



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE



Dissertação de mestrado

Salvador (Bahia), 2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE



Tratamento da leishmaniose cutânea com
tamoxifeno e antimônio pentavalente:
estudo piloto e análise *in situ*

Camila Sampaio Ribeiro

Professor-orientador: Paulo Roberto Lima Machado

Salvador (Bahia), 2017

I. Resumo

TÍTULO: TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA COM TAMOXIFENO E ANTIMÔNIO PENTAVALENTE: ESTUDO PILOTO E ANÁLISE *IN SITU*.

Objetivos: Avaliar a eficácia da terapia combinada de antimônio pentavalente (Sb^V) com tamoxifeno, oral (TO) ou tópico (TT), em comparação com Sb^V em monoterapia para o tratamento da Leishmaniose cutânea (LC). Determinar a expressão de CD8, IL-17 e outros marcadores imunes na lesão por meio da imuno-histoquímica (IHQ) e correlacionar com desfecho terapêutico. **Métodos:** Ensaio clínico de fase II randomizado com três grupos. Estudo realizado no posto de saúde de Corte de Pedra-Bahia. Adultos com LC apresentando 01-05 úlceras variando entre 01-05 cm foram incluídos. Foi realizada uma biópsia pré-tratamento para estudo *in situ*. **Resultados:** 38 pacientes foram alocados em três grupos: Sb^V (n = 15); Sb^V + TT (n = 11) e Sb^V + TO (n = 12). Na análise por intenção de tratar (D90), a taxa de cura foi de 53% (8/15), 45% (5/11) e 67% (8/12), respectivamente (p = 0,58). Na análise por protocolo, a taxa de cura foi de 57% (8/14), 50% (5/10), 80% (8/10), respectivamente (p = 0,35). Não houve diferença significativa na frequência de efeitos colaterais entre os grupos. A expressão *in situ* de CD8 ou de IL-17 entre pacientes que falharam e que curaram não apresentou diferença significativa. **Conclusões:** A terapia combinada de Sb^V com Tamoxifeno é um tratamento seguro para LC e o grupo Sb^V +TO apresentou maior taxa de cura (p=ns). A expressão tecidual de CD8 e IL-17 não se correlacionou com o desfecho terapêutico.

Palavras-chave: 1. Leishmaniose cutânea 2. Tamoxifeno 3. *Leishmania (Viannia) braziliensis* 4. Glucantime.

X. Summary

TREATMENT OF CUTANEOUS LEISHMANIASIS WITH TAMOXIFEN AND PENTAVALENT ANTIMONIAL: A PILOT STUDY AND AN *IN SITU* ANALYSIS

Aims: To evaluate safety and efficacy of the combined therapy of pentavalent antimony (Sb^V) with tamoxifen, oral (TO) or topical (TT), compared with Sb^V in monotherapy for the treatment of cutaneous leishmaniasis (CL). To determine the expression of CD8, IL-17 and other immune markers at the lesion by immunohistochemistry (IHC) and correlate with therapeutic outcome. **Methods:** Phase II randomized clinical trial with three treatment groups. Study performed at the health post of Corte de Pedra, Bahia, Brazil. Adults with CL presenting with 01-05 ulcers varying between 01-05 cm were included. Patients were followed up for 7 months. A pre-treatment biopsy was performed for IHQ analysis. **Results:** 38 patients were allocated into three groups: Sb^V (n=15); Sb^V +TT (n=11) and Sb^V +TO (n=12). Intention-to-treat analysis (D90) revealed cure rate of 53% (8/15), 45% (5/11) and 67% (8/12) respectively (p=0,58). Per protocol analysis revealed cure rate of 57% (8/14), 50% (5/10), 80% (8/10) respectively (p=0,35). There was no significant difference in side effects frequency between groups. Two patients discontinued treatment: one patient of the Sb^V +TT group owing angioedema and another patient of the Sb^V +TO group owing palpitation and headache. *In situ* CD8 and IL-17 expression between patients who failed and those who healed after treatment did not show a significant difference. **Conclusions:** Association of Sb^V with Tamoxifen is a safe therapeutic intervention for CL and the Sb^V + TO group presented a higher cure rate. Tissue expression of CD8 and IL-17 was not correlated with therapeutic outcome. **Key-words:** 1. Cutaneous leishmaniasis 2. Tamoxifen 3. *Leishmania (Viannia) braziliensis* 4. Glucantime.

Tabela 1. Características demográficas e clínicas de pacientes com LC por grupo de tratamento (G, G+TT e G+TO)

	G (n=15 / 39%)	G + TT (n=11 / 29%)	G+ TO (n=12 / 32%)	p
Idade (anos) ^a	29 (19-44)	43 (32-53)	35 (24-47)	ns ^b
Sexo feminino ^c	3 (20%)	6 (55%)	6 (50%)	ns ^d
Lesão única ^c	11 (73%)	8 (73%)	9 (75%)	ns ^d
Área inicial (mm ²) ^a	165 (55-400)	144 (130-375)	208 (70-608)	ns ^b
Linfadenomegalia ^c	14 (93%)	7 (64%)	4 (33%)	0,01 ^d
Área (mm ²) ^d	225 (107-500)	150 (90-375)	163 (48-731)	ns ^b
Tempo de doença (dias) ^a	32 (30-40)	32 (30-40)	42 (30-49)	ns ^b
Localização ^c				
MMII	8 (53%)	5 (46%)	10 (83%)	ns ^d
Outros	7 (47%)	6 (55%)	2 (17%)	
Área da IDRm (mm ²) ^a	300 (169-400)	225 (144-289)	195 (105-284)	ns ^b
PCR negativo ^c	1 (7%)	1 (10%)	0 (0%)	ns ^d
Presença de amastigotas ^{c*}	8 (53%)	8 (80%)	6 (50%)	ns ^d

^a Mediana (p25-p75), ^b Teste de kruskal-Wallis, ^c Frequência absoluta (frequência relativa), ^d Teste do Qui-Quadrado * presença de amastigotas no estudo anatomopatológico (HE); ns (não significante).

Tabela 2. Desfechos terapêuticos de pacientes com LC estratificados por grupo de tratamento (G, G+TT e G+TO) (análise por intenção de tratar)

	G (n=15)	G + TT (n=11)	G+ TO (n=12)	p
Taxa de Cura inicial D90	8 (53%)	5 (45%)	8 (67%)	ns ^a
Taxa Cura final D210	6 (40%)	4 (36%)	7 (58%)	ns ^a
Recidiva D210	2 (25%)	1 (20%)	1 (12%)	ns ^a

^a Teste do Qui-Quadrado – comparação entre os três grupos e entre o grupo controle com os grupos de tratamento separadamente. ns: não siginificante.

Tabela 3. Desfechos terapêuticos de pacientes com LC estratificados por grupo de tratamento (G, G+TT e G+TO) (análise por protocolo)

	G (n=14)	G + TT (n=10)	G+ TO (n=10)	p
Taxa de Cura inicial D90	8 (57%)	5 (50%)	8 (80%)	ns ^a
Taxa Cura final D210	6 (43%)	4 (40%)	7 (70%)	ns ^a
Recidiva D210	2 (25%)	1 (10%)	1 (10%)	ns ^a

* Teste do Qui-Quadrado - comparação entre os três grupos e entre o grupo controle com os grupos de tratamento separadamente. ns: não significante.

Figura 3. Proporção de pacientes curados por intervalo de tempo em dias (D15-D30-D60-D90-D210) estratificados por grupo de tratamento

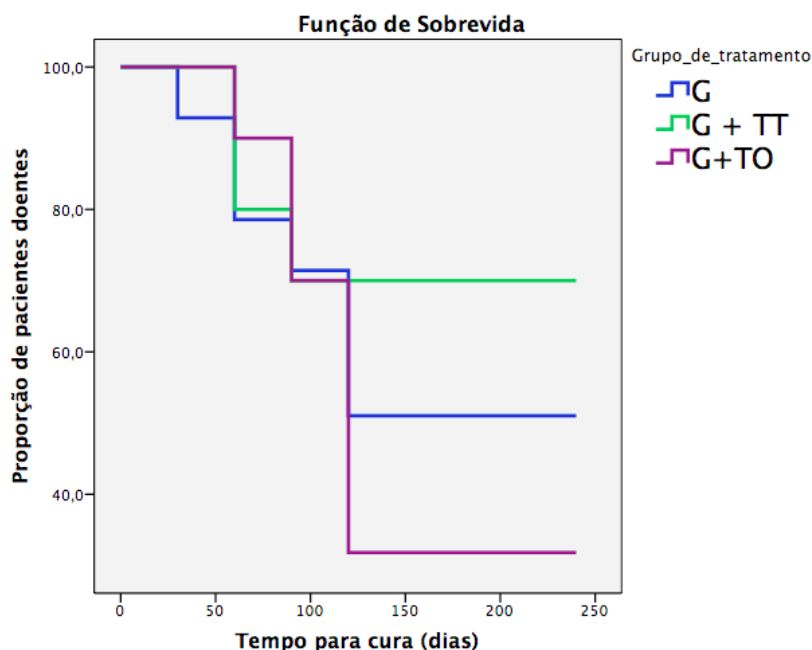





Tabela 4. Aspecto da lesão no momento da falha no D90 e surgimento de novas lesões (estratificado por grupo de tratamento)

Falha por Grupo / D90	Aspecto da lesão	Novas lesões* (n)	
G (43%)	n=6 Úlcera ativa (2)	Não	
	Placa com bordas infiltradas e descamativas	Não	
	Placa verrucosa	Não	
	Placa crostosa exsudativa	Sim (01)	
	Úlcera ativa	Sim (02)	
G+TT (50%)	n=5 Exulceração (1)	Não	
	Úlcera ativa (4)	Sim (2;2;5;16)	
G+TO (20%)	n=2 Cicatriz com pequena crosta focal	Não	
	Cicatriz (lesão inicial)	Sim (01)	

* Úlceras

Tabela 6. Frequência dos efeitos colaterais estratificados por grupo de tratamento e com a respectiva graduação CTCAE

Efeitos colaterais	G (n=15) 13 (87%)	Grau ^a	G+TT (n=11) 9 (82%)	Grau ^a	G+TO (n=12) 11 (92%)	Grau ^a	p ns
Febre	4 (26%)	2 (n=2) 2 (n=2)	1 (9%)	2 (n=1)	5 (42%)	1 (n=3) 2 (n=2)	ns *
Calafrio	1 (7%)	2 (n=1)	1 (9%)	2 (n=1)	1 (8%)	2 (n=1)	ns *
Artralgia	7 (47%)	1 (n=4) 2 (n=3)	8 (73%)	1 (n=3) 2 (n=5)	7 (58%)	1 (n=5) 2 (n=2)	ns *
Mialgia	7 (47%)	1 (n=2) 2 (n=5)	6 (55%)	1 (n=3) 2 (n=3)	6 (50%)	1 (n=4) 2 (n=2)	ns *
Insônia	1 (7%)	1 (n=1)	2 (18%)	1 (n=1) 2 (n=1)	5 (42%)	1 (n=3) 2 (n=2)	ns *
Cefaleia	0	0	2 (18%)	2 (n=2)	1 (8%)	3 (n=1)	ns *
Angioedema	0	0	1 (9%)	3 (n=1)	0	0	ns *
Palpitação	0	0	1 (9%)	1 (n=1)	1 (8%)	3 (n=1)	ns *

^a Grau CTCAE; * Teste do Qui-Quadrado

Figura 4. (a) Porcentagem de área marcada de CD8 entre todos os pacientes que curam e todos os que falharam ao tratamento no D90. (b) Porcentagem de área marcada de CD8 entre os pacientes que curam e os que falharam no D90 separados por grupo de tratamento.

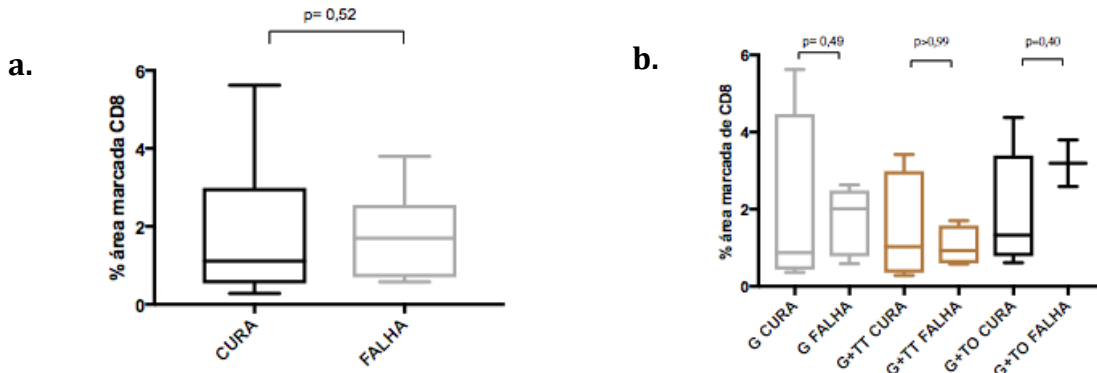


Figura 5. (a) Correlação entre a área marcada de CD8 e a área da úlcera (mm²). (b) Correlação entre a área marcada de CD8 e a área de linfadenomegalia (mm²) (c) Correlação entre a área marcada de CD8 e o tempo de doença no D0.

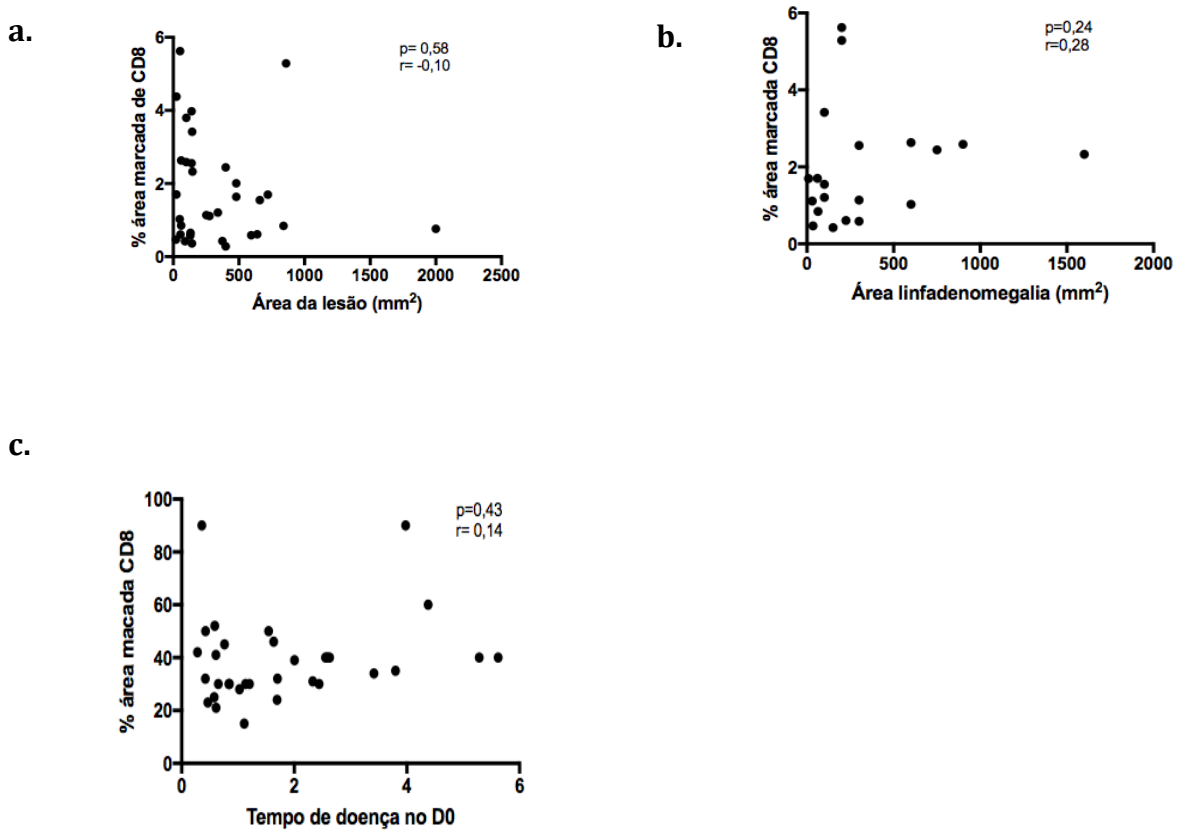


Figura 6. Reação imuno-histoquímica evidenciando células TCD8 na derme (400X) em biópsia de LC de um dos pacientes dos estudo.

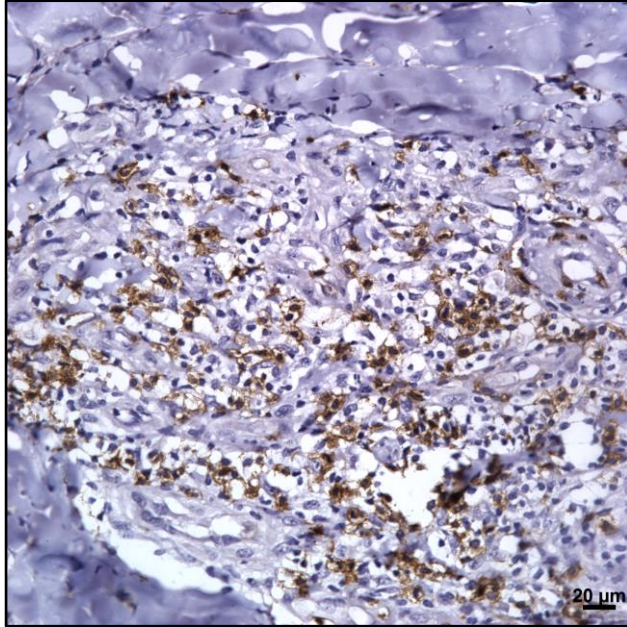


Figura 7. (a) Porcentagem de área marcada de IL-17 entre todos os pacientes que curam e todos os que falharam ao tratamento no D90. (b) Porcentagem de área marcada de IL-17 entre os pacientes que curam e os que falharam no D90 separados por grupo de tratamento.

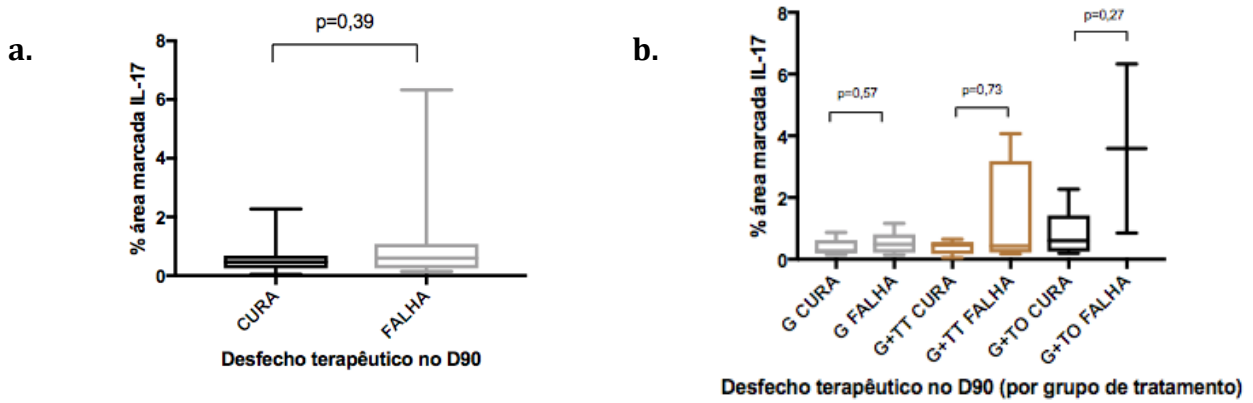


Figura 8. (a) Correlação entre área marcada de CD8 e área da úlcera (mm^2). (b) Correlação entre área marcada de CD8 e área de linfadenomegalia (mm^2) (c) Correlação entre área marcada de CD8 e tempo de doença no D0.

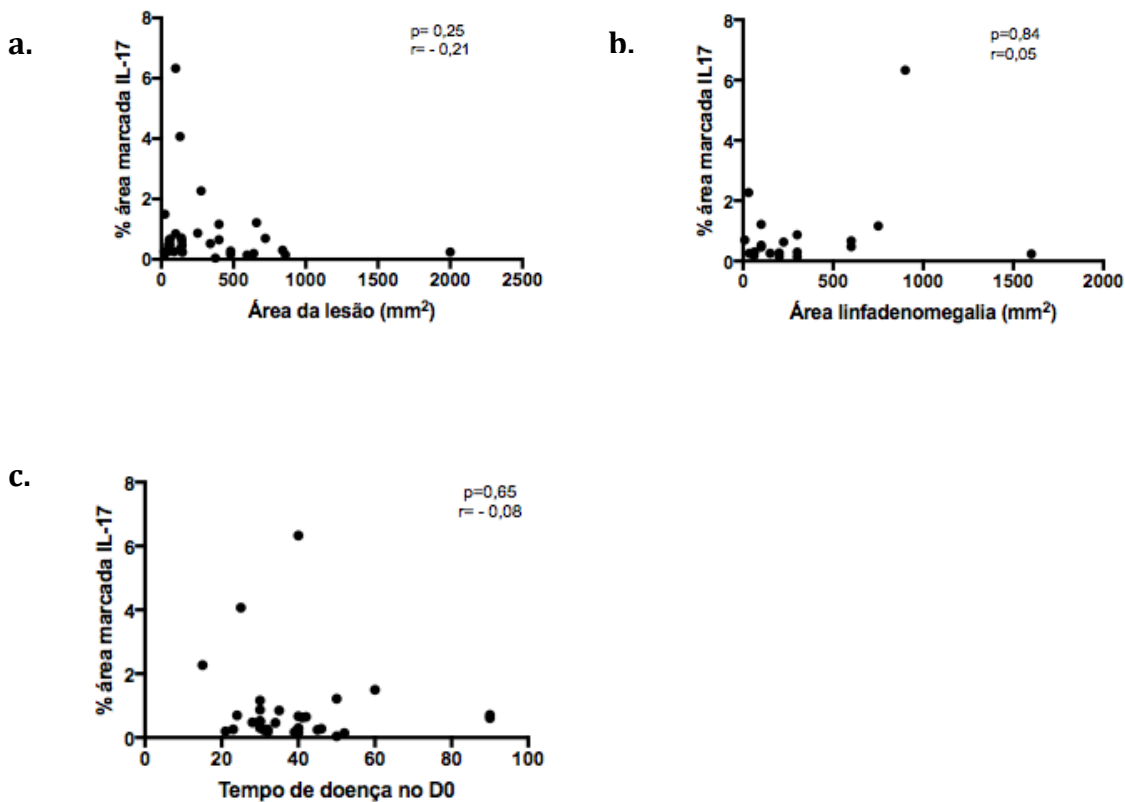


Figura 9. Reação imuno-histoquímica evidenciando a expressão de IL-17 na derme em biópsia de LC de um dos pacientes dos estudo (400X).

