no estudo de MERCHAN-HAMANN (1989), em que a falta de cicatrização completa estava

associada a lesões grandes. Já no estudo de RODRIGUES *et al* (2006), sobre fatores associados ao insucesso do tratamento da leishmaniose cutânea com o antimonial, não se observou relação do diâmetro das lesões com a falta de cicatrização, como observado no grupo controle do presente estudo.

Quanto à espécie e subgênero da leishmânia e a resposta ao tratamento, no grupo tratado com anfotericina B lipossomal, observou-se que 66% dos pacientes com *Leishmania (Leishmania) amazonensis* curaram em relação a 33% dos pacientes com *Leishmania (Viannia) braziliensis*. No grupo tratado com N-metil glucamina um pouco mais da metade dos pacientes com *Leishmania (Viannia) braziliensis* curaram em até 30 dias. Tem sido mostrado na literatura uma resposta terapêutica inferior e um percentual maior de recidiva na LTA causada por *L(V)b* (SAMPAIO & MARSDEN, 1997; SAMPAIO & PAULA, 1999). Estudos clínicos no Brasil confirmaram a diferença de susceptibilidade entre as diversas espécies e cepas e consequentemente de sensibilidade ao antimonial pentavalente entre espécies diferentes (SALDANHA *et al*, 1999 e 2000; ROMERO *et al*, 2001; AZEREDO-COUTINHO & MENDONÇA, 2002). AZEREDO-COUTINHO & MENDONÇA (2002), comparando um esquema intermitente com um regime contínuo de antimonial, mostraram que a leishmaniose cutânea causada pela *L. braziliensis* no Estado do Rio de Janeiro responde relativamente bem ao N-metil glucamina, mesmo em doses baixas.

### 7.3.2 - Eventos adversos, alterações laboratoriais e eletrocardiográficas

Foram observados eventos adversos em 68% dos pacientes do grupo tratado com N-metil glucamina, sendo os mais freqüentes mialgia e artralgia. Apenas um paciente tratado com anfotericina B lipossomal apresentou um episódio de dor lombar. Quanto às alterações eletrocardiográficas e laboratoriais encontradas, como aumento da creatinina, uréia, bilirrubinas, transaminases, fosfatase alcalina e amilase com o N-metil glucamina são compatíveis com a literatura. Vários estudos mostram que os antimoniais podem suscitar muitos efeitos colaterais, como artralgia, mialgia, cefaléias, distúrbios gastrointestinais, alterações eletrocardiográficas, renais, hepáticas, pancreáticas, erupção cutânea, distúrbios da crase sanguínea, herpes-zoster entre outros (NOGUEIRA *et al*, 2001; NAME *et al*, 2005). DEPS *et al* (2000), em uma avaliação comparativa da eficácia e toxicidade do antimoniato de N-metil-glucamina e do estibogluconato de

sódio na LTA localizada, encontraram como principais efeitos colaterais anorexia, cefaléia, artralgia, febre e adinamia, e como alterações cardíacas, os distúrbios de repolarização ventricular com alongamento do QTc.

Quanto à anfotericina B lipossomal, diversos estudos foram realizados comparando esta medicação com a anfotericina B convencional e observou-se que a incidência de efeitos colaterais com a anfotericina B lipossomal era significativamente menor do que com a anfotericina B convencional (MEUNIER *et al*, 1991; PRENTICE *et al*, 1997; WALSH *et al*, 1999). FREIRE *et al* (1997), em um estudo sobre a eficácia e tolerabilidade da anfotericina B lipossomal (AmBisome) no tratamento da leishmaniose visceral no Brasil, observaram como efeitos colaterais: febre, calafrios, arritmia cardíaca, miocardite e alterações de enzimas hepáticas utilizando a dose 2mg/kg/dia administradas num intervalo de 5 a 10 dias. E concluíram que a anfotericina B lipossomal é eficaz e bem tolerada no tratamento da leishmaniose visceral, porém os pacientes deveriam ser monitorados quanto ao risco de arritmias, efeitos cardiopulmonares ou hepatotoxicidade.

## **7.4 - RESPOSTA IMUNOLÓGICA**

### **7.4.1 - Imunofluorescência Indireta**

Comparando a imunofluorescência no período pré e 3 meses após tratamento, observou-se uma queda nos títulos ou negatização nos dois grupos. Os pacientes que tinham títulos negativos permaneceram negativos após o tratamento. Teoricamente, a erradicação do parasita após tratamento bem sucedido pode eliminar o estímulo antigênico para a produção de anticorpos e conseqüentemente levaria a um declínio nos títulos da IFI (AMATO *et al*, 1998). O paciente No 8 (ANEXO III e I) tratado com anfotericina B lipossomal apresentou um leve aumento do título após o tratamento, mas curou com até 90 dias. O paciente No. 10 (ANEXO IV e II) tratado com N-metil glucamina também mostrou elevação da IFI após o tratamento, mas curou com 30 dias. Estudiosos têm descrito uma boa correlação entre cura das lesões e conversão negativa dos títulos de anticorpos detectáveis na IFI. Com base nestes resultados, tem sido sugerido que a conversão negativa da IFI deveria ser incluída como um dos critérios

para cura (WALTON, 1980; SOUZA *et al*, 1982; SCHUBACH *et al*, 1998). Acredita-se que a persistência de positividade após o tratamento poderia ser atribuída à persistência do parasito e desta forma estes pacientes estariam sob risco de desenvolver a forma mucosa ou recidivar a forma cutânea (SOUZA *et al*, 1982). Porém, já foram relatadas IFI positivas em pacientes curados e sem recorrência (MARSDEN, 1986).

#### 7.4.2 - Imunohistoquímica

Comparando a imunohistoquímica antes do tratamento e trinta dias após o mesmo, observou-se que o CD25 tornou-se positivo em uma parte dos pacientes, mas em títulos baixos. Aparentemente não houve diferença de imunomarcacão entre os dois grupos. Portanto, demonstrando células T e macrófagos ativados com o tratamento. DIAS-COELHO (2003) em um estudo com o objetivo de avaliar a influência do tratamento com N-metil glucamina *in vitro* em fagócitos humanos, observou que esta medicação foi capaz de aumentar a capacidade fagocitária, a produção de radicais de oxigênio e de FNT- $\alpha$ .

A intensidade da imunomarcacão de CD3 manteve-se positiva, com variação que aparentemente não foi significativa, demonstrando a presença de linfócitos T nas lesões dos pacientes de ambos os grupos. O CTLA-4 tendeu a negativar, principalmente no grupo que foi tratado com N-metil glucamina, ou permaneceu fraco positivo. Sabe-se que esta molécula de superfície da célula T ativada, transmite sinais que inibem a ativação de células T, ou seja tem função regulatória (*feedback* negativo) (ABBAS, 2000). Portanto, a medicação provavelmente estimulou a proliferação de células T ativadas, mas não o suficiente para haver a expressão do CTLA-4.

O CD68 foi positivo na maioria dos pacientes mantendo maior intensidade no grupo tratado com anfotericina B lipossomal em relação ao N-metil glucamina. Evidenciando macrófagos e células de Langerhans nas lesões após o tratamento.

O CD20 permaneceu fraco positivo, indicando presença de linfócitos B em pequeno número na maioria dos pacientes após o tratamento nos dois grupos.

O CD15 também não alterou a imunomarcção com o tratamento, permanecendo negativo na maioria dos pacientes dos dois grupos.

Já o  $\alpha$ -leish mostrou diminuição da intensidade da marcação, mas permaneceu positivo na maioria dos pacientes, demonstrando parasitos nas lesões após o tratamento, negativando em três pacientes que tinham sido tratados com N-metil glucamina.. AMATO *et al* (1998), em uma avaliação imunohistoquímica de quinze pacientes com LMC, antes e depois do tratamento, observaram que o antígeno de *Leishmania* podia persistir no tecido mesmo após a cicatrização das lesões. Concluindo que a presença de formas amastigotas ou do antígeno leishmânico após o tratamento pode refletir reinfecção ou persistência do agente, mesmo após a cura das lesões. Este fenômeno de persistência dos parasitos é um fato comprovado na LTA forma cutânea e na leishmaniose visceral (SARAIVA *et al*, 1990).



## 8 - CONCLUSÕES

No grupo tratado com a anfotericina B lipossomal, a taxa de cura foi mais baixa do que o esperado, porém no período de acompanhamento de um ano, nenhum dos pacientes que se curou com esta medicação apresentou recidiva, mostrando que a mesma pode ser eficaz, mas foi usada em dose muito baixa, por isto a falha ocorreu em 50% dos pacientes. Um estudo com o dobro da dose já está sendo realizado no HUB.

A anfotericina B lipossomal induziu uma resposta clínica em cerca de 81% dos pacientes em até 90 dias. Além disto, mostrou ser segura pela baixa incidência de efeitos colaterais e alterações laboratoriais no grupo tratado.

Quanto à resposta ao N-metil glucamina, observou-se uma taxa de cura de 100% e ausência de recidiva em 1 ano de seguimento, provavelmente pelos critérios de inclusão e exclusão rigorosos do estudo, ou seja, os pacientes selecionados não podiam ter comorbidades e eram virgens de tratamento para LTA. Além disto, a maioria dos pacientes procuraram atendimento precocemente, em até 6 meses de duração da doença.

Houve uma tendência a títulos baixos ou negatificação da imunofluorescência indireta nos dois grupos após o tratamento, mostrando que as medicações induziram uma diminuição da carga parasitária no paciente tendo como consequência uma menor ou ausência de produção de anticorpos.

Por meio da imunohistoquímica, realizada pela primeira vez comparando pacientes com LCL tratados com anfotericina B lipossomal e N-metil glucamina, evidenciou-se com o tratamento, aumento de células T e macrófagos ativados, número inalterado de linfócitos B na maioria dos pacientes e diminuição dos parasitos nas lesões, havendo negatificação com o N-metil-glucamina em alguns casos, mas não com a anfotericina B lipossomal. Sugerindo que ambas as medicações foram capazes de induzir uma resposta imune celular para que ocorresse a eliminação do parasito, mas aparentemente o N-metil glucamina foi mais eficaz do que a anfotericina B lipossomal.

Entretanto, mais estudos, com melhor casuística, são necessários para uma conclusão definitiva sobre a resposta clínica e imunológica induzida pela anfotericina B lipossomal em pacientes portadores de LTA forma cutânea localizada.

## 9 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEBISCHER, T. **Recurrent Cutaneous Leishmaniasis: A Role for Persistent Parasites?** Parasitology Today. 10: 25-28, 1994.

ABBAS, AK; LICHTMAN, AH; POBER, JS. **Imunologia Celular & Molecular**. 3<sup>a</sup> edição, Revinter.Rio de Janeiro, 2000.

ALMEIDA R.P; ROCHA, P; JESUS, AR; COSTA, J; CARVALHO, E.M. **Evaluation of cellular immune responses in patients with different clinical forms of tegumentary leishmaniasis**. Allergy and Immunology.14:11-19,1995.

AMATO, VS; NICODEMO, AC; AMATO, JG; BOULOS, B; AMATO-NETO, V. **Mucocutaneous Leishmaniasis associated with HIV infection treated successfully with Liposomal Amphotericin B**. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 46: 341-342, 2000

AMATO, VS; DUARTE, MIS; NICODEMO, AC; CARVALHO, LV; PAGLIARI, C; MATTA; VLR; OLIVEIRA, LS; CASTRO, SM; AMATO, JGP; AMATO-NETO; V. **An evaluation of clinical, serologic, anatomopathologic and immunohistochemical findings for fifteen patients with mucosal leishmaniasis before and after treatment**. Revista do Instituto de Medicina Tropical. 40(1): 1998.

AZEREDO-COUTINHO,RB; MENDONÇA, SC. **An intermittent schedule is better than continuous regimen of antimonial therapy for cutaneous leishmaniasis in the municipality of Rio de Janeiro, Brazil**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 35:477-481, 2002.

BAILY, GG; PITT, MA; CURRY, A; HABOUBI, NY; TUFFIN, JR; MANDAL, BK. **Leishmaniasis of the tongue treated with liposomal Amphotericin B**. Journal of Infections. 28: 327-331, 1994.

BALÃNA-FOUCE, R; REGUERA, RM; CUBRIA, JC; ORDÓNEZ, D. **The pharmacology of Leishmaniasis.** General Pharmacology.30(4): 435-443, 1998.

BARRAL, A; TEIXEIRA, M; REIS, P; VINHAS, V; COSTA, J; LESSA, H *et al.* **Transforming Growth Factor- $\beta$  in Human Cutaneous Leishmaniasis.** American Journal of Pathology. 147:947-954, 1995.

BARRAL-NETO, M.; BADARÓ, R; BARRAL A; CARVALHO, E.M. **Imunologia da Leishmaniose Tegumentar.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 19(3): 173-191, 1986.

BERMAN, J.D. **Human Leishmaniasis: Clinical, Diagnostic, and Chemotherapeutic Developments in the Last 10 years.** Clinical Infectious Diseases. 24: 684-703, 1997.

BOGDAN, C.; GESSNER, A; SOLBACH, W; ROLLINGHOFF, M. **Invasion, Control and Persistence of Leishmania parasites.** Current Opinion in Immunology. 8:517-525, 1996.

BOGDAN, C; ROLLINGHOFF, M; SOLBACH, W. **Evasion Strategies of Leishmania Parasites.** Parasitology Today. 6(6): 183-187,1990.

CÁCERES-DITTMAR, G; TAPIA, F.J; SÁNCHEZ, M.A; YAMAMURA, M; UYEMURA, K; MODLIN, R.L; BLOOM, B.R; CONVIT, J. **Determination of the Cytokine Profile in American Cutaneous Leishmaniasis using the Polymerase Chain Reaction.** Clinical and Experimental Immunology. 91;500-505, 1993.

CARVALHO, MLR; FONTES, CJF; HUEB, M; GUEDES, AM; AFONSO, LCC; MELO, MN. **Leishmaniose Tegumentar no Estado de Mato Grosso (Brasil): estudo clínico, laboratorial e terapêutico.** Anais Brasileiros de Dermatologia. 77(1): 45-56, 2002.

CASTAGNOLA, E; DAVIDSON, RN; TASSO, PFL. **Early efficacy of liposomal amphotericin B in the treatment of visceral leishmaniasis.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 90: 317-318,1996.

CASTELLANO, LRC. **Resposta imune anti-*Leishmania* e mecanismos de evasão.** VITAE Academia Biomédica Digital. Acesso em 02 de agosto de 2006. Site [www.bioline.org.br](http://www.bioline.org.br) 25, 8 f, 2005

CONVIT, J; ULRICH, M; POLEGRE, MA; AVILA A; RODRÍGUEZ, N; MAZZEDO, MI; BLANCO, B. **Therapy of Venezuelan patients with severe mucocutaneous or early lesions of diffuse cutaneous leishmaniasis with a vaccine containing pasteurized leishmania promastigotes and bacillus Calmette- Guerin- Preliminary report.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.99(1): 57-62, 2004.

COSTA, JM; VALE, KC; FANÇA, F; SALDANHA, ACR; SILVA JO; LAGO EL; MARSDEN, PD; MAGALHÃES, AV; SILVA,CMP; NETO, AS; GALVÃO, CES. **Cura espontânea da Leishmaniose causada por *Leishmania (Viannia) braziliensis* em lesões cutâneas.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 23(4): 205-2, 1990.

COUTINHO, S.G;CRUZ, AM; BERTHO, AL; SANTIAGO, M.A; DE-LUCA, P. **Immunologic patterns associated with cure in human American Cutaneous Leishmaniasis.** Brazilian Journal of Medical Biological Research.31: 139-142, 1998.

COUTINHO, SG; PIRMEZ, C; MENDONÇA, SCF; CONCEIÇÃO-SILVA, F; DOREA, RCC. **Pathogenesis and Immunopathology of Leishmaniasis.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 82: 214-228, 1987.

CUBA; LLANOS-CUENTAS A; BARRETO, AC; MAGALHÃES AV; LAGO EL; REED, SG; MARSDEN, PD. **Human mucocutaneous leishmaniasis in três Braços, Bahia-Brazil. An area of *Leishmania (braziliensis) braziliensis* transmission. I. Laboratory diagnosis.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 17(4): 161-167,1984.

DAVIDSON, RN; DI MARTINO, L; GRADONI, L. **Liposomal amphotericin B (AmBisome) in Mediterranean visceral leishmaniasis: a multi-centre trial.** Quartely Journal of Medicine. 87:75-81, 1994.

DAVIES, C; LLANOS-CUENTAS, E; SHARP, S. **Cutaneous leishmaniasis in the peruvian andes: factors associated with variability in clinical symptoms, response to treatment and parasite isolation rate.** *Clinical Infectious Disease*. 25:302-310, 1997.

DEPS, PD; VIANA, MC; FALQUETO, A; DIETZE, R. **Avaliação comparativa da eficácia e toxicidade do antimoniato de N-metil-glucamina e do Estibogluconato de sódio BP 88 no tratamento da Leishmaniose cutânea localizada.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 33(6):535-543,2000.

DESJEUX, P. **Leishmaniasis, public health aspects and control.** *Clinical Dermatology*. 14:417-423,1996.

DIAS-COELHO, VNP. **Influência do tratamento, *in vitro*, de fagócitos humanos e murinos com antimoniato de meglumina sobre a fagocitose, produção de radicais de oxigênio e nitrogênio e fator de necrose tumoral alfa.** 152 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Molecular)- Faculdade de Medicina- Universidade de Brasília- UnB. Brasília, 2003.

DI MARTINO, L; DAVIDSON, RN; GIACCHINO, R. **Treatment of visceral leishmaniasis in children with liposomal amphotericin B.** *Journal of Pediatrics*. 131: 271-277, 1997.

FALQUETO, A. ; SESSA, PA ; FERREIRA, A. L. ; SANTOS, CB ; VAREJÃO, J. B. M. ; CUPOLILLO, E. ; PORROZZI, R. ; CARVALHOPAES, L. ; GRIMALDI JR, G. . **Epidemiological and Clinical Features of Leishmania (Viannia) braziliensis American Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis in the State of Espírito Santo, Brazil.** *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 98 (8):1003-1010, 2003.

FLOETER-WINTER, LM; SHAW, JJ. **New horizons in the identification and taxonomy of the *leishmania* and the diagnoses of the leishmaniasis: the expansion of molecular techniques.** *Research and Advances In Microbiology*. 4: 63-79, 2004.

FREIRE, M; BADARÓ, F; AVELAR, ME; LUZ, K; NAKATANI, MS; TEIXEIRA, R; NETTO, EM; BADARÓ, R. **Efficacy and Tolerability of Liposomal Amphotericin B (AmBisome) in the treatment of Visceral Leishmaniasis in Brazil.** The Brazilian Journal of Infectious Diseases. 1(5):230-240, 1997.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). **Manual de controle da leishmaniose tegumentar americana.** Vigilância Epidemiológica. site [www.ipecc.fiocruz.br/pepes/leish/manual](http://www.ipecc.fiocruz.br/pepes/leish/manual). Acesso em maio de 2006. Ministério da Saúde, 62 f, Brasília, 2000.

FURTADO, T. **Critérios para o diagnóstico da Leishmaniose Tegumentar Americana.** Anais Brasileiros de Dermatologia. 55(2): 81-86, 1980.

FURTADO, VMG. **Imunofenotipagem em leishmaniose cutânea: Imunohistoquímica como ferramenta para estudar a reação imune e a apoptose em uma série de pacientes com leishmaniose cutânea no Distrito Federal.** 68f. Dissertação (Mestrado em Patologia). Faculdade de Medicina- Universidade de Brasília-UnB, Brasília-DF, 2006.

GRANT, A; SPRAGGS, PDR; GRANT, HR. **Laryngeal Leishmaniasis.** Journal of Laryngology and Otology 108:1086-1088, 1994.

GONTIJO, B; CARVALHO, MLR. **Leishmaniose tegumentar americana.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 36(1):71-80, 2003.

GRADONI, L; BRYCESON, A; DESJEUX, P. **Treatment of Mediterranean visceral leishmaniasis.** World Health Organization (WHO) Bulletin. 73(2): 191-197, 1995.

GRIMALDI JR, G. **Meetings on Vaccine Studies Towards the control of Leishmaniasis.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 90(4): 553-556, 1995.

HASHIM, F.A; KHALIL, E.AG; ISMAIL, A; EL HASSAN, AM. **Apparently successful treatment of two cases of post Kala-azar Dermal Leishmaniasis with**

**liposomal amphotericin B.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 89:440, 1995.

HIEMENZ, W; WALSH, TJ. **Lipid Formulations of Amphotericin B: Recent Progress and Future Directions.** Clinical Infectious Diseases ,22(2): 133-144, 1996.

HUEB, M; QUADROS, MB; BARBIERI, A; ZUCHETTO, A; SILVA, SBR. **Anfotericina B Lipossomal no tratamento das Leishmanioses.** XLI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. p 350, 2004

JANKEGT, R; DE MARIE, S; BAKKER-WOUDENBERG, IAJM; CROMMELIN, DJA. **Liposomal and lipid formulations of Amphotericin B.** Clinical Pharmacokinetics. 23: 279-291, 1992.

JOHN FP; SILVA, TAV; SAMPAIO RNR; PAULA CDR. **Autoctonia de leishmaniose tegumentar americana no Distrito Federal-Brasil: estudo em humanos.** XVIII Reunião Anual de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas. VI Reunião de Pesquisa Aplicada em Leishmanioses. Programa e resumos. p 76, outubro, 2002.

LEMOS, JC; LIMA, SC; COSTA, MB; MAGALHÃES, MJ. **Leishmaniose tegumentar americana: fauna flebotomínica em área de transmissão no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.** Caminhos da Geografia- revista on line. 2 (3): 57-73, 2001.

LLANOS-CUENTAS, E.AL.; MARSDEN, PD; LAGO, EL; BARRETO, AC; CUBA C.C.; JONHSON W. D. **Human mucocutaneous leishmaniasis in Três Braços, Bahia- Brasil. An area of Leishmania (Braziliensis) braziliensis transmission.** II Cutaneous disease. Presentation and evolution. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 17:169-177, 1984.

MAGALHÃES, AV; MORAES, MAP; RAICK, NA; LLANOS-CUENTAS, A; COSTA, JML; CUBA,CC;MARS DEN,PD. **Histopatologia da leishmaniose**



**tegumentar por Leishmania braziliensis braziliensis. Classificação histopatológica.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 28: 421-430, 1986.

MARSDEN, PD; BADARÓ, R; NETTO, EM; CASLER, JD. **Spontaneous clinical resolution without specific treatment in mucosal leishmaniasis.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 85: 221, 1991.

MARSDEN, PD. **Mucosal leishmaniasis (espundia Escomel, 1911).** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine Hygiene. 80:859-876, 1986.

MARSDEN, PD; TADA, MS; BARRETO,AC; CUBA, CC. **Spontaneous healing of Leishmania braziliensis braziliensis skin ulcers.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 78: 561-562, 1984.

MARTÍNEZ-ARENDS, A; TAPIA, F.J; CÁCERES-DITTMAR, G;. MOSCA, W; VALECILLOS,L; CONVIT, J. **Immunocytochemical characterization of immune cells in lesions of American Cutaneous Leishmaniasis using novel T cell markers.** Acta Tropica. 49: 271-280, 1991.

MAUEL, J. **Macrophage-Parasite Interactions in Leishmania Infections.** Journal of Leukocyte Biology. 47: 187-193, 1990.

MERCHAN-HAMANN, E. **Ensaio terapêutico com quatro dosagens de antimonial no tratamento da leishmaniose cutânea causada por Leishmania (Viannia) braziliensis.** 155 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Faculdade de Ciências da Saúde – Universidade de Brasília. Brasília-DF,1989.

MEUNIER, F; PRENTICE, HG; RINGDÉN . **Liposomal Amphotericin B (AmBisome): safety data from a phase II/III clinical trial.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 28( B): 83-91, 1991.

MODLIN, R.L; TAPIA, F.J; BLOOM, B.R; GALLINOTO, M.E; CASTES, M; RONDON, AJ; REA, T.H; CONVIT, J. **In Situ Characterization of the Cellular**

**Immune Response in American Cutaneous Leishmaniasis.** Clinical Experimental Immunology. 60: 241-248, 1985.

NAME, RQ; BORGES,KT; NOGUEIRA, LSC; SAMPAIO, JHD; TAUIL, PL; SAMPAIO RNR. **Estudo clínico, epidemiológico e terapêutico de 402 pacientes com leishmaniose tegumentar americana atendidos no Hospital Universitário de Brasília, DF, Brasil.** Anais Brasileiros de Dermatologia. 80(3):249-254, 2005.

NAME, R.Q; BORGES K.T; NOGUEIRA L.S.C; SAMPAIO J.H.D; SAMPAIO R.N.R. **Leishmaniose Tegumentar Americana no Hospital Universitário de Brasília (HUB): 478 casos.** XX Reunião Anual de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas. VIII Reunião de Pesquisa Aplicada em Leishmanioses. Programa e Resumos 22. Outubro, 2004.

NAVIN, TR; ARANA, FE; MERIDA, AM; ARANA,BA; CASTILLO,L; SILVERS, DN. **Cutaneous Leishmaniasis in Guatemala: comparison of diagnostic methods.** American Journal of Medicine and Hygiene. 42(1): 36-42, 1990.

NOGUEIRA, LSC; SAMPAIO, RNR. **Estudo hospitalar da leishmaniose tegumentar americana (LTA): epidemiologia e tratamento.** Anais Brasileiros de Dermatologia. 76:51-62, 2001.

OLIVEIRA-NETO, MP; MATTOS, MS. **An alternative antimonial schedule to be used in cutaneous leishmaniasis when high doses of antimony are undesirable.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 39(4):323-326, 2006 (a).

OLIVEIRA- NETO, MP; MATTOS, MS. **Successful Therapeutic response of resistant cases of mucocutaneous leishmaniasis to a very low dose of antimony.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 39(4):376-378, 2006 (b).

OLIVEIRA-NETO, MP; SCHUBACH, A; ARAÚJO, ML; PIRMEZ, C. **High and low doses of Antimony (SbV) in American Cutaneous Leishmaniasis. A five years follow-up study of 15 patients.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 91(1): 207-209, 1996.

PASSOS, VMA; FALCÃO, AL; BARRETO, SM; ROMANHA, AJ; KRETTLI, AV; VOLPINI, AC. **Leishmaniose tegumentar na região metropolitana de Belo Horizonte: aspectos clínicos, laboratoriais, terapêuticos e evolutivos.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 34:5-12, 2001.

PAULA, CDR; SAMPAIO JH; CARDOSO, DR; SAMPAIO, RNR. **A comparative study between the efficacy of pentamidine isothionate given in three doses for one week and N-metil glucamine in a dose of 20mg SbV/day for 20 days to treat cutaneous leishmaniasis.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 36: 365-371, 2003.

PAULA, CDR. **Estudo comparativo entre isotionato de pentamidina administrada em três doses, com o esquema usual de metil-glucamina para o tratamento da forma cutânea da leishmaniose tegumentar americana.** 137f. Dissertação (Mestrado em Dermatologia)- Faculdade de Ciências da Saúde- Universidade de Brasília- UnB. Brasília,1999.

PEREIRA, MG. **Epidemiologia: teoria e prática.** Guanabara-Koogan.Rio de Janeiro, 1995.

PINHEIRO, RO. **Leishmaniose Tegumentar Americana: mecanismos imunológicos, tratamento e profilaxia.** Infarma. 16(7-8):79-82, 2004.

PIRMEZ, C. **Immunopatology of American Cutaneous Leishmaniasis.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 87(V): 105-109,1992

PIRMEZ, C; OLIVEIRA-NETO, M.P; GRIMALDI, J.G; SAVINO, W. **Immunopathology of American Cutaneous Leishmaniasis. Modulation of MHC Class II Gene Products by Keratinocytes before and after Glucantime therapy.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 85 (2): 203-209,1990.

PORTO, C. **Autoctonia da leishmaniose tegumentar americana no Distrito Federal: Estudo em seres humanos e cães na cidade de São Sebastião.** Dissertação (Mestrado

em Dermatologia) - Faculdade de Ciências da Saúde - Universidade de Brasília - Brasília, DF, 86f, 2004.

PRENTICE, HG; HANN, IM; HERBRECHT, R et al. **A randomized comparison of liposomal versus conventional amphotericin B for the treatment of pyrexia of unknown origin in neutropenic patients.** British Journal of Haematology, 98:711-718, 1997.

REIS, CL; BRITO, MEF; SOUZA, MA; PEREIRA, VRA. **Mecanismos imunológicos da resposta celular e humoral na leishmaniose tegumentar americana.** Revista de Patologia Tropical, 35(2):2006.

RIBEIRO-DE-JESUS, A; ALMEIDA, R.P; LESSA, H; BACELLAR, A; CARVALHO E.M. **Cytokine profile and pathology in human leishmaniasis.** Brazilian Journal of Medical and Biological Research.31:143-148,1998.

RIBEIRO, LC; QUADROS, MB; LACERDA, WS; COSTA, CBS; SILVA, RF; HUEB, M. **Tratamento de um caso de leishmaniose cutânea difusa com anfotericina B lipossomal.** XVIII Reunião Anual de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas. VI Reunião de Pesquisa Aplicada em Leishmanioses. Programa e Resumos, p 80, outubro, 2002.

RODRIGUES, AM; HUEB, M; RODRIGUES-DOS-SANTOS, TAR; FONTES, CJF. **Fatores associados ao insucesso do tratamento da leishmaniose cutânea com antimoniato de meglumina.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 39(2):139-145, 2006.

ROMERO, GA, GUERRA, MV; PAES, MG; MACEDO, VO. **Comparison of cutaneous leishmaniasis due to Leishmania (Viannia) braziliensis and L.(V) guyanensis in Brazil: therapeutic response to meglumine antimoniate.** American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 65: 456-465, 2001.

ROUSTAN, G; JIMENÉZ, JÁ; GUTIÉRREZ-SOLAR, B; GALLEGOS, JL; ALVAR, J; PATRON, M. **Post-Kalazar Dermal Leishmaniasis with mucosal involvement in a**

**kidney transplant recipient: treatment with Liposomal Amphotericin B.** British Journal of Dermatology. 138: 526-528, 1998.

SALDANHA, ACR; ROMERO, GAS; MERCHAN-HAMANN, E; MAGALHÃES, AV; MACEDO, VO. **Estudo comparativo entre estibogluconato de sódio BP 88 R e antimoniato de meglumina no tratamento de leishmaniose cutânea: I. Eficácia e segurança.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 32(4): 383-387, 1999.

SALDANHA, ACR; ROMERO, GAS; MERCHAN-HAMANN, E; GUERRA, C; MACEDO, VO. **Estudo comparativo entre estibogluconato de sódio BP 88R e antimoniato de meglumina no tratamento da leishmaniose cutânea II. Toxicidade bioquímica e cardíaca.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 33(4): 383-388, 2000.

SAMPAIO, R.N.R; NOGUEIRA, L; TAUIL, P. A **Hospital Study of Mucocutaneous Leishmaniasis: Epidemiology and treatment.** 9TH Congress of The European Academy Dermatology and Venerology, Geneva, Switzerland. Abstracts of the 9th Congress of EADV,182, 2000.

SAMPAIO, RNR; PAULA, CDR. **Leishmaniose Tegumentar Americana no DF.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina tropical. 32(5): 523-528, 1999.

SAMPAIO, R.N.R; MARSDEN, PD. **Mucosal Leishmaniasis unresponsive to glucantime therapy successfully treated with AmBisome.** Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine Hygiene.91(1): 77, 1997.

SAMPAIO, RNR. **Morte súbita causada por glucantime.** XLI Congresso Brasileiro de Dermatologia, São Paulo-SP. Anais do 41º Congresso Brasileiro de Dermatologia. São Paulo- Brasil, 1986.

SARAIVA, NG; KRISTEN, W; SEGURA, I. **Recurrent lesions in human *Leishmania braziliensis* infection reactivation or reinfection?** Lancet. 336: 398-402, 1990.

SCHUBACH, A; CUZZI-MAYA, T; OLIVEIRA, AV; SARTORI, A; OLIVEIRA-NETO, M; MATTOS, MS; ARAÚJO, ML; SOUZA, WJS; HADDAD, F. **Leishmanial antigens in the diagnosis of active lesions and ancient scars of american tegumentary leishmaniasis patients.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 96(7):987-996, 2001.

SCHUBACH, A; MARZOCHI, MCA; CUZZI-MAIA, T; OLIVEIRA, AV; ARAÚJO, ML; OLIVEIRA, ALC; PACHECO, RS; MOMEN, H; CONCEIÇÃO-SILVA, F; COUTINHO, SG; MARZOCHI, KBF. **Cutaneous Scars in American Tegumentary Leishmaniasis patients: a site of *Leishmania (viannia) braziliensis* persistence and viability eleven years after antimonial therapy and clinical cure.** American Journal of Medicine and Hygiene. 58 (6): 824-827, 1998

SCOTT, P. **IFN- $\gamma$  Modulates the early development of Th1 and Th2 responses in a murine model of cutaneous leishmaniasis.** The Journal of Immunology. 147(9): 3149-3155, 1991.

SOUZA, WJS; COUTINHO, SG; MARZOCHI, MCA; TOLEDO, LM; GOTTIEB, MV. **Utilizando da reação de imunofluorescência indireta no acompanhamento da terapêutica da leishmaniose tegumentar americana.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 77:247-253, 1982.

SUNDAR, S; AGRAWAL, G; RAI, M; MAKHARIA, MK; MURRAY, HW. **Treatment of Indian Visceral Leishmaniasis with single or daily infusions of low dose Liposomal Amphotericin B: randomised trial.** British Journal of Medicine. 323: 419-422, 2001(a).

SUNDAR, S; JHA, T.K; TAKUR, CP. **Indian Visceral Leishmaniasis (VL): from Antimonials to single day treatment with Liposomal Amphotericin B (AmBisome).** Abstracts of the World Congress of Leishmaniasis. Greece. 33, 2001(b).

SUNDAR, S; JHA, TK; THAKUR, CP. **Five-day low dose regimen of Liposomal Amphotericin B (AmBisome) for antimony-unresponsive Indian Visceral Leishmaniasis.** Abstracts at 36<sup>th</sup> Annual Meeting of Infectious Diseases Society of America, Denver, 1998.

TALHARI, S; TALHARI, A C.; FERREIRA, L.C.L.; NAIFF, R. **Leishmaniose cutâneomucosa.** In: Talhari S, Neves R G. *Dermatologia Tropical*, 1<sup>a</sup> edição, Rio de Janeiro, Medsi, 23-45, 1995.

TAPIA, F.J; CÁCERES-DITTIMAR, G; SÁNCHEZ, M.A. **Inadequate Epidermal Homing leads to tissue damage in Human Cutaneous Leishmaniasis.** *Immunology Today*. 15(4): 160-165, 1994.

THAKUR, CP; PANDEY, AK; SINHA, GP; ROY, S; BEHBEHANI, K; OLLIARO, P. **Comparison of three treatment regimens with liposomal amphotericin B (AmBisome) for visceral leishmaniasis in India: a randomized dose-finding study.** *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine And Hygiene*. 90: 319-322, 1996.

TORRE-CISNEROS, J; PRADA, JL; VILLANUEVA, JL; VALVERDE, F; SÁNCHEZ-GUIJÓ, P. **Successful treatment of antimony-resistant cutaneous leishmaniasis with liposomal amphotericin B.** *Clinical Infectious Diseases* 18:1024-5, 1994.

TORRES-CISNEROS, J; VILLANUEVA, JL. **Successful treatment of antimony-resistant visceral leishmaniasis with liposomal amphotericin B in patients infected with human immunodeficiency virus.** *Clinical Infectious Disease*. 17: 625-627, 1993.

VELOZO, D; CABRAL, A; RIBEIRO, MCM; MOTTA, JOC; COSTA,IMC; SAMPAIO,RNR. **Leishmaniose mucosa fatal em criança.** *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 81(3):255-259, 2006

VEXENAT, AC; SAMPAIO, RNR; MARCHAN, EM; TRISTÃO, RJ; MARSDEN, PD. **Combined Antimonial Allopurinol Therapy In Mucosal Leishmaniasis.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.85:373-374, 1990.

VEXENAT, AC; **Temperatura, um fator determinante na atividade de Lutzomia whitmani (Díptera, Psychodidae).** Dissertação (Mestrado em Ecologia) Universidade de Brasília- UnB, 1991

VIEIRA, MGS; OLIVEIRA,F; ARRUDA, S; BITTENCOURT, AL; BARBOSA, AAJr; BARRAL-NETTO, M; BARRAL,A **B-cell infiltration and frequency of cytokine producing cells differ between localized and disseminated human cutaneous leishmaniases.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 97(7): 979-983, 2002.

WALSH, TJ; FINBERG, RW, ARNDT, C; et al. **Liposomal amphotericin B for empirical therapy in patients with persistent fever and neutropenia.** New England Journal of Medicine. 340:764-771, 1999.

WALTON, CB. **Evaluation of chemotherapy of American leishmaniasis by the indirect fluorescent antibody test.** American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 29:747-752, 1980.

WANKE, CFN; BIRKENHAUER, MC; MACIEIRA, JMP; SILVA, FC; PEREZ, M. **Leishmaniose tegumentar: estudo retrospectivo de 65 casos.** Anais Brasileiros de Dermatologia. 66: 49-54, 1991.

WEIGLE, K; SARAIVA, NG. **Natural History, Clinical Evolution, and the Host-Parasite Interaction in New World Cutaneous Leishmaniasis.** Clinics in Dermatology. 14:433-450, 1996.

WONG-BERINGER, A; JACOBS, R.A; GUGLIELENO, B. **Lipid Formulations of Amphotericin B: Clinical Efficacy and Toxicities.** Clinical Infectious Diseases. 27:603-618, 1998.



WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Control of Leishmaniasis: report of WHO expert committee.** Technical Report Series, 793. Geneva, 1990.

ZILBERSTEIN, D. **Antimony Metabolism and Resistance in leishmania: An Overview.** Abstracts of the World Congress of Leishmaniasis. Greece. p 31, 2001.

## ANEXOS

**ANEXO I - ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS DOS PACIENTES TRATADOS COM ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL (1,5mg/kg/dia por 5 dias) NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA, 2000-2004**

| Pacientes | Sexo | Idade | Procedência | Ocupação                  | Número / Local das lesões | Diâmetro (cm) / Tipo das lesões | Tempo de evolução ( meses) | Período para cura clínica ( dias) |
|-----------|------|-------|-------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------------|----------------------------|-----------------------------------|
| 1         | M    | 29    | GO          | Agricultor                | 02 MI                     | 3,2 / úlcera<br>4,0 / úlcera    | 07                         | 90                                |
| 2         | M    | 35    | DF          | Pedreiro                  | 02 MI                     | 3,5 / úlcera<br>3,0 / placa     | 24                         | 60                                |
| 3         | M    | 45    | TO          | Auxiliar de contabilidade | 02 MI                     | 5,0 / úlceras                   | 03                         | Falha                             |
| 4         | M    | 28    | DF          | Agricultor                | 01 MI                     | 2,0 x 1,5 / úlcera              | 05                         | 31 a 60                           |
| 5         | M    | 22    | PA          | Funileiro                 | 01 face                   | 5,0 x 3,0 / placa               | 04                         | 15                                |
| 6         | M    | 21    | PA          | Desempregado              | 01 MS                     | 3,5 x 2,5 / úlcera              | 07                         | Falha                             |
| 7         | M    | 56    | Venezuela   | Tradutor                  | 02 MS                     | 2,0 / úlcera<br>1,0 / úlcera    | 02                         | Falha                             |
| 8         | M    | 19    | DF          | Estudante                 | 01 região cervical        | 5,0 x 3,0 / úlcera              | 06                         | 90                                |

**ANEXO I - ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS DOS PACIENTES TRATADOS COM ANFOTERICINA B  
LIPOSSOMAL (1,5mg/kg/dia por 5 dias) NO HOSPITAL UNIVERESITÁRIO DE BRASÍLIA, 2000-2004  
(CONTINUAÇÃO)**

| Pacientes | Sexo | Idade | Procedência | Ocupação    | Número /<br>Local<br>das lesões | Diâmetro (cm) / Tipo<br>das lesões | Tempo de<br>evolução<br>( meses) | Período para cura<br>clínica<br>( dias) |
|-----------|------|-------|-------------|-------------|---------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------------|
| 9         | M    | 27    | DF          | Motoboy     | 01 MI                           | 2,5 / úlcera                       | 04                               | 90                                      |
| 10        | M    | 16    | DF          | Estudante   | 02 MI                           | 4,0 / úlcera<br>2,0 / úlcera       | 04                               | Falha                                   |
| 11        | F    | 14    | DF          | Estudante   | 01 MI                           | 4,0 / úlcera                       | 04                               | Falha                                   |
| 12        | M    | 22    | DF          | Agricultor  | 01 MI                           | 5,0 / úlcera                       | 03                               | Falha                                   |
| 13        | M    | 16    | MG          | Estudante   | 01 MI                           | 1,0 / úlcera                       | 06                               | 30                                      |
| 14        | M    | 22    | DF          | Agricultor  | 01 MS                           | 2,0 /úlcera                        | 02                               | 30                                      |
| 15        | M    | 58    | GO          | Agricultor  | 01 tronco<br>01 MS              | 2,5 /úlcera<br>4,5 /úlcera         | 01                               | Falha                                   |
| 16        | M    | 35    | DF          | Confeiteiro | 01 MS                           | 3,0 / úlcera                       | 01                               | Falha                                   |

M= masculino

F= feminino

GO= Goiás DF= Distrito Federal TO= Tocantins PA= Pará MG= Minas Gerais

MI= membro inferior

MS= membro superior

**ANEXO II - ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS DOS PACIENTES TRATADOS COM N-METIL GLUCAMINA  
(20 mg SbV/kg/dia por 20 dias) NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA, 2000-2004**

| Pacientes | Sexo | Idade | Procedência | Ocupação      | Número/ local das lesões      | Diâmetro (cm)/<br>Tipo das lesões                           | Tempo de evolução (meses) | Período para cura clínica (dias) |
|-----------|------|-------|-------------|---------------|-------------------------------|-------------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------|
| 1         | F    | 31    | BA          | Recepcionista | 01 tronco                     | 1,0 / placa                                                 | 12                        | TT                               |
| 2         | M    | 36    | GO          | Vigilante     | 05 MI                         | 2,0 / 2 úlceras<br>5,0 x 3,0 / úlcera<br>0,5 / 2 úlceras    | 1 mês e 20 dias           | 40                               |
| 3         | F    | 19    | PA          | Do lar        | 03 face                       | 2,0 x 1,0 / placa<br>1,5 x 1,0 / placa<br>1,5 x 1,0 / placa | 24                        | 60                               |
| 4         | M    | 38    | BA          | Pintor        | 01 reg. cervical              | 4,0 x 1,0 / úlcera                                          | 05                        | TT                               |
| 5         | M    | 19    | PA          | Agricultor    | 01 MI                         | 8,0 x 5,0 / úlcera                                          | 12                        | 30                               |
| 6         | M    | 50    | TO          | Agricultor    | 01 tronco<br>04 MS            | 3,0 / úlcera<br>4,0 / placa<br>0,5 / 3 úlceras              | 12                        | 90                               |
| 7         | M    | 31    | DF          | Agricultor    | 01 reg. cervical<br>01 tronco | 1,0 / úlcera<br>2,0 / úlcera                                | 03                        | 30                               |
| 8         | M    | 61    | PA          | Camelô        | 04 MI<br>02 MS                | 5,0 / 2 úlceras<br>3,0 / 2 úlceras<br>2,0 / 2 úlceras       | 05                        | 90                               |

**ANEXO II - ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS DOS PACIENTES TRATADOS COM N-METIL  
GLUCAMINA (20 mg SbV/kg/dia por 20 dias) NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA, 2000-2004  
(CONTINUAÇÃO)**

| Pacientes | Sexo | Idade | Procedência | Ocupação   | Número/ local das lesões | Diâmetro (cm)/<br>Tipo das lesões                    | Tempo de evolução (meses) | Período para cura clínica (dias) |
|-----------|------|-------|-------------|------------|--------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------|
| 9         | M    | 41    | TO          | Agricultor | 02 tronco<br>01 face     | 0,5 / 2 úlceras<br>2,5 x 1,0 / placa                 | 06                        | 90                               |
| 10        | M    | 54    | GO          | Militar    | 02 MS                    | 5,0 x 4,0 /<br>2 úlceras                             | 01                        | 30                               |
| 11        | M    | 18    | DF          | Estudante  | 01 MS                    | 1,5 / úlcera                                         | 02                        | 30                               |
| 12        | M    | 26    | DF          | Agricultor | 01 MI                    | 3,0 x 2,0 / úlcera                                   | 1 mês e 15 dias           | 90                               |
| 13        | M    | 25    | BA          | Agricultor | 01 MI                    | 5,0 x 4,0 / úlcera                                   | 03                        | 30                               |
| 14        | M    | 43    | TO          | Pintor     | 01 face<br>01 MI         | 4,0 / úlcera<br>8,0 / úlcera                         | 25 dias                   | TT                               |
| 15        | M    | 15    | MA          | Estudante  | 01 orelha                | 3,0 / úlcera                                         | 02                        | TT                               |
| 16        | M    | 19    | DF          | Servente   | 01 MI                    | 3,0 / úlcera                                         | 07                        | 30                               |
| 17        | M    | 33    | GO          | Motorista  | 02 MS                    | 5,0 x 3,0 / úlcera<br>2,5 x 1,5 / úlcera             | 12                        | 30                               |
| 18        | M    | 33    | MG          | Agricultor | 04 MS                    | 2,5 / úlcera<br>1,5 x 1,0/ 2 úlceras<br>1,0 / úlcera | 03                        | 30                               |
| 19        | F    | 27    | GO          | Agricultor | 02 MI                    | 5,0 x 3,0 / úlcera<br>3,0 / úlcera                   | 06                        | 30                               |

F= feminino M= masculino TT= término do tratamento BA= Bahia TO= Tocantins MA= Maranhão

**ANEXO III - RESULTADOS DOS EXAMES DIAGNÓSTICOS DOS PACIENTES TRATADOS COM ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL ( 1,5mg/kg/dia por 5 dias) NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA, 2000-2004**

| Pacientes | IDRM ( mm) | IFI pré-T | IFI 3 meses pós-T | Esfregaço | Cultura  | Inoculação | Exame histopatológico | Espécie / Subgênero |
|-----------|------------|-----------|-------------------|-----------|----------|------------|-----------------------|---------------------|
| 1         | 18 x 18    | 1:160     | 1:80              | Negativo  | Positiva | Negativa   | SD                    | NcrioP              |
| 2         | 25 x 22    | SD        | SD                | Negativo  | Positiva | Positiva   | REC/ SP               | Viannia             |
| 3         | Positivo   | 1:160     | 1:80              | Positivo  | Positiva | Positiva   | REC/ SP               | L(V)b               |
| 4         | 14 x 13    | 1:20      | Negativa          | Positivo  | Positiva | Negativa   | SD                    | L(V)b               |
| 5         | Positivo   | Negativa  | Negativa          | Positivo  | Negativa | Negativa   | SD                    | NcrioP              |
| 6         | Positivo   | Negativa  | Negativa          | Positivo  | Positiva | Negativa   | REC/ CP               | CrioPNI             |
| 7         | 13 x 13    | 1:80      | 1:40              | Positivo  | Positiva | Positiva   | REC/ CP               | L(L)a               |
| 8         | 30 x 25    | 1:20      | 1:40              | Positivo  | Negativa | Positiva   | SD                    | L(V)s               |
| 9         | 20 x 20    | 1:40      | Negativa          | Negativo  | Negativa | Positiva   | REC/ SP               | L(V)b               |
| 10        | 14 x 14    | 1:40      | 1:40              | Negativo  | Negativa | Positiva   | REG/ SP               | L(V)b               |
| 11        | 15 x 12    | 1:40      | 1:40              | Positivo  | Positiva | Positiva   | REG/ SP               | L(V)b               |
| 12        | Negativo   | 1:40      | 1:40              | Negativo  | Positiva | Positiva   | REC/ CP               | CrioPNI             |
| 13        | 17 x 15    | Negativa  | Negativa          | Negativo  | Positiva | Positiva   | REG/ CP               | L(L)a               |

**ANEXO III - RESULTADOS DOS EXAMES DIAGNÓSTICOS DOS PACIENTES TRATADOS COM ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL ( 1,5mg/kg/dia por 5 dias) NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA, 2000-2004  
(CONTINUAÇÃO)**

| Pacientes | IDRM ( mm) | IFI pré-T | IFI 3 meses pós-T | Esfregaço | Cultura  | Inoculação | Exame histopatológico | Espécie / Subgênero |
|-----------|------------|-----------|-------------------|-----------|----------|------------|-----------------------|---------------------|
| 14        | 25 x 25    | SD        | 1:20              | Positivo  | Positiva | Positiva   | REG/ CP               | L(L)a               |
| 15        | 7 x 5      | 1:320     | 1:80              | Positivo  | Positiva | Negativa   | REG/ SP               | NcrioP              |
| 16        | Positivo   | SD        | Negativa          | Positivo  | Positiva | Positiva   | REC/ CP               | L(V)b               |

IFI pré- T= Imunofluorescência indireta antes do tratamento

IFI 3 meses pós-T = Imunofluorescência indireta 3 meses após tratamento

SD= sem descrição

REC= reação exsudativa celular

REG= reação exsudativa granulomatosa

RENG= reação exsudativa necrótico- granulomatosa

SP= sem parasito

CP= com parasito

L(V)b= *Leishmania Viannia braziliensis*

L(L)a= *Leishmania Leishmania amazonensis*

NcrioP = não foi criopreservada

CrioP(NI)= criopreservada; mas não identificada



**ANEXO IV - RESULTADOS DOS EXAMES DIAGNÓSTICOS DOS PACIENTES TRATADOS COM N-METIL GLUCAMINA (20 mg SbV/kg/dia por 20 dias) NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA, 2000-2004**

| Pacientes | IDRM (mm) | IFI pré-T | IFI 3 meses pós-T | Esfregaço | Cultura  | Inoculação | Exame histopatológico | Espécie / Subgênero |
|-----------|-----------|-----------|-------------------|-----------|----------|------------|-----------------------|---------------------|
| 1         | 10 x 10   | Negativa  | Negativa          | Negativo  | Negativa | Negativa   | REG/ SP               | NcrioP              |
| 2         | 10 x 10   | Negativa  | Negativa          | Positivo  | Positiva | Positiva   | RENG/ SP              | L(V)b               |
| 3         | 17 x 13   | Negativa  | Negativa          | Negativo  | Negativa | Negativa   | RENG/ SP              | NcrioP              |
| 4         | 20 x 15   | Negativa  | Negativa          | Negativo  | Negativa | Negativa   | REG/ SP               | L(V)b               |
| 5         | 15 x 15   | Negativa  | Negativa          | Positivo  | Positiva | Positiva   | REG/ SP               | CrioP(NI )          |
| 6         | 06 x 04   | Negativa  | Negativa          | Negativo  | Negativa | Negativa   | REC/SP                | NcrioP              |
| 7         | 10 x 10   | 1:320     | Negativa          | Positivo  | Positiva | Positiva   | REG/SP                | CrioP(NI)           |
| 8         | 10 x 06   | 1:80      | 1:20              | Positivo  | Positiva | Positiva   | REC/ SP               | L(V)b               |
| 9         | 16 x 15   | Negativa  | Negativa          | Negativo  | Positiva | Positiva   | REG/ SP               | L(V)b               |
| 10        | Negativo  | 1:20      | 1:80              | Positivo  | Positiva | Positiva   | REG/ SP               | L(V)b               |
| 11        | Negativo  | 1:40      | 1:20              | Positivo  | Positiva | Positiva   | REG/ SP               | L(V)b               |
| 12        | 10 x 07   | Negativa  | Negativa          | Positivo  | Positiva | Positiva   | REC/ SP               | L(V)b               |
| 13        | 20 x 15   | Negativa  | Negativa          | Positivo  | Positiva | Positiva   | REG/SP                | NcrioP              |

**ANEXO IV - RESULTADOS DOS EXAMES DIAGNÓSTICOS DOS PACIENTES TRATADOS COM N-METIL  
GLUCAMINA (20 mg SbV/kg/dia por 20 dias) NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA, 2000-2004  
(CONTINUAÇÃO)**

|    |         |          |          |          |             |          |         |        |
|----|---------|----------|----------|----------|-------------|----------|---------|--------|
| 14 | 30 x 25 | 1:20     | Negativa | Positivo | Positiva    | Positiva | REC/ SP | L(V)b  |
| 15 | 09 x 07 | 1:80     | Negativa | Positivo | Positiva    | Positiva | REC/ SP | L(V)b  |
| 16 | 25 x 23 | Negativa | Negativa | Negativo | Negativa    | Negativa | REC/ SP | NcrioP |
| 17 | 05 x 05 | 1:320    | 1:80     | Negativo | SD          | SD       | REC/ SP | NcrioP |
| 18 | 20 x 20 | 1:80     | Negativa | Positivo | Positiva    | Positiva | REC/ SP | L(V)b  |
| 19 | 20 x 18 | 1:160    | Negativa | Negativo | Contaminada | Negativa | REG/ SP | NcrioP |

IFI pré- T= Imunofluorescência indireta antes do tratamento

IFI 3 meses pós-T = Imunofluorescência indireta 3 meses após tratamento

SD= sem descrição

REC= reação exsudativa celular

REG = reação exsudativa granulomatosa

RENG= reação exsudativa necrótico- granulomatosa

SP= sem parasito

CP= com parasito

L(V)b= *Leishmania (Viannia) braziliensis*

L(L)a= *Leishmania Leishmania amazonensis*

NcrioP = não foi criopreservada

CrioP(NI)= criopreservada; mas não identificada

**ANEXO V - EVENTOS ADVERSOS E ALTERAÇÕES DOS EXAMES LABORATORIAIS E ELETROCARDIOGRÁFICOS NOS PACIENTES DOS DOIS GRUPOS ( PACIENTES 1 A 16 TRATADOS COM ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL NA DOSE DE 1,5 mg/kg/dia por 5 dias E PACIENTES 17 A 35 TRATADOS COM N-METIL GLUCAMINA NA DOSE DE 20 mg SbV/ kg/dia por 20 dias) NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA, 2000-2004**

| Pacientes | Mialgia | Artralgia | Cefaléia | Taqui-<br>cardia | Dor<br>lombar | Hexheimer | Gosto<br>amargo | Creat. | Uréia | Bil. | Tran-<br>sam. | FAL | Amil. | ECG |
|-----------|---------|-----------|----------|------------------|---------------|-----------|-----------------|--------|-------|------|---------------|-----|-------|-----|
| 1         | A       | A         | A        | A                | SIM           | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 2         | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | ND    | N   |
| 3         | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 4         | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 5         | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 6         | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 7         | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 8         | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 9         | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | ND    | N   |
| 10        | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 11        | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 12        | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 13        | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 14        | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | SIM    | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 15        | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 16        | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 17        | SIM     | A         | SIM      | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 18        | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | SIM    | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 19        | A       | SIM       | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |

**ANEXO V - EVENTOS ADVERSOS E ALTERAÇÕES DOS EXAMES LABORATORIAIS E ELETROCARDIOGRÁFICOS NOS PACIENTES DOS DOIS GRUPOS ( PACIENTES 1 A 16 TRATADOS COM ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL NA DOSE DE 1,5 mg/kg/dia por 5 dias E PACIENTES 17 A 35 TRATADOS COM N-METIL GLUCAMINA NA DOSE DE 20 mg SbV/ kg/dia por 20 dias) NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA, 2000-2004  
(CONTINUAÇÃO)**

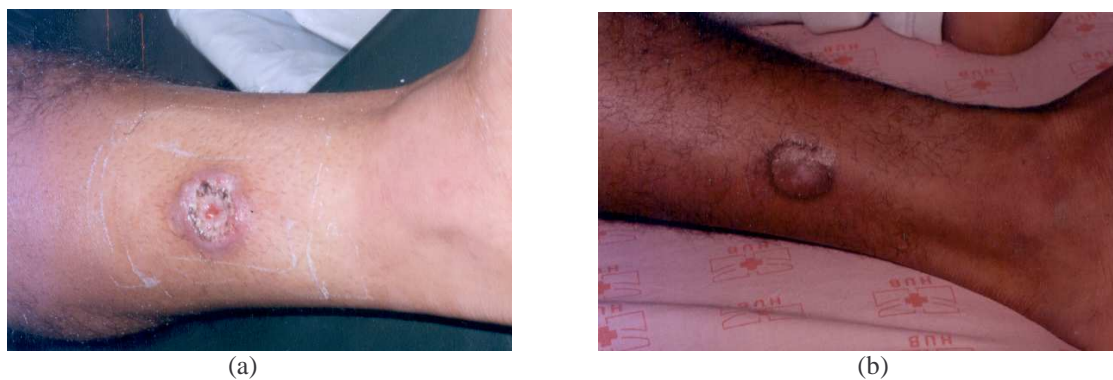
| Pacientes | Mialgia | Artralgia | Cefaléia | Taqui-<br>cardia | Dor<br>lombar | Hexheimer | Gosto<br>amargo | Creat. | Uréia | Bil. | Tran-<br>sam. | FAL | Amil. | ECG |
|-----------|---------|-----------|----------|------------------|---------------|-----------|-----------------|--------|-------|------|---------------|-----|-------|-----|
| 20        | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | SIM           | N   | N     | N   |
| 21        | SIM     | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 22        | SIM     | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 23        | A       | A         | A        | A                | A             | A         | SIM             | N      | SIM   | SIM  | N             | N   | N     | N   |
| 24        | SIM     | SIM       | A        | SIM              | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | SIM |
| 25        | A       | A         | A        | A                | A             | SIM       | A               | SIM    | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 26        | SIM     | A         | A        | A                | A             | A         | A               | SIM    | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 27        | SIM     | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 28        | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | ND  | N     | N   |
| 29        | A       | SIM       | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 30        | SIM     | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | ND    | N   |
| 31        | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | SIM | N     | N   |
| 32        | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 33        | A       | SIM       | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | SIM   | N   |
| 34        | A       | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |
| 35        | SIM     | A         | A        | A                | A             | A         | A               | N      | N     | N    | N             | N   | N     | N   |

A= ausente  
N= normal  
ND= não descrito  
Creat. = creatinina

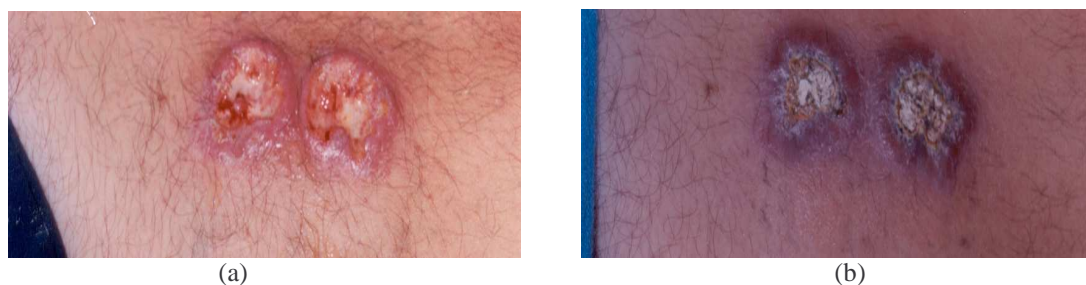
Bil. = bilirrubinas  
Amil. = amilase  
Transam. = transaminases  
FAL = fosfatase alcalina

ECG = eletrocardiograma

## ANEXO VI - FOTOGRAFIAS DAS LESÕES DOS PACIENTES



**Figura 50: Úlcera em membro inferior direito do paciente No. 1 (Anexo I) antes (a) e 90 (b) dias após o tratamento com anfotericina B lipossomal (cura clínica)**



**Figura 51: Úlceras em membro inferior esquerdo do paciente No. 3 (Anexo I) antes (a) e 90 (b) dias após o tratamento com anfotericina B lipossomal (falha)**



(a)



(b)



(c)



(d)

**Figura 52: Úlceras em membros superiores do paciente No. 7 (Anexo I) antes (a), com 30 (b), 60 (c) e 90 (d) dias após o tratamento com anfotericina B lipossomal (falha)**



(a)



(b)



(c)

**Figura 53: Úlcera em membro inferior direito do paciente No. 4 (Anexo I) antes (a), com 30 (b) e 60 (c) dias após tratamento com anfotericina B lipossomal (cura clínica).**



(a)



(b)

**Figura 54: Úlcera em membro superior direito do paciente No. 14 (Anexo I) antes (a) e 30 (b) dias após tratamento com anfotericina B lipossomal (cura clínica).**

## **ANEXO VII - TERMO DE CONSENTIMENTO ESCLARECIDO**

Hospital Universitário de Brasília –HUB

Faculdade de Medicina- FS

Universidade de Brasília –UnB

### **Estudo Comparativo da Resposta Imunológica e Clínica entre a Anfotericina B Lipossomal e o N-metil-glucamina em Pacientes com a Forma Localizada da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA)**

Dr.<sup>a</sup>. Raimunda Nonata Ribeiro Sampaio

Dr.<sup>a</sup>. Jorgeth de Oliveira C da Motta

#### **Termo de Consentimento (pós-informação)**

Eu \_\_\_\_\_ fui informado pelo médico(a) Dr(a) \_\_\_\_\_ que sou portador de leishmaniose tegumentar americana, uma forma localizada somente na pele, para qual o tratamento atual de primeira escolha é o N-metil glucamina (Glucantime) na veia, por 20 dias, o qual pode causar alterações nos rins e coração, principalmente em pessoas idosas que já tenham problemas. Outras reações adversas seriam dores nos músculos, juntas e febre. Fui informado também que outra medicação, a Anfotericina B lipossomal será usada neste estudo em um grupo de doentes para o tratamento desta doença, na veia, por 5 dias, a qual apresenta menos efeitos colaterais, podendo causar raramente reações alérgicas e problema nos rins. Além de menor risco de efeitos colaterais, há o benefício do tratamento ser mais rápido. As pessoas que forem tratadas com ela e que não tiverem suas feridas cicatrizadas em 90 dias serão tratadas com a medicação de primeira escolha (N-metil glucamina). Para participar deste estudo deverei realizar exames laboratoriais antes, durante e após o tratamento, além disto duas amostras da ferida na minha pele serão retiradas para exame (uma antes e outra após o tratamento). Comprometo-me a comparecer regularmente nas datas marcadas e a realizar os exames pedidos, e estou ciente da possibilidade de reações adversas com o tratamento. Quanto a quaisquer informações relativas à medicação ou à minha doença, os médicos colocam-se à minha disposição e asseguram a minha liberdade de desistir no momento em que desejar, sendo a minha decisão respeitada sem causar prejuízo no tratamento médico que venho recebendo. O médico responsável poderá me retirar do estudo se medicações não permitidas forem usadas, se surgir reação adversa que contra-indique o uso do medicamento, ou se uma de suas recomendações não for por mim seguida. Durante a divulgação dos resultados deste estudo os meus dados pessoais serão mantidos em sigilo. Tanto os exames quanto o tratamento só podem ser realizados se eu assinar o papel de consentimento.



**ANEXO VII - TERMO DE CONSENTIMENTO ESCLARECIDO  
(CONTINUAÇÃO)**

Hospital Universitário de Brasília- HUB  
Faculdade de Medicina- FS  
Universidade de Brasília- UnB

**Estudo Comparativo da Resposta Imunológica e Clínica entre a Anfotericina B Lipossomal e o N-metil –glucamina em Pacientes com a Forma Localizada da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA).**

Dr. Raimunda Nonata Ribeiro Sampaio  
Dr. Jorgeth de Oliveira C. da Motta

**Termo de consentimento (grupo 1)**

A folha de informação que antecede deverá ser lida pelo paciente e em casos de analfabetismo pelo pesquisador na presença de uma testemunha. Todos os esclarecimentos pertinentes serão realizados durante a entrevista prévia à assinatura deste termo de consentimento.

Data de Nascimento \_\_\_\_\_ Idade \_\_\_\_\_ CI \_\_\_\_\_

Endereço \_\_\_\_\_

Telefone \_\_\_\_\_

Eu, \_\_\_\_\_, abaixo assinado após ter sido esclarecido e entender as explicações que me foram dadas pelo médico(a)

Dr(a) \_\_\_\_\_ concordo em ser submetido a avaliação clínica e laboratorial, incluindo realização de biópsia da ferida e ao tratamento com a anfotericina B lipossomal (Ambisome), na dose de 1,5 mg/kg/dia durante 5 dias na veia por 60 minutos, na enfermaria da Clínica Médica do Hospital Universitário de Brasília (HUB).

Em virtude de considerar claras e satisfatórias as informações expostas acima e na folha anterior, aceito submeter-me voluntariamente a tal tratamento.

Local \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_

Paciente \_\_\_\_\_ ou Impressão digital

Testemunha \_\_\_\_\_

OBS: Caso o paciente seja menor de 18 anos, o pai ou responsável deve assinar abaixo

Responsável: \_\_\_\_\_ CI \_\_\_\_\_

Médico: \_\_\_\_\_ CRM \_\_\_\_\_

**ANEXO VII - TERMO DE CONSENTIMENTO ESCLARECIDO  
(CONTINUAÇÃO)**

Hospital Universitário de Brasília-HUB  
Faculdade de Medicina- FS  
Universidade de Brasília- UnB

**Estudo Comparativo da Resposta Imunológica e Clínica entre a Anfotericina B Lipossomal e o N-metil- glucamina em Pacientes com a Forma Localizada da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA)**

Dr.<sup>a</sup>. Raimunda Nonata Ribeiro Sampaio  
Dr.<sup>a</sup>. Jorgeth de Oliveira C. da Motta

**Termo de Consentimento ( grupo 2 )**

A folha de informação que antecede deverá ser lida pelo paciente e em casos de analfabetismo pelo pesquisador na presença de uma testemunha. Todos os esclarecimentos pertinentes serão realizados durante a entrevista prévia à assinatura deste termo de consentimento.

Data de Nascimento : \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ CI \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_

Eu, \_\_\_\_\_, abaixo assinado, após ter sido esclarecido e entender as explicações que me foram dadas pelo(a) Dr(a). \_\_\_\_\_ concordo em ser submetido a avaliação clínica e laboratorial, incluindo realização de biópsias da ferida e ao tratamento com N-metil-glucamina na dose de 20 mg SbV/kg/dia, pela veia, por 20 dias, no ambulatório de Dermatologia do Hospital Universitário de Brasília (HUB). Em virtude de considerar claras e satisfatórias as informações acima expostas, aceito voluntariamente submeter-se a tal tratamento.

Local \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_

Paciente \_\_\_\_\_ ou impressão digital

Testemunha \_\_\_\_\_

OBS: Caso o paciente seja menor de 18 anos, o pai ou responsável deve assinar abaixo

Responsável: \_\_\_\_\_ CI \_\_\_\_\_

Médico: \_\_\_\_\_ CRM \_\_\_\_\_

## ANEXO VIII – FICHA DO PACIENTE

Hospital Universitário de Brasília-HUB  
Dermatologia

Data: \_\_/\_\_/\_\_

Anfotericina B lipossomal versus N-metil- glucamina no tratamento da forma cutânea localizada da LTA

### 1. Identificação

Nome \_\_\_\_\_

Registro \_\_\_\_\_

Idade \_\_\_\_\_ Sexo \_\_\_\_\_ Cor \_\_\_\_\_ Ocupação \_\_\_\_\_

Naturalidade \_\_\_\_\_

Residência Atual \_\_\_\_\_

Tempo de Residência \_\_\_\_\_

Local de infecção (região, estado, cidade) \_\_\_\_\_

Referência pessoal \_\_\_\_\_

### 2. Características da lesão cutânea

Tipo: Úlcera ( ) Nódulo ( ) Placa ( ) Pápula ( ) Cicatriz ( ) Outro \_\_\_\_\_

Duração \_\_\_\_\_

Localização \_\_\_\_\_

Número \_\_\_\_\_

Diâmetros \_\_\_\_\_

### 3. Avaliação Diagnóstica

|                | Pré-tratamento | 90 dias |
|----------------|----------------|---------|
| Data           | _____          | _____   |
| IDRM           | _____          |         |
| Esfregaço      | _____          |         |
| IFA            | _____          | _____   |
| Inoculação     | _____          |         |
| cultura        | _____          |         |
| Histopatologia | _____          |         |

**ANEXO VIII –FICHA DO PACIENTE  
(CONTINUAÇÃO)**

4. Avaliação Laboratorial

|                | Pré-tratamento | 10dias | término | Após 30 dias |
|----------------|----------------|--------|---------|--------------|
| Data           |                |        |         |              |
| Hemoglobina    | _____          | _____  | _____   | _____        |
| Eritrócito     | _____          | _____  | _____   | _____        |
| Leucócitos     | _____          | _____  | _____   | _____        |
| Potássio       | _____          | _____  | _____   | _____        |
| Creatinina     | _____          | _____  | _____   | _____        |
| Uréia          | _____          | _____  | _____   | _____        |
| Bilirrubinas   | _____          | _____  | _____   | _____        |
| FAL.           | _____          | _____  | _____   | _____        |
| Sódio          | _____          | _____  | _____   | _____        |
| Triglicerídeos | _____          | _____  | _____   | _____        |
| Colesterol     | _____          | _____  | _____   | _____        |
| ECG            | _____          | _____  | _____   | _____        |

5. Tratamento:

Tratamento prévio: sim ( )    Qual: \_\_\_\_\_  
                                não ( )

Tratamento atual: Grupo 1 ( )  
                                Grupo 2 ( )

Peso: \_\_\_\_\_

Dose total diária: \_\_\_\_\_

Data do início: \_\_\_\_\_    Data do término: \_\_\_\_\_

6. Efeitos colaterais: \_\_\_\_\_

**ANEXO VIII – FICHA DO PACIENTE  
(CONTINUAÇÃO)**

7. Aspecto clínico e diâmetro das lesões após o tratamento:

|         | Ativa | Em cicatrização | Cicatrizada | Diâmetros |
|---------|-------|-----------------|-------------|-----------|
| Data    |       |                 |             |           |
| Término |       |                 |             |           |
| 30 dias |       |                 |             |           |
| 60 dias |       |                 |             |           |
| 90 dias |       |                 |             |           |

8. Avaliação da resposta imunológica- imunohistoquímica:

| Marcadores      | Pré-tratamento | Após 30 dias |
|-----------------|----------------|--------------|
| Data            |                |              |
| CD20            |                |              |
| CD68            |                |              |
| CD15            |                |              |
| CD3             |                |              |
| CD45RO          |                |              |
| CD25            |                |              |
| CTLA-4          |                |              |
| $\alpha$ -Leish |                |              |

## ANEXO IX - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade de Brasília – Faculdade de Medicina  
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP-FM/UnB  
Campus Universitário, Asa Norte – CEP 70910-900 – Brasília, DF  
Telefones: (61) 307-3907 e 307-2112

---

### ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro do projeto: 011/00

Título: Estudo comparativo da resposta imunológica e clínica à anfotericina B lipossomal e o n-metil-glucamina em pacientes com a forma localizada de leishmaniose tegumentar americana.

Pesquisador responsável: Jorgeth de Oliveira Carneiro da Motta

Documentos analisados: Folha de rosto, bibliografia pertinente, termo de consentimento.

Data de entrada: 06 de setembro de 2000

Proposição do(a) Relator(a):

Aprovação

Aprovação com pendências

Não aprovação

Data da análise pelo CEP-FM/UnB: 29 de novembro de 2000

Data do retorno ao responsável, para conhecimento: 11 de dezembro de 2000

---

### PARECER

Com base na Resolução CNS/MS n.º 196/96, que regulamenta a matéria, o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, em sua reunião 06/00, realizada em 29/11/2000, decidiu APROVAR, por unanimidade de seus membros, o projeto de pesquisa acima especificado, quanto aos seus aspectos éticos.

- Obs.: 1) O CEP-FM recomenda que a pesquisa seja iniciada somente com a garantia da liberação dos recursos necessários, para que não haja risco de que a mesma seja interrompida depois de iniciada, com prejuízo para os sujeitos da pesquisa.
- 2) Modificações no protocolo devem ser submetidas ao CEP, assim como a notificação imediata de eventos adversos graves.
- 3) O(s) pesquisador(es) deve(m) apresentar relatórios periódicos do andamento da pesquisa ao CEP-FM.

Brasília, 29 de novembro de 2000

Prof.ª Dr.ª Elaine Maria de Oliveira Alves  
Coordenadora do CEP-FM/UnB