



Biomédica

ISSN: 0120-4157

biomedica@ins.gov.co

Instituto Nacional de Salud
Colombia

Soto, Jaime; Soto, Paula
Miltefosina oral para el tratamiento de la leishmaniasis
Biomédica, vol. 26, núm. 1, octubre, 2006, pp. 207-217
Instituto Nacional de Salud
Bogotá, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84309922>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

REVISIÓN DE TEMA

Miltefosina oral para el tratamiento de la leishmaniasis

Jaime Soto, Paula Soto

CIBIC, Centro de Investigaciones Bioclinicas de la Fundación FADER, Bogotá, Colombia.

La pérdida de la eficacia, las dificultades para su administración y el incremento en la frecuencia y la severidad de los efectos secundarios de las sales de antimonio pentavalente han forzado la búsqueda de un medicamento que pueda remplazarlas en el tratamiento de la leishmaniasis. Los estudios adelantados con medicamentos inyectables, orales y tópicos han arrojado resultados inconsistentes y de poca utilidad en el Nuevo Mundo. Desde 1998 la hexadecifosfocolina (miltefosina) viene siendo utilizada con éxito en India en enfermos con leishmaniasis visceral y en 1999 se iniciaron los estudios clínicos en Colombia en pacientes con leishmaniasis cutánea. A la fecha se han tratado más de 2.500 pacientes en India (leishmaniasis visceral por *L. donovani*) y Colombia (leishmaniasis cutánea por *L. panamensis*) y se han logrado tasas de curación superiores a 91% a la dosis recomendada de 2,5 mg / kg peso / día durante 28 días continuos, sin que haya diferencia en la respuesta entre pacientes nuevos y los que presentan fallas o recaídas después de recibir antimoniales. En Guatemala la respuesta fue de 53% (33% para *L. braziliensis*, 60% para *L. mexicana*) mientras que la de *L. tropica* en Afganistán fue de 63%. Pacientes con leishmaniasis cutánea difusa, leishmaniasis mucosa y con co-infección por HIV+, han tenido una buena respuesta inicial pero debe recordarse la tendencia a recaer que tienen estos pacientes. Entre el 35% al 60% de los pacientes presentan reacciones adversas gastrointestinales leves y 10% al 20% hacen elevación leve de transaminasas y creatinina. Miltefosina, medicamento originalmente antineoplásico que posee una potente actividad leishmanicida al interferir con vías metabólicas e inducir apoptosis, ha demostrado su eficacia en casos de leishmaniasis cutánea por *L. panamensis* y de leishmaniasis visceral por *L. donovani*; miltefosina debe ahora demostrar su eficacia contra otras especies asociadas con las diversas formas clínicas de leishmaniasis.

Palabras clave: *Leishmania*, leishmaniasis, leishmaniasis cutánea, leishmaniasis visceral, terapia.

Oral miltefosine to treat leishmaniasis

Reduced efficacy, difficulties of administration and increasing frequency and severity of adverse events of pentavalent antimony have stimulated the quest for new anti-leishmanial drugs. Several clinical studies in Latin America testing injectable, oral and topical anti-leishmanial drugs have yielded inconsistent results. Since 1998 Indian researchers have conducted clinical trials evaluating hexadecylphosphocoline (miltefosine) in patients with visceral leishmaniasis and in 1999 clinical studies were initiated in Colombia in patients with cutaneous leishmaniasis. Up to date, more than 2.500 patients have been treated with miltefosine in India (visceral by *L. donovani*) and Colombia (cutaneous caused by *L. panamensis*) obtaining cure rates over 91% when a dose of 2.5 mg / kg / day during 28 days was used, with no difference between naïve and relapsing patients. In Guatemala the overall cure rate for patients with cutaneous leishmaniasis was 53% (33% for *L. braziliensis*; 60% for *L. mexicana*) while in Afghanistan the cure rate of patients with *L. tropica* was 63%. Patients with diffuse cutaneous leishmaniasis, mucosal disease and co-infected with HIV have been treated with initial success; however these diseases have frequent relapses. Mild gastrointestinal events (i.e. nausea, vomiting and diarrhoea) were present in 35 to 60% of patients included in clinical trials and 10 to 20% had a mild increase in transaminases and creatinine levels. Miltefosine, originally an antineoplastic drug, has a potent leishmanicidal activity as consequence of its interference in parasite metabolic pathways and the induction of apoptosis, has demonstrated efficacy against *L. donovani* visceral

disease and *L. panamensis* cutaneous disease. Now, miltefosine must demonstrate its efficacy against other species associated with diverse clinical presentations.

Keywords: *Leishmania*, leishmaniasis, leishmaniasis cutaneous, leishmaniasis visceral, therapy.

En la década de 1940 se inició el empleo de los antimoniales pentavalentes para el tratamiento de las diversas formas clínicas de leishmaniasis. Desde hace quince años se vienen reportando fallas terapéuticas en algunas regiones de India, Sudán y Etiopía (1,2), razón por la cual se han hecho ajustes en las dosis diarias y en el tiempo de administración con lo que se ha logrado mantener su eficacia pero con el inconveniente del incremento en la frecuencia y seriedad de los efectos secundarios (3,4). En Colombia se reportó recientemente (5) que los antimoniales pentavalentes continúan siendo efectivos en más del 90% de los casos cuando se emplean en la dosis y por el tiempo recomendado pero que su actividad declina hasta 50% cuando se hacen pausas, se acorta el tiempo de administración o se emplean dosis menores, circunstancias éstas frecuentemente secundarias a la presencia de eventos adversos.

Se han publicado numerosos reportes buscando alternativas a los antimoniales pentavalentes tanto inyectables (6-9), como orales (10-14) y tópicas (15-17). De ellos, sólo la pentamidina ha resultado eficaz y segura para recomendarla como medicamento de segunda línea (18), útil en pacientes que por alguna circunstancia médica no puedan recibir antimoniales pentavalentes o que no se hayan curado con ellos.

Croft (19) encontró a principios de los 80 que la miltefosina (hexadecilfosfocolina), un análogo de la fosfatidil-colina que fue originalmente desarrollada como un agente antineoplásico, eliminaba rápida y eficazmente de los cultivos a los promastigotes de leishmania. Su eficacia en ratas (20) así como un perfil de seguridad muy bien conocido por su empleo previo en pacientes

con cáncer (21,22) llevaron al rápido desarrollo de un programa de investigación clínica que hoy incluye más de 2.500 pacientes con leishmaniasis visceral y más de 500 con las formas tegumentarias. Con esta revisión queremos ofrecer un panorama actualizado sobre este medicamento con énfasis en su empleo en la forma cutánea, toda vez que existen publicaciones recientes, extensas y bien documentadas sobre su uso en leishmaniasis visceral (8, 23-26).

La enfermedad y su tratamiento actual

Cada año se reportan más de 1,2 millones de casos nuevos (27) en el mundo, de los cuales más de la mitad son de leishmaniasis visceral en India. En América Latina, la leishmaniasis visceral está restringida a ciertas áreas y Brasil aporta más del 80% de los casos nuevos cada año. La forma cutánea está distribuida más ampliamente y en algunas regiones en donde la infección por especies del subgénero *Viannia* es predominante, la posibilidad de invasión a mucosa oro-nasal está presente (28). En Colombia se reportaron para el 2004 cerca de 13.000 casos nuevos (99% de ellos cutáneos) (29) lo que representa un incremento de más del 30% en relación con el año anterior y que mantiene la tendencia incremental que se ha visto en la última década.

El tratamiento vigente para todas las formas de leishmaniasis son los antimoniales pentavalentes en forma de antimonato de meglumina (Glucantime®, Laboratorios Aventis) o estiboglúconato sódico (Pentostam®, Laboratorios GSK) que deben ser administrados parenteralmente, tanto intravenosos como intramusculares para posibilitar su absorción. La dosis estándar es de 20 mg/kg por día, sin dosis tope, en una única dosis diaria; para la enfermedad cutánea se usa por 20 días continuos mientras que para la extensión mucosa y para la enfermedad visceral por 28 a 40 días (30). Otros agentes son el isotianato de pentamidina (Pentacarinat®, Laboratorios Aventis) (6,7,31) y la anfotericina B (Fungizone®, Laboratorios Squibb) (24), el primero

Correspondencia:

Jaime Soto, CIBIC, Centro de Investigaciones Bioclinicas de la Fundación FADER, Calle 60 A No. 5-54, oficina 201, Bogotá
Teléfono: 348 2171; fax: 347 6093
jaime.soto@medplus.org.co

Recibido: 15/09/06; aceptado: 09/05/06

como alternativa en casos de enfermedad cutánea que no respondieron a los antimoniales pentavalentes o en los que, por alguna razón médica, no se pueden emplear éstos y la segunda para el manejo de la forma visceral y como alternativa en pacientes con compromiso mucoso. Las guías oficiales de manejo en países latinoamericanos (32-35) difieren en cuanto a dosis diaria de antimonio, dosis máxima que se debe aplicar y vía de administración, añadiendo factores de confusión a un ya de por sí complejo panorama, resultado de las diferencias en la respuesta terapéutica entre especies y a factores locales e individuales.

Desarrollo de la miltefosina como antileishmaniásico

La identificación del potencial antileishmaniásico de la miltefosina y otros derivados de fosfolípidos comenzó a finales de los 80 como resultado de tres líneas independientes de investigación. La primera buscaba demostrar la actividad antitumoral de la edelfosina; la segunda se orientó hacia el efecto de estas sustancias sobre el metabolismo de los fosfolípidos en los promastigotes de *Leishmania* y la última en la que se identificó a la miltefosina como agente antileishmaniásico (19). A la miltefosina se llegó luego de cambiar la parte principal de la cadena glicerol de la edelfosina y la ilmofosina por un grupo alquil, de manera que se reforzara la actividad débil de las dos primeras.

En 1984 se encontró que los ésteres de lisofosfolípidos tales como 1-O-alquiglicero-fosfocolina, 1-O-alquiglicerofosfoetanolamina y 1-O-hexadecil-sn-glicerol eran más activos y eliminaban la totalidad de los promastigotes de *Leishmania donovani* en menos de cinco horas de exposición con una dosis de 25 μM (36). Posteriormente, se empleó la miltefosina por vía oral en ratones BALBc infectados con *L. donovani* o con *Leishmania infantum* y se logró la eliminación de más del 95% de los parásitos con una dosis de 20 mg/kg (37). Estos resultados estimularon la creación de un programa clínico para leishmaniasis visceral en India que terminó con el primer estudio fase II en 1997 (38). En 2000 y 2001 (39) se demostró que la miltefosina era efectiva en animales inmunodeficientes en contraste con la ausencia de actividad del

estibogluconato sódico en los mismos animales. Además, se probó la miltefosina tópica al 6% en ratones infectados con *Leishmania mexicana* y *Leishmania major* y se consiguió la curación en un lapso de 2 a 5 semanas (40). Sin embargo, es de anotar que un estudio clínico para probar miltefosina tópica contra leishmaniasis por *Leishmania panamensis* se suspendió prematuramente en razón a los pobres resultados y a la presencia de irritación (Soto J, datos en archivo).

Existen diferencias en la respuesta a miltefosina entre promastigotes y amastigotes de la misma especie, cuando se comparan *L. donovani*, *L. major*, *L. tropica*, *L. aethiopica*, *L. mexicana* y *L. panamensis* *in vitro*. En todos los ensayos, *L. donovani* fue la especie más sensible con ED50 de 0,12 a 1,32 μM contra promastigotes y de 1,2 a 4,6 μM contra amastigotes, mientras que *L. major* fue la especie menos sensible con un rango de 4,8 a 13,1 μM contra promastigotes y 7,5 a 37,1 μM contra amastigotes. Recientemente (41), se demostró *in vitro* una diferencia en la sensibilidad a miltefosina entre amastigotes de *L. donovani* y *L. braziliensis* del orden de 3 a 20 veces, lo que evidencia una notable diferencia en la sensibilidad intrínseca de las especies de *Leishmania* y podría tener importantes repercusiones en su uso clínico.

Farmacocinética

La farmacocinética es independiente del sexo en ratas y perros. Después de su administración oral, la absorción fue lenta pero completa en el tracto gastrointestinal, con una biodisponibilidad absoluta entre 82% y 94% en ratas y perros, respectivamente, y con una concentración máxima entre 4 y 48 horas después de su aplicación. La depuración plasmática del compuesto fue muy baja y su eliminación media tomó 84 y 159 horas en ratas y perros, respectivamente (42).

Distribución. Se alcanzan altas concentraciones de miltefosina en riñón, mucosa intestinal, hígado y bazo. No se han realizado estudios relacionados con la transferencia placentaria, pero según resultados de estudios de reprotoxicidad, se puede asumir que esta transferencia está presente (21).

Metabolismo y excreción. La fosfocolina D metaboliza la miltefosina y libera colina que es

luego empleada para la biosíntesis de acetilcolina o lecitina. El hexadecanol, la cadena más larga de grasas que surge del desdoblamiento de la miltefosina, puede oxidarse a ácido palmitico y entrar a la biosíntesis de lípidos o a la beta-oxidación. No hay relación de la miltefosina con los sistemas enzimáticos CYP y CYP3A, por lo que no se espera que haya competencia metabólica o inducción del metabolismo de otras drogas que sean metabolizadas por estos sistemas (43).

Seguridad farmacológica

Seguridad farmacológica general. Tanto en pacientes con cáncer, críticamente enfermos, como en pacientes con leishmaniasis visceral y cutánea, el tracto gastrointestinal es el principal órgano blanco para eventos adversos; son frecuentes pero leves las náuseas, el vómito y la diarrea. No se mencionan efectos nocivos en riñón, sistema nervioso, aparato respiratorio o sistema hematológico (42).

Hallazgos toxicológicos preclínicos y su relevancia en la clínica

Hígado. No hay evidencia de hepatotoxicidad en ratas y perros. En los pacientes con cáncer hay una discreta elevación de las transaminasas que vuelven a valores normales con la reducción de la dosis. En los pacientes con leishmaniasis visceral hay un aumento de las transaminasas luego de la primera semana de tratamiento, lo que sugiere la necrosis de las células gravemente dañadas, que vuelven a valores normales aun cuando se continúa el tratamiento. Estos datos indican que el hígado no es un órgano blanco para la toxicidad de la miltefosina (44).

Riñón. Los estudios de toxicidad subaguda o crónica en ratas mostraron cambios en los parámetros bioquímicos y morfológicos pero con dosis superiores a las recomendadas en humanos. Usando las mismas dosis, los perros no tuvieron esos cambios. En 30% de los pacientes con cáncer se eleva la creatinina, elevación que disminuye al reducir la dosis diaria. Aparte de los efectos directos de la miltefosina en la función renal, el desequilibrio de líquidos relacionado con los efectos gastrointestinales adversos puede contribuir al aumento de los niveles de creatinina.

En el estudio piloto en pacientes con leishmaniasis visceral, un paciente que recibió una dosis de 250 mg por día desarrolló falla renal irreversible (38). Con la dosis terapéutica recomendada, el riesgo de desarrollar nefrotoxicidad es limitado, particularmente si se tiene buen cuidado en la rehidratación en los casos de reacciones gastrointestinales muy intensas (23).

Sangre y médula ósea. Una dosis de 10 mg/kg de miltefosina puede aumentar los neutrófilos en ratas y perros. No se encontraron cambios toxicológicos en la médula ósea ni en las líneas celulares a dosis máximas.

Los pacientes con cáncer mostraron un aumento notable del recuento de leucocitos y plaquetas durante el tratamiento con miltefosina. Esto es una posible ventaja para los pacientes con leishmaniasis visceral que cursan con pancitopenia. Los estudios clínicos en pacientes con leishmaniasis visceral muestran un ligero y rápido efecto en el recuento de células blancas y plaquetas al finalizar el tratamiento (22).

Ojo. En ratas se observa degeneración retiniana reversible luego de un año continuo de uso de miltefosina, lo que no se observó en perros. En pacientes con cáncer se encontraron leves alteraciones reversibles en el electrooculograma sin repercusiones clínicas (45). En pacientes con leishmaniasis cutánea no se encontraron alteraciones en el examen oftalmológico (46), es decir que a las dosis recomendadas no se presentan en seres humanos las alteraciones observadas en las ratas.

Toxicidad sobre el aparato reproductor. La miltefosina induce cambios en las células de Sertoli de ratas. En ratas, la atrofia testicular y el deterioro de la fertilidad causados por miltefosina a dosis de 8,25 mg/kg fueron completamente reversibles. Aunque la dosis terapéutica en humanos, 2,5 mg/kg, es más baja que la utilizada en las ratas, no se puede excluir el riesgo de los que los hombres sufren un deterioro transitorio de la fertilidad, que debe ser reversible una vez terminado el tratamiento. Para dilucidar este aspecto se realizó un estudio controlado con placebo (46), en 15 varones colombianos con leishmaniasis cutánea a quienes

se les realizó un espermograma antes y después del tratamiento con miltefosina; ningún paciente presentó diferencias clínicas relevantes o anomalías en el conteo de espermatozoides o en su función que indicaran un evento adverso de la miltefosina en la viabilidad del esperma o en la espermatogénesis. Además, a 341 hombres adultos indios se les evaluó su función reproductiva en el periodo postratamiento. 220 participantes fueron identificados como "población relevante" debido a que tenían compañera sexual y, por lo menos, algunas veces no utilizaron medidas anticonceptivas. El seguimiento fue de 11 a 57 meses después de iniciado el tratamiento con miltefosina (media de 34 meses) y se encontró que el 69% había tenido un hijo o su compañera estaba embarazada. No hubo diferencia entre estos pacientes y los que recibieron tratamiento con anfotericina B ni hubo reportes de defectos congénitos (Sindermann H, Engel J. Development of Miltefosine as an oral treatment for leishmaniasis, manuscrito en preparación). En resumen, no hay evidencia de que las dosis terapéuticas tengan efectos nocivos sobre la fertilidad de los pacientes hombres.

Teratogenicidad. La miltefosina a dosis de 1-2 mg/kg en ratas durante el desarrollo embriológico temprano y durante la fase de organogénesis tiene riesgo de embriotoxicidad, fetotoxicidad y teratogenicidad. Aunque no hay estudios controlados con miltefosina en mujeres embarazadas, su uso durante el embarazo está estrictamente contraindicado (23). Como la vida media en humanos de la miltefosina es de una semana, se recomienda que el uso de una medida contraceptiva efectiva debe mantenerse durante 2 a 3 meses después del periodo de tratamiento (47).

Mecanismo de acción

Los análogos de los lisofosfolípidos (LPA) tienen una potente y selectiva actividad antiparasitaria, particularmente contra tripanosomatídeos, tanto *in vitro* como *in vivo* (48). Su actividad clínica resulta de los efectos directos en sus células blanco y no es dependiente de la función del sistema inmune del hospedero (49).

Inhibición del metabolismo de la membrana lipídica. Existe una relación causal entre el

bloqueo por parte de los LPA de la biosíntesis de fosfatidilcolina (PC) y su acción anti-proliferativa. Adicionalmente, los altos niveles intracelulares de ácido fosfatídico, resultante de la hidrólisis de fosfatidilcolina por la fosfolipasa D, frenan el crecimiento celular (50). En *L. mexicana* los LPA inhiben la acyl-CoA-acyltransferasa-alquil específica, enzima clave en la remodelación eterlipídica, lo que podría ejercer un efecto sobre el crecimiento celular de los parásitos (51). Los LPA también inducen la modificación del esterol libre de los epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* a través de la inhibición de la esterol desaturasa; este hallazgo plantea la posibilidad del sinergismo antiproliferativo de los LPA y de los inhibidores específicos de la biosíntesis de ergosterol como el ketoconazol (52).

Apoptosis. En las células de los mamíferos, los LPA aumentan el nivel de ceramidas secundario a la depresión de la síntesis de esfingomielina, con lo que se inhibe el crecimiento y se induce la apoptosis (muerte celular programada) (53). La miltefosina induce apoptosis por aumento de los niveles intracelulares de ceramida como resultado de la reducción de la biosíntesis de la esfingomielina relacionado con los bajos niveles de fosfatidilcolina (54). En los tripanosomatídeos la inhibición de la biosíntesis de fosfatidilcolina por los LPA se hace a nivel de la fosfatidil-etanolamina N-metil-transferasa, lo que lleva a apoptosis de una manera eficiente y selectiva (55).

Miltefosina en leishmaniasis visceral

En India ocurren más de 200.000 casos nuevos de leishmaniasis visceral cada año y en varias regiones la resistencia a los antimoniales pentavalentes supera el 40%; los antimoniales genéricos tienen menor costo pero comparten los problemas de resistencia y efectos adversos con los productos de marca; la anfotericina B es costosa, tóxica y requiere de hospitalizaciones prolongadas. Su forma liposomal es muy efectiva pero el alto costo impide su uso generalizado (44). Tras varios intentos infructuosos por encontrar medicamentos parenterales u orales eficaces, en 1998 se inició el primer estudio con miltefosina (38) que usó dosis entre 50 y 250 mg diarios durante 28 días, logrando desaparición de los

parásitos en todos los pacientes pero con recaída en 7 de 10 pacientes que recibieron las dosis bajas en comparación con 1 de 15 de los que recibieron 150 o más mg al día. Los efectos colaterales fueron gastrointestinales y hubo una correlación con la dosis diaria recibida.

Un estudio posterior confirmó la pobre tolerancia a dosis superiores a 200 mg (26); en el mismo se demostró que la miltefosina era igualmente útil en pacientes nuevos que en pacientes con recaídas luego del tratamiento con antimoniales. En quienes recibieron 200 o más mg/día hubo elevación de creatinina e, incluso un paciente desarrolló falla renal irreversible. La normalización de la temperatura se logró en una semana, la desaparición de los parásitos en dos semanas en promedio y la curación alcanzada se mantuvo en todos los pacientes durante los seis meses de seguimiento, demostrando que miltefosina era un prometedor prospecto para el tratamiento de la leishmaniasis visceral. En 2000 Sundar (56) encontró que cursos de 2 o 3 semanas también permitían alcanzar la curación de los pacientes; sin embargo fueron pocos pacientes y es necesario corroborar estos hallazgos. Un estudio multicéntrico (57) incluyó varios grupos de pacientes con el propósito de encontrar la dosis con mejores resultados de eficacia y seguridad. Sus resultados permitieron establecer que la dosis óptima es de 2,5 mg/kg de peso/ día durante 28 días. Dosis superiores a 4 mg/kg peso/día no son toleradas y deben evitarse pues los síntomas gastrointestinales y el compromiso renal pueden ser severos.

En 2002 (58) se publicaron los resultados de la comparación de miltefosina (299 pacientes) y anfotericina B (99 pacientes); la eficacia fue similar en los dos grupos (94 y 97% respectivamente). Hubo vómito en 38% y diarrea en 20% de quienes recibieron miltefosina; sólo un paciente tuvo diarrea grado 4 de acuerdo con la escala CTC (Common Toxicity Criteria) (59). Se encontraron aumentos ocasionales de transaminasas, creatinina y bilirrubina, leves a moderados, los cuales retornaron a sus valores normales aún cuando se continuó el tratamiento. Un estudio de fase IV en India con 1.167 pacientes mostró una tasa de curación a seis meses de 94% además de que

comprobó la buena tolerancia (Battacharya S, Sinha P, Sundar S, Jha T, Takur C, Pandey K, et al. Phase IV studies of Miltefosine in Bihar, India. Third World Congress on Leishmaniasis, 2005. Book of Abstracts, page 342).

Miltefosina en leishmaniasis cutánea del Nuevo Mundo

La respuesta de las distintas especies de *Leishmania* existentes en Latinoamérica a los antimoniales pentavalentes es variable, con rango de 94 a 25% (5, 6, 12, 28, 60-62). En los últimos 30 años las dosis se han incrementado en mas del 600% (5) para tratar de mantener sus niveles de eficacia pero esto ha llevado a un aumento en la frecuencia y severidad de los efectos secundarios. Se han adelantado múltiples ensayos clínicos con otros medicamentos pero los resultados no han sido consistentes salvo con la pentamidina inyectable que, lamentablemente, no se encuentra disponible en la actualidad. En 1999 se iniciaron los estudios clínicos con miltefosina en Colombia. El primero (63) fue conducido para buscar la dosis ideal e incluyó 72 pacientes en cuatro grupos; el resultado final fue que 2,5 mg/kg de peso/día por 28 días era la más apropiada, tal y como sucedió en India. Con esta dosis se alcanzó una tasa de curación de 91% a seis meses. Adicionalmente a los efectos secundarios reportados por los pacientes indios, en los colombianos hubo mareo de movimiento leve en 60%.

Los resultados de un estudio binacional, doble ciego, aleatorizado, comparativo con placebo se publicaron en 2004 (46). Se incluyeron 133 pacientes (89 con miltefosina y 44 con placebo). Los pacientes colombianos procedían de áreas endémicas de *L. panamensis*; 40 de 44 (91%) del grupo con miltefosina curaron en comparación con 9 de 24 (37%) del grupo placebo. En Guatemala se incluyeron pacientes infectados con *L. brasiliensis* y *L. mexicana* y la tasa de curación fue de 33 y 60% respectivamente en comparación con 21% en el grupo placebo. Esta eficacia tan distinta puede ser atribuible a factores intrínsecos de especie (42) pero necesita exploraciones adicionales, especialmente ahora que los reportes preliminares de un estudio en 100 pacientes bolivianos con leishmaniasis mucosa por *L.*

braziliensis muestran tasas de curación ó mejoría superiores al 80%, con seguimientos entre 9 y 12 meses (Soto J, Toledo J, Parra R, Balderrama M, Rea J, Gómez A, et al. Efficacy of Miltefosine (Impavido®) for mucocutaneous leishmaniasis in Bolivia. Third World Congress on Leishmaniasis, 2005. Book of Abstracts, page 343).

172 pacientes han sido tratados en Colombia con la dosis de 2,5 mg/ kg de peso/día durante 28 días; 47 (27%) de ellos presentaban recaídas luego de tratamiento con AP. La tasa de curación en pacientes nuevos fue de 97% en comparación con 93% de los ya tratados. Al término del tratamiento 65% de las lesiones estaban cicatrizadas. Al control dos semanas post tratamiento 89% estaban cicatrizadas y 11% tenía aún alguna actividad; a los dos meses post tratamiento dos pacientes fueron declarados fallas terapéuticas, mientras que otros dos pacientes que habían mejorado inicialmente recayeron, uno al día 55 y otro al día 84. Tres de estos pacientes tenían lesiones en el pabellón auricular y dos habían fallado ya a los AP.

De los pacientes colombianos sólo dos han debido interrumpir el tratamiento por efectos secundarios (vómito CTC 3); elevación de transaminasas y de creatinina (CTC 1) se ha presentado en 25% y 17% respectivamente, mientras que dos pacientes han hecho erupciones cutáneas transitorias leves. La buena tolerancia hace innecesaria la práctica rutinaria de exámenes paraclínicos y su solicitud dependerá de los hallazgos clínicos en los controles periódicos.

Miltefosina en leishmaniasis cutánea difusa

Esta enfermedad se caracteriza por su curso crónico, la pobre respuesta a los medicamentos y las frecuentes reactivaciones. Doce pacientes con 2 a 30 años de evolución y múltiples tratamientos previos recibieron 2,5 mg/kg de peso/ día de miltefosina. A los 30 días de tratamiento todos los 12 pacientes mostraban mejoría clínica de al menos el 65% y al día 75 siete pacientes habían mejorado un 100% y los otros cinco entre 90 y 95%. Diez de los 12 pacientes eran parasitológicamente negativos a los dos meses de tratamiento. Si bien estos resultados son muy satisfactorios, los pacientes deben seguir en

control permanente por la posibilidad de recaídas. (Zerpa O, Blanco B, Diaz N, Tapia F, Convit J. Miltefosine in the treatment of diffuse cutaneous leishmaniasis. Third World Congress on Leishmaniasis, 2005. Book of Abstracts, page 344).

Miltefosina en leishmaniasis cutánea del Viejo Mundo

Se usó miltefosina contra *L. tropica* en Afganistán y se compararon sus resultados contra la inyección intralesional y la inyección IM de estibogluconato de sodio. 35 pacientes recibieron 2,5 mg/kg de peso/día por 28 días y de ellos el 63% se curó, resultado similar al obtenido con las infiltraciones intralesionales. La tolerancia a la inyección IM de estibogluconato fue pobre y debió ser suspendida prematuramente. (Reithinger R, Leslie T, Mohsen M, Bismullah M, Wahid R, Quinnell R, et al. A randomized controlled trial to test the efficacy of miltefosine against Leishmania tropica in Kabul, Afghanistan. Third World Congress on Leishmaniasis, 2005. Book of Abstracts, page 49).

Miltefosina en co-infección con VIH

Bajo condiciones de uso compasivo, la miltefosina se ha empleado para el tratamiento de pacientes europeos VIH positivos con leishmaniasis (64). Los 39 pacientes pesaban en promedio 60 kg y recibieron inicialmente 100 mg/día durante 55 días; de los 25 que mejoraron inicialmente 22 recibieron un segundo curso por 48 días; de los quince que respondieron, todos recibieron un tercer curso y 4 hasta un cuarto curso. Como con los demás medicamentos, la recaída es una constante en estos pacientes, aún recibiendo miltefosina. La dosis administrada fue baja (promedio de 1,6 mg/kg de peso/día) por lo que las autoridades alemanas han autorizado la dosis de 150 mg para pacientes de 67 o más kg.

Miltefosina en niños

Hay experiencia con miltefosina en niños puesto que la leishmaniasis visceral es frecuente en menores de edad y en los estudios iniciales de India se incluyeron pacientes de 12 años en adelante. En 2003 (65) se publicó un estudio incluyendo 39 niños de 2 a 11 años quienes

recibieron 1,5 a 2,5 mg/kg de peso/día por 28 días y, esencialmente, mostraron los mismos resultados que los adultos. Un nuevo estudio (66) multicéntrico con 80 niños confirmó que el comportamiento de la miltefosina es similar que en los adultos tanto en eficacia como en seguridad.

Miltefosina en mujeres

Debido a su potencial teratogénico, la miltefosina debe ser administrado en mujeres en edad fértil sólo si se emplea un método anticonceptivo de reconocida eficacia. Aunque no hay estudios controlados con miltefosina en mujeres embarazadas, su uso durante el embarazo está estrictamente contraindicado. Como la vida media en humanos de la miltefosina es de una semana, se recomienda que el uso de una medida contraceptiva efectiva debe mantenerse durante 2 a 3 meses después del periodo de tratamiento (42).

Conclusiones

Las similitudes en el metabolismo eter-fosfolípido de las leishmanias con las células cancerosas hizo que se iniciaran los estudios *in vitro* e *in vivo* para demostrar la actividad de miltefosina contra estos parásitos. Puesto que en los 80 se habían adelantado los estudios de toxicología animal y la fase I clínica para soportar la indicación como anti-neoplásico, el programa clínico de miltefosina para leishmaniasis avanzó muy rápidamente. Luego de más de 2.500 pacientes con leishmaniasis visceral o cutánea tratados en seis años se sabe que la dosis ideal es 2,5 mg/kg de peso/día durante 28 días. Hoy miltefosina está aprobada en India para el tratamiento de leishmaniasis visceral en pacientes inmunocompetentes de dos años de edad en adelante, en Alemania para pacientes inmunocomprometidos afectados por leishmaniasis visceral y en Colombia para leishmaniasis cutánea y visceral.

La administración oral de la miltefosina obvia la necesidad de hospitalización en casos de leishmaniasis visceral, reduce las incomodidades de las inyecciones lo que puede mejorar la adherencia de los pacientes al tratamiento, disminuye costos así como la demanda de servicios en las instalaciones sanitarias de por sí sobrecargadas de trabajo. Adicionalmente

favorece al paciente al no tener que interrumpir sus actividades laborales para asistir diariamente a la aplicación del producto inyectable y al eliminarse uno de los efectos secundarios más frecuentes e incapacitantes: el dolor y la inflamación en el sitio de la inyección cuando se administra por vía IM.

Sin embargo, hay algunas circunstancias que deben considerarse:

- A. miltefosina es teratogénica e induce abortos en animales;
- B. por lo anterior, debe manejarse de una manera controlada asegurando que las mujeres que la reciben acepten y sigan las medidas apropiadas necesarias para evitar el embarazo durante el tratamiento y hasta 2 a 3 meses después de recibir la última cápsula;
- C. miltefosina tiene una vida media larga, de aproximadamente siete días, lo que la predispone al desarrollo de resistencia por parte del parásito;
- D. para evitar abusos y tratamientos incompletos debe administrarse bajo supervisión directa del personal de salud especialmente en nuestros países, en donde los pacientes apenas sienten mejoría suspenden el tratamiento o comparten el tratamiento con familiares o conocidos o simplemente venden parte del medicamento entregado;
- E. la variabilidad de respuesta de las distintas especies de *Leishmania* a los antimoniales y las distintas sensibilidades a miltefosina encontradas en el laboratorio entre diversas especies de *Leishmania*, obligan a adelantar estudios adicionales con otras especies para confirmar la eficacia hasta ahora demostrada por la miltefosina.

Se han propuesto tratamientos combinados con dos o más medicamentos (67, 68), al estilo de los manejos para malaria, tuberculosis o lepra, con el propósito de potenciar sus efectos, reducir la dosis de los medicamentos más tóxicos, limitar la posibilidad de generación de resistencia y, probablemente, disminuir costos. Se ha demostrado *in vitro* e *in vivo* que la miltefosina no se antagoniza y, por el contrario, incrementa la

actividad de anfotericina B, paromomicina y estibogluconato de sodio (69) así como la de antimoniato de meglumina (Sampaio R, Lucas I, Takami H. Use of oral miltefosine associated with meglumine antimoniate in the treatment of experimental cutaneous leishmaniasis caused by *L amazonensis*. Third World Congress on Leishmaniasis, 2005. Book of Abstracts, page 54), lo que podría ser una estrategia útil en el caso de los pacientes resistentes, aunque el real significado clínico de estos hallazgos está aún por dilucidarse.

Conflictos de intereses

Jaime Soto ha recibido financiación para adelantar estudios clínicos con miltefosina de parte de Laboratorios Zentaris de Alemania.

Financiación

Este trabajo fue parcialmente financiado por la AB Foundation for Medical Research de North Bethesda, MD, USA y por la Fundación FADER, Bogotá, Colombia.

Referencias

- Thakur CP, Narayan S, Ranjan A. Epidemiological, clinical and pharmacological study of antimony-resistant visceral leishmaniasis in Bihar, India. Indian J Med Res 2004;120:166-72.
- Rijal S, Chappuis F, Singh R, Bovier PA, Acharya P, Karki BM et al. Treatment of visceral leishmaniasis in south-eastern Nepal: decreasing efficacy of sodium stibogluconate and need for a policy to limit further decline. Trans R Soc Trop Med Hyg 2003;97:350-4.
- Costa J, Garcia A, Rêbelo J, Guimarães K, Guimarães R, Nunes P. Óbito durante tratamento da leishmaniose tegumentar americana com stibogluconato de sódio bp 88® (shandong xinhua). Rev Soc Bras Med Trop 2003;36:295-8.
- Rijal S, Chappuis F, Singh R, Boelaert M, Loutan L, Koirala S. Sodium stibogluconate cardiotoxicity and safety of generics. Trans R Soc Trop Med Hyg 2003;97:597-8.
- Soto J, Toledo J, Soto P, Vega J, Casas L, Herrera R, et al. Respuesta a antimoniales pentavalentes para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea en Colombia. Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica 2005;13:39-44.
- Soto J, Grogl M, Berman JD. Evaluation of pentamidine for the treatment of cutaneous leishmaniasis in Colombia. Clin Infect Dis 1993;16:417-25.
- Soto J, Buffet P, Grogl M, Berman J. Successful treatment of Colombian cutaneous leishmaniasis with four injections of pentamidine. Am J Trop Med Hyg 1994;50:107-11.
- Murray H. Treatment of visceral leishmaniasis in 2004. Am J Trop Med Hyg 2004;71:787-94.
- Soto J, Grogl M, Berman J, Olliaro P. Limited efficacy of injectable aminosidine as single-agent therapy for Colombian cutaneous leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg 1994;88:695-8.
- Hendrickx EP, Agudelo SP, Muñoz DL, Puerta JA, Velez ID. Lack of efficacy of mefloquine in the treatment of New World cutaneous leishmaniasis in Colombia. Am J Trop Med Hyg 1998;59:889-92.
- Berman JD. Human leishmaniasis: Clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. Clin Infect Dis 1997;24:684-703.
- Velez I, Agudelo S, Hendrickx E, Puerta J, Grogl M, Modabber F, et al. Inefficacy of allopurinol as monotherapy for Colombian cutaneous leishmaniasis. A randomized, controlled trial. Ann Intern Med 1997;126:232-6.
- Osorio LE, Palacios R, Chica ME, Ochoa MT. Treatment of cutaneous leishmaniasis in Colombia with dapsone. Lancet 1998;351:498-9.
- Hay RJ. Therapeutic potential of terbinafine in subcutaneous and systemic mycoses. Br J Dermatol 1999;141:36-40.
- Soto J, Toledo JT, Gutierrez P, Arboleda M, Nicholls RS, Padilla JR et al. Treatment of cutaneous leishmaniasis with a topical antileishmanial drug (WR279396): phase 2 pilot study. Am J Trop Med Hyg 2002;66:147-51.
- Gamier T, Croft S. Topical treatment for cutaneous leishmaniasis. Curr Opin Investig Drugs 2002;3:538-44.
- Soto J, Fuya P, Herrera R, Berman J. Topical paromomycin/methyl-benzethonium chloride plus parenteral meglumine antimoniate as treatment for American cutaneous leishmaniasis: Controlled study. Clin Infect Dis 1998;26:56-8.
- Ministerio de Salud. Guía de atención de las leishmaniasis. Bogotá: Ministerio de Salud; 2000.p.24.
- Croft SL, Neal RA, Pendegast W, Chan JH. The activity of alkyl phosphocholines and related derivatives against *Leishmania donovani*. Biochem Pharmacol 1987;36:2633-6.
- Kuhlenkord A, Maniera T, Eibl H, Unger C. Hexadecylphosphocholine: oral treatment of visceral leishmaniasis in mice. Antimicrob Agents Chemother 1992;36:1630-4.
- Kaufmann-Kolle P, Dreys J, Berger MR, Kotting J, Marschner N, Unger C et al. Pharmacokinetic behavior and antineoplastic activity of liposomal hexadecylphosphocholine. Cancer Chemother Pharmacol 1994;34:393-8.

22. Pronk LC, Planting AS, Oosterom R, Drogendijk TE, Stoter G, Verweij J. Increases in leukocyte and platelet counts induced by the alkyl phospholipid hexadecylphosphocholine. *Eur J Cancer* 1994; 30A:1019-22.
23. Berman J. Recent developments in leishmaniasis: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Curr Infect Dis Rep* 2005;7:33-8.
24. Murray HW. Progress in the treatment of a neglected infectious disease: visceral leishmaniasis. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2004;2:279-92.
25. Prasad R, Kumar R, Jaiswal BP, Singh UK. Miltefosine: an oral drug for visceral leishmaniasis. *Indian J Pediatr* 2004;71:143-4.
26. Sangraula H, Sharma KK, Rijal S, Dwivedi S, Koirala S. Orally effective drugs for kala-azar (visceral leishmaniasis): focus on miltefosine and sitamaquine. *J Assoc Physicians India* 2003;51:686-90.
27. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2004;27:305-18.
28. Davies CR, Reithinger R, Campbell-Lendrum D, Feliciangeli D, Borges R, Rodriguez N. The epidemiology and control of leishmaniasis in Andean countries. *Cad Saúde Pública* 2000;16:925-50.
29. Ministerio de la Protección Social. Informe de enfermedades transmitidas por vectores (ETV). *Inf Quinc Epidemiol Nac* 2005;10:37-9.
30. Herwaldt BL, Berman JD. Recommendations for treating leishmaniasis with sodium stibogluconate (Pentostam) and review of pertinent clinical studies. *Am J Trop Med Hyg* 1992;46:296-306.
31. Lightburn E, Morand JJ, Meynard JB, Kraemer P, Chaudier B, Pages F et al. Thérapeutique des leishmanioses tégumentaires du Nouveau Monde. Expérience à propos de 320 cas traités par isethionate de pentamidine à fortes doses. *Med Trop* 2003;63:35-44.
32. Ministerio de Salud del Perú. Leishmaniasis. Módulos técnicos. Serie de Documentos Monográficos No. 2. Lima: Ministerio de Salud del Perú; 2000.p.80.
33. Ministerio de Salud de la República Argentina. Manual de procedimientos para el nivel gerencial y profesional sobre leishmaniosis. Resolución 386 de 2004. [Consultado: 09 de septiembre de 2005]. Disponible en: <http://infoleg.mecon.gov.ar/infolegInternet>
34. Secretaría de Salud de México. Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2002 para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector2003. [Consultado: 09 de septiembre de 2005]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/032ssa202.html>
35. Ministério da Saúde do Brasil. Manual de controle da leishmaniose tegumentar americana. Brasilia: Ministério da Saúde do Brasil; 2000.
36. Herrmann H, Gercken G. Metabolism of 1-O-[1'-14C]octadecyl-sn-glycerol in *Leishmania donovani* promastigotes. Ether lipid synthesis and degradation of the ether bond. *Mol Biochem Parasitol* 1982;5:65-76.
37. Escobar P, Yardley V, Croft SL. Activities of hexadecylphosphocholine (miltefosine), Ambisome, and sodium stibogluconate (Pentostam) against *Leishmania donovani* in immunodeficient scid mice. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1872-5.
38. Sundar S, Rosenkaimer F, Makharia MK, Goyal AK, Mandal AK, Voss A et al. Trial of miltefosine for visceral leishmaniasis. *Lancet* 1998;352:1821-3.
39. Murray HW. Suppression of posttreatment recurrence of experimental visceral Leishmaniasis in T-cell-deficient mice by oral miltefosine. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:3235-6.
40. Schmidt-Ott R, Klenner T, Overath P, Aebsicher T. Topical treatment with hexadecylphosphocholine (Miltex®) efficiently reduces parasite burden in experimental cutaneous leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999;93:85-90.
41. Yardley V, Croft S, De Doncker S, Dujardin JC, Koirala S, Rijal S, et al. The sensitivity of clinical isolates of *Leishmania* from Perú and Nepal to miltefosine. *Am J Trop Med Hyg* 2005;73:272-5.
42. Berman J. Miltefosine to treat leishmaniasis. *Expert Opin Pharmacother* 2005;6:1381-8.
43. Achterberg V, Gercken G. Metabolism of ether lysophospholipids in *Leishmania donovani* promastigotes. *Mol Biochem parasitol* 1987;26:277-87.
44. Sundar S. Treatment of visceral leishmaniasis. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 2001;190:89-92.
45. Theischen M, Bornfeld N, Becher R, Kellner U, Wessing A. Hexadecylphosphocholine may produce reversible functional defects of the retinal pigment epithelium. *Ger J Ophthalmol* 1993;2:113-5.
46. Soto J, Arana B, Toledo J, Rizzo N, Vega JC, Diaz A et al. Miltefosine for New World cutaneous leishmaniasis. *Clin Infect Dis* 2004;38:1266-72.
47. Sindermann H, Croft SL, Engel KR, Bommer W, Eibl HJ, Unger C et al. Miltefosine (Impavido): the first oral treatment against leishmaniasis. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 2004;193:173-80.
48. Croft SL, Seifert K, Duchene M. Antiprotozoal activities of phospholipid analogues. *Mol Biochem Parasitol* 2003;126:165-72.
49. Singh S, Sivakumar R. Challenges and new discoveries in the treatment of leishmaniasis. *J Infect Chemother* 2004;10:307-15.
50. Wieder T, Perlitz C, Wieprecht M, Huang RT, Geilen CC, Orfanos CE. Two new sphingomyelin analogues inhibit phosphatidylcholine biosynthesis by decreasing

- membrane-bound CTP: phosphocholine cytidylyltransferase levels in HaCaT cells. *Biochem J* 1995; 311:873-9.
51. Lux H, Heise N, Klenner T, Hart D, Opperdoes F. Ether-lipid (alkyl-phospholipid analog) metabolism and the mechanism of action of etherlipid analogs in Leishmania. *Mol Biochem Parasitol* 2000;111:1-14.
 52. Lira R, Contreras LM, Rita RM, Urbina JA. Mechanism of action of antiproliferative alkyl-lysophospholipids against the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*: potentiation of *in vitro* activity by the sterol biosynthesisinhibitor ketoconazole. *J Antimicrob Chemother* 2001;47:537-46.
 53. Croft SL, Yardley V. Chemotherapy of leishmaniasis. *Curr Pharm Des* 2002;8:319-42.
 54. Paris C, Loiseau PM, Bories C, Breard J. Miltefosine induces apoptosis-like death in *Leishmania donovani* promastigotes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48:852-9.
 55. Welburn SC, Lillico S, Murphy NB. Programmed cell death in procyclic form *Trypanosoma brucei rhodesiense*: identification of differentially expressed genes during Con A induced death. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999;94:229-34.
 56. Sundar S, Makharia A, More DK, Agrawal G, Voss A, Fischer C et al. Short-course of oral miltefosine for treatment of visceral leishmaniasis. *Clin Infect Dis* 2000;31:1110-3.
 57. Jha TK, Sundar S, Thakur CP, Bachmann P, Karbwang J, Fischer C et al. Miltefosine, an oral agent, for the treatment of Indian visceral leishmaniasis. *N Engl J Med* 1999;341:1795-800.
 58. Sundar S, Jha Tk, Thakur Cd, Engel J, Sindermann H, Fischer C et al. Miltefosine for Indian visceral leishmaniasis. *N Engl J Med* 2002;347:1739-46.
 59. Program CTE. Common toxicity criteria. Rockville, MD: National Cancer Institute; 2002.
 60. Soto J, Valda-Rodríguez L, Toledo J, Vera-Navarro L, Luz M, Monasterios-Torrico H et al. Comparison of generic to branded pentavalent antimony for treatment of New World cutaneous leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 2004;71:577-81.
 61. Palacios R, Osorio LE, Grajales LF, Ochoa M. Treatment failure in children in a randomized clinical trial with 10 and 20 days of meglumine antimonate for cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania viannia* species. *Am J Trop Med Hyg* 2001;64:187-93.
 62. Soto J, Toledo J, Vega J, Berman J. Short report: efficacy of pentavalent antimony for treatment of Colombian cutaneous leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 2005;72:421-2.
 63. Soto J, Toledo J, Gutierrez P, Nicholls RS, Padilla J, Engel J et al. Treatment of American cutaneous leishmaniasis with miltefosine, an oral agent. *Clin Infect Dis* 2001;33:E57-61.
 64. Sindermann H, Engel KR, Fischer C, Bommer W. Miltefosine Compassionate Use Program. Oral miltefosine for leishmaniasis in immunocompromised patients: compassionate use in 39 patients with HIV infection. *Clin Infect Dis*. 2004;39:1520-3.
 65. Sundar S, Jha TK, Sindermann H, Junge K, Bachmann P, Berman J. Oral miltefosine treatment in children with mild to moderate Indian visceral leishmaniasis. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:434-8.
 66. Bhattacharya S, Jha T, Sundar S, Thakur C, Engel J, Sindermann H, et al. Efficacy and tolerability of miltefosine for childhood visceral leishmaniasis in India. *Clin Infect Dis* 2004;38:217-21.
 67. Guerin PJ, Olliaro P, Sundar S, Boelaert M, Croft SL, Desjeux P et al. Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. *Lancet Infect Dis* 2002;2:494-501.
 68. Pink R, Hudson A, Mouries MA, Bendig M. Opportunities and challenges in antiparasitic drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 2005;4:727-40.
 69. Seifert K, Croft S. *In vitro* and *in vivo* Interactions between miltefosine and other antileishmanial drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:73-9.