

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara

Glaucia Maria Cristina Pereira Quinete

NOVAS ABORDAGENS SOBRE TRATAMENTOS DA
LEISHMANIOSE TEGUMENTAR

Araraquara-SP

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara

Glaucia Maria Cristina Pereira Quinete

NOVAS ABORDAGENS SOBRE TRATAMENTOS DA
LEISHMANIOSE TEGUMENTAR

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica da
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de
Araraquara, da Universidade Estadual Paulista
para a obtenção do grau de Farmacêutica -
Bioquímica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mara Cristina Pinto

Araraquara-SP

2013

“O que é o sucesso? Rir muito e com frequência; ganhar o respeito de pessoas inteligentes e o afeto das crianças; merecer a consideração de críticos honestos e suportar a traição de falsos amigos; apreciar a beleza, encontrar o melhor nos outros; deixar o mundo um pouco melhor, seja por uma saudável criança, um canteiro de jardim ou uma redimida condição social; saber que ao menos uma vida respirou mais fácil porque você viveu. Isso é ter tido sucesso.”

Ralph Waldo Emerson

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela força dada em momentos de profundo desespero, aos meus pais por confiar, acreditar e concretizar este sonho e ao meu namorado Laércio Guedes, não só pela paciência da longa espera, mas também por seus ouvidos emprestados TODAS as noites ao longo desses 6 anos, sempre amigo e confidente, com palavras encorajadoras, dando suporte para que eu não desistisse e por ter sonhado junto comigo, sem ele não teria sido possível prosseguir.

Não menos importante desta escala, minha querida professora e amiga Mara, que sempre com seu carinho, sorriso fácil, paciência e coração enorme, soube orientar e ensinar brilhantemente a mim e a todos seus alunos, sempre guardarei comigo a seguinte frase “Faca na bota”.

E a minha grande amiga Franciele G.Baveloni, por sua amizade durante todos esses anos de nossa caminhada.

RESUMO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a leishmaniose é ainda uma das doenças mais negligenciadas do mundo, afetando principalmente países pobres e em desenvolvimento. As leishmanioses podem, de acordo com a forma de acometimento do homem, dividir-se em dois grandes grupos: visceral e tegumentar.

As estatísticas mostram que cerca de 350 milhões de pessoas são consideradas com risco de contrair leishmaniose, e cerca de dois milhões de novos casos ocorrem anualmente. O número de casos de leishmaniose tegumentar no Brasil em 2011 foi de 15.731.

É considerada uma doença negligenciada uma vez que os fármacos de escolha são preparações à base de antimoniais, sendo os mesmos desde sua descoberta em 1912. Além disso o tratamento é longo, doloroso e altamente tóxico, assim levando os pacientes muitas vezes a desistirem antes do término previsto.

O presente trabalho tem como objetivo fazer uma revisão bibliográfica a partir do banco de dados do PubMed e Scielo sobre novas pesquisas na área de fármacos e novos tratamentos para leishmaniose cutânea entre os anos de 2007 e 2012.

Palavras chave: Leishmaniose, Leishmaniose Tegumentar Americana, Revisão, Novos tratamentos, Novos fármacos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
1.1.CICLO DO PARASITA	9
1.2 . ASPECTOS CLÍNICOS DA LTA	11
1.3. LEISHMANIOSE CUTÂNEA (LC) NO BRASIL.....	11
1.4. LEISHMANIOSE E COINFECÇÃO COM HIV	14
1.5. TRATAMENTOS ATUAIS PADRÃO.....	15
2. METODOLOGIA	19
3. NOVOS TRATAMENTOS.....	20
3.1. COMPOSTOS NATURAIS (PRÓPOLIS, COGUMELOS, PLANTAS, ALGAS E SEMENTES)	21
3.1.1. Própolis.....	21
3.1.2. Cogumelos.....	23
3.1.3 Plantas, Algas e Sementes	23
3.2. ALOPÁTICOS (INJEÇÃO INTRALESIONAL DE SULFATO DE ZINCO A 2%, NOVAS FORMULAÇÕES DE CREMES E GÉIS).....	25
3.3. MÉTODOS FÍSICOS (OXIGENAÇÃO HIPERBÁRICA, CRIOTERAPIA E TERMOTERAPIA)	29
4. CONCLUSÕES	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

1. INTRODUÇÃO

As leishmanioses são zoonoses consideradas um grande problema de saúde pública por representarem um complexo de doenças com importante espectro clínico e diversidade epidemiológica.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a leishmaniose é ainda uma das doenças mais negligenciadas do mundo, afetando principalmente países pobres e em desenvolvimento.

As estatísticas mostram que cerca de 350 milhões de pessoas são consideradas com risco de contrair leishmaniose e, cerca de dois milhões de novos casos ocorrem anualmente (WHO, 2010).

As leishmanioses podem, de acordo com a forma de acometimento do homem, dividir-se em dois grandes grupos: as leishmanioses viscerotrópicas e as dermatrópicas/ mucotrópicas (tegumentares).

As formas viscerotrópicas são causadas por protozoários dotados de afinidade (tropismo) especial pelos órgãos internos, notadamente baço, fígado, medula óssea, estômago, pâncreas, dentre outros. É também conhecida como calazar ou kala-azar, febre dum-dum ou barriga d'água, e possui considerável índice de morbidade e mortalidade (ALTAMIRANO-ENCISO et al., 2003).

As leishmanioses dermatrópicas/ mucotrópicas (tegumentares), por sua vez, recebem esta denominação porque afetam primariamente a estrutura da pele e das mucosas superiores (face) (AMATO et al., 1998; ALTAMIRANO-ENCISO et al., 2003).

Segundo a OMS, 90% dos casos de leishmaniose visceral são registrados em Bangladesh, Brasil, Nepal, Índia e Sudão; 90% dos casos da leishmaniose cutânea -

mucosa ocorrem no Brasil, Bolívia e Peru e 90% dos casos da leishmaniose cutânea (LC) ocorrem no Afeganistão, Brasil, Irã, Peru, Arábia Saudita e Síria (RATH et al., 2003).

A leishmaniose tegumentar tem ampla distribuição mundial e no continente americano, onde há registros de casos desde o extremo sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina, com exceção do Chile e Uruguai. É considerada uma das doenças infecciosas de maior relevância na América. (MANUAL VIGILÂNCIA SANITÁRIA DA LTA, 2007).

A OMS divide as formas clínicas da Leishmaniose visceral e da Leishmaniose cutânea ou tegumentar, encontradas nos seres humanos de acordo com o seu tropismo (muco tropismo, dermo tropismo e visceral tropismo) e onde elas são mais frequentemente encontradas (Novo Mundo e Velho Mundo) (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação das espécies de *Leishmanias* encontradas em seres humanos (World Health Organization, 2011).

Subgênero	<i>L.(Leishmania)</i>	<i>L.(Leishmania)</i>	<i>L.(Viannia)</i>	<i>L.(Viannia)</i>
Velho mundo	<i>L.donovani</i>	<i>L.major</i>		
	<i>L.infantum</i>	<i>L.tropica</i>		
		<i>L.killicki*</i>		
		<i>L.aethiopica</i>		
		<i>L.infantum</i>		
Novo mundo	<i>L.infantum</i>	<i>L.infantum</i>	<i>L.braziliensis</i>	<i>L.braziliensis</i>
		<i>L.mexicana</i>	<i>L.guyanensis</i>	<i>L.panamensis</i>
		<i>L.pifanor*</i>	<i>L.panamensis</i>	
		<i>L.venezuelensis</i>	<i>L.shawi</i>	
		<i>L.garnham*</i>	<i>L.naiffi</i>	
		<i>L.amazonensis</i>	<i>L.lainsoni</i>	
			<i>L.lindenbergi</i>	
			<i>L.peruviana</i>	
			<i>L.colombiensis**</i>	
Principal tropismo	Visceral	Dermotropismo	Dermotropismo	Muco tropismo

*status da espécie em discussão

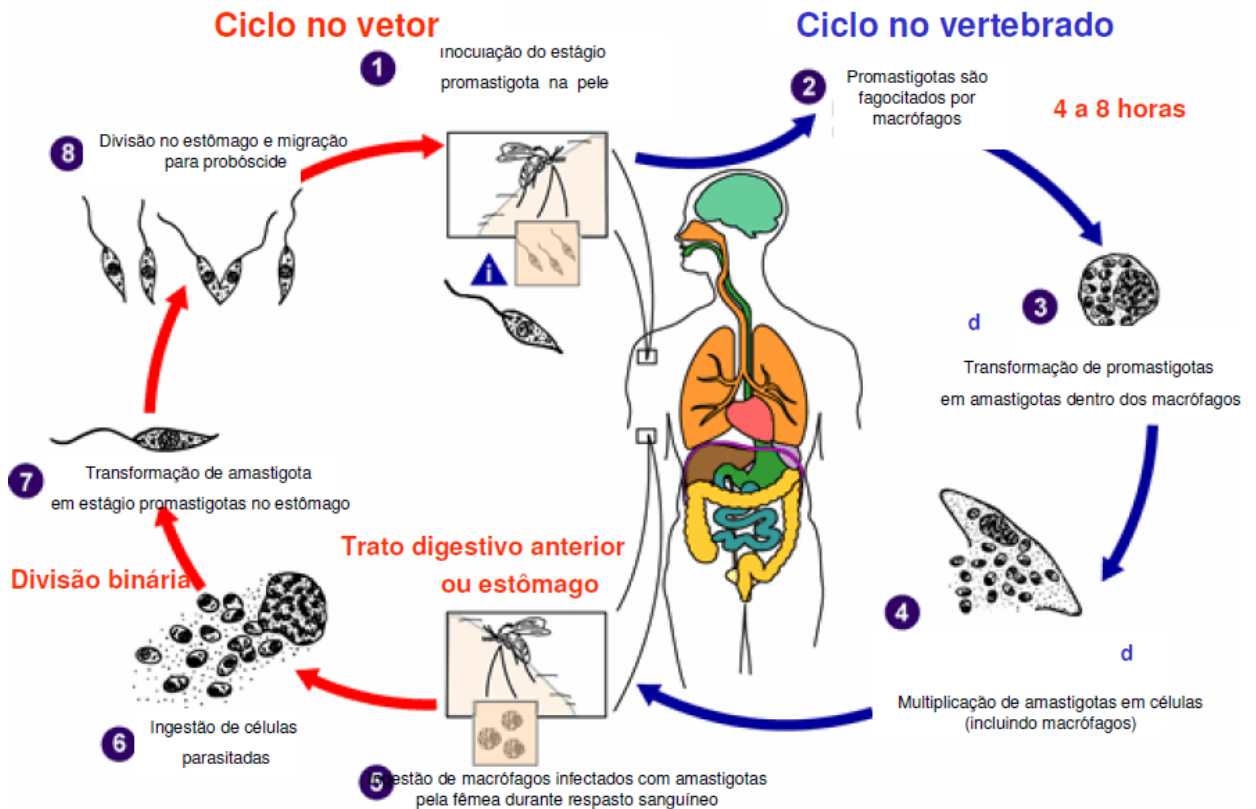
**posição taxonômica em discussão

1.1.CICLO DO PARASITA

Os vetores da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) são insetos denominados flebotomíneos, pertencentes à Ordem Díptera, Família Psychodidae, Subfamília Phlebotominae, Gênero *Lutzomyia*, conhecidos popularmente, dependendo da localização geográfica, como mosquito palha, tatuquira, birigui, entre outros.

No Brasil, as principais espécies envolvidas na transmissão da LTA são: *Lutzomyia flaviscutellata*, *L. whitmani*, *L. umbratilis*, *L. intermedia*, *L. wellcome* e *L. migonei* (MANUAL VIGILÂNCIA SANITÁRIA DA LTA, 2007).

Os parasitas na forma amastigota são ingeridos pelo flebotomíneo fêmea quando este pica o ser humano, assim transformando sua forma de amastigota em promastigota e posteriormente inicia-se a sua multiplicação. As formas promastigotas maduras dos flebotomíneos (metacíclica) são regurgitadas sobre a pele do próximo hospedeiro. Nos mamíferos, o parasita localiza-se principalmente nos macrófagos e retorna para a forma amastigota, completando assim o ciclo (MANUAL VIGILÂNCIA SANITÁRIA DA LTA, 2007) (Fig 1).



i = estágio infectivo
 d = estágio diagnóstico

Figura 1- Ciclo da *Leishmania sp.* nos hospedeiros vertebrados e invertebrados. (Centers for Disease Control & Prevention / Center for Global Health)

1.2 . ASPECTOS CLÍNICOS DA LTA

A LTA pode manifestar- se como: cutânea, mucosa e difusa.

A doença cutânea apresenta-se classicamente por pápulas, que evoluem para úlceras com fundo granuloso e bordas infiltradas em moldura, que podem ser únicas ou múltiplas, mas indolores. A forma mucosa, secundária ou não à cutânea, caracteriza-se por infiltração, ulceração e destruição dos tecidos da cavidade nasal, faringe ou laringe. Quando a destruição dos tecidos é importante, podem ocorrer perfurações do septo nasal e/ou palato. Também pode manifestar-se como placas verrucosas, papulosas, nodulares, localizadas ou difusas. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

1.3. LEISHMANIOSE CUTÂNEA (LC) NO BRASIL

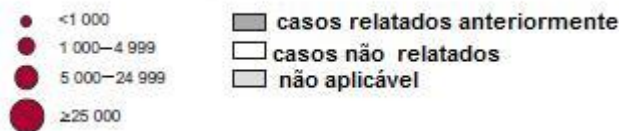
Entres os anos de 2005 a 2010, o Brasil relatou aproximadamente 25.000 casos de LC, de acordo com a WHO (Fig 2).



Figura 2-Distribuição Mundial de Casos de Leishmaniose Cutânea em 2010, WHO

Legenda

Número médio de casos relatados, 2005-2010



A doença está amplamente distribuída no Brasil, com casos autóctones em todas as regiões e unidades federadas.

Estudos epidemiológicos da LTA sugerem mudanças no comportamento da doença, com a coexistência de um duplo perfil epidemiológico, sendo um deles proveniente de casos originários de focos antigos ou de áreas próximas a eles, e o outro, de surtos epidêmicos associados ao desenvolvimento de atividades econômicas, realizadas em condições ambientais altamente favoráveis à transmissão da doença, como garimpos, expansão de fronteiras agrícolas e extrativismo, entre outras (BOLETIM ELETRÔNICO EPIDEMIOLÓGICO, 2010).

Nas últimas décadas, o padrão de transmissão da doença, tem sofrido mudanças, pois inicialmente era considerada zoonose de animais silvestres, que acometia ocasionalmente pessoas em contato com as florestas. Posteriormente, a doença começou a ocorrer em zonas rurais, já praticamente desmatadas, e em regiões periurbanas. Observa-se a existência de três perfis epidemiológicos:

a) Silvestre – em que ocorre a transmissão em áreas de vegetação primária (zoonose de animais silvestres);

b) Ocupacional ou lazer – em que a transmissão está associada à exploração desordenada da floresta e derrubada de matas para construção de estradas, extração de madeira, desenvolvimento de atividades agropecuárias, ecoturismo; (antropozoonose);

c) Rural ou periurbana – em áreas de colonização (zoonose de matas residuais) ou periurbana, em que houve adaptação do vetor ao peridomicílio (zoonose de matas residuais e/ou antropozoonose) (MANUAL VIGILÂNCIA SANITÁRIA DA LTA, 2007).

No ano de 2011, no Brasil, foram registrados 15.731 casos de LTA, houve uma redução do número total de novos casos nos últimos quatro anos: 21.981, 21.824 e 19.992 em 2010, 2009 e 2008 respectivamente. (PORTA DA SAÚDE, 2012).

As regiões Norte e Nordeste concentram a maior percentagem de casos no país, 40% e 32%, respectivamente, seguidas da Região Centro-Oeste, com cerca de 10% do total de casos (PORTAL DA SAÚDE, 2011).

Outros dados importantes e relevantes identificados pelo Sinan (Sistema de Informação de Agravos de Notificação) são as características demográficas e clínicas dos casos de LTA no Brasil em 2008. Os dados demonstram que 73,3%

deles são do sexo masculino, 94,6% são na forma cutânea e que 74,8 % obtiveram cura clínica (BOLETIM ELETRÔNICO EPIDEMIOLÓGICO, 2010).

1.4. LEISHMANIOSE E COINFECÇÃO COM HIV

Outra situação relevante é a coinfeção entre a Leishmaniose Visceral Americana (LVA) com o vírus HIV, devido à ampliação da área de distribuição geográfica do HIV e sua extensão para camadas mais pobres da população e, a crescente urbanização da leishmaniose visceral faz supor que a prevalência da coinfeção LVA / HIV venha a aumentar nos próximos anos (RATH et al., 2003).

O Brasil é o epicentro da epidemia de HIV na América do Sul e responde por um terço de todas as pessoas que vivem com o vírus na região. O vírus HIV foi relatado pela primeira vez no Brasil em 1983 e, de acordo com relatório de 2006 da UNAIDS (Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS), estimou-se que aproximadamente 620.000 pessoas eram HIV positivas no país (WHO, 2007).

De 2001 a 2005, 16.210 casos de Leishmaniose Visceral (LV) foram notificados no Brasil. Quando os bancos de dados do HIV e LV foram relacionados, foram relatados 176 casos de coinfeção LV- HIV.

O quadro clínico de pacientes coinfectados foi semelhante à observada em pacientes LV sem HIV, febre, perda de peso e esplenomegalia. Na ausência do tratamento antirretroviral a taxa de mortalidade durante o primeiro ciclo de tratamento LV foi de 24%.

Entre os 150.000 casos de LTA ocorridos entre 2001 a 2005, a coinfeção HIV estava presente em 150 (0,1%). A Leishmaniose cutânea- mucosa é

frequentemente observada em pacientes coinfetados pelo HIV no Brasil (43%) (WHO, 2007).

Desde 2007 foi inserida na ficha de LTA uma variável específica para conhecer o perfil da coinfeção de Leishmania- HIV no país, entre os casos desse tipo de leishmaniose, de modo que, do total de registros desta endemia em 2008, 1,3% (267 de 19.992) eram HIV positivos (BOLETIM ELETRÔNICO EPIDEMIOLÓGICO, 2010).

A LTA pode modificar a progressão da doença pelo HIV, e a imunodepressão causada por este vírus facilita a progressão da doença. Há relatos de disseminação da doença cutânea, com envolvimento de órgãos raramente acometidos em indivíduos imunocompetentes, em um processo conhecido como visceralização da leishmaniose tegumentar (MANUAL VIGILÂNCIA SANITÁRIA DA LTA, 2007).

O diagnóstico da coinfeção com HIV tem implicações na abordagem da leishmaniose em relação ao diagnóstico, a indicação terapêutica e ao monitoramento de efeitos adversos, resposta terapêutica e ocorrência de recidivas.

O Ministério da Saúde recomenda o oferecimento da sorologia para HIV para todos os pacientes com LTA independentemente da idade, para que assim o médico possa escolher uma conduta clínica adequada para o tratamento dos pacientes de acordo com o seu resultado sorológico (MANUAL VIGILÂNCIA SANITÁRIA DA LTA, 2007).

1.5. TRATAMENTOS ATUAIS PADRÃO

A OMS e o Ministério da Saúde do Brasil recomendam para o tratamento LTA os antimoniais pentavalentes como fármacos de primeira escolha.

Os antimoniais foram descobertos por Gaspar Vianna, médico anato patologista e pesquisador brasileiro, nascido no Pará. Seu trabalho mais importante foi a descoberta da cura para as leishmanioses, utilizando um composto antimonial, o tártaro emético, para o seu tratamento. Gaspar Vianna morreu aos 29 anos, mas foi responsável por valiosas contribuições à medicina tropical (TUOTO, 2012).

Em uma época, em que o Brasil vivia um momento de grandes obras, como a construção da ferrovia Bauru (SP) - Mato Grosso, houve a expansão de uma série de epidemias, como a ‘úlceras Brava’ ou “úlceras de Bauru”. Adolpho Lindenberg, Antonio Carini e Ulysses Paranhos foram os primeiros estudiosos a pesquisarem a moléstia apontando seu agente como *Leishmania tropica*. Por outro lado, Gaspar Vianna, em 1911, em suas observações, descobriu uma nova espécie desse agente, a qual chamou *Leishmania braziliensis*, a denominação atual do protozoário é *Leishmania (Viannia) braziliensis*, em homenagem a Gaspar Vianna (TUOTO, 2012).

O primeiro antimônio pentavalente sintetizado foi o estibogluconato de sódio Pentostam[®] em 1945; neste mesmo ano, ocorreu a síntese de outro composto pentavalente, o antimoniato de N-metilglucamina (TUOTO, 2012).

Atualmente o arsenal terapêutico disponível para tratamento da Leishmaniose, assim como de outras doenças tropicais são bastantes precárias.

Um dos fármacos leishmanicidas disponíveis é o antimoniato de meglumina (Glucantime[®]), embora seja o fármaco de primeira escolha, apresenta eficácia limitada e algumas vezes significativa toxicidade e efeitos adversos (AMATO et al., 2000). Além disso, um elevado número de recaídas da doença tem sido registrado (VALADARES et al., 2011).

A pentamidina, outro fármaco leishmanicida, não é apropriada como um tratamento de primeira linha, devido à sua toxicidade. A anfotericina B e a sua formulação lipossomal são eficazes, porém estes fármacos são caros e a sua utilização requer hospitalização. Resultados clínicos reportados utilizando tratamento com miltefosina oral são encorajadores, no entanto, este fármaco está ligado a um potencial de teratogenicidade e não deve ser administrado em mulheres grávidas ou em idade fértil (VALADARES et al., 2011).

Dentre os compostos antimoniais, destacam-se os complexos de antimônio trivalentes, tais como o tartarato antimonial de potássio (Tartarato emético), antimoniato de bis-catecol-3,5-dissulfonato sódico (Stibophen®, Repodral®, Fuadina®) e tioglicolato de sódio, bem como antimoniais pentavalentes, como antimoniato de N-metilglucamina (Glucantime®, antimoniato de meglumina), gluconato de antimônio(V) sódico (Pentostam®, Solustibosan®, estibogluconato sódico) e ureia estibamina (Estibamine) (RATH et al.,2003). Entretanto, devido à cardio toxicidade e intolerância gastrointestinal dos antimoniais trivalentes, Sb (III), são os antimoniais pentavalentes, Sb (V), que apresentam maior uso terapêutico.

No Brasil, o medicamento antimonial de escolha é o antimoniato de N-metilglucamina o qual, se administrado de forma contínua e com posologia adequada é eficaz no tratamento dos três grupos de leishmanioses. Por sua vez, baixas dosagens e tratamentos descontínuos levam a falhas na terapia e ao aparecimento de formas resistentes conforme resultados mostrados por (RATH et al.,2003).

Quanto ao desenvolvimento da resistência, observa-se que uma vez estabelecida para complexos trivalentes, há alta incidência de resistência cruzada para complexos pentavalentes, porém surpreendentemente há um aumento da

suscetibilidade aos fármacos de segunda geração como pentamidina e anfotericina B (AMATO et al., 2000).

Os antimoniais são também contraindicados em gravidez, em pacientes com doenças renais, hepáticas e cardíacas (PINHEIRO, 2004).

O mecanismo de ação de antimoniais pentavalentes no combate à *Leishmania* é ainda controverso e pouco compreendido, mas acredita-se que atue nos mecanismos de glicólise (AMATO, 2006).

A combinação entre antimoniais e interferon gama ou alopurinol tem sido proposta como alternativa para melhora da eficácia terapêutica destes compostos (AMATO et al., 2000).

Outro fator importante e relevante para estudos de novos fármacos e de novos tratamentos contra a leishmaniose, além dos efeitos adversos e do alto custo é que em zonas rurais, onde há os maiores índices de casos de leishmaniose, esse tipo de administração parenteral é difícil de acompanhar quando comparada à terapia oral, devido a distância aos centros médicos.

2. METODOLOGIA

Este trabalho resultou de uma revisão bibliográfica, essencialmente de periódicos científicos pesquisados nas seguintes bases de dados SCIELO (Scientific Electronic Library Online) e PUBMED entre os anos 2007 e 2012. Os termos utilizados para a pesquisa foram: Tegumentary Leishmaniasis, American Cutaneous Leishmaniasis, Treatments, Natural products, Meglumine antimoniate.

Para critério de inclusão, os artigos deveriam relacionar alguns dos termos citados acima. Foram excluídos os artigos que não se referiam ao assunto pesquisado, como por exemplo aqueles que tratavam exclusivamente de leishmaniose visceral.

Um artigo de 2013 foi incorporado ao texto, embora não fizesse parte da revisão previamente definida, pareceu bastante relevante para o assunto por tratar-se de uma pesquisa em humanos (fase clínica III).

3. NOVOS TRATAMENTOS

Todos os problemas na utilização dos antimoniais para o tratamento da LTA estimulam novas pesquisas com: produtos naturais (própolis, cogumelos, plantas, algas e sementes), alopáticos (injeção intralesional: de sulfato de zinco 2 %, novas formulações de cremes, géis) e métodos físicos (oxigenação hiperbárica, crioterapia, termoterapia).

Como avanços recentes no tratamento da leishmaniose tegumentar destacam-se a introdução de miltefosina (BERMAN, 2005) e de novas formulações de fármacos já existentes como por exemplo da anfotericina B lipossomal (MEYERHOFF et al., 1999). Na LC, a doença é normalmente localizada no local da infecção no interior de macrófagos dérmicos (GARNIER et al., 2006). O tratamento local continua a ser uma abordagem atrativa para as formas simples localizadas de LC que não estão em risco de manifestações mais complexas. Para apresentações mais graves da doença, que envolvem órgãos vitais ou as membranas mucosas, a terapia sistêmica mais agressiva é geralmente escolhida. Abordagens terapêuticas locais incluem também métodos físicos (crioterapia, termoterapia, a remoção cirúrgica e eletroterapia), pomada de paromomicina, antimônio intralesional e soluções anfotericina B (GARNIER et al., 2006).

As vantagens da terapia tópica incluem o custo reduzido (hospitalização não obrigatória), menor toxicidade (fármaco direcionado para os tecidos infectados) e a adesão do paciente (facilidade de administração) (GARNIER et al., 2006).

3.1. COMPOSTOS NATURAIS (PRÓPOLIS, COGUMELOS, PLANTAS, ALGAS E SEMENTES)

3.1.1. Própolis

Foram encontrados três estudos avaliando o própolis para o tratamento da LTA. No primeiro estudo foram testadas quatro amostras de extratos alcoólicos de própolis colhidos de diferentes estados brasileiros, com ensaios em *Leishmania amazonensis* nas formas: promastigota, amastigota extracelular e em macrófagos peritoneais infectados. Os extratos alcoólicos de própolis verde do estado do Paraná foram tipificados como BRG e BRPG; o extrato de própolis verde do estado de Minas foi tipificado como BRP-1; e por último o extrato de própolis vermelho do estado de Alagoas foi tipificado como BRV. Todas as amostras de própolis (BRG, BRPG, BRP-1 e BRV) foram capazes de reduzir a carga parasitária monitorada pela porcentagem dos macrófagos infectados e do número de parasitas intracelulares. A amostra BRV, contendo altas concentrações de prenilados e compostos benzofenonas, foi o extrato mais ativo contra *L.amazonensis*. O efeito antileishmania da amostra de BRV foi aumentado de uma maneira dependente em concentração e tempo. O tratamento com BRV provou não ser tóxico para as culturas de macrófagos. O extrato de BRV na concentração de 25 µg/ mL reduziu a carga parasitária dos macrófagos e não apresentou toxicidade para as forma promastigota e amastigota extracelulares. Foi sugerido que os constituintes do própolis intensificam o mecanismo de ativação dos macrófagos levando-os a matar a *L.amazonensis*. Os resultados demonstraram, pela primeira vez, que o extrato de própolis brasileiro reduz a infecção por *L.amazonensis* em macrófagos, e encoraja mais estudos de compostos naturais em modelo animal para espécies de *Leishmania* (AYRES et al., 2007).

Em um segundo estudo *in vitro*, além de extratos de própolis do Brasil, foram também avaliados própolis coletados na Bulgária. Quatro espécies de *Leishmania* na forma promastigota apresentaram diferentes graus de sensibilidade aos extratos. Em ordem decrescente, da mais sensível para a menos sensível os resultados para os própolis búlgaro foram: *L.major* > *L.amazonensis* > *L.chagasi* > *L.braziliensis*. e para o própolis brasileiro foram: *L.major* > *L.chagasi* > *L.braziliensis* > *L.amazonensis*. A composição dos extratos foi anteriormente caracterizada por cromatografia gasosa acoplada ao espectrofotômetro de massa. Considerando as diferenças químicas, quantidade ou somatória e o comportamento do parasita, foram observadas diferenças significativas nas atividades leishmanicidas com IC₅₀ (concentração inibitória 50%) variando de 2,8 a 229,3 µg/ mL. A análise global mostrou que para todas as espécies avaliadas, os extratos búlgaros foram mais ativos do que os extratos alcoólicos brasileiros. Como os ensaios de extratos de própolis têm composição química determinada é aconselhável investigar o efeito dos componentes individualmente ou com suas combinações em cada espécie de *Leishmania* (MACHADO et al., 2007).

O extrato de própolis verde brasileiro hidroalcoólico (EPB) foi avaliado contra ambas as formas promastigotas e amastigotas de *L. braziliensis*. No ensaio *in vitro* o EPB mostrou atividade leishmanicida contra a forma promastigota do parasita, ao contrário da forma amastigota onde o EPB mostrou-se inativo. No ensaio de toxicidade o EPB não mostrou cito toxicidade em doses máximas. Já no ensaio *in vivo* foram separados grupos de camundongos Balb/c. Após 90 dias de tratamento foi avaliada a redução das lesões com os seguintes resultados: grupo 1 (tratado por via oral com EPB) 78,6%; grupo 2 (tratado topicamente com EPB) 84,3%; grupo 3 (tratado com EPB por via oral e topicamente) 90%; grupo 4 (tratado com

Glucantime[®]) 57,7%. Foi a primeira vez que a atividade antileishmania *in vivo* foi relatada para EPB brasileiro (PONTIN et al., 2008).

3.1.2. Cogumelos

Dois terpenoides (hipofilina e panepoxidona) isolados do cogumelo *Lentinus strigosus* apresentaram atividades inibitórias em tripanosomatídeos (*L. amazonensis* e *Trypanosoma cruzi*). Com relação à *L. amazonensis* na forma amastigota *in vitro* houve 67 % de atividade inibitória com a concentração de 1,25 mg/mL. Entretanto, a panepoxina apresentou cito toxicidade e somente a hipofilina mostrou-se com potencial para o desenho de fármacos para tripanosomatídeos. (SOUZA-FAGUNDES et al., 2010).

O extrato de cogumelo *Agaricus blazei* Murill foi avaliado *in vitro* contra diferentes espécies e estágios de *Leishmania*. O extrato apresentou baixa cito toxicidade em macrófagos murinos e nenhuma atividade hemolítica em glóbulos vermelhos humanos e também mostrou-se eficaz contra *L. amazonensis*, *L. chagasi* e *L. major*. Os resultados demonstraram que o extrato *Agaricus blazei* Murill causou redução na taxa de infecção de três espécies de *Leishmanias* (*L. amazonensis* de 82% para 12,7%; *L. major* de 57% para 19,7% e *L. chagasi* de 73% para 19,7%). Foi demonstrado que esse cogumelo pode ser potencialmente usado como uma alternativa terapêutica sozinha, ou em associação com outros medicamentos, para o tratamento de leishmaniose cutânea e visceral (VALADARES et al., 2011).

3.1.3 Plantas, Algas e Sementes

A eficácia de extratos de plantas medicinais de *Thymus vulgaris* (tomilho), *Achillea millefolium* (mil-folhas), extrato de própolis e Glucantime[®] foram avaliados

contra *L. major*. Foi realizado teste *in vivo* em camundongos Balb/c que foram tratados sistemicamente com os compostos citados e os resultados mostraram redução na média do tamanho da úlcera em: 17,66% para o grupo controle, 22,57% para o grupo tratado com Glucantime[®], 43,29% para o grupo tratado com mil-folhas, 36,09% para o grupo tratado com tomilho e 43,77% para o grupo tratado com própolis. Os resultados mostraram que *T. vulgaris*, *A. millefolium* e o extrato de própolis foram significativamente mais eficazes na redução do tamanho da úlcera leishmaniótica, em comparação com o Glucantime[®] (NILFOROUSHZADEH et al., 2008).

Neste outro estudo investigaram-se as atividades antimicrobianas e leishmanicida de sementes de *Pterodon emarginatus*, por meio de seu óleo essencial e suas frações. Foram testadas *in vitro* sobre formas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. chagasi*, sendo que só houve efeito leishmanicida em *L. amazonensis*. O óleo essencial não apresentou atividade leishmanicida, porém a fração hexânica (FH) (IC₅₀ = 50,06 µg/mL) e a fração butanólica (FB) (IC₅₀ = 46,65 µg/mL) apresentaram atividades frente às formas promastigotas de *L. amazonenses*. Mesmo assim, os valores de IC₅₀ foram muito maiores quando comparados com a anfotericina B (IC₅₀ = 0,91 µg/mL). De acordo com os autores, as moléculas bioativas presentes nas sementes de *P. emarginatus* podem ser utilizadas como protótipos para o desenvolvimento de fármacos e/ou como fonte de matérias-primas farmacêuticas (DUTRA et al., 2009).

Após a avaliação de 48 extratos alcoólicos de plantas cubanas, três extratos, *Hura crepitans*, *Bambusa vulgaris* e *Simarouba glauca* mostraram atividades promissoras contra *L. amazonensis* na forma amastigota. A *H. crepitans* apresentou um menor IC₅₀ = 27,7 µL/mL em relação à *B. vulgaris* (IC₅₀ = 41,5 µL/mL) e *S. glauca*

(IC₅₀ = 45,5 µL/mL) entretanto, as três plantas apresentaram alto grau de toxicidade contra macrófagos do peritônio de camundongos BALB/c comparativamente à pentamidina (fármaco de referência). Os autores ressaltam a importância da identificação e isolamento dos compostos presentes nas plantas que possam ter o efeito leishmanicida (GARCÍA et al., 2012).

Outro candidato a leishmanicida foi isolado a partir da alga *Dictyota paffii*. O composto 8,10,18-tri-hidroxi-2,6-dolabelladiene (Dolabelladienetriol) foi avaliado sobre o crescimento de *L. amazonensis* em macrófagos infectados e em promastigotas. No seu conjunto, estes resultados demonstraram uma potente atividade leishmanicida de Dolabelladienetriol, independentemente da forma do parasita. Os resultados indicam que Dolabelladienetriol não tem toxicidade contra a célula hospedeira e inibe significativamente a *Leishmania* em macrófagos infectados, mesmo na presença de fatores que agravam o crescimento do parasita, tal como a IL-10, TGF-β-1 e coinfeção por HIV-1, sugerindo que Dolabelladienetriol é um candidato promissor para futuros estudos sobre o tratamento da leishmaniose, associada ou não a infecção pelo HIV-1 (SOARES et al., 2012).

3.2. ALOPÁTICOS (INJEÇÃO INTRALESIONAL DE SULFATO DE ZINCO A 2%, NOVAS FORMULAÇÕES DE CREMES E GÉIS)

Além das pesquisas com produtos naturais para o tratamento de leishmaniose, há inúmeras tentativas de associação de novos compostos com fármacos já disponíveis. A buparvaquona (BPQ) e seu pró-fármaco 3-fosfono-oximetil-buparvaquona (3-POM-BPQ) mostraram-se potentes leishmanicidas *in vitro* para o tratamento de leishmaniose cutânea por possuírem a capacidade em atravessar a pele humana e murina. Os resultados confirmam que BPQ e seu pró-

fármaco 3-POM-BPQ podem penetrar na pele a partir de várias formulações, tornando-os candidatos potencialmente interessantes para o tratamento da leishmaniose (GARNIER et al., 2006).

Dando continuidade à esse estudo, os autores testaram *in vivo* várias formulações tópicas de buparvaquona contra *L. major*, em lesões cutâneas de camundongos BALB/c. Tanto o gel hidrófilo quanto a emulsão A/O de buparvaquona reduziram significativamente a carga parasitária cutânea e o tamanho da lesão. O pró-fármaco 3-fosfono oximetil-buparvaquona foi formulado em um gel anidro e também reduziu significativamente a carga parasitária e o tamanho das lesões. A introdução de uma formulação tópica, como buparvaquona (ou o seu pró-fármaco), seria um avanço significativo para o tratamento de lesões cutâneas simples (GARNIER et al., 2007).

Este estudo demonstra excelentes resultados no tratamento contra a leishmaniose cutânea, com compostos da classe beta-carbolina (previamente estudados para *T. cruzi*) que foram sintetizados e testados *in vitro* contra *L. amazonensis*. Os resultados demonstram o efeito de uma série de derivados de beta-carbolina-carboxamidas contra promastigotas, amastigotas axênicas e amastigotas intracelulares de *L. amazonensis*, e também alterações morfológicas e estruturais do parasita. O composto N-benzil-1-(4-metoxi) - fenil-9H-beta-carbolina-3-carboxamida teve uma excelente atividade contra as formas promastigotas e amastigotas e também demonstrou ter baixa toxicidade. De acordo com os autores, essas características devem estimular outros estudos *in vitro* deste composto para buscar um mecanismo de ação e estudos *in vivo* para avaliar a sua atividade em modelos de roedores (PEDROSO et al., 2011).

Neste estudo avaliou-se o mecanismo de produção de espécies reativas de oxigênio pelos macrófagos frente ao estímulo de nano partículas de prata (NPs-Ag) contra *L. tropica*. Foram observados os efeitos das NPs-Ag em parâmetros biológicos de *L. tropica* como a morfologia, atividade metabólica, proliferação, infectividade e sobrevivência em células hospedeiras *in vitro*. A melhora dos efeitos das NPs-Ag foi demonstrada na morfologia e infectividade dos parasitas sob luz ultravioleta (UV). As NPs-Ag demonstraram atividade leishmanicida significativas, inibindo em 1,5 vezes a proliferação e em três vezes a atividade metabólica da forma promastigota do parasita, no escuro, e 2 - a 6,5 vezes, respectivamente, sob luz UV. Os NPs-Ag inibiram a sobrevivência da forma amastigota em células hospedeiras, e este efeito foi mais significativo, na presença de luz UV (ALLAHVERDIYEV et al., 2011).

Outro composto estudado para o tratamento da leishmaniose é o ouro. Neste estudo, membranas de borracha natural contendo nano partículas de ouro foram colocadas em meio de cultura, contendo a forma promastigota da *L. brasiliensis*, resultando em uma diminuição na taxa de crescimento populacional e aderência do ouro à membrana do parasita. Em seguida, utilizaram os parasitas que já tinham entrado em contato com as membranas de borracha/ouro e os inocularam em culturas de macrófagos. Notou-se uma diminuição na taxa de infecção dos macrófagos. Esta baixa infectividade *in vitro* foi gerada, principalmente, por mudanças no glicocálix do parasita, que é o principal responsável pelo ato de infecção. Tais membranas poderiam ser usadas para desenvolver um Band-Aid® flexível para as lesões da pele em estado de infecção degenerativa, inibindo o crescimento da população de parasitas nas lesões. Além disso, as membranas de

borracha natural também podem estimular a angiogênese em tecidos danificados (BARBOZA-FILHO et al., 2012).

Neste outro estudo verificou-se a atividade antileishmania do aduto de Morita-Baylis – Hillman*, 2 metil - {2 - [hidroxi (2-nitrofenil) metil]} acrilóiloxi} benzoato *in vitro* contra isolados de *L. braziliensis* obtidos a partir de pacientes com diferentes manifestações clínicas da leishmaniose tegumentar. O aduto efetivamente inibiu o crescimento da forma promastigota de diferentes isolados de *L. braziliensis* ($IC_{50} \leq 7-77 \mu\text{g} / \text{mL}$) e também reduziu a taxa de infecção de macrófagos infectados com estes parasitas ($EC_{50} \leq 1 \cdot 37 \mu\text{g} / \text{ml}$). O aduto foi também eficaz contra a forma amastigota intracelular (AMORIM et al., 2012).

Um estudo feito no Irã comparou as injeções intralesionais: de sulfato de zinco a 2% e de Glucantime® no tratamento da LC Aguda. O grupo A, com 24 pacientes, foi tratado com sulfato de zinco a 2%, injetados duas vezes por semana durante duas semanas, com taxa de cura de 33,3%. O grupo B, com 10 pacientes, foi tratado com Glucantime®, uma vez por semana durante seis semanas, com taxa de cura de 80%. As aplicações das injeções intralesionais de Glucantime® foram mais eficazes na cura das lesões comparada com as de sulfato de zinco a 2%, assim divergindo de muitos estudos científicos que mostram resultados favoráveis ao sulfato de zinco. Uma das explicações possíveis para essa contradição, relatada pelos autores são: as diferenças de espécies de *Leishmania* dos pacientes, resultando em uma diferença de sensibilidade dos parasitas ao sulfato de zinco, diferença na formulação, método e na frequência das injeções de sulfato de zinco a 2% (MALEKI et al., 2012).

* Morita- Baylis - Hillman: é uma reação que resulta na formação de uma ligação C-C entre carbonos eletrofílicos sp² (geralmente um aldeído) e a posição α de uma olefina contendo um grupo retirador de elétrons, por um catalisador (COELHO et al., 2000).

Na Tunísia, foi realizado um estudo de fase III randomizado, para tratamento tópico da leishmaniose cutânea causada pela *Leishmania major* contendo paromomicina 15% com e sem gentamicina 0,5%. Foram tratados 375 pacientes, com uma ou até cinco lesões ulcerativas. Um grupo recebeu um creme contendo paromomicina 15% mais gentamicina 0,5%, outro grupo recebeu um creme contendo paromomicina 15% e outro grupo controle recebeu um creme (com a mesma base, dos outros dois, mas não continha nem paromomicina ou gentamicina). Cada lesão foi tratada uma vez por dia durante 20 dias. O desfecho primário foi a cura da lesão utilizada como referência (lesão ulcerativa de 1 a 5 cm de diâmetro). Os critérios de cura foram: a redução de pelo menos 50% no tamanho desta lesão em 42 dias, a total reepitelização completa por 98 dias e a ausência de uma recaída, até ao final do estudo (168 dias). A taxa de cura da lesão utilizada como referência foi de 81% para paromomicina- gentamicina, 82% para paromomicina sozinha, e 58% para o controle. Este estudo fornece evidências de eficácia de tratamento para *L. major* ulcerativa com paromomicina- gentamicina e paromomicina sozinha (SALAH et al., 2013).

3.3. MÉTODOS FÍSICOS (OXIGENAÇÃO HIPERBÁRICA, CRIOTERAPIA E TERMOTERAPIA)

Neste estudo avaliou-se a eficácia da terapia da oxigenação hiperbárica (TOH), aplicada em combinação ou não com o tratamento com Glucantime[®], e o efeito de gel de própolis vermelha de origem brasileira (propaina) aplicado em combinação ou não com o tratamento com Glucantime[®]. Durante a infecção com *L. amazonensis*, a inibição da infecção de macrófagos tratados com Glucantime[®] em combinação com TOH foi maior que a de macrófagos tratados apenas com Glucantime[®] ou TOH. A linhagem murina susceptível, BALB/c, infectada no dorso

com *L. amazonensis*, tratada com Glucantime[®] e exposta a TOH, mostrou durante o curso da doença, fases em que as lesões eram menores do que a de camundongos apenas tratados com Glucantime[®]; observou-se revascularização da pele da lesão e baixa produção de interferon- gama em células de linfonodos desses animais. O tratamento com propina isoladamente não foi eficiente na cura das lesões, apesar de lesões menos exsudativas serem observadas em animais tratados com propina ou propina combinada ao tratamento com Glucantime[®]. Os resultados demonstram que tanto TOH quanto própolis vermelho em combinação com Glucantime[®] são promissores no tratamento da LC (AYRES et al.,2011).

Um dos métodos físicos utilizados no tratamento da leishmaniose tegumentar é a termoterapia. Um estudo de fase III realizado na Colômbia comparou a eficiência e segurança de uma única sessão de termoterapia (50°C – 30 segundos no centro e nas bordas da lesão) e o Glucantime[®] durante 20 dias. O grupo que recebeu a aplicação térmica a 50°C no centro e no limite da borda de cada lesão apresentou cura de 65% comparado a 85% do grupo com Glucantime[®], entretanto os efeitos adversos tais como, mialgia, dor de cabeça, artralgia e febre foram maiores no grupo tratado com o medicamento, enquanto a termoterapia apresentou um único efeito adverso, a dor na área da lesão quatro dias após o início do tratamento (LÓPEZ et al.,2012).

Em outro estudo realizado no Hospital Militar de Marrocos, utilizou-se como tratamento a associação entre antimoniato de meglumina e crioterapia (usando nitrogênio líquido) em ¾ dos casos para Leishmaniose Tegumentar. O resultado foi favorável para todos os pacientes tratados com essa associação (ER-RAMI et al.,2012).

4. CONCLUSÕES

O número de casos notificados de leishmaniose vem aumentando e, além disso, a coinfeção oportunista em pacientes portadores do vírus da AIDS é uma realidade preocupante. Portanto o desenvolvimento de novos tratamentos alternativos relacionando custo e eficácia tem tornado-se uma prioridade para muitos pesquisadores.

Os compostos extraídos de produtos naturais representam uma fonte valiosa e importante para a investigação de novos fármacos para serem utilizados no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos já que, atualmente, os fármacos de rotina usados na clínica apresentam falha terapêutica devido a sua alta toxicidade, baixa eficácia e a alta resistência do parasita.

Nesta revisão de literatura, alguns tratamentos mostraram-se promissores e, provavelmente, terão prosseguimento em suas pesquisas.

A partir dos resultados dos extratos das plantas cubanas, por exemplo, (GARCÍA et al., 2012), nota-se a necessidade da purificação de seus compostos para a comprovação se há ou não toxicidade para a célula hospedeira.

Os resultados positivos com os extratos de plantas: *T. vulgaris*, *A. millefolium* e o extrato de própolis, contra *L. major* foram significativamente mais eficazes na redução do tamanho da úlcera leishmaniótica, em comparação com o Glucantime® (NILFOROUSHZADEH et al., 2008). Este resultado positivo poderia servir de incentivo para novos estudos utilizando cepas das principais *Leishmanias* que acometem o Brasil.

O estudo de fase III realizado na Tunísia, para tratamento tópico da LC causada pela *L. major*, fornece evidências de eficácia no tratamento das lesões: em

81% para o creme paromomicina- gentamicina e 82% para o creme paromomicina (SALAH et al., 2013).

Membranas feitas com látex e nano partículas de ouro mostraram- se eficazes na diminuição da taxa de crescimento populacional da forma promastigota de *L. brasiliensis*. Essa membrana poderia ser usada para desenvolver um Band-Aid® flexível para as lesões e também estimularia a angiogênese nestes tecidos. (BARBOZA-FILHO et al., 2012).

E, por fim, outra vertente de pesquisas são os métodos físicos que foram eficazes no tratamento da LC como é caso da termoterapia, crioterapia e terapia de oxigenação hiperbárica associada com Glucantime®.

Portanto são necessários esforços conjuntos tanto dos pesquisadores com seus conhecimentos científicos em busca de uma cura mais eficaz quanto aos serviços de saúde pública com ações preventivas e efetivas ao combate e controle das proliferações dos vetores das leishmanioses.

Neste contexto, instituições públicas e civis, assim como a própria sociedade devem estar ativas e, permanentemente, inseridas no processo dinâmico, complexo e proativo das ações de controle dessa parasitose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAHVERDIYEV, A.M. et al. Antileishmanial effect of silver nanoparticles and their enhanced antiparasitic activity under ultraviolet light. **International Journal of Nanomedicine**, v. 6, p. 2705-2714. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3218584/>. Acesso em: 20 dez. 2012., 2011.
- ALTAMIRANO-ENCISO et al. Sobre a origem e dispersão das leishmanioses cutânea e mucosa com base em fontes históricas pré e pós-colombianas. **Hist. cienc. saude-Manguinhos**, v. 10, n. 3, p.853-882. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-59702003000300004&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt&userID=-2. Acesso em: 5 jan. 2013., 2003.
- AMATO S.V. et al. Um caso de leishmaniose cutâneo-mucosa tratado com sucesso com baixa dose de antimônio pentavalente. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 31, n. 2, p. 221-224. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86821998000200008. Acesso em: 05 jan. 2013., 1998.
- AMATO,S.V. Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 3, n. 26, 3 p. . Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa26_Ita.htm. Acesso em: 20 jul. 2013., 2006.
- AMORIM, F. M. et al. Morita-Baylis-Hillman adduct shows in vitro activity against *Leishmania* (Viannia) *braziliensis* associated with a reduction in IL-6 and IL-10 but independent of nitric oxide. **Parasitology**, v. 140, n. 01, p. 29-38. Disponível em: <http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&aid=8802100>. Acesso em: 20 dez. 2012., 2012.
- AYRES,D.C. et al. Potential utility of hyperbaric oxygen therapy and propolis in enhancing the leishmanicidal activity of Glucantime®. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 53, n. 6, p. 329-334. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s003646652011000600006&script=sci_arttext . Acesso em: 20 jan. 2012., 2011.
- AYRES, D.C. et al. S Effects of Brazilian propolis on *Leishmania amazonensis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 2, p. 215-220. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762007000200015&script=sci_arttext. Acesso em: 20 nov. 2012., 2007.
- BARBOZA-FILHO et al. The influence of natural rubber/Au nanoparticle membranes on the physiology of *Leishmania brasiliensis*. **Experimental Parasitology**, v. 130, n. 2, p. 152-158. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014489411003274>. Acesso em: 20 dez. 2012., 2012.

BARBOZA-FILHO. et al. The influence of natural rubber/Au nanoparticle membranes on the physiology of *Leishmania brasiliensis*. **Experimental Parasitology**, v. 130, n. 2, p. 152-158. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014489411003274>. Acesso em: 20 dez. 2012., 2012.

BERMAN,J. Recent Developments in Leishmaniasis: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. **Current Infectious Disease Reports**, v. 7, p. 33-38. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15610669>. Acesso em: 20 jun. 2013., 2005.

Boletim eletrônico epidemiológico, disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ano10_n02_sit_epidemiol_zoonoses_br.pdf acessado em 20 de março de 2013.

COELHO, F et al. Reação de BAYLIS-HILLMAN: uma estratégia para a preparação de intermediários multifuncionalizados para síntese orgânica. **Química Nova**, v. 1, n. 23, p. 98-101. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v23n1/2150.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2013., 2000.

DUTRA ,R. et al. Atividades antimicrobiana e leishmanicida das sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 2A, p. 429-435. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2009000300016&script=sci_arttext. Acesso em: 01 jan. 2013., 2009.

ER-RAMI, M. et al. Cutaneous leishmaniasis in the military hospital Moulay Ismaïl of Meknes (Morocco): About 49 cases diagnosed between 2005 and 2011. **Pathologie Biologie**, [s.l.], n. , p.1-5. Disponível em: [http://www.researchgate.net/publication/224866213_Cutaneous_leishmaniasis_in_the_military_hospital_Moulay_Ismaïl_of_Meknes_\(Morocco\)_About_49_cases_diagnosed_between_2005_and_2011](http://www.researchgate.net/publication/224866213_Cutaneous_leishmaniasis_in_the_military_hospital_Moulay_Ismaïl_of_Meknes_(Morocco)_About_49_cases_diagnosed_between_2005_and_2011). Acesso em: 20 dez. 2012.2012.

GARCÍA ,M et al. Activity of Cuban Plants Extracts against *Leishmania amazonensis*. **ISRN Pharmacology**, v. 2012, 7 p. . Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3316957/>. Acesso em: 20 nov. 2012., 2012.

GARNIER,T. et al. In vivo studies on the antileishmanial activity of buparvaquone and its prodrugs. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 60, p. 802-810. Disponível em: <http://jac.oxfordjournals.org/content/60/4/802.long>. Acesso em: 20 nov. 2012., 2007.

GARNIER,T. et al. Topical buparvaquone formulations for the treatment of cutaneous leishmaniasis. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 59, p. 41-49. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1211/jpp.59.1.0006/abstract;jsessionid=194EC2A417873692C831CA15C3333EE1.d03t04>. Acesso em: 20 nov. 2012., 2006.

GIL, E.S et al. Produtos naturais com potencial leishmanicida. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 9, p. 223-230. Disponível em: http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/587/510. Acesso em: 20 dez. 2012., 2009.

Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade da São Paulo, disponível em: http://www.icbusp.org/index.php?option=com_content&view=article&id=74&Itemid=49 acessado em 20 de julho de 2013.

LÓPEZ,L. et al. Thermoherapy. An alternative for the treatment of American cutaneous leishmaniasis. **Trials Journal**, . Disponível em: <http://www.trialsjournal.com/content/13/1/58>. Acesso em: 11 nov. 2012., 2012.

MACHADO, G.M.C et al. Activity of Brazilian and Bulgarian propolis against different species of *Leishmania*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 1, p. 73-77. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762007000100012&script=sci_arttext. Acesso em: 20 nov. 2012., 2007.

Maleki M, Karimi G, Tafaghodi M, Raftari S, Nahidi Y. Comparison of intralesional two percent zinc sulfate and Glucantime[®] injection in treatment of acute cutaneous leishmaniasis. **Indian J Dermatol** [serial online] 2012 [cited 2012 Aug 8];57:118-22. Disponível em: <http://www.e-ijd.org/text.asp?2012/57/2/118/94279>. Acesso em: 11 nov. 2012., 2012.

Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar americana, disponível em: http://www.portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_lta_2ed.pdf acessado em 20 de novembro de 2012.

MEYERHOFF, A et al. U.S. Food and Drug Administration approval of AmBisome (liposomal amphotericin B) for treatment of visceral leishmaniasis. **Clin. Infect. Dis.**, v. 28, p. 42-52. Disponível em: <http://cid.oxfordjournals.org/content/28/1/42.long>. Acesso em: 30 mai. 2013., 2012.

NILFOROUSHZADEH, M.A. et al. Comparison of *Thymus vulgaris* (Thyme), *Achillea millefolium* (Yarrow) and propolis hydroalcoholic extracts versus systemic Glucantime[®] in the treatment of cutaneous leishmaniasis in balb/c mice. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 45, n. 4, p. 301-306. Disponível em: <http://www.mrcindia.org/journal/issues/454301.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2012., 2008.

PEDROSO, R. B. et al. Beta-carboline-3-carboxamide derivatives as promising antileishmanial agents. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 105, n. 8, p. 549-557. Disponível em: <http://www.ingentaconnect.com/content/maney/atmp/2011/00000105/00000008/art00002?token=0053136eda57e44>. Acesso em: 05 dez. 2012., 2011.

PINHEIRO, R. Leishmaniose Tegumentar Americana: mecanismos imunológicos, tratamento e profilaxia. **Infarma**, v. 16, n. 7, 4 p. . Disponível em: <http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/79/23-leishmaniose.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2013., 2004.

PONTIN, K. et al. In vitro and in vivo antileishmanial activities of a Brazilian green propolis extract. **Parasitology Research**, v. 103, n. 3, p. 487-492. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00436-008-0970-z>. Acesso em: 20 nov. 2012., 2008.

Portal da Saúde, disponível em:
<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/2012_11_casos_de_lta_entre_1990_e_2011.pdf> acessado em 20 de março de 2013.

Portal da Saúde, disponível em:
<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/doen_infecciosas_gui_a_bolso_8ed.pdf> acessado em 20 de março de 2013.

Portal da Saúde, disponível em:
<http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/arquivos/pdf/2013/Fev/21/saudebrasil2011_parte1_cap3.pdf> acessado em 20 de março de 2013.

RATH, S et al. Antimoniais empregados no tratamento da Leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**, v. 4, n. 26, p. 550-555. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422003000400018. Acesso em: 20 jan. 2013., 2003.

SALAH, A.B et al. Topical Paromomycin with or without Gentamicin for Cutaneous Leishmaniasis. **The New England Journal of Medicine**, v. 368, p. 524-532. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1202657>. Acesso em: 20 jan. 2013., 2013.

SOARES, D.C et al. Dolabelladienetriol, a Compound from *Dictyota pfaffii* Algae, Inhibits the Infection by *Leishmania amazonensis*. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 9, 1787 p. . Disponível em: <http://www.plosntds.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pntd.0001787>. Acesso em: 20 dez. 2012., 2012.

SOUZA-FAGUNDES, E.M. et al. In vitro activity of hypnophilin from *Lentinus strigosus*: a potential prototype for Chagas disease and leishmaniasis chemotherapy. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 43, n. 11, p. 1054-1061. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2010007500108&lng=en&nrm=iso&tlng=en. Acesso em: 20 dez. 2012., 2010.

TUOTO E.A **Gaspar Vianna (Biografia) in:Biografias Médicas by Dr. Elvio A Tuoto (internet). Brasil, 2006**. Disponível em: <http://medbiography.blogspot.com.br/2006/06/gaspar-vianna-incl-foto-photo.html>. Acesso em: 12 dez. 2012.

UTAILE,M. et al. Susceptibility of clinical isolates of *Leishmania aethiopica* to miltefosine, paromomycin, amphotericin B and sodium stibogluconate using amastigote-macrophage in vitro model. **Experimental Parasitology**, v. 134, n. 1,

p. 68-75. Disponível em:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014489413000453>. Acesso em: 05 mai. 2013., 2013.

VALADARES D.G et al. Leishmanicidal activity of the *Agaricus blazei* Murill in different *Leishmania* species. **Parasitology International**, v. 60, n. 4, p. 357-363. Disponível em:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383576911000705>. Acesso em: 20 dez. 2012., 2011.

WHO et al. Report of the Fifth Consultative Meeting on Leishmania/HIV Coinfection. . Disponível em:

http://www.who.int/leishmaniasis/resources/Leishmaniasis_hiv_coinfection5.pdf. Acesso em: 20 jan. 2013., 2007.

WHO, disponível em:

<http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global_leishmaniasis_cutaneous_2009.png> acessado em 20 de março de 2013

World Health Organization. WHO Technical Report Series 949. Control of the Leishmaniasis. Geneva Switzerland: World Health Organization, Março 2010.

disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_949_eng.pdf > acessado em 6 de dezembro de 2011.