

## 7 Conclusões

Nesta tese, de caráter interdisciplinar, foram produzidos resultados tanto de interesse analítico-metodológico, quanto clínico-toxicológico. Por isso, as conclusões serão focalizadas nestes dois aspectos, seguindo-se a seqüência dos trabalhos desenvolvidos, embora o segundo aspecto não tenha sido o enfoque primordial.

A técnica de ICPMS para determinação de antimônio em amostras clínicas mostrou-se adequada às finalidades propostas deste estudo, ou seja, permitiu a quantificação confiável do elemento em diferentes matrizes (urina, sangue, plasma hemácias, cabelo, unhas e órgãos) e em diferentes faixas de concentração ( $< \mu\text{g L}^{-1}$  até centenas de  $\text{mg L}^{-1}$ ). De certa forma, isso já era esperado, considerando que os isótopos do elemento,  $^{121}\text{Sb}$  e  $^{123}\text{Sb}$ , não apresentam interferências espectrais relevantes, além de ter um 1º. potencial de ionização suficientemente baixo para permitir alta sensibilidade nesta técnica. O acoplamento da técnica de geração de hidreto à ICPMS possibilitou a determinação de impurezas de Sb(III), cerca de 3% do Sb total, em três lotes do fármaco antimoniato de meglumina (AM), confirmando resultados obtidos por outros autores em lotes diferentes.

O aperfeiçoamento de uma metodologia para separação (e quantificação) de Sb(V), Sb(III), e TMSb(V), do intenso pico de AM, presente em todos os cromatogramas de amostras de urina e plasma durante a fase inicial de absorção e eliminação, foi um desafio maior, que ainda não foi resolvido satisfatoriamente. Optou-se por aperfeiçoar e aplicar dois procedimentos diferentes, um adequado para quantificação de Sb(V) e Sb(III) (método A) e o outro para separação e quantificação de Sb(III) e TMSb(V) (método B). As duas metodologias apresentaram limites de detecção absolutos menores que 0,1 ng de Sb para as três espécies estudadas. Por falta de materiais de referência certificados, não foi possível validar as duas metodologias em relação à precisão e exatidão, entretanto, amostras de urina e plasma fortificadas mostraram rendimentos de recuperação aceitáveis (90 -110%).

As técnicas desenvolvidas e/ou aperfeiçoadas foram aplicadas, inicialmente, num estudo sobre a absorção e eliminação de AM em macacos *Rhesus* inoculados com *Leishmania (V.) braziliensis*, e submetidos a dois regimes de tratamento com AM (baixa e alta dose). Observou-se que a concentração do antimônio em praticamente todas as amostras clínicas analisadas (plasma, hemácias, urina, pelo e órgãos) foi significativamente maior no grupo tratado com dose alta. Constatou-se também que a concentração do Sb durante e no final de administração contínua da droga foi maior em hemácias do que em plasma, com exceção das primeiras horas de administração com uma dose única. Isso parece indicar uma rápida alteração da droga na corrente sanguínea, com a formação de espécies de maior afinidade para as hemácias (p.ex., Sb<sup>III</sup>). Os estudos de especiação em amostras de plasma recolhidas nas primeiras horas após a última aplicação de AM apoiaram esta hipótese, pois mostraram Sb(V) e Sb(III) como metabólitos principais, confirmando observações semelhantes para humanos obtidos neste estudo e em outros. Altas concentrações de Sb foram também determinadas em amostras de tireóide, fígado e baço (em ordem decrescente), mesmo 60 dias após o término do tratamento, mostrando que a cinética de eliminação de AM tem um componente mais lento ( $t_{1/2} > 38$  d), pouco discutido na literatura. Resultados sobre a concentração de Sb no pelo dos animais 60 dias após o final da administração de AM mostraram que os níveis de concentração do elemento ainda não tinham voltado aos valores antes do tratamento. Ambas as informações são importantes não apenas para elucidar os mecanismos de erradicação do parasita (eventualmente controlado apenas pela concentração livre de Sb<sup>III</sup>), como também a eficiência de baixas doses no tratamento da LTA, já que o Sb(III) atinge concentrações máximas quando a maior parte do AM já foi excretada. Também os efeitos adversos, que se manifestam muitas vezes não somente durante a administração de AM, mas também na fase lenta de eliminação (após o final do tratamento), possam ser explicados com este modelo.

Os resultados obtidos a partir dos estudos envolvendo pacientes com LTA confirmaram as observações sobre a lenta eliminação de Sb do organismo. As concentrações do Sb em urina e cabelo desses pacientes, mesmo 360 dias depois da última aplicação de AM, encontravam-se ainda acima dos valores basais. Comparando dois regimes terapêuticos (5 ou 20 mg de Sb<sup>V</sup> por kg de massa corpórea, aplicados em série), verificou-se uma relação direta entre a dose diária

recebida e a concentração máxima de Sb no cabelo, o que foi também verificado em unhas. Comprovou-se também em estudo singular, onde amostras de urina de um paciente tratado com AM foram analisadas por IC-ICPMS imediatamente depois da coleta, a formação de Sb(III) como metabólito da droga, alcançando uma razão máxima de  $[Sb^{III}] / [Sb\text{-total}]$  de cerca de 0.40 após 28 horas do fim da última série de administração de AM. A partir deste ponto, esta razão diminuiu progressivamente, tornando-se então praticamente constante, indicando um possível estado de equilíbrio entre a formação de Sb(V) e a sua transformação para Sb(III).

Como não podia ser diferente, este trabalho deixou ainda muitas dúvidas a respeito do metabolismo da droga e da(s) cinética(s) de absorção e eliminação dos produtos formados. Neste contexto, o estudo do comportamento de Sb(III) é de maior interesse. Em especial, deve ser comprovado por intermédio da análise de especiação que, de fato, o Sb(III) encontra-se (e em que proporções) nas hemácias e órgãos que apresentaram as mais altas concentrações de antimônio (tireóide, fígado e baço). A associação do elemento e de suas espécies com proteínas de sangue e de órgãos é outro assunto de interesse, pois poderia apontar os mecanismos de desintoxicação. Por exemplo, o fígado poderia estimular a formação de Sb<sup>III</sup>-tioneínas, tal como já foi reportado para As, Cd e outros elementos tóxicos. Um estudo com técnicas ainda mais elaboradas avaliando, simultaneamente, a cinética de formação e excreção de Sb(V) e Sb(III) a partir de amostras de sangue e urina de pacientes em tratamento com MA seria também de relevância para entender a relação metabólica entre as duas espécies.

Pretende-se realizar essas pesquisas, em continuação ao presente trabalho, no âmbito de um pós-doutorado.