

Introdução: considerações iniciais, objetivos e justificativas para esse trabalho

As leishmanioses são um grupo de doenças tropicais que afetam cerca de 400 mil pessoas por ano no mundo inteiro (OMS, 2002). No tratamento desta doença infecciosa, utiliza-se, principalmente, drogas de compostos antimoniais. Atualmente, antimoniais pentavalentes na forma de antimoniato de meglumina (Glucantime®) e o estibogluconato de sódio (Pentostam®) são as drogas preferenciais para o tratamento de todas as formas de leishmanioses em humanos.

Apesar do fato de compostos antimoniais pentavalentes serem empregados no tratamento de leishmaniose há mais de 50 anos, pouco se sabe sobre a farmacocinética das drogas Glucantime® e Pentostam. Tampouco, se compreende o modo de ação de antimoniais pentavalentes, e não há um consenso a respeito do regime terapêutico mais eficaz no tratamento das leishmanioses. A Organização Mundial de Saúde (OMS) preconiza o tratamento de leishmaniose cutânea com doses diárias de 20 mg de Sb(V) por quilograma de massa corporal, por um período mínimo de quatro semanas. O Ministério da Saúde (MS) do Brasil (2000) recomenda doses de 10 a 20 mg de Sb(V) por quilograma de massa corporal durante 20 dias (Schubach *et al.*, 2002), com um limite diário de três ampolas de antimoniato de N-metil-glucamina, o que totaliza uma dose máxima de 1215 mg de Sb(V). Atualmente, o Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC)-FIOCRUZ realiza tratamentos com baixas doses de Sb(V) ($5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$) e vem alcançando percentuais de cura semelhantes aos realizados com doses mais altas (Oliveira-Neto *et al.*, 1996; Oliveira-Neto *et al.*, 1997a; Oliveira-Neto *et al.*, 1997b; Oliveira-Neto *et al.*, 1997c; Schubach *et al.*, 2002).

A administração de antimoniais no tratamento da leishmaniose é uma rara oportunidade para estudar o metabolismo de antimônio e das suas espécies químicas. Informações sobre os efeitos toxicológicos e biológicos que este elemento exerce no ser humano são escassas, contrário ao do elemento arsênio, muito estudado nesse aspecto

(Cornelis *et al*, 2005). Para ilustrar esta observação, pode-se citar um levantamento recente de informações bibliográficas (20/04/2008) obtidos na base de dados “Scopus”, utilizando-se as palavras-chave combinadas: “*Arsenic speciation*” e “*Antimony speciation*”. Para o arsênio foram encontrados 1573 documentos relacionados com a especiação deste elemento, enquanto para antimônio o número foi de apenas 210.

Sendo assim, pesquisas interdisciplinares, que aliem os conhecimentos das áreas da Medicina, Química Analítica e Farmácia, são imprescindíveis para a melhor compreensão do(s) mecanismo(s) de ação da droga e do comportamento biomédico do antimônio. Tais estudos são de grande relevância, uma vez que não se tem conhecimento sobre os metabólitos formados no corpo humano e da sua possível importância na destruição dos parasitas causadores da doença, assim como sobre os mecanismos de eliminação deste elemento tóxico.

A toxicidade do antimônio (e de outros elementos) depende do seu estado de oxidação. A espécie trivalente (Sb^{III}) exerce uma toxicidade aproximadamente dez vezes maior que a espécie pentavalente (Sb^{V}), e as espécies inorgânicas de antimônio são, em geral, mais tóxicas que as orgânicas (Gebel, 1997). Sendo assim, para avaliar o potencial de ação de um elemento não é suficiente conhecer apenas a sua concentração total num dado sistema, mas a das suas espécies químicas. Análises de especiação exigem o desenvolvimento de métodos analíticos capazes de separar e quantificar as diferentes espécies de interesse, sem causar alteração na composição química e na distribuição das espécies. Usualmente, as metodologias analíticas para especiação elementar utilizam o acoplamento (hifenação) de uma técnica com alto poder de separação (resolução) das espécies, p.ex. a cromatografia líquida de alta eficiência, CLAE, com uma técnica de detecção com alta sensibilidade, p.ex., espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICPMS). Estes sistemas “hifenados” idealmente não afetam a distribuição das espécies, pois tanto a manipulação da amostra, como o tempo de análise são minimizados. Também apresentam a vantagem de um menor risco de contaminação, já que são sistemas “fechados” e, frequentemente, produzem ainda resultados com maior repetitividade, devido aos processos/etapas de automação, em geral, empregados.

Como já foi mencionada, a integridade das espécies de um determinado elemento químico deve ser preservada durante todas as etapas: coleta da amostra, armazenamento e

análise. Por tal motivo, faz-se necessário realizar testes de estabilidade das espécies de antimônio de interesse biológico, por exemplo, Sb(III), Sb(V), trimetilantimônio (TMSb) e do próprio antimoníato de meglumina, em fluidos biológicos para determinar o intervalo de tempo máximo permissível entre a coleta e a análise da(s) amostra(s); essas informações eram praticamente inexistentes na literatura até o início deste estudo.

O presente trabalho é uma continuação de estudos realizados por Mortari e colaboradores (2001a, 2001b), Miekeley *et al.* (2002, 2005), e Vieira (2003, 2007), na PUC-Rio, somando-se aos esforços dos nossos colaboradores da Fundação Oswaldo Cruz (Miranda *et al.*, 2006; Schubach *et al.*, 2002; Friedrich, 2008). Por sua natureza, têm um caráter interdisciplinar e interinstitucional, pretendendo aprofundar o conhecimento sobre o comportamento de antimoníato de meglumina em humanos e macacos *Rhesus*, no que se refere à absorção, acumulação e excreção desta droga. Em especial, tentar-se-ia identificar possíveis produtos de transformação da droga (espécies), que poderiam auxiliar na interpretação de efeitos adversos observados em tratamentos, bem como na elucidação dos possíveis mecanismos de ação.

Para alcançar estes objetivos, diferentes estudos de caráter metodológico e aplicativo precisam ser realizados:

1. Desenvolvimento e/ou aperfeiçoamento de metodologia(s) de cromatografia iônica acoplada à espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (IC-ICPMS) para determinação de diferentes espécies de antimônio em fluidos biológicos.
2. Avaliação de estabilidade do antimoníato de meglumina (Glucantime®) e das espécies de antimônio de interesse biológico: Sb(V), Sb (III) e TMSb por IC-ICPMS.
3. Monitoramento de antimônio total em amostras clínicas (sangue, plasma, urina, cabelo, unha, e tecido de órgãos) de humanos e macacos *Rhesus*.
4. Determinação da(s) cinética(s) de absorção e excreção de antimônio através da determinação da concentração total deste elemento, tanto em humanos, como em símios, tratados com doses distintas da droga: 20 mg kg⁻¹ d⁻¹ de Sb (dose alta padrão) e 5 mg kg⁻¹ d⁻¹ de Sb (dose baixa em investigação).
5. Avaliação da utilização de amostras de cabelos e unhas como biomonitores confiáveis para monitoramento de antimônio durante e após da exposição a este elemento.

6. Estudo da cinética de transformação de antimônio (bioedução e, eventualmente, metilação) de espécies de antimônio em organismos vivos através da detecção de espécies formadas em consequência de transformações metabólicas do antimoníato de meglumina.

Espera-se com estes estudos ajudar, mesmo de forma modesta, que a leishmaniose perca um pouco do seu estigma de ser uma “doença tropical negligenciada” (NTD = *neglected tropical disease*; *Neglected Tropical Disease Coalition*, 2008).

Este trabalho terá um enfoque predominantemente químico-analítico, em consonância com o programa de pós-graduação deste curso de doutorado. Os aspectos clínicos e toxicológicos foram abordados em outro trabalho de doutorado, defendido na Escola Nacional de Saúde Pública “Sergio Arouca”, e realizado em estreita colaboração com o presente projeto (Friedrich, 2008). Desta forma, as duas teses se complementam mutuamente.