

**DIANA BRITO DA JUSTA NEVES**

**CONCENTRAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM PLASMA E PELE DE PACIENTES  
COM LEISHMANIOSE CUTÂNEA – RELAÇÃO COM EFEITOS  
COLATERAIS APÓS TRATAMENTO COM ANTIMONIATO DE N-METIL-  
GLUCAMINA**

**Brasília – DF**

**2008**

**DIANA BRITO DA JUSTA NEVES**

**CONCENTRAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM PLASMA E PELE DE PACIENTES  
COM LEISHMANIOSE CUTÂNEA – RELAÇÃO COM EFEITOS  
COLATERAIS APÓS TRATAMENTO COM ANTIMONIATO DE N-METIL-  
GLUCAMINA**

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Ciências da Saúde da Universidade de  
Brasília, para a obtenção do título de  
Mestre em Ciências da Saúde.  
Área: Toxicologia

**ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eloísa Dutra Caldas**

**Brasília – DF**

**2008**

## **BANCA EXAMINADORA**

ORIENTADORA:

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Eloísa Dutra Caldas  
Membro Interno do Programa  
Universidade de Brasília

MEMBROS:

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Raimunda Nonata Ribeiro Sampaio  
Membro Interno do Programa  
Universidade de Brasília

---

Prof. Dr. Fernando Barbosa Júnior  
Membro Externo do Programa  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo

SUPLENTE:

---

Dr. Márcio Talhavini  
Membro Externo do Programa  
Instituto Nacional de Criminalística

Brasília, 21 de outubro de 2008

Ao meu (futuro) marido  
Fernando, que faz tudo valer à pena

## AGRADECIMENTOS

À profa. Dra. Eloísa Dutra Caldas, por tudo que ela me ensinou e por tudo que eu aprendi.

Ao Perito Criminal Federal Dr. Márcio Talhavini, que me apresentou o ICP-MS.

Ao prof. Dr. Fernando Barbosa Júnior, que me acolheu em seu laboratório quando tudo o mais deu errado.

Aos médicos, residentes e funcionários do ambulatório de Dermatologia do Hospital Universitário de Brasília, pela coleta das amostras.

Ao pessoal do Laboratório de Toxicologia de Metais da FCFRP-USP, Juliana, Denise, Bruno, Jaime e Vanessa, pela ajuda valiosíssima com as quantificações.

Ao pessoal do SEPLAB/INC, pelo apoio e pelas dicas, e por me agüentar nos meus melhores momentos e nos piores também.

À Rosana, pela companhia nas intermináveis quartas feiras.

À Vivi, que tão bem assumiu meu posto, quando tive que me ausentar.

À Andréia, pela amizade e companhia no LabTox.

Ao Gustavo, que me ajudou com a estatística.

À minha irmã Lorena, por tirar minhas dúvidas.

Aos meus pais, por tudo.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
<b>I. Leishmaniose Tegumentar Americana</b> .....	3
<i>A doença</i> .....	3
<i>Epidemiologia</i> .....	7
<i>O tratamento com Antimoniais Pentavalentes</i> .....	11
<i>Aplicação</i> .....	13
<i>Farmacocinética</i> .....	14
<i>Efeitos Colaterais</i> .....	16
<i>Regimes de Tratamento alternativos</i> .....	19
<b>II. Quantificação de antimônio em material biológico</b> .....	21
PARTE EXPERIMENTAL.....	25
<b>I. População e amostras biológicas</b> .....	25
<i>Tratamentos estudados</i> .....	25
<i>Coleta de amostras biológicas</i> .....	26
<i>Efeitos colaterais e resultados laboratoriais</i> .....	27
<b>II. Material, reagentes e padrões</b> .....	28
<i>Soluções</i> .....	28
<i>Material de referência</i> .....	30
<i>Instrumentação analítica</i> .....	31
<b>III. Metodologia analítica</b> .....	32
<i>Análise das amostras de plasma</i> .....	32
<i>Análise das biópsias de pele</i> .....	33
<i>Análise estatística dos dados</i> .....	34
RESULTADOS.....	35
<b>I. Características dos pacientes</b> .....	35
<b>II. Quantificações de antimônio em material biológico</b> .....	36
<i>Plasma</i> .....	36
<i>Biópsias de pele</i> .....	39
<b>III. Efeitos colaterais sintomáticos e alterações laboratoriais</b> .....	41
<b>IV. Avaliação das correlações significativas nos pacientes com tratamento convencional</b> .....	53
DISCUSSÃO.....	59
<i>Concentrações de antimônio nos pacientes</i> .....	59
<i>Incidência de efeitos colaterais</i> .....	62
<i>A existência de uma relação significativa dose-efeito</i> .....	66
CONCLUSÃO.....	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
ANEXO I.....	76
ANEXO II.....	88

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Mosquito flebotômico.....	4
<b>Figura 2:</b> Cerâmica do período pré-Incaico.....	5
<b>Figura 3:</b> Leishmaniose tegumentar cutânea .....	6
<b>Figura 4:</b> Leishmaniose Tegumentar Mucocutânea .....	7
<b>Figura 5:</b> Leishmaniose cutânea no mundo (áreas em vermelho) .....	8
<b>Figura 6:</b> Casos notificados de LTA No Brasil – 1980 a 2005. Fonte: (FUNASA, 2007) .....	9
<b>Figura 7:</b> Estrutura molecular básica do antimoniato de meglumina .....	13
<b>Figura 8:</b> Aplicação intralesional de antimônio pentavalente .....	20
<b>Figura 9:</b> Diagrama de um ICP-MS.....	22
<b>Figura 10:</b> Distribuição da quantidade de efeitos colaterais sintomáticos sentidos pelos pacientes do tratamento convencional .....	41
<b>Figura 11:</b> Incidência dos efeitos sintomáticos mais frequentes relatados pelos pacientes submetidos ao tratamento convencional.....	41
<b>Figura 12:</b> Distribuição da quantidade de alterações laboratoriais apresentadas pelos pacientes do tratamento convencional.....	43
<b>Figura 13:</b> Incidência das alterações laboratoriais mais frequentes .....	43
<b>Figura 14:</b> Valores de TGO durante o tratamento para dois pacientes do tratamento convencional.....	44
<b>Figura 15:</b> Valores de TGP durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional.....	45
<b>Figura 16:</b> Contagem de linfócitos durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional.....	45
<b>Figura 17:</b> Contagem de neutrófilos durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional.....	46
<b>Figura 18:</b> Valores de hematócrito durante o tratamento para dois pacientes do tratamento convencional.....	46
<b>Figura 19:</b> Contagem de eosinófilos durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional.....	47

<b>Figura 20:</b> Valores de hemoglobina durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional.....	47
<b>Figura 21:</b> Valores de amilase durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional.....	48
<b>Figura 22:</b> Valores de Qtc durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional.....	48
<b>Figura 23:</b> Valores de Fosfatase Alcalina durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional.....	49

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Casos notificados de LTA no Brasil de 2001 a 2006. ....	10
<b>Tabela 2:</b> Preparo das soluções da curva analítica para análise de antimônio em amostras de plasma.....	29
<b>Tabela 3:</b> Preparo das soluções da curva analítica para análise de antimônio em amostras de pele.....	30
<b>Tabela 4:</b> Condições instrumentais usadas no ICP-MS.....	31
<b>Tabela 5:</b> Condições do ciclo de digestão utilizado. ....	32
<b>Tabela 6:</b> Características dos pacientes que terminaram o estudo .....	35
<b>Tabela 7:</b> Concentração de antimônio nas amostras de plasma analisadas .....	37
<b>Tabela 8:</b> Médias das concentrações de antimônio no plasma dos pacientes.....	39
<b>Tabela 9:</b> Concentração de antimônio nas biópsias de pele analisadas.....	40
<b>Tabela 10:</b> Parâmetros laboratoriais avaliados .....	42
<b>Tabela 11:</b> Médias dos valores dos exames laboratoriais dos pacientes do tratamento convencional.....	50
<b>Tabela 12:</b> Efeitos colaterais e alterações laboratoriais dos pacientes do tratamento com baixa dose e intralesional.....	51
<b>Tabela 13:</b> Comparação entre os valores de antimônio nos plasma de pacientes que sofreram interrupções e suspensões do tratamento e as médias. ....	52
<b>Tabela 14:</b> Correlações significativas entre quantidade de efeitos e concentração de antimônio.....	54
<b>Tabela 15:</b> Significância das alterações laboratoriais.....	55
<b>Tabela 16:</b> Semana onde foi observada a maior alteração laboratorial, por parâmetro. ....	56

## RESUMO

A Leishmaniose é uma das doenças parasitárias mais importantes no mundo, sendo prevalente em 88 países. Mais de 180 mil casos de Leishmaniose Cutânea (LC) ou Mucosa foram notificados no Brasil entre 2001 e 2006. O tratamento de primeira escolha para a LC utiliza antimoniais pentavalentes, medicação introduzida há várias décadas e que apresenta uma série de efeitos colaterais, alguns podendo levar ao óbito. O presente trabalho teve como objetivo avaliar as concentrações de antimônio no plasma e pele de pacientes sob tratamento com antimônio pentavalente (Glucantime®) e sua relação com os efeitos colaterais apresentados. Foram avaliados 19 pacientes com LC sob tratamento intravenoso na dose convencional (20 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia), 2 na dose baixa (5 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia) e 3 com aplicação intralesional (até 4,0 mL/semana). Durante o tratamento, os pacientes foram submetidos a exames de sangue periódicos e entrevistados semanalmente quanto à incidência de efeitos colaterais. As concentrações de antimônio em amostras de plasma e pele foram determinadas por Plasma Indutivamente Acoplado com Espectrometria de Massas (ICP-MS), com LOD = 0,020 µg/L e LOQ = 0,068 µg/L no plasma, e LOD = 0,008 µg/L e LOQ = 0,028 µg/L na pele. Para os pacientes do tratamento convencional a concentração média inicial de antimônio no plasma foi de 3,39 µg/L; no final do tratamento foram de 0,21 e 125,8 mg/L, quando coletadas antes e após a aplicação do medicamento, respectivamente. Na pele, a concentração média no final do tratamento foi de 9,24 µg/g. Para esse grupo de pacientes, os principais efeitos colaterais apresentados foram artralgia e mialgia, e as principais alterações laboratoriais, linfocitose e aumento de amilase. Foram encontradas diversas correlações significativas entre as concentrações de antimônio, os efeitos sintomáticos e as alterações laboratoriais. Este achado confirma a hipótese de que existe uma relação dose-dependente entre a concentração de antimônio no plasma e na pele e os efeitos colaterais apresentados.

## ABSTRACT

Leishmaniasis is one of the most important parasitic diseases in the world, being prevalent in 88 countries. Over 180 thousand cases of Mucosal or Cutaneous Leishmaniasis (CL) were notified in Brazil between 2001 and 2006. The first choice treatment for CL uses pentavalent antimonials, medication introduced decades ago that presents a series of side effects, some of them life-threatening. The present work aimed at evaluating the levels of antimony in plasma and skin of patients being treated with pentavalent antimonial (Glucantime®) and its relationship with reported side effects. Were evaluated 19 patients treated endovenously at the conventional dose (20 mg Sb<sup>v</sup>/kg/day), 2 with a smaller dose (5 mg Sb<sup>v</sup>/kg/day) and 3 treated intralesionally (up to 4,0 mL/week). During the treatment, the patients were submitted to periodic blood exams and interviewed weekly about the incidence of side effects. The levels of antimony in plasma and skin samples were determined by Inductively Coupled Plasma with Mass Spectrometry (ICP-MS), with a LOD = 0,020 µg/L and LOQ = 0,068 µg/L for plasma, and LOD = 0,008 µg/L and LOQ = 0,028 µg/L for skin. The patients from the conventional treatment presented a mean initial antimony plasma concentration of 3,39 µg/L; at the end of the treatment, these levels were 0,21 and 125,8 mg/L when samples were collected before and after the Glucantime® application, respectively. The mean antimony level in skin at the end of the treatment was 9,24 µg/g. The main side effects reported by these patients were arthralgia and myalgia; laboratory results showed mainly lymphocytosis and increase in amylase levels. We found many significant correlations between antimony concentrations, side effects and laboratory alterations, confirming the hypothesis of a dose-dependent relationship between antimony concentration in plasma and skin and reported side effects.

## INTRODUÇÃO

A Leishmaniose é um grande problema de saúde pública, ameaçando, hoje em dia, cerca de 350 milhões de pessoas em 88 países. No Brasil, é um problema crescente, sendo que a incidência aumentou de 10,45 casos por 100 mil indivíduos, em 1985, para 18,63 casos por 100 mil indivíduos, em 2000 (CHAGAS e cols, 2006). É uma doença causada por várias espécies de parasitas do gênero *Leishmania*, e que pode se apresentar de três formas: cutânea, mucosa e visceral. A gravidade da doença pode variar desde uma lesão cutânea pequena, única, que cura espontaneamente, até a grave forma visceral, também conhecida como kala-azar, que apresenta taxas de mortalidade de até 100% nos países em desenvolvimento, caso não seja tratada.

Apesar de ser uma doença conhecida há várias décadas, e de todas as pesquisas em busca de novas abordagens terapêuticas, o tratamento de primeira escolha para todas as formas de Leishmaniose continua sendo à base de antimoniais pentavalentes, que são usados há mais de 50 anos. Atualmente, as duas principais apresentações comerciais dos antimoniais são a N-metil-glucamina (Glucantime®) e o Estibogluconato de Sódio (Pentostam®), sendo que no Brasil encontra-se apenas o primeiro. Já é bem estabelecida na literatura a grande variedade de efeitos colaterais atribuídos aos antimoniais pentavalentes, tanto relatados pelos pacientes como avaliados por meio de exames laboratoriais. Dentre eles, pode-se citar desde sintomas comuns, como cefaléia e dores no corpo, até efeitos graves como hepatite, pancreatite, insuficiência renal e cardiopatia.

Existe ampla literatura sobre a determinação de antimônio em matrizes biológicas, sendo a maioria sob enfoque de bio-monitorização, para avaliação dos efeitos de exposição ocupacional ou devido à contaminação ambiental. Poucos trabalhos, porém, enfocam a quantificação de antimônio em pacientes sob tratamento com antimoniais pentavalentes, e os que o fazem abordam principalmente a farmacocinética do metal (BAZZI e cols, 2005; GEBEL e cols, 1998, JASER e cols, 1995b). Apesar de vários autores relatarem uma relação entre níveis de antimônio no organismo de pacientes e efeitos colaterais devido ao tratamento, a literatura não apresenta nenhum estudo que comprove estatisticamente a relação entre estes dois parâmetros.

Neste trabalho objetiva-se avaliar as concentrações de antimônio no plasma e pele de pacientes em tratamento com Glucantime®, avaliar os efeitos sintomáticos e alterações laboratoriais apresentadas por eles e pesquisar uma possível relação dose-dependente entre as concentrações séricas e dérmicas de antimônio e os efeitos colaterais apresentados.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### I. Leishmaniose Tegumentar Americana

#### *A doença*

Sob o nome comum Leishmaniose, é definido um grupo de doenças causadas por diferentes espécies do protozoário parasita do gênero *Leishmania*. (BALAÑA-FOUCE e cols, 1998, FERREIRA, 2002). A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera a Leishmaniose a segunda doença parasitária mais importante mundialmente, atrás apenas da malária (FUNASA, 2007). No Brasil, é uma doença de notificação compulsória às Secretarias Estaduais e Municipais de Saúde e à Fundação Nacional de Saúde, assim como a dengue, febre amarela, hantavirose, peste, sarampo, tétano, varíola e várias outras (ANVISA, 2001). A doença, inicialmente de distribuição rural e em pequenos centros urbanos, encontra-se em franca expansão para focos urbanos no Brasil. É considerada endêmica, mas ocorrem surtos com alguma frequência. (FUNASA, 2005).

As *Leishmanias* são geralmente agrupadas em parasitas que causam a doença tegumentar – *L. (L.) tropica*, *L. (L.) aethiopica*, *L. (L.) infantum* e *L. (L.) major* no Velho mundo, e membros do complexo *L. (V.) braziliensis*, *L. (L.) mexicana* e *L. (V.) guyanensis* no Novo Mundo (pelo menos 8 espécies) – e aqueles responsáveis pela doença visceral – *L. (L.) donovani* na Índia e África, *L. (L.) infantum* nas regiões do Mediterrâneo e *L. (L.) chagasi* no Novo Mundo (FERREIRA, 2002). O parasita é transmitido pela picada de insetos flebotomíneos contaminados, dos gêneros *Lutzomyia* e *Psychodopygus*, não havendo transmissão de pessoa para pessoa (Figura 01). O período de incubação da doença no homem costuma variar entre duas semanas a dois anos, com média de dois a três meses. Como hospedeiros dos parasitas, já foram registrados roedores, marsupiais e canídeos silvestres. Existem numerosos registros de infecção em animais domésticos, porém não há evidências científicas que comprovem o papel desses animais como reservatórios das espécies de *Leishmania*, sendo considerados hospedeiros acidentais da doença (FUNASA, 2000; FUNASA, 2007).



**Figura 1:** Mosquito flebotômico

([http://www.saude.mt.gov.br/site/informe/arq\\_texto-informe.php?pk\\_noticia=2111](http://www.saude.mt.gov.br/site/informe/arq_texto-informe.php?pk_noticia=2111)), 12/09/07

A Leishmaniose visceral, também conhecida como calazar, é a forma mais severa da doença e se caracteriza por febre, perda de peso, inchaço do fígado e baço e anemia, podendo atingir uma taxa de mortalidade de 100% se não tratada (OMS, 2008). A Leishmaniose tegumentar, que será descrita a seguir, é uma das afecções dermatológicas que merece maior atenção, devido à sua alta incidência e ao risco de ocorrência de deformidades no homem (FUNASA, 2000).

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) acomete pele e mucosas de homens e animais, estando amplamente distribuída em todo o mundo, com relatos sobre a doença no continente americano desde a época colonial. Em 1571, Pedro Pizarro relatou que os povos situados nos vales quentes do Peru eram dizimados por uma doença que desfigurava o nariz, a qual foi posteriormente caracterizada como Leishmaniose (RATH e cols., 2003). A civilização Inca, apesar de não ter deixado documentos escritos, deixou desenhos, artefatos e cerâmicas com imagens de pessoas com lesões faciais similares à Leishmaniose mucocutânea (MATLASHEWSKI, 2001). Representações de lesões na pele e deformidades faciais foram encontradas também em cerâmicas pré-incas do Equador e Peru (Figura 02), datando do primeiro século d.C. Todas essas são evidências de que as formas cutânea e mucocutânea de LTA prevalecem no novo Mundo desde esse período (OMS, 2008).



**Figura 2:** Cerâmica do período pré-Incaico

([www.iranderma.com/leishmaniasis.htm](http://www.iranderma.com/leishmaniasis.htm)), 05/08/08

Seguindo o curso da história, temos que textos referentes ao período Incaico, dos séculos 15 e 16, e depois referentes ao período da colonização espanhola, mencionavam o risco corrido por agricultores sazonais que retornavam dos Andes com úlceras na pele que, naquela época, eram atribuídas à “doença do vale” ou “doença andina”. Mais tarde, deformações no nariz e boca ficaram conhecidas como “lepra branca” por causa da sua grande semelhança com as lesões causadas pela lepra (OMS, 2008). Em 1756, foi feita uma das primeiras e mais importantes descrições clínicas da Leishmaniose cutânea, por Alexander Russell, seguindo o exame de um paciente turco. A doença foi descrita em termos relevantes: “depois de cicatrizar, ela deixa uma cicatriz feia, que permanece por toda a vida, e por muitos meses tem uma cor lívida. Quando não está irritada, ela raramente é dolorida” (OMS, 2008).

A LTA se apresenta de duas formas – a cutânea e a mucocutânea. A manifestação clínica irá depender da espécie de parasita envolvido e do estado imunológico do indivíduo infectado. A Leishmaniose cutânea representa a forma clínica mais freqüente, produzindo lesões únicas ou em pequeno número, redondas e com a borda mais elevada, nas partes expostas do corpo como face, braços e pernas (Figura 03) (FUNASA, 2007; LEE e HASBUN, 2003). As principais lesões são pápulas eritematosas em áreas do corpo onde o mosquito tenha se alimentado. No começo, a lesão pode ter prurido, mas não causa dor. A úlcera pode permanecer relativamente seca com uma casca central (REGUERA e cols., 1998) - forma seca - ou pode exsudar um

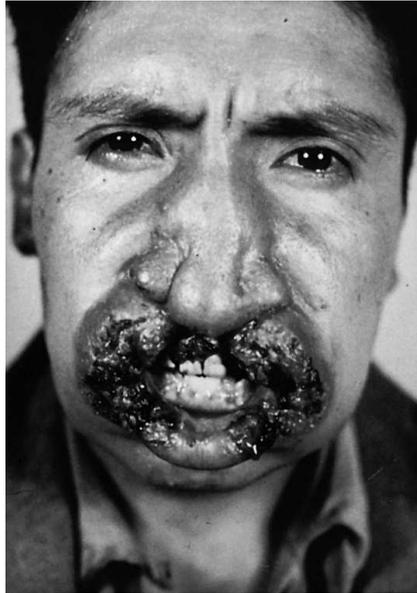
material seropurulento - forma úmida - que pode ser secundariamente infectada por bactérias e fungos (LEE e HASBUN, 2003). Frequentemente as lesões de Leishmaniose cutânea se curam sozinhas, mas elas podem persistir por um ano ou mais se deixadas sem tratamento (REGUERA e cols., 1998). Lesões nas pernas e nos pés demoram mais tempo para curar, sugerindo que a estase venosa pode ser um fator retardante da cura (SCHUBACH e cols., 2005). Em caso de ausência de resposta celular específica para antígenos de *Leishmania*, pode ocorrer Leishmaniose cutânea difusa, doença rara com acentuada proliferação dos parasitas e disseminação da infecção, produzindo até 200 lesões e deixando o paciente com cicatrizes permanentes (FUNASA, 2007; OMS, 2008).

A Leishmaniose mucocutânea começa da forma cutânea, com a marca típica no local onde o mosquito picou, sendo devida a metástases do microorganismo para áreas mucosas a partir de uma lesão cutânea primária. Lesões mucosas metastáticas têm um efeito lento, porém progressivo, principalmente nas cavidades oral e nasal (Figura 04). A destruição dos tecidos nessas cavidades pode ser parcial ou total, podendo se estender para a pele vicinal, cavidade oral, orofaringe, faringe e até traquéia (REGUERA e cols., 1998).



**Figura 3:** Leishmaniose tegumentar cutânea

(FUNASA, 2007)

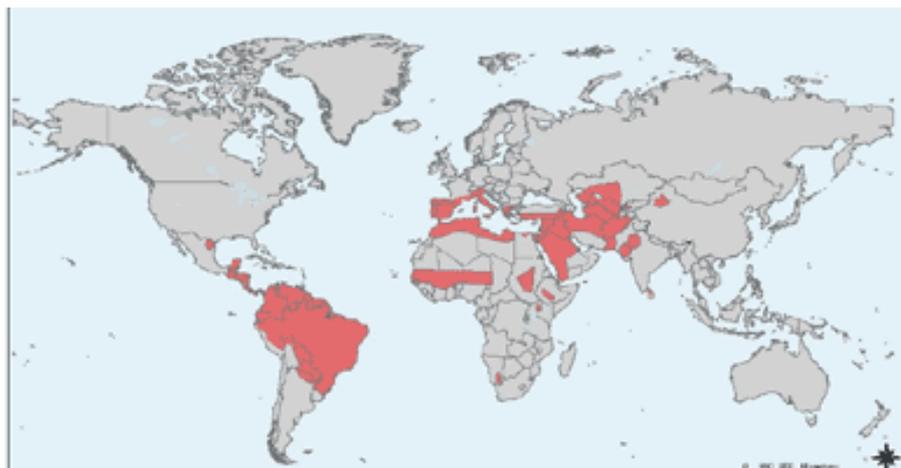


**Figura 4:** Leishmaniose Tegumentar Mucocutânea

([www.stanford.edu/class/humbio103/ParaSites2006/Leishmaniasis/Mucocutaneous.htm](http://www.stanford.edu/class/humbio103/ParaSites2006/Leishmaniasis/Mucocutaneous.htm)), 04/08/08

### *Epidemiologia*

A Leishmaniose é prevalente em 88 países (REGUERA e cols., 1998). Segundo a OMS, 90% dos casos da Leishmaniose mucocutânea ocorrem no Brasil, Bolívia e Peru e 90% dos casos da Leishmaniose cutânea ocorrem no Afeganistão, Brasil, Irã, Peru, Arábia Saudita e Síria (Figura 05) (OMS, 2008). Mais de quinze milhões de pessoas no mundo estão infectadas por *Leishmania*, com dois milhões de novos casos acontecendo anualmente (CROFT e YARDLEY, 2002); porém, devido à notificação insuficiente, esses números provavelmente estão subestimados. Aproximadamente 350 milhões de pessoas correm risco de infecção e a maioria dessas está entre as mais pobres do mundo em desenvolvimento (MATLASHEWSKI, 2001).



**Figura 5:** Leishmaniose cutânea no mundo (áreas em vermelho)

(OMS, 2008).

Até a década de 1950, a LTA disseminou-se praticamente por todo o território nacional, coincidindo com o desflorestamento provocado pela construção de estradas e instalação de aglomerados populacionais, com maior incidência nos estados de São Paulo, Paraná, Minas Gerais, Ceará e Pernambuco (FURTADO e VIEIRA, 1982, VALE e FURTADO, 2005). Esse fato foi observado posteriormente na Região Amazônica, onde houve um grande aumento da LTA, em decorrência da construção da rodovia Belém-Brasília e do desenvolvimento de atividades agrícolas (FURTADO e VIEIRA, 1982).

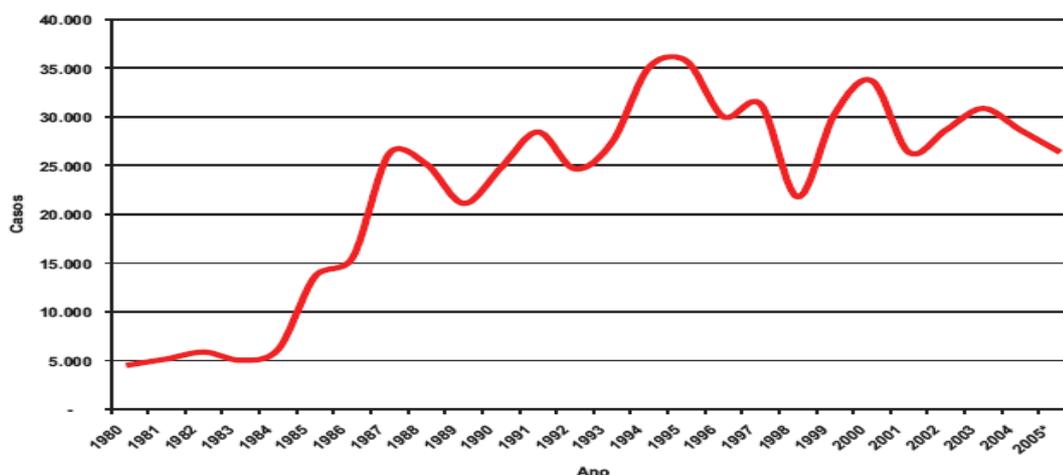
Nos últimos 20 anos tem sido observado franco crescimento da endemia, tanto em magnitude quanto em expansão geográfica, com surtos epidêmicos nas regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e, mais recentemente, na Região Norte. Nas áreas de colonização recente, a expansão está associada à derrubada de matas para construção de estradas, novos núcleos populacionais e ampliação de atividades agrícolas, sendo mais comum na Amazônia e Centro-Oeste, onde atinge principalmente a população migrante, freqüentemente poupando os indígenas (VALE e FURTADO, 2005).

A incidência da LTA no Brasil não apresenta dados fidedignos e muito provavelmente está aquém do real, embora tenham sido feitas várias estimativas, dentre elas no período de 1980 a 1990, tendo se chegado a um total de 154.103 casos. Outra estimativa, abrangendo os anos de 1985 a 1999, aponta 388.155 casos autóctones de LTA. Comparando-se os valores absolutos e o coeficiente de detecção, houve um aumento de 13.654 casos/ano para 30.550 casos/ano, e de 10,45 casos/100.000

habitantes para 18,63 casos/ 100.000 habitantes nesses dois períodos, respectivamente (BASANO e CAMARGO, 2004).

Vários estudos brasileiros apontam para a ocorrência de LTA e seus vetores em todo o território brasileiro, porém apresentando-se com diferentes coeficientes de incidência. Deve-se salientar que a ocorrência do perfil periurbano de transmissão está relacionada à falta de saneamento básico, à situação econômica precária, à migração da população para as periferias das cidades, aos materiais de construção inadequados e ao convívio com animais ermos ou mesmo domesticados que servem de novos reservatórios da doença, aliados ao aumento da população de ratos que se concentram nos “depósitos” de lixo dessas áreas (BASANO e CAMARGO, 2004).

Dados de prevalência de LTA no Brasil são mostrados na Figura 06 e Tabela 1. Pode-se observar na Figura que, a partir da década de 80, houve um aumento no número de casos registrados, variando de 3.000 (1980) a 33.141 (2001). Esse aumento é mais pronunciado a partir de 1985, quando se solidificou a implantação das ações de vigilância e controle de LTA no país. Nos últimos anos, observa-se uma tendência de diminuição do número de casos notificados na maioria dos estados. Em 2006, 25.843 casos foram notificados no país; os estados com maior prevalência foram o Mato Grosso, Pará, Bahia, Minas Gerais e Maranhão, com mais de 2000 casos. O número de casos de LTA no DF tem se mantido relativamente constante nos últimos anos, com menor número de notificações em 2005 (60 casos) e maior número em 2004 (89 casos).



**Figura 6:** Casos notificados de LTA No Brasil – 1980 a 2005. Fonte: (FUNASA, 2007)

**Tabela 1:** Casos notificados de LTA no Brasil de 2001 a 2006.

UF Notificação	Ano de Notificação					
	2006	2005	2004	2003	2002	2001
Mato Grosso	4.232	3.806	3.966	4.502	4.437	4.143
Pará	3.892	4.560	5.575	5.360	4.433	3.268
Bahia	2.611	2.187	1.872	2.321	2.958	4.478
Minas Gerais	2.334	1.920	1.633	1.965	1.879	1.497
Maranhão	2.318	3.463	3.116	3.892	4.609	5.941
Amazonas	1.737	1.996	2.289	3.872	2.294	2.344
Rondônia	1.312	1.779	2.291	2.106	1.941	1.853
Acre	1.252	1.483	1.648	1.519	1.286	895
Ceará	1.106	2.024	2.114	1.399	2.347	3.024
Amapá	632	609	1.214	620	426	54
Goiás	598	557	538	590	532	586
Tocantins	575	548	607	707	708	796
São Paulo	552	532	735	1.099	884	688
Pernambuco	479	381	753	607	637	673
Paraná	455	493	619	924	1.022	541
Roraima	405	290	172	342	477	521
Rio de Janeiro	342	348	234	279	330	238
Espírito Santo	258	205	161	264	219	418

UF Notificação	Ano de Notificação					
	2006	2005	2004	2003	2002	2001
Piauí	235	324	177	149	176	200
Santa Catarina	158	87	21	36	17	16
Mato Grosso do Sul	153	148	218	266	337	470
<b>Distrito Federal</b>	<b>84</b>	<b>60</b>	<b>89</b>	<b>88</b>	<b>73</b>	<b>77</b>
Paraíba	53	70	86	65	94	120
Alagoas	47	60	74	107	92	164
Sergipe	10	14	9	19	63	108
Rio Grande do Norte	7	13	16	10	11	20
Rio Grande do Sul	6	13	12	21	21	8
<b>TOTAL</b>	<b>25.843</b>	<b>27.970</b>	<b>30.239</b>	<b>33.129</b>	<b>32.303</b>	<b>33.141</b>

Fonte: Ministério da Saúde / SVS – Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan

(<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinan/lta/bases/ltabr.def>), 11/06/08

### *O tratamento com Antimoniais Pentavalentes*

Existem cerca de 25 compostos com atividade antileishmanial, mas apenas alguns são classificados como drogas antileishmaniais e a maioria é de uso parenteral (SINGH e SIVAKUMAR, 2004). A Leishmaniose, como a maioria das doenças causadas por protozoários, é um problema principalmente de países em desenvolvimento e, portanto, oferece pouco incentivo comercial para indústrias

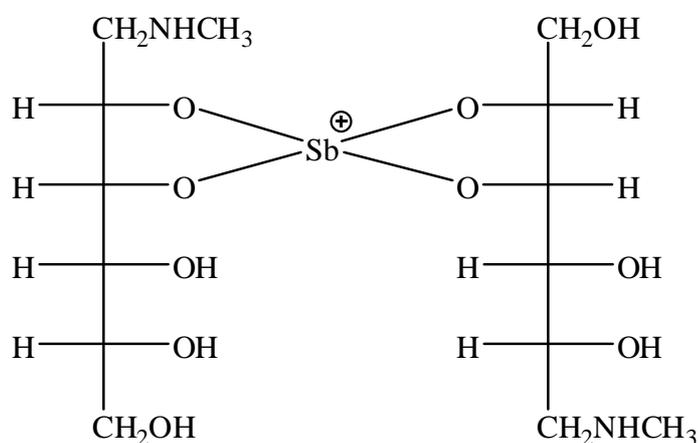
farmacêuticas para que desenvolvam drogas baratas e eficazes. Várias modalidades de tratamento para Leishmaniose já foram empregadas; porém, nenhuma demonstrou ser boa o suficiente para ser usada como droga de primeira escolha para tratar pacientes em todos os cenários de epidemia (ARANA e cols., 2001). Não só as várias espécies de *Leishmania spp.* diferem intrinsecamente nas suas sensibilidades às drogas disponíveis, mas os muitos locais de infecção – forma cutânea, mucocutânea ou visceral – impõem diferentes necessidades farmacocinéticas às drogas (CROFT e COOMBS, 2003). Dessa forma, relatórios de eficácia de drogas costumam diferir de uma região para outra, tanto porque a droga é usada para tratar pacientes com diferentes formas clínicas como por causa da variação entre as espécies de *Leishmania* responsáveis pelas infecções (ARANA e cols., 2001).

O tratamento de primeira escolha recomendado para Leishmaniose cutânea, com antimoniais pentavalentes, foi introduzido a mais de 50 anos, porém, a situação está mudando e algumas novas terapias estão sendo disponibilizadas (CROFT e COOMBS, 2003). A maioria das drogas tem o uso limitado devido à toxicidade, dificuldade na administração, alto custo e desenvolvimento de resistência (ARANA e cols., 2001). Atualmente, são drogas de segunda escolha para o tratamento de Leishmaniose a Anfotericina B, Anfotericina B lipossomal e Pentamidina (FUNASA, 2007). Também são usados Paromomicina, Miltefosine, Alopurinol e Azitromicina (CROFT E YARDLEY, 2002, MINODIER E PAROLA, 2007).

O uso medicinal de compostos de antimônio já era conhecido desde a Antigüidade, séculos antes da era cristã (RATH e cols., 2003). Em um tratado publicado em Leipzig em 1604, o antimônio, que havia sido relatado por Paracelsus como uma panacéia, foi aclamado como uma das sete maravilhas do mundo. Algumas vezes banido e várias vezes discutido nos próximos três séculos, a era moderna de uso começou em 1905, quando Plimmer e Thompson mostraram as atividades de antimoniais trivalentes contra tripanosomas em ratos e subseqüentemente no tratamento da tripanosomíase humana na África (CROFT E YARDLEY, 2002). Em 1912, Gaspar de Oliveira Vianna, no Brasil, observou que o tártaro emético (tartarato duplo de antimônio e potássio) era eficaz na terapêutica da LTA (RATH e cols., 2003). O primeiro registro publicado do uso desses antimoniais trivalentes para Leishmaniose cutânea foi por Macado e Vianna, em 1913 (CROFT E YARDLEY, 2002).

Devido aos efeitos tóxicos e graves efeitos colaterais indesejáveis associados ao emprego do tártaro emético, como intolerância gastrointestinal e efeitos cardiotoxicos, os antimoniais trivalentes (tartarato de antimônio e potássio, antimoniato de bis-catecol-3,5-dissulfonato sódico, tioglicolato de sódio e antimônio) foram sendo substituídos por compostos estibiados pentavalentes (antimoniato de n-metilglucamina, gluconato de antimônio (V) sódico ou estibogluconato de sódio, uréia estibamina). Brahmachari, em 1920, desenvolveu o primeiro composto à base de antimônio pentavalente, a uréia estibamina, derivado uréico do ácido p-aminofenil estibínico (RATH e cols., 2003). Essa descoberta salvou milhões de vidas e o Prof. Brahmachari foi indicado ao prêmio Nobel em 1929 (SINGH e SIVAKUMAR, 2004).

O desenvolvimento dos antimoniais pentavalentes menos tóxicos, nos anos 20, levou à síntese do gluconato de antimônio (Solustibosam®) em 1937 e do estibogluconato de sódio (Pentostam®) em 1945 (CROFT E YARDLEY, 2002). Durante a Segunda Guerra Mundial, surgiu na França um medicamento alternativo, o antimoniato de N-metil glucamina, comercializado como Glucantime® (Aventis) ou antimoniato de meglumina (CROFT e YARDLEY, 2002; DEMICHELL e cols., 1999) (Figura 6).



**Figura 7:** Estrutura molecular básica do antimoniato de meglumina

### *Aplicação*

O estibogluconato de sódio (Pentostam®) e o antimoniato de meglumina (Glucantime®) têm sido nos últimos 50 anos os agentes de primeira escolha para o tratamento de todas as formas de Leishmaniose (CROFT e COOMBS, 2003; CROFT e

YARDLEY, 2002; FUNASA, 2002; KAFETZIS e cols., 2005; OLIVEIRA e cols., 2005; ROMERO e cols., 2003; SINGH e SIVAKUMAR, 2004) por todo mundo exceto na Índia, onde a resistência limitou o seu uso (KAFETZIS e cols., 2005). O medicamento provoca regressão rápida das manifestações clínicas e hematológicas da doença, bem como leva à cura clínica da doença (RATH e cols., 2003); o tratamento geralmente alcança taxas de cura acima de 90%. Sua taxa de fracasso em pacientes imunocompetentes com Leishmaniose visceral nas Américas é menor de 2 % (SANTOS e cols., 2002). O Pentostam® está disponível nos Estados Unidos, Europa, África e Índia, enquanto o Glucantime® é usado na América Latina, inclusive no Brasil, e em países de língua francesa na África. Ambos têm a mesma eficácia, mas a toxicidade hepática e pancreática do primeiro é maior (LEE e HASBUN, 2003).

Visando padronizar o esquema terapêutico, a OMS recomenda que a dose de antimoniato de meglumina (Glucantime®) seja calculada em mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia. O Glucantime® apresenta-se comercialmente em ampolas de 5 ml que contêm 1,5 g de antimoniato bruto, correspondente a 405 mg de antimônio pentavalente (Sb<sup>v</sup>) (FUNASA, 2002). Os regimes de tratamento variam dependendo da espécie envolvida, a saúde do paciente e a infra-estrutura disponível ao médico (CROFT e YARDLEY, 2002). No Brasil, temos que, para forma cutânea, a dose recomendada varia entre 10 a 20 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia, sendo sugerido 15 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia, tanto para adultos quanto para crianças, durante 20 dias seguidos. Nunca deve ser utilizada uma dose superior a três ampolas/dia ou 15 ml/dia para o adulto. Se não houver cicatrização completa no período de três meses após o término do tratamento, ou se nesse período houver reativação da lesão, o esquema deve ser repetido, prolongando-se a duração da série para 30 dias. Em caso de falha terapêutica, deve-se utilizar uma das drogas de segunda escolha (FUNASA, 2002).

#### *Farmacocinética*

Os parâmetros farmacocinéticos dos antimoniais pentavalentes orgânicos são responsáveis pela administração continuada dessas drogas (SINGH e SIVAKUMAR, 2004). Após administração endovenosa ou intramuscular, o antimoniato de meglumina é rapidamente absorvido e, praticamente, 90% do antimônio é excretado nas primeiras 48 h pela urina. Em conseqüência, faz-se necessária a administração de doses elevadas em regime contínuo, para garantir um elevado teor de antimônio nos tecidos e, assim,

obter a eficácia do tratamento (RATH e cols., 2003). Uma fração da dose, porém, fica retida, tendo tempo de meia-vida biológico de  $32,8 \pm 3,8$ h. Com injeções repetidas do medicamento, seus níveis de retenção são aumentados, fato observado após os cinco primeiros dias do seu uso. (FUNASA, 2007).

Jaser e cols. (1995a) estudaram a farmacocinética do estibogluconato de sódio após uma injeção intramuscular do medicamento. Concluíram que, após a administração, a penetração do antimônio na pele é rápida, sendo a sua concentração máxima obtida, em média, duas horas após a administração, sem diferenças significativas entre a concentração de antimônio na pele sadia e na pele da lesão. Nas primeiras quatro horas a concentração de antimônio é maior no sangue do que na pele, mas sua eliminação, nesse caso, também é mais rápida, enquanto na pele sua retenção é maior. Dorea e cols (1990) quantificaram antimônio na pele de pacientes no Brasil submetidos a tratamento endovenoso com Glucantime®, utilizando diferentes esquemas terapêuticos, e observaram uma alta concentração de antimônio no local das lesões; porém não houve relação significativa entre a concentração observada e a dose administrada de medicamento.

Vários estudos afirmam que, após a administração, os antimoniais orgânicos são bioconvertidos à forma inorgânica  $Sb^V$ , que é reduzida à forma trivalente  $Sb^{III}$ , mais tóxica para humanos e para o parasita que a forma pentavalente (MIEKELEY, MORTARI e SCHUBACH, 2002; BALAÑA-FOUCE e cols, 1998). Não se sabe exatamente em qual extensão o  $Sb^V$  é reduzido a  $Sb^{III}$  nem como esse processo contribui para os efeitos colaterais tóxicos associados com terapias de altas doses e longo prazo e para a erradicação dos parasitas (MIEKELEY e cols, 2002; CROFT e YARDLEY, 2002).

Miekeley e cols (2002) fizeram um estudo comparando as taxas de antimônio total,  $Sb^V$  e  $Sb^{III}$  em diferentes fases do tratamento, em amostras de sangue e urina de pacientes tratados com antimonial pentavalente. Observaram que o antimônio é rapidamente eliminado do compartimento central (sangue e plasma) após descontinuação do tratamento e que, durante essa fase rápida, apenas uma pequena conversão da droga em suas espécies iônicas  $Sb^V$  e  $Sb^{III}$  parece ocorrer. A concentração de  $Sb^{III}$  era maior, porém, em amostras coletadas durante a fase lenta de eliminação da

droga, reforçando a hipótese de que essa forma iônica pode ser responsável pela toxicidade a longo prazo observada e, eventualmente, pela sua ação terapêutica.

### *Efeitos Colaterais*

Antimoniais não são drogas seguras, e os protocolos de tratamento propostos pela OMS visam evitar o aparecimento de toxicidade (REGUERA e cols., 1998). Uma infinidade de efeitos colaterais é atribuída aos antimoniais pentavalentes, sendo os mais citados artralgia, mialgia, inapetência, náuseas, vômitos, dor abdominal, febre, fraqueza, cefaléia, nervosismo, edema, insuficiência renal aguda, distúrbios respiratórios, cardiotoxicidade, nefrite, pancreatite, pancitopenia, neuropatia periférica reversível, tosse, rash cutâneo, flebite, leucopenia transitória, trombocitopenia e hepatite (ARANA e cols., 2001; FUNASA, 2002; OLIVEIRA e cols., 2005; RATH e cols., 2003; ROMERO e cols., 2003; SINGH e SIVAKUMAR, 2004).

Alguns desses efeitos colaterais ameaçam a vida e merecem mais destaque, como arritmias cardíacas resultantes de um prolongamento do intervalo eletrocardiográfico QT, pancreatite e disfunção hepática (LAWN e cols., 2006; OLIVEIRA e cols., 2005). A toxicidade cardíaca é potencialmente um dos mais sérios efeitos colaterais associados aos antimoniais, que podem causar arritmias fatais quando usados em altas doses (ARANA e cols., 2001). Alterações no eletrocardiograma são freqüentes (ROMERO e cols., 2003), e a arritmia cardíaca pode resultar até na redução ou suspensão do tratamento, e em casos críticos, morte súbita (OLIVEIRA e cols., 2005; ROMERO e cols., 2003; SINGH e SIVAKUMAR, 2004).

Vários estudos foram feitos na tentativa de se estimar a intensidade e freqüência dos efeitos colaterais associados aos antimoniais pentavalentes. Num estudo realizado no Hospital Universitário de Brasília, comparando dois grupos de pacientes com Leishmaniose cutânea, sendo um tratado com isotionato de pentamidina e outro com o tratamento convencional com N-metil-glucamina, observou-se que as principais queixas dos pacientes tratados com pentamidina foram tontura, lipotímia e dor local, enquanto os pacientes tratados com antimonial se queixaram principalmente de artralgia e mialgia. Em números absolutos, observou-se que, dentre 41 pacientes tratados com antimonial, houve catorze relatos de artralgia, treze de mialgia, quatro de cefaléia, três de náuseas, três de hiporexia (diminuição do apetite), dois de vertigem, dois de

epigastria (dor na região epigástrica), dois de prurido e dois de febre. Nos exames laboratoriais, observou-se que 42,4% dos pacientes tratados com Glucantime tiveram alguma alteração, sendo as mais frequentes elevação da creatinina sérica, leucopenia, eosinofilia e elevação das transaminases (PAULA e cols., 2003).

Em 16 de 17 pacientes acompanhados num estudo em Washington, EUA, níveis séricos de amilase e lipase aumentaram para valores anormais após terapia com estibogluconato de sódio; 12 dentre os 17 apresentaram sintomas de pancreatite. A terapia foi mantida em 7 e suspensa em 10 dos 17 pacientes. A pancreatite melhorou em todos os pacientes após a interrupção do tratamento (GASSER e cols, 1994).

Kashani e cols (2007) fizeram um estudo para avaliar a influência do antimoniato de meglumina em testes de função de fígado, rins e pâncreas, analisando amostras de sangue retiradas antes e depois do tratamento intramuscular na dose de 20 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia, por 15 dias. Não houve diferenças significantes nas concentrações séricas de potássio, amilase, lipase e GGT; as concentrações séricas de creatinina, sódio, bilirrubinas total e direta, TGO, TGP e fosfatase alcalina foram significativamente aumentados. A maioria dessas mudanças não foi clinicamente significativa e todos os valores retornaram ao normal num período de duas a quatro semanas após o término do tratamento.

Para avaliar efeitos colaterais bioquímicos e eletrocardiográficos em pacientes submetidos a tratamento com estibogluconato de sódio, Lawn e cols (2006) fizeram um estudo retrospectivo analisando 65 prontuários de pacientes britânicos que retornaram de viagens à América Latina e que foram diagnosticados com Leishmaniose cutânea ou mucosa, e que foram tratados com Pentostam na dose convencional de 20 mg Sb<sup>v</sup> / kg / dia por 20 ou 28 dias, para tratamento da forma cutânea ou mucosa, respectivamente. Dos 65 pacientes, quatro tiveram o tratamento interrompido, sendo um por toxicidade cardíaca, um por eritrodermia generalizada e febre após três doses e dois por dores musculoesqueléticas severas. Surgiram anormalidades nos ECGs de 53% dos pacientes. O QTc médio aumentou progressivamente de 389 msec para 404 msec após três semanas de tratamento, e seis pacientes desenvolveram prolongamento de QTc significativo, porém assintomático, mas nenhum desenvolveu efeitos colaterais.

Antes do tratamento, os testes de função renal e valores de base de amilase eram normais em todos os pacientes. Um aumento nas concentrações séricas de TGO ou TGP acima do limite normal foi detectado em 85% dos pacientes, tendo triplicado em 33% deles. Um aumento nas concentrações séricas de amilase acima do limite normal foi detectado em 67% dos pacientes, tendo triplicado em 19% deles. Nenhum desses pacientes desenvolveu hiperbilirrubinemia, hepatomegalia, dor abdominal ou alterações nos exames físicos, e nem requereram interrupção do tratamento (LAWN e cols, 2006).

São encontrados na literatura relatos de casos de efeitos colaterais graves. Mattos e cols (2000) relataram um caso de pancreatite onde um paciente com Leishmaniose visceral, sendo tratado com Glucantime na dose de 20 mg Sb<sup>v</sup> / kg / dia, passou a se queixar de mal estar e fraqueza no sexto dia de tratamento. Nessa ocasião, foram realizados exames de controle que acusaram 1242 U/L de amilase, elevação de cerca de sete vezes os valores normais, e 1126 U/L de lipase, elevação de cerca de nove vezes os valores normais. O paciente mencionou também sentir anorexia e prurido. O tratamento foi suspenso no décimo dia, seguindo-se o desaparecimento dos sintomas. Nove dias depois, a terapêutica foi reintroduzida com a metade da dose inicial. O paciente permaneceu assintomático até o final do tratamento, embora mantivesse níveis moderadamente elevados de amilase (380UI/L), que se normalizaram 13 dias depois do término do tratamento (148UI/L). Houve melhora da pancitopenia e retorno da disposição para o trabalho.

Um outro caso foi relatado por Rodrigues e cols (1999), em um paciente com Leishmaniose cutânea generalizada. Foram administradas 3 ampolas / dia de Glucantime, devido à obesidade do paciente, que apresentava função hepática e renal normais. O tratamento endovenoso foi introduzido gradualmente, sendo uma ampola no primeiro dia, duas ampolas por dia nos dois dias seguintes e três ampolas por dia nos dias subseqüentes. No 15º dia o paciente foi dispensado com tratamento de manutenção, mas voltou uma semana depois reportando mialgia intensa, hiporexia, vômito, dor e edema nos membros inferiores. O paciente morreu após receber um total de 53 ampolas de Glucantime, pois a alta dose utilizada – calculada com base no peso do paciente – provocou uma necrose tubular aguda, levando a morte por falência renal aguda.

### *Regimes de Tratamento alternativos*

Já foram propostos esquemas terapêuticos alternativos para os antimonialis pentavalentes, visando à diminuição da incidência de efeitos colaterais. A infiltração local da lesão com antimonial pentavalente – tratamento intralesional – tem sido usada na Leishmaniose cutânea localizada (Figura 08). A OMS recomenda uma injeção de 1,0 a 3,0 mL do medicamento, sob as bordas da lesão, até que sua superfície clareie. A infiltração pode ser feita a cada cinco a sete dias, num total de duas a cinco aplicações (OLIVEIRA-NETO e cols, 1997).

Vários estudos mostraram que o tratamento intralesional pode ser muito efetivo no tratamento de pacientes com Leishmaniose Cutânea causada por *L. major*, *L. tropica*, *L. braziliensis* ou *L. panamensis*. As vantagens desse modo de aplicação são uma maior concentração da droga no local da infecção, reduzindo os efeitos colaterais sistêmicos, a diminuição no tempo de cura e redução nos custos de tratamento. As desvantagens são a inexistência de um protocolo fixo de dosagem (a quantidade de droga a ser usada irá depender do número, tamanho e localização das lesões) e a necessidade de experiência técnica para administração das injeções (RHEITINGER e cols, 2007).

Em geral, o tratamento intralesional atinge uma taxa de cura de 72 a 97% das lesões causadas por *L. major*. (MINODIER E PAROLA, 2007). Um estudo conduzido no Rio de Janeiro mostrou uma taxa de cura de 80%, com baixa incidência de efeitos colaterais, sendo que os pacientes mencionaram apenas pequeno desconforto ou dor durante a aplicação. A única complicação reportada foi o desenvolvimento de abscesso no braço de um paciente, que foi curado rapidamente com antibiótico sem prejuízo da cura da lesão (OLIVEIRA-NETO e cols, 1997).



**Figura 8:** Aplicação intralesional de antimônio pentavalente  
(Rheitinger e cols, 2007)

Masmoudi e cols (2006) fizeram um estudo retrospectivo sobre os efeitos colaterais da aplicação intralesional de Glucantime®. De todos os 272 pacientes que receberam tratamento intralesional num período de cinco anos, apenas 5% mostraram algum efeito colateral. Esses efeitos foram principalmente infecções, geralmente observadas na região da cabeça, de onde concluíram a necessidade de se evitar administração intralesional nessa região.

Uma outra alternativa ao esquema terapêutico convencional é o tratamento com uma dose menor de antimônio, utilizando 5 mg  $Sb^V/kg/dia$ . Esse esquema vem sendo usado com sucesso no Instituto de Pesquisas Clínicas Evandro Chagas da Fundação Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro, que vem publicando vários trabalhos mostrando os resultados obtidos nesse tratamento. Oliveira-Neto e cols. (1997 b) fizeram um estudo com dois grupos de pacientes, um recebendo tratamento na dose convencional de 20 mg  $Sb^V/kg/dia$  e o outro recebendo a dose de 5 mg  $Sb^V/kg/dia$ . Os dois regimes de tratamento mostraram resultados semelhantes, sendo que em 10 dentre 12 pacientes do primeiro grupo e em 9 dentre 11 pacientes do segundo grupo foi observada epitelização completa da lesão ao final do tratamento, sem reativação das

lesões ou desenvolvimento de lesões mucosas pelo período de acompanhamento de sete anos.

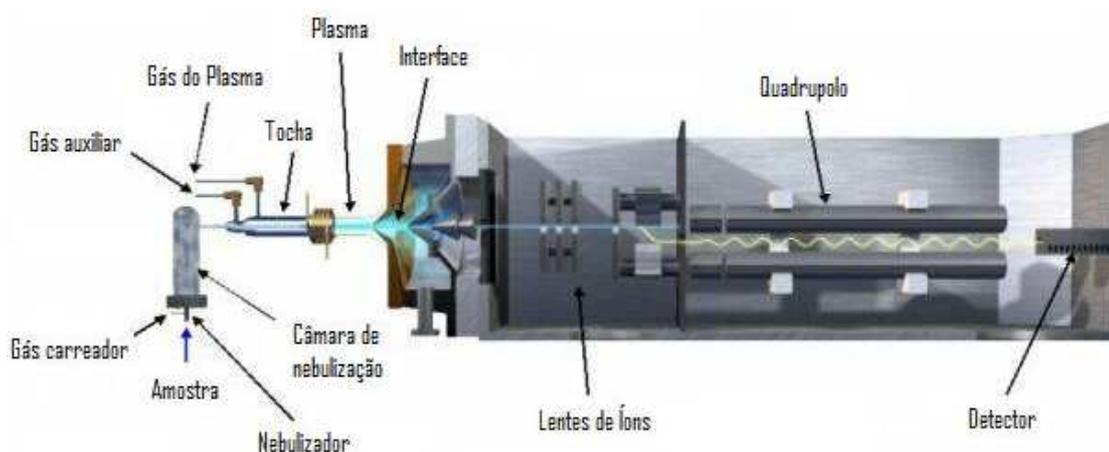
Foram realizados também estudos utilizando doses variáveis de antimônio. Oliveira-Neto e Mattos (2006) estudaram a eficácia de uma dose de uma ampola de glucantime (405 mg de Sb<sup>v</sup>) por dia, aplicada por via intramuscular em dias alternados. Cerca de 86 % dos 40 pacientes tratados obtiveram cura, caracterizada pela epitelização completa das lesões. Apenas seis pacientes relataram efeitos colaterais leves, como dor no local das injeções e ligeira artralgia e/ou náusea. Em outro estudo (OLIVEIRA-NETO e cols., 1996), os 15 pacientes que receberam doses variando entre 3,8 a 22,3 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia estavam curados após dois meses do final do tratamento; após cinco anos, todos apresentaram lesões cicatrizadas e ausência de lesões mucosas. Os autores concluíram que, em casos de lesões cutâneas únicas, um pequeno tempo de evolução da doença, pequeno número de parasitas nas lesões e uma boa resposta imune, uma dose baixa poderia ser efetiva e menos tóxica.

## **II. Quantificação de antimônio em material biológico**

Vários métodos analíticos são usados para se determinar antimônio em material biológico, incluindo ativação neutrônica, espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos ou forno de grafite, espectrometria de emissão com fonte de centelha e Plasma Indutivamente Acoplado a Espectrometria de Massas (ICP-MS). Em ICP-MS, diferentes íons são separados de acordo com sua razão massa/carga e podem ser identificados, uma vez que a razão massa/carga é característica de cada elemento. Sua capacidade de análise multi elementar, alta sensibilidade e ampla faixa linear de trabalho ( $10^5$ ), pequeno tempo de análise e alta amostragem têm sido exploradas para investigações clínicas de vários metais em amostras biológicas, para destacar exposição ocupacional e ambiental, a deficiência subclínica de elementos essenciais, e para investigar o papel de elementos presentes em baixas concentrações (BOCCA e cols, 2005; DAWSON e cols, 2003; HUANG e cols, 2006; PATRIARCA, 1996).

Os instrumentos ICP-MS modernos têm princípio e construção semelhantes entre si (Figura 8). O instrumento utiliza o plasma (ICP) como fonte de ionização e um espectrômetro de massa (MS) para detectar os íons produzidos. Basicamente, amostras

líquidas são introduzidas por uma bomba peristáltica no nebulizador, onde um aerosol da amostra é formado. A câmara de nebulização garante que um aerosol consistente seja introduzido no plasma. O gás argônio é introduzido através de uma tocha, que consiste em uma série de tubos concêntricos de quartzo, localizados no centro de uma espira indutora de radiofrequência. O intenso campo de radiofrequência causa colisões entre os átomos de argônio, gerando um plasma de alta energia e temperaturas entre 6000 e 10000K. Esse plasma decompõe instantaneamente o aerosol da amostra, formando átomos do analito que são simultaneamente ionizados. Os íons produzidos são extraídos através de um par de orifícios chamados cone amostrador e cone skimmer e focados por uma série de lentes para a região do espectrômetro de massa, que permanece em um alto vácuo. Lá eles são separados com base na sua razão massa/carga e posteriormente quantificados utilizando-se uma eletromultiplicadora acoplada a um eletrômetro (HUANG e cols, 2006).



**Figura 9:** Diagrama de um ICP-MS

(<http://www.chem.agilent.com/Scripts/Generic.ASP?lPage=455&indcol=N&prodcol=Y>), 13/04/08

Vários procedimentos têm sido descritos para a preparação de material biológico para análise por ICP-MS. Enquanto para o plasma, sangue, urina e fluido cerebrospinal a análise direta após diluição é possível, no caso de outras matrizes a diluição simples pode causar o entupimento do sistema de introdução de amostra e instabilidade do sinal. Para material biológico sólido, como cabelo e tecidos, vários processos de digestão foram relatados, incluindo calcinação sob alta pressão em ampolas de quartzo e digestão ácida com microondas, em frascos abertos ou fechados. Esse último procedimento se tornou o mais popular porque implica mineralização eficiente e reduz os riscos de contaminação (BOCCA e cols, 2005).

A alta sensibilidade do ICP-MS proporciona limites de detecção para o antimônio em soluções aquosas da ordem de ng/L, de forma que com fácil preparo e pequeno volume de amostra, limites de detecção (LOD) em sangue, plasma e urina de 0,01 a 0,02 µg/L são facilmente obtidos. Esses limites estão bem abaixo dos valores fisiológicos médios de antimônio nessas matrizes (DELVES e cols, 1997). Num estudo com indivíduos não-expostos, Bazzi e cols (2005) encontraram níveis de antimônio no sangue entre 0,04 a 3,82 µg/L nas crianças e 1,40 a 4,35 µg/L nos adultos. As amostras foram analisadas por ICP-MS após digestão aberta com ácido nítrico/peróxido de hidrogênio; o LOD do método foi de 0,03 µg/L.

Miekeley e cols (2002) utilizaram o ICP-MS para monitorar a concentração de antimônio em pacientes tratados para Leishmaniose. Foram coletadas amostras de sangue e urina de pacientes tratados com uma dose intramuscular de 5 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia, antes, durante e após o tratamento, e essas amostras foram analisadas após diluição simples com água Milli-Q. O LOD obtido foi de 0,008 µg/L. Eles observaram que, nas condições estudadas, a incorporação diária da droga leva a uma concentração estacionária de antimônio no sangue, plasma e urina, com concentração média de 220 ± 7 µg/L no sangue. Essa concentração é 320 vezes maior do que aquela observada antes do tratamento, que foi de 0,69 µg/L. Observaram também que há uma correlação entre a concentração de antimônio no sangue total e no plasma ( $R^2 = 0,9713$ ), mostrando que apenas uma fração muito pequena do antimônio deve estar ligada aos eritrócitos. Subseqüente à administração da droga, ocorreu uma rápida diminuição na concentração de antimônio no sangue nos primeiros três dias, quando mais de 50% foi excretado pela urina. Essa fase de excreção rápida, com tempo de meia-vida biológica de cerca de 24 - 72 horas, foi seguida por uma outra fase lenta, com tempo de meia-vida biológica superior a 50 dias. No caso estudado, a concentração de antimônio observada 150 dias após a última administração da droga ainda era superior aos valores iniciais, tanto no sangue quanto na urina e cabelo dos pacientes.

Outras técnicas analíticas já foram empregadas para monitorização do antimônio em material biológico. Dorea e cols (1990) quantificaram antimônio em biópsias de pele do local das lesões de Leishmaniose durante o tratamento com antimoniais, utilizando Análise por Ativação Neutrônica. Foram estudados pacientes divididos em quatro esquemas terapêuticos, sendo 10 ou 20 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia, com duração

de 10 ou 20 dias, por administração endovenosa. O limite de detecção obtido foi de 20 ng de antimônio por amostra, e foram encontradas concentrações variando entre 8,32 a 70,68 ng Sb<sup>v</sup>/mg tecido. Não foram evidenciadas, porém, correlações significativas entre a dose total administrada nos pacientes e a concentração de antimônio medida no local das lesões.

Num estudo para avaliar a utilidade de análises de sangue, cabelo e urina de 24 horas para a avaliação da exposição ao antimônio em casos de alta contaminação do solo por esse metal, Gebel e cols (1998) utilizaram a técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite. Os limites de detecção obtidos foram de 0,5 µg Sb/L para sangue e urina e 0,005 mg Sb/kg para o cabelo. Não foram observadas concentrações maiores de antimônio nas amostras provenientes de pessoas expostas através da contaminação do solo. Inclusive, nesse estudo, realizado em diferentes regiões da Alemanha, o grupo de referência mostrou uma taxa de excreção média maior do que o grupo exposto. Foram considerados como possíveis fatores de influência na exposição ao antimônio a profissão, idade, sexo, hábito de fumar e consumo de frutos do mar. No caso dos moradores de regiões com solo contaminado, o consumo de produtos cultivados em casa também foi incluído na análise. Dentre todos os fatores considerados, apenas o sexo mostrou alguma influência na taxa de excreção no antimônio, onde os homens apresentaram taxas maiores.

## PARTE EXPERIMENTAL

### I. População e amostras biológicas

Após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, iniciou-se o período de acompanhamento dos pacientes. No período de junho de 2006 a fevereiro de 2008, foram convidados a participar do estudo pacientes com diagnóstico de Leishmaniose Cutânea, tratados e acompanhados no ambulatório de Dermatologia do Hospital Universitário de Brasília, com idade entre 14 e 65 anos. Os pacientes participantes do estudo responderam a um questionário com questões relativas ao hábito tabagista, profissão, número e localização das lesões e sobre a existência de tratamento prévio com antimoniais pentavalentes (Anexo 2).

#### *Tratamentos estudados*

Os pacientes participantes do estudo foram divididos em três grupos:

- Tratamento convencional (EV): aplicação endovenosa, diária, de Glucantime®, na dose de 20 mg Sb<sup>v</sup>/kg de peso corpóreo/dia, por um total de 20 dias.
- Tratamento com baixa dose (BD): aplicação endovenosa, diária, de Glucantime®, na dose de 5 mg Sb<sup>v</sup>/kg de peso corpóreo/dia, por um total de 20 dias.
- Tratamento intralesional (IL): aplicação intralesional, semanal, de Glucantime®, na dose de 1,0 mL de medicamento por cm<sup>2</sup> de lesão, num máximo de 4,0 mL, por um total de quatro semanas.

Pacientes portadores de patologias que contra-indicassem tratamento convencional, como portadores de doença de chagas, foram incluídos nos tratamentos de dose baixa ou intralesional. O principal critério de inclusão para esses dois tratamentos, porém, foi que os pacientes tivessem apenas uma lesão, de tamanho

inferior a 2,0 x 2,0 cm, para se aumentar as chances de sucesso terapêutico, pois caso o tratamento falhasse, seria necessário submeter o paciente a um novo tratamento, dessa vez seguindo o esquema convencional. Para se encaixar o paciente no tratamento intralesional, também, a lesão não poderia ser na região da cabeça, pois, de acordo com Masmoudi e cols (2006), essa região é mais propensa a resultar em infecções associadas ao tratamento intralesional.

Iniciaram o estudo, ao todo, 20 pacientes na modalidade de tratamento convencional, 3 com tratamento com baixa dose e 3 com tratamento intralesional. Foram excluídos durante o estudo 3 pacientes:

- Dois do tratamento convencional, sendo um por não tolerar o tratamento desde o primeiro dia e outro por não retornar ao ambulatório a partir da segunda semana de tratamento.

- Um paciente do tratamento com baixa dose, por não retornar ao ambulatório a partir da segunda semana de tratamento.

#### ***Coleta de amostras biológicas***

Foram coletadas amostras de sangue no início do tratamento, no sétimo dia e ao final do tratamento. No dia da coleta da última amostra de sangue também foi feita uma biópsia nos pacientes sob tratamento convencional e de baixa dose, coletando uma amostra de pele sadia ao lado da lesão. No caso dos pacientes no tratamento intralesional, a biópsia foi coletada uma semana após o término do tratamento. Todas as coletas foram realizadas por residentes e/ou técnicos do ambulatório de Dermatologia, sendo em seguida transportadas para o Laboratório de Toxicologia da UnB, onde as amostras de sangue foram centrifugadas e o plasma e as biópsias de pele foram mantidos sob congelamento a -20°C, até o momento da análise.

Em média, o sangue leva um minuto para circular pelo corpo todo (GUYTON e HALL, 2006). Dessa forma, foi previamente definido que as amostras de sangue do sétimo dia de tratamento seriam coletadas cinco minutos após a administração do medicamento, para se considerar toda a dose do dia da coleta. Porém, a dinâmica do ambulatório não permitiu que o protocolo inicial pudesse ser sempre seguido; algumas vezes o paciente ou o técnico pediam para realizar a coleta antes da aplicação do

medicamento, no que eram atendidos. No caso da última amostra, como os pacientes só compareciam ao ambulatório às quartas feiras, e o tratamento terminava, via de regra, na segunda feira, essa amostra era coletada cerca de 48 horas após a última aplicação de medicamento. Em alguns casos, o tratamento se iniciava em uma sexta-feira, e não na quarta-feira, de forma que a última dose do medicamento era administrada na quarta feira e, portanto, escolheu-se fazer a coleta da amostra de sangue após a aplicação do medicamento, da mesma maneira que a coleta da amostra do sétimo dia.

### ***Efeitos colaterais e resultados laboratoriais***

Os pacientes foram entrevistados semanalmente quanto à incidência de efeitos colaterais sintomáticos. Após o término dos tratamentos, foram levantados junto aos prontuários dos pacientes todos os resultados disponíveis de exames laboratoriais.

Os parâmetros laboratoriais analisados e sua significância estão descritos a seguir.

- **Transaminase Oxaloacética (TGO):** encontrada em altas concentrações no citoplasma e nas mitocôndrias do fígado, músculos esquelético e cardíaco, rins, pâncreas e hemácias; quando qualquer um desses tecidos é danificado, a TGO é liberada no sangue. Não há um método laboratorial para saber qual a origem da TGO encontrada no sangue; portanto, para diagnosticar a causa do seu aumento deve ser levada em consideração a possibilidade de lesão em qualquer um dos órgãos onde é encontrada.
- **Transaminase Pirúvica (TGP):** encontrada abundantemente no fígado, em quantidades moderadas no rim e em pequenas quantidades no coração e na musculatura esquelética. Sua origem é predominantemente citoplasmática, fazendo com que se eleve rapidamente após a lesão hepática, tornando-a um marcador sensível da função do fígado.
- **Contagem de Linfócitos, Eosinófilos e Neutrófilos:** são células do sistema natural de defesa do organismo. Seu aumento pode estar relacionado a infecções agudas e crônicas, hemorragias e destruição de tecidos.
- **Hematócrito (Htc):** fornece o volume relativo das hemácias dentro do volume de sangue. Sua diminuição está relacionada à super-hidratação, anemias ou perda de sangue.
- **Hemoglobina (Hgb):** diretamente relacionada à anemia.

- Amilase: enzima de origem majoritária pancreática, cuja avaliação tem utilidade clínica no diagnóstico das doenças hepáticas e na investigação da função hepática
- Intervalo Qt (Qtc): corresponde ao tempo que decorre desde o princípio da despolarização (que vai desde o início da onda Q no complexo QRS) até o fim da repolarização dos ventrículos (que corresponde à onda T). Seu aumento leva a um maior risco de arritmias.
- Fosfatase Alcalina (FA): enzima presente em quase todos os tecidos do organismo. A FA encontrada no plasma, porém, é de origem predominante das frações ósseas e hepáticas, e sua utilidade está na investigação de doenças hepatobiliares e doenças ósseas.

## **II. Material, reagentes e padrões**

Foram utilizadas uma balança analítica da Eletronic Balance Bioprecisa FA2104N, uma centrífuga da Centribio, modelo 80-2B, e pipetas automáticas, de volumes variados, das marcas Lab Mate – HTL e Eppendorf Research. Todo o material volumétrico utilizado, como balões, béqueres e tubos, eram de polipropileno e foram descontaminados com ácido nítrico 10% por 12 horas, seguido por enxágüe com água Milli-Q.

Foram usados peróxido de hidrogênio (Synth) e ácido nítrico (Cinética) grau PA. O ácido nítrico foi subdestilado antes da sua utilização. O Triton X-100 usado foi da Sigma Aldrich.

Os padrões utilizados foram o Multi-element calibration standard 4, da Perkin Elmer Pure Plus, contendo 10 µg/mL de Sb, Au, Hf, Ir, Pd, Pt, Rh, Ru, Te, Sn em 10% HCl + 1% HNO<sub>3</sub>, e um padrão de índio Perkin Elmer Pure, contendo 1000 µg/mL de In em 2% HNO<sub>3</sub>.

### ***Soluções***

As soluções padrão de antimônio para análise de plasma utilizaram como diluente uma solução de ácido nítrico 0,5% v/v e Triton X-100 0,01% v/v. A curva

analítica foi preparada através da técnica de ajuste de matriz, utilizando plasma de ovelha, obtido no biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Para o preparo dos padrões de antimônio, foi feita uma solução intermediária do padrão multi-elementar, na concentração 100 µg/L (preparada pela diluição de 100 µL da solução padrão em 10 mL de diluente), e uma solução do padrão interno de índio, na concentração 1000 µg/L (preparada pela diluição de 10 µL da solução padrão em 10 mL de diluente).

Dois brancos distintos foram preparados, o “branco do reagente”, com o diluente e o padrão interno, e o “branco da curva”, com matriz (plasma de ovelha). O branco da curva foi analisado antes dos padrões, para eliminar o antimônio proveniente da matriz. O branco do reagente foi lido após a leitura da curva analítica e antes da leitura das amostras, para eliminar o antimônio proveniente do plasma de ovelha. As diluições realizadas para o preparo dos brancos e soluções padrão estão mostradas na Tabela 2.

**Tabela 2:** Preparo das soluções da curva analítica para análise de antimônio em amostras de plasma

Ponto da curva	Diluente (mL)	Solução do padrão interno de índio (mL)	Matriz - plasma (mL)	Solução intermediária de Sb (mL)	Volume final (mL)
Branco reagente	9,9	0,1	-	-	10,0
Branco da curva	9,4	0,1	0,5	-	10,0
0,1 µg/L	9,39	0,1	0,5	0,01	10,0
1,0 µg/L	9,3	0,1	0,5	0,1	10,0
5,0 µg/L	8,9	0,1	0,5	0,5	10,0
10 µg/L	8,4	0,1	0,5	1,0	10,0
20 µg/L	7,4	0,1	0,5	2,0	10,0

As soluções padrão para análise das biópsias de pele utilizaram como diluente uma solução de ácido nítrico 7% v/v. Não foi necessário o preparo da curva em matriz, pois o processo de digestão não origina substâncias capazes de interferir na quantificação por ICP-MS (BARBOSA, 2008). Foi feita uma solução intermediária do padrão multi-elementar e uma solução do padrão interno nas mesmas concentrações que as utilizadas para a curva em plasma, e o preparo dos padrões foi feito de acordo com a Tabela 03.

**Tabela 3:** Preparo das soluções da curva analítica para análise de antimônio em amostras de pele

<b>Ponto da curva</b>	<b>Diluente (mL)</b>	<b>Solução do padrão interno de índio (mL)</b>	<b>Solução intermediária de padrão multi-elementar (mL)</b>	<b>Volume final (mL)</b>
Branco	9,9	0,1	-	10,0
0,1 µg/L	9,89	0,1	0,01	10,0
1,0 µg/L	9,8	0,1	0,1	10,0
5,0 µg/L	9,4	0,1	0,5	10,0
10 µg/L	8,9	0,1	1,0	10,0

### *Material de referência*

O material de referência utilizado para validar a metodologia utilizada para análise de antimônio em plasma foi o Human Serum, do Centre de Toxicologie – INSPQ – Canadá, Control ID # QMEQAS07S-04, que contém  $3,74 \pm 0,25$  µg/L de antimônio. Para análises das biópsias de pele foi utilizado o Reference Material 8414 - Bovine Muscle Powder – National Institute of Standards & Technology – Agriculture Canadá, que contém 0,01 µg/kg de antimônio. Não foi informada a incerteza desse valor. Como ele foi obtido utilizando-se duas análises por ativação neutrônica, e essa técnica costuma apresentar variação em relação a resultados obtidos por ICP-MS, será aceita uma variação de  $\pm 30\%$  nesse valor (BARBOSA, 2008). O material de referência foi tratado como as amostras e analisado no início e no meio das leituras.

### *Instrumentação analítica*

O equipamento utilizado na quantificação de antimônio foi o ICP-MS Elan DRC II, da Perkin Elmer, do Laboratório de Toxicologia de Metais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. O desempenho do instrumento foi diariamente otimizado com uma solução fornecida pelo fabricante, com relação a parâmetros como vazão do gás nebulizador e voltagem das lentes iônicas, até atingir os níveis de detecção pré-definidos para operação.

As condições instrumentais usadas são mostradas na Tabela 04.

**Tabela 4:** Condições instrumentais usadas no ICP-MS

<b>Parâmetro</b>	<b>Condição / Característica</b>
Nebulizador	Meinhard
Câmara de nebulização	Ciclônica
Potência Rf	1100 W
Vazão do gás nebulizador	0,6 – 0,9 L/min*
Vazão do gás auxiliar	1,2 L/min
Vazão do gás do plasma	15 L/min
Dwell time	50 ms
Número de sweeps	40
Número de leituras	1
Número de replicatas	3
Voltagem das lentes iônicas	6,00 V*
Tipo de Curva analítica	Linear passando pelo zero
Modo de varredura	Peak Hopping
Isótopo monitorado	123
<b>Tempo total de análise por amostra</b>	<b>± 13 seg.</b>

\* Esses valores eram otimizados diariamente

A digestão das biópsias de pele foi feita em digestor de microondas Start D Microwave Digestion System, da Milestone, utilizando as condições mostradas na Tabela 05.

**Tabela 5:** Condições do ciclo de digestão utilizado.

<b>Tempo</b>	<b>Potência</b>	<b>Temperatura</b>
04min30seg	700 W	160° C
00min30seg	0 W	160° C
15min	800 W	230° C
30min	resfriamento	
Tempo total: 50 minutos		

### **III. Metodologia analítica**

#### *Análise das amostras de plasma*

A quantificação de antimônio nas amostras de plasma foi feita a partir de curva analítica, que foi preparada conforme explicado anteriormente. Após sua leitura, foram avaliadas as linearidades das curvas obtidas para dois isótopos do antimônio, o Sb121 e o Sb123, usados para a detecção desse elemento. Segundo May e Wiedmeyer (1998), o Sb121 sofre interferência pelo óxido de paládio – PdO, e o padrão multi-elementar utilizado para a confecção das soluções padrão continha o paládio. Foi observado um coeficiente de correlação de 0,973850 para a curva do Sb121 e um coeficiente de 0,999892 para o Sb123, que foi escolhido para as quantificações.

A determinação do limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) do método foi feita lendo-se o branco da curva, com dez replicatas, e aplicando-se as equações a seguir:

$$\text{LOD} = \frac{3 \times (\text{Desv. Pad. do branco})}{\text{Coef. angular da curva}}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times (\text{Desv. Pad. do branco})}{\text{Coef. angular da curva}}$$

As amostras de plasma foram mantidas a  $-15^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise, quando foram descongeladas em temperatura ambiente. A  $500\ \mu\text{L}$  do plasma foram adicionados  $100\ \mu\text{L}$  da solução de padrão interno em  $9400\ \mu\text{L}$  de diluente, resultando numa diluição de 20 vezes. Para amostras que apresentaram níveis de antimônio que ultrapassaram consideravelmente o maior nível da curva analítica (Tabela 2), uma nova alíquota do plasma foi previamente diluído ( $0,01\ \text{mL}$  plasma/ $10\ \text{mL}$ ) e preparado para análise como descrito anteriormente. Para averiguar a adequabilidade do método, prepararam-se, com as mesmas diluições, amostras de plasma humano certificado, que foram analisadas antes do início e durante as análises das amostras.

Para a coleta das amostras de sangue foram utilizados tubos vacutainer® contendo EDTA. Para avaliar a possível contaminação das amostras por antimônio proveniente dos tubos, foi colocado  $3,0\ \text{mL}$  do plasma de ovelha utilizado para confecção da curva analítica num vacutainer® novo, que foi deixado por duas horas em agitador rotatório simulando o tempo máximo transcorrido entre a coleta da amostra e seu processamento e congelamento em laboratório. Esse plasma foi analisado obtendo-se uma concentração de Sb de  $16,05\ \mu\text{g/L}$ , que foi então subtraída de todas as leituras das amostras analisadas, para correção.

### *Análise das biópsias de pele*

As biópsias de pele foram, quando possível, divididas em pedaços e individualmente pesadas antes da digestão, tendo sido utilizados pedaços com massa média de  $8,2\ \text{mg}$ , variando de  $4,6\ \text{mg}$  a  $15,0\ \text{mg}$ . Nos casos onde a massa da biópsia era muito pequena, não foi possível o seu fracionamento e ela foi pesada e digerida inteira. Para cada digestão, foram utilizados  $7,0\ \text{mL}$  de ácido nítrico 10% e  $1,0\ \text{mL}$  de peróxido de hidrogênio, e o tempo total do ciclo de digestão foi de 50 minutos. As soluções resultantes foram transferidas para tubo de polipropileno falcon® de  $15\ \text{mL}$  e o recipiente do digestor foi lavado com  $1,5\ \text{mL}$  de água Milli-Q, que foi também transferido para o tubo falcon®. Essas soluções foram mantidas congeladas até o término de todas as digestões, quanto foram então descongeladas em temperatura ambiente e foi adicionado  $100\ \mu\text{L}$  da solução de padrão interno e  $400\ \mu\text{L}$  de água, totalizando um volume de  $10\ \text{mL}$ . Da mesma maneira que nas análises das amostras de plasma, algumas biópsias apresentaram concentrações de antimônio acima do ponto máximo da curva. Nesses casos, uma nova alíquota da amostra foi digerida, a solução

resultante transferida para o tubo, o recipiente do digestor lavado com 1,5 mL água, e 0,5 mL de água foi adicionado, totalizando 10,0 mL de solução. A 1,0 mL desta solução foram adicionados 100 µL da solução de padrão interno e o volume foi completado para 10,0 mL com solução de ácido nítrico 7%. As amostras foram então analisadas por ICP-MS e o antimônio quantificado a partir da curva analítica mostrada na Tabela 3.

Uma amostra de pele controle, obtida como sobra cirúrgica no Hospital do Cálculo Renal, em Brasília, foi digerida e preparada de acordo com o protocolo original para análise. No primeiro ciclo de digestão de cada dia, uma amostra do material de referência utilizado – músculo bovino em pó – foi digerida e preparada seguindo o mesmo procedimento, para verificação da adequabilidade do método. As soluções obtidas com a digestão da pele controle e do material de referência foram analisadas por ICP-MS juntamente com as amostras, sendo que a solução do material de referência foi analisada antes do início da bateria de amostras e diversas vezes durante a análise delas.

O antimônio das biópsias de pele foi quantificado também a partir de curva analítica, preparada conforme explicado anteriormente, e foi utilizado o isótopo Sb123. O LOD e LOQ do método foram determinados da mesma maneira que para a quantificação no plasma.

#### *Análise estatística dos dados*

O programa SPSS versão 13.0 (Statistical Package for Social Sciences) foi utilizado para efetuar as análises dos dados. As possíveis significâncias estatísticas foram avaliadas por Testes de Qui-Quadrado, pela Correlação de Pearson, pelo Teste *t* para amostras pareadas e pelo Teste *t* para amostras independentes. Foram considerados significativos valores de significância (*p*) menores que 0,05.

## RESULTADOS

### I. Características dos pacientes

Terminaram o estudo 23 pacientes com Leishmaniose Cutânea sob tratamento com Glucantime®, sendo 18 do tratamento convencional, 2 do tratamento de baixa dose e 3 do tratamento intralesional (Tabela 6). A idade média dos pacientes foi de  $38,3 \pm 12,5$  anos, variando entre 17 e 64 anos, sendo 73,9% homens e 26,1% mulheres. Cerca de 35 % dos pacientes eram tabagistas. Os pacientes apresentaram entre 1 a 6 lesões, com média de  $1,6 \pm 1,3$ .

**Tabela 6:** Características dos pacientes que terminaram o estudo

Paciente	Sexo	Idade	Fumante	Nº Lesões
EV 1	F	46	Não	2
EV 2	M	36	Não	1
EV 3	F	39	Não	6
EV 4	M	38	Não	1
EV 5	M	43	Sim	4
EV 6	M	39	Sim	1
EV 7	M	64	Não	1
EV 8	F	57	Sim	1
EV 9	F	46	Sim	1
EV 10	M	21	Não	1
EV 11	M	36	Não	1
EV 12	M	40	Sim	3
EV 13	M	35	Não	1
EV 14	M	31	Não	1

<b>Paciente</b>	<b>Sexo</b>	<b>Idade</b>	<b>Fumante</b>	<b>Nº Lesões</b>
EV 15	M	26	Não	4
EV 17	M	17	Sim	1
EV 18	M	33	Não	1
EV 19	M	21	Não	1
BD 1	M	55	Não	1
BD 2	F	54	Não	1
IL 1	M	32	Sim	1
IL 2	F	51	Sim	1
IL 3	M	22	Não	1

EV = Paciente submetido ao tratamento convencional, com 20 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia

BD = Paciente submetido ao tratamento com dose baixa, de 5 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia

IL = Paciente submetido ao tratamento intralesional

## **II. Quantificações de antimônio em material biológico**

### *Plasma*

As curvas analíticas utilizadas para quantificação de antimônio nas amostras de plasma apresentaram coeficientes de correlação  $R^2$  de 0,999892 e 0,999993. O limite de detecção e limite de quantificação foram determinados conforme a Metodologia, resultando em LOD = 0,020 µg/L e LOQ = 0,068 µg/L. Foram feitas três leituras do material de referência, sendo a primeira antes do início da análise das amostras e as outras duas intercaladas com as amostras. O valor médio obtido para as leituras do material de referência foi de  $3,68 \pm 0,3$  µg/L, estando dentro do intervalo aceito para o material.

Nas tabelas 7 e 8 são mostradas as concentrações de antimônio obtidas para as amostras de sangue analisadas e as médias e desvios-padrão (DP) para cada tipo de tratamento. Contabilizando-se todos os pacientes do estudo, a média da concentração de antimônio no plasma antes do início do tratamento foi de 3,93 µg/L, variando entre < 0,02 (LOD) e 10,3 µg/L. Considerando apenas os pacientes do tratamento convencional (n=19), temos uma concentração inicial média de 3,39 µg/L, que chegou a 210 µg/L ao

final do tratamento (Cf pré). Esse valor foi menor nos pacientes de baixa dose (51 µg/L) e maior naqueles com aplicação intralesional (501 µg/L), porém como o número de pacientes nos dois últimos tratamentos foi pequeno (2 e 3, respectivamente) não foi possível comparar estatisticamente as concentrações encontradas nos três tratamentos. Não foram coletadas amostras de sangue ao término do tratamento do paciente EV1, que optou em não realizar a coleta, e dos pacientes EV7 e IL2, que interromperam o tratamento antes do término. Para efeito de cálculo das médias, os valores abaixo do LOD foram considerados como a metade do LOD, ou seja, 0,01 µg/L.

**Tabela 7:** Concentração de antimônio nas amostras de plasma analisadas

Paciente	Inicial		1 semana de tratamento		Final do tratamento	
	Cin (µg/L)	C1 pré (mg/L)	C1 pós (mg/L)	Cf pré (mg/L)	Cf pós (mg/L)	
EV 1	1,76		92,76			
EV 2	<0,02		135,2		187,5	
EV 3	3,27		95,38		74,44	
EV 4	3,94	0,208		0,159		
EV 5	3,79		101,2	0,061		
EV 6	<0,02	0,079		0,452		
EV 7	2,94		108,5			
EV 8	<0,02		94,72	0,639		
EV 9	1,92	0,129		0,077		
EV 10	6,20	0,061		0,186		
EV 11	2,03		71,10	0,104		
EV 12	<0,02		115,0	0,080		
EV 13	6,44		86,95	0,076		
EV 14	3,25		53,98		125,9	

Paciente	Inicial	1 semana de tratamento		Final do tratamento	
	Cin ( $\mu\text{g/L}$ )	C1 pré (mg/L)	C1 pós (mg/L)	Cf pré (mg/L)	Cf pós (mg/L)
EV 15	9,19		173,7		115,4
EV 17	6,56		67,31	0,452	
EV 18	9,71	0,089		0,131	
EV 19	<0,02		183,8	0,101	
BD 1	3,40		45,68	0,037	
BD 2	5,40		41,46	0,066	
IL 1	0,60		7,20	0,001	
IL 2	10,3		2,527		
IL 3	9,64		2,525	1,002	

EV = Paciente submetido ao tratamento convencional, com 20 mg  $\text{Sb}^{\text{V}}$ /kg/dia

BD = Paciente submetido ao tratamento com dose baixa, de 5 mg  $\text{Sb}^{\text{V}}$ /kg/dia

IL = Paciente submetido ao tratamento intralesional

Cin = concentração inicial de antimônio no plasma

C1 pré = concentração de antimônio no plasma com uma semana de tratamento, coletado antes da aplicação do medicamento

C1 pós = concentração de antimônio no plasma com uma semana de tratamento, coletado após a aplicação do medicamento

Cf pré = concentração de antimônio no plasma no final do tratamento, coletado até dois dias após a última dose do medicamento

Cf pós = concentração de antimônio no plasma no final do tratamento, coletado após aplicação do medicamento.

**Tabela 8:** Médias das concentrações de antimônio no plasma dos pacientes

<b>Tratamento</b>	<b>Período Coleta</b>	<b>Cin (µg/L)</b>	<b>C1 pré (mg/L)</b>	<b>C1 pós (mg/L)</b>	<b>Cf pré (mg/L)</b>	<b>Cf pós (mg/L)</b>
Convencional (n = 18)	<b>Média</b>	3,39	0,114	106,1	0,210	125,8
		(n= )				
	<b>Mediana</b>	3,09	0,089	95,38	0,118	120,7
Baixa dose (n = 2)	<b>DP</b>	3,12	0,06	38,51	0,19	46,74
	<b>Média</b>	4,40	-	43,57	0,051	-
	<b>Mediana</b>	-	-	-	-	-
Intralesional (n = 3)	<b>DP</b>	1,42	-	2,98	0,02	-
	<b>Média</b>	6,85	-	4,08	0,501	-
	<b>Mediana</b>	9,64	-	2,53	0,501	-
	<b>DP</b>	5,42	-	2,70	0,71	-

Cin = concentração inicial de antimônio no plasma

C1 pré = concentração de antimônio no plasma com uma semana de tratamento, coletado antes da aplicação do medicamento

C1 pós = concentração de antimônio no plasma com uma semana de tratamento, coletado após a aplicação do medicamento

Cf pré = concentração de antimônio no plasma no final do tratamento, coletado até dois dias após a última dose do medicamento

Cf pós = concentração de antimônio no plasma no final do tratamento, coletado após aplicação do medicamento.

### ***Biópsias de pele***

Para a quantificação do antimônio nas biópsias de pele coletadas no final do tratamento, foi utilizado também o Sb123, já avaliado como mais adequado para as análises. O coeficiente de correlação da curva analítica foi de 0,999979. O LOD e o LOQ foram determinados como descrito e os valores obtidos foram de LOD = 0,008 µg/L e LOQ = 0,028 µg/L. Foram feitas duas leituras de material de referência, uma antes e outra no meio das amostras, e a média dos resultados obtidos foi de  $11,47 \pm 1,27$  µg/L. Esse valor está dentro do intervalo aceito para o material de referência.

As concentrações obtidas para as biópsias de pele (Cpele) são mostradas na Tabela 9. Os valores encontrados variaram entre 0,83 e 189,50  $\mu\text{g/g}$ , sendo em média 9,24  $\mu\text{g/g}$  para os pacientes do tratamento convencional, 25,96  $\mu\text{g/g}$  para os pacientes do tratamento com baixa dose e 99,28  $\mu\text{g/g}$  para aqueles do tratamento intralesional. Novamente, devido ao pequeno número de sujeitos dos tratamentos com baixa dose e intralesional, não foi possível a comparação estatística entre os diferentes tratamentos.

Não foram feitas biópsias dos pacientes EV 7 e IL 2, porque interromperam o tratamento antes do término, e do paciente EV 2, que optou por não realizar o procedimento. A concentração encontrada para a pele controle foi de 0,080  $\mu\text{g/g}$ .

**Tabela 9:** Concentração de antimônio nas biópsias de pele analisadas

<b>Paciente</b>	<b>Cpele (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>	<b>Paciente</b>	<b>Cpele (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>
EV 1	7,61	EV 14	6,17
EV 2	-	EV 15	6,06
EV 3	33,40	EV 17	2,47
EV 4	14,25	EV 18	6,01
EV 5	6,57	EV 19	1,12
EV 6	9,32	<b>Média EV</b>	<b>7,46 <math>\pm</math> 7,7</b>
EV 7	-	BD 1	27,84
EV 8	7,29	BD 2	9,49
EV 9	8,95	<b>Média BD</b>	<b>18,66 <math>\pm</math> 13,0</b>
EV 10	3,43	IL 1	9,06
EV 11	2,01	IL 2	-
EV 12	3,94	IL 3	94,75
EV 13	0,83	<b>Média IL</b>	<b>51,91 <math>\pm</math> 60,6</b>

EV = Paciente submetido ao tratamento convencional, com 20 mg  $\text{Sb}^{\text{V}}$ /kg/dia

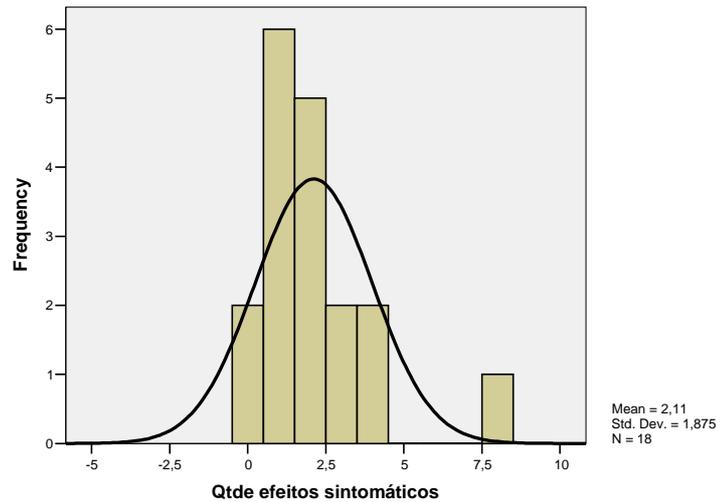
BD = Paciente submetido ao tratamento com dose baixa, de 5 mg  $\text{Sb}^{\text{V}}$ /kg/dia

IL = Paciente submetido ao tratamento intralesional

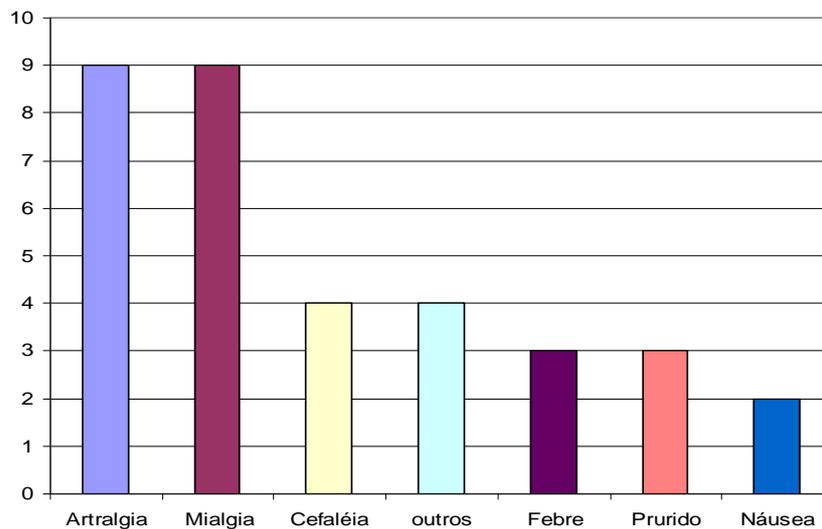
Cpele = Concentração de antimônio na pele ao final do tratamento

### III. Efeitos colaterais sintomáticos e alterações laboratoriais

Todos os pacientes foram entrevistados semanalmente quanto a efeitos colaterais sintomáticos que eles porventura estivessem sentindo. Em média, os pacientes do tratamento convencional relataram  $2,1 \pm 1,9$  efeitos colaterais, variando entre 0 e 8, e os efeitos mais comuns foram artralgia e mialgia (Figura 10 e 11).



**Figura 10:** Distribuição da quantidade de efeitos colaterais sintomáticos sentidos pelos pacientes do tratamento convencional



**Figura 11:** Incidência dos efeitos sintomáticos mais frequentes relatados pelos pacientes submetidos ao tratamento convencional

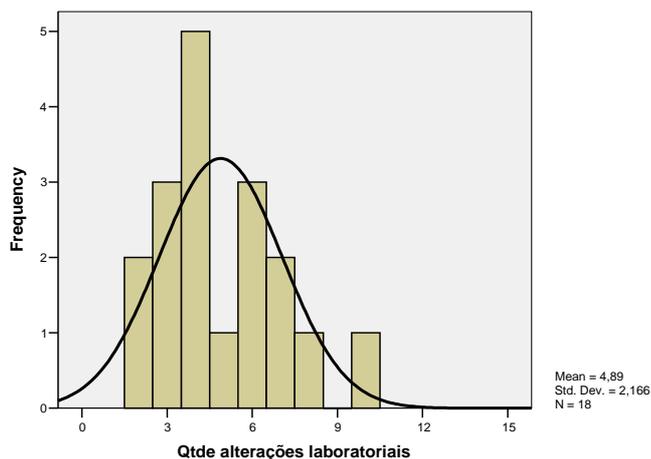
Os resultados laboratoriais dos pacientes do estudo foram obtidos nos respectivos prontuários. Dentre todos os exames realizados pelos pacientes, foram selecionados os dez onde um maior número de pacientes apresentou alterações. Os parâmetros avaliados, suas faixas de referência e as alterações pesquisadas estão resumidos na Tabela 10.

**Tabela 10:** Parâmetros laboratoriais avaliados

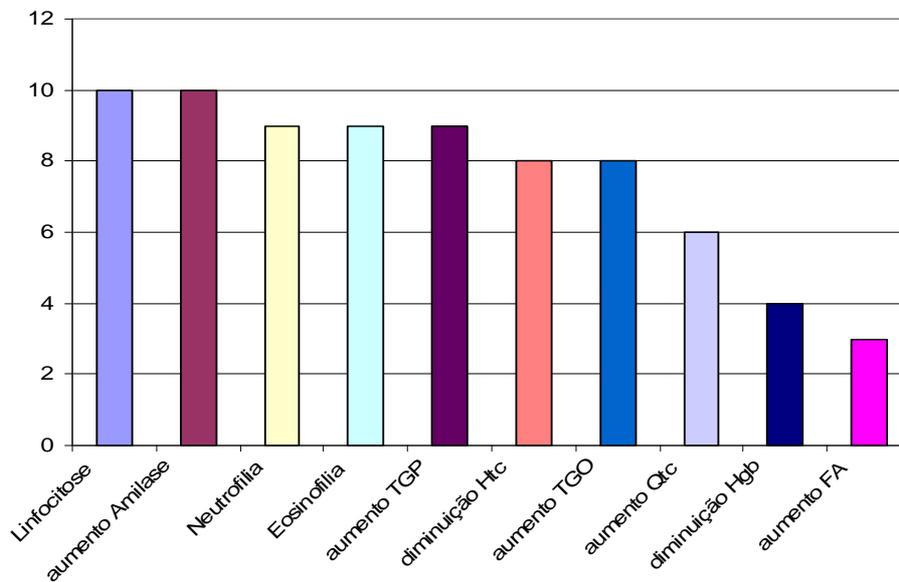
<b>Parâmetro avaliado</b>	<b>Faixa de referência</b>	<b>Unidade de Medição</b>	<b>Alteração pesquisada</b>
Transaminase Glutâmica Oxalacética (TGO)	0 – 32	U/L	Elevação
Transaminase Glutâmica Pirúvica (TGP)	0 - 31	U/L	Elevação
Linfócitos	20 – 33	%	Elevação
Neutrófilos	50 – 60	%	Elevação
Hematócrito (Htc)	42 – 56 (homem), 37 – 48 (mulher)	%	Diminuição
Eosinófilos	1 - 4	%	Elevação
Hemoglobina (Hgb)	14 – 18 (homem), 12 – 15 (mulher)	g/dL	Diminuição
Amilase	0 - 125	U/L	Elevação
Prolongamento do intervalo Qt (Qtc)	-	ms	Aumento de 50 ou superar 450*
Fosfatase Alcalina (FA)	65 - 300	U/L	Elevação

\* Lawn, S.D. e cols (2006).

Em média, os pacientes do tratamento convencional apresentaram  $4,9 \pm 4,0$  alterações laboratoriais, variando entre 2 e 10 (Figura 12). As principais alterações apresentadas foram linfocitose (aumento dos linfócitos), aumento da amilase, neutrofilia (aumento dos neutrófilos), eosinofilia (aumento dos eosinófilos) e aumento da TGP (Figura 13).

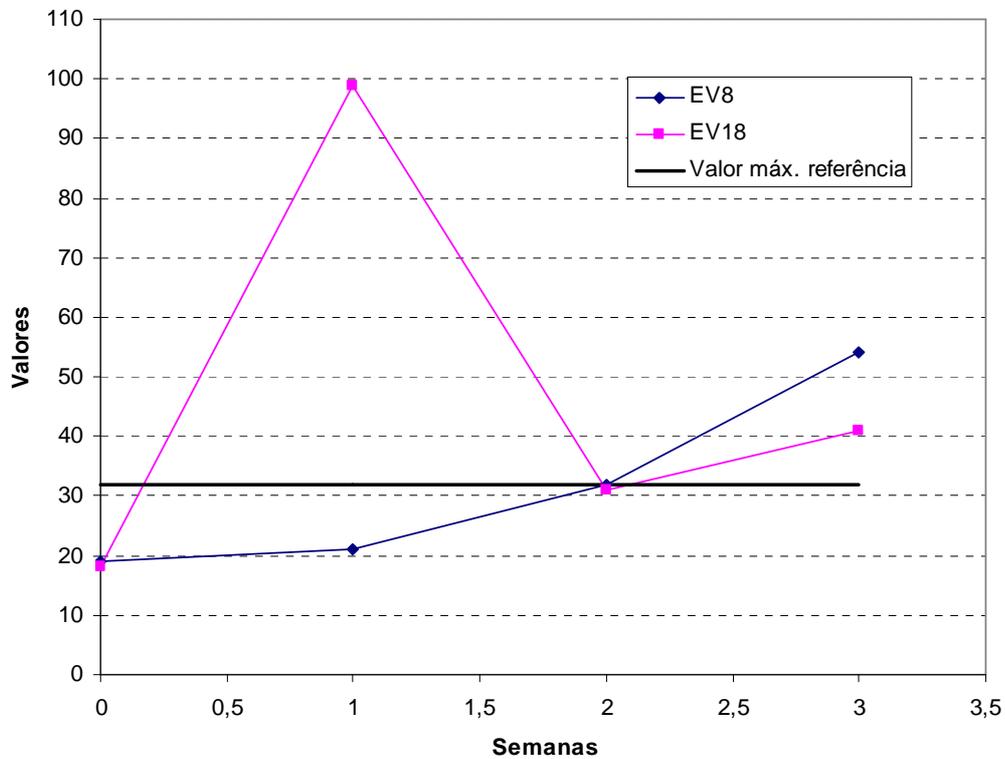


**Figura 12:** Distribuição da quantidade de alterações laboratoriais apresentadas pelos pacientes do tratamento convencional.

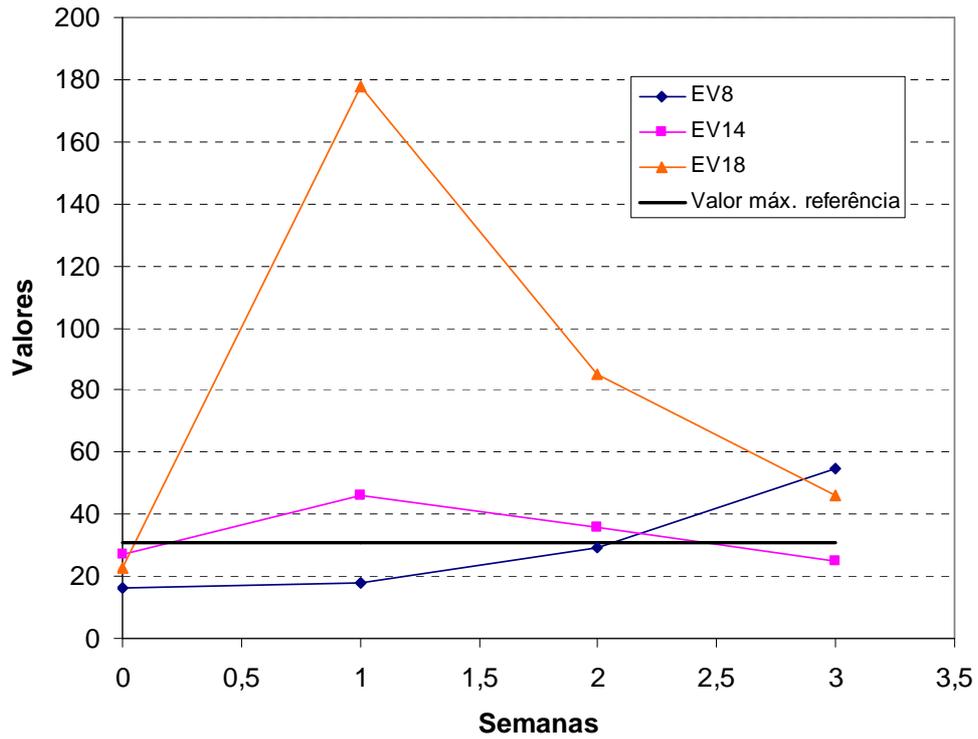


**Figura 13:** Incidência das alterações laboratoriais mais frequentes

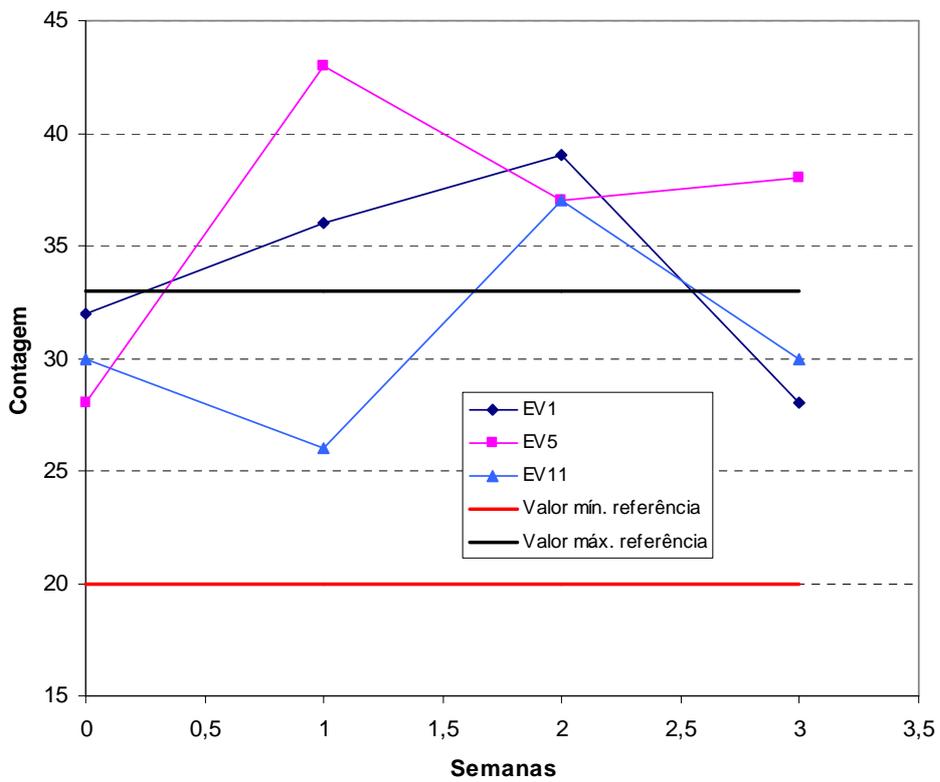
Os resultados de todos os exames laboratoriais estão mostrados nos anexos. Nas Figuras 14 a 23, são mostrados os resultados de alguns pacientes do tratamento convencional, para cada parâmetro analisado, comparando-se os resultados com os valores de referência para demonstrar a magnitude das alterações sofridas.



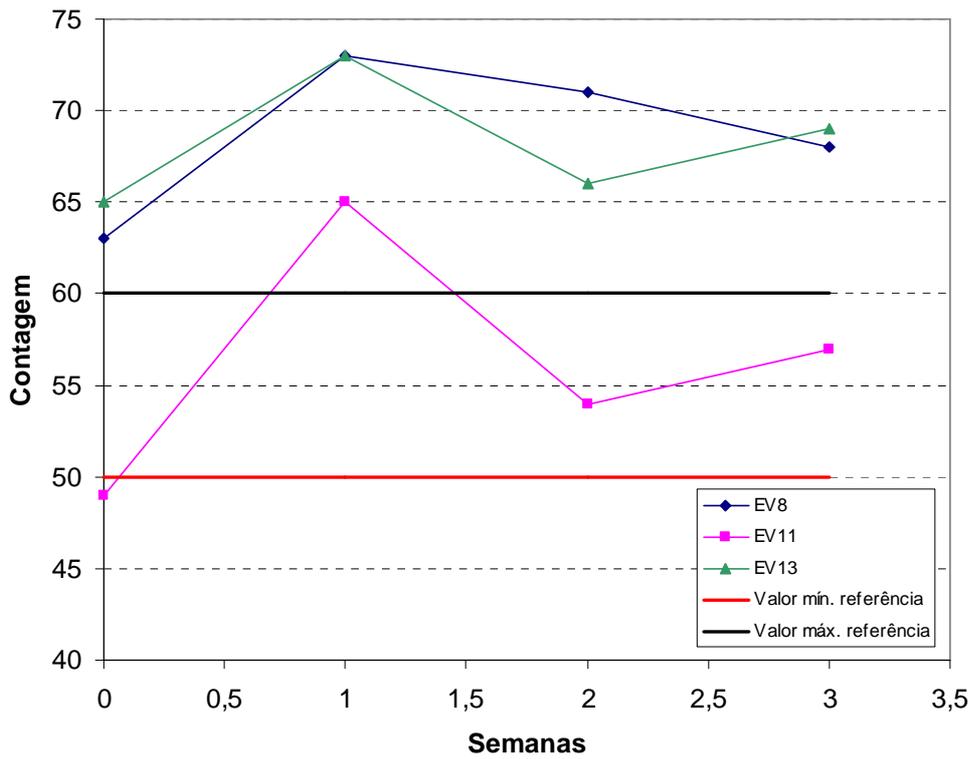
**Figura 14:** Valores de TGO durante o tratamento para dois pacientes do tratamento convencional



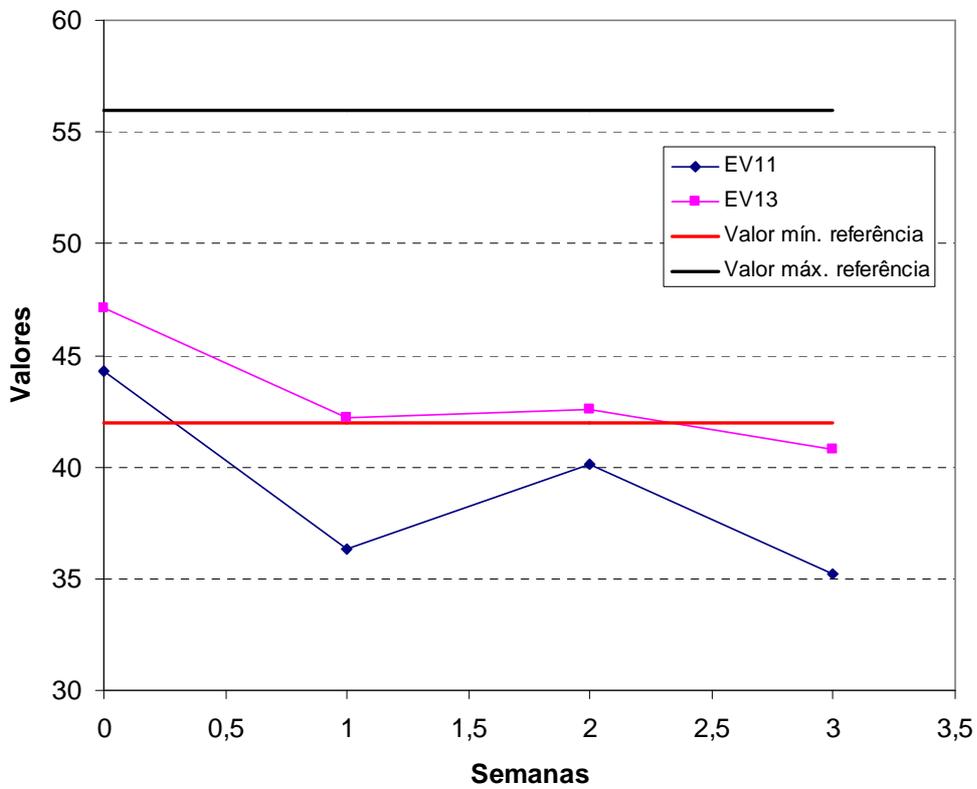
**Figura 15:** Valores de TGP durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional



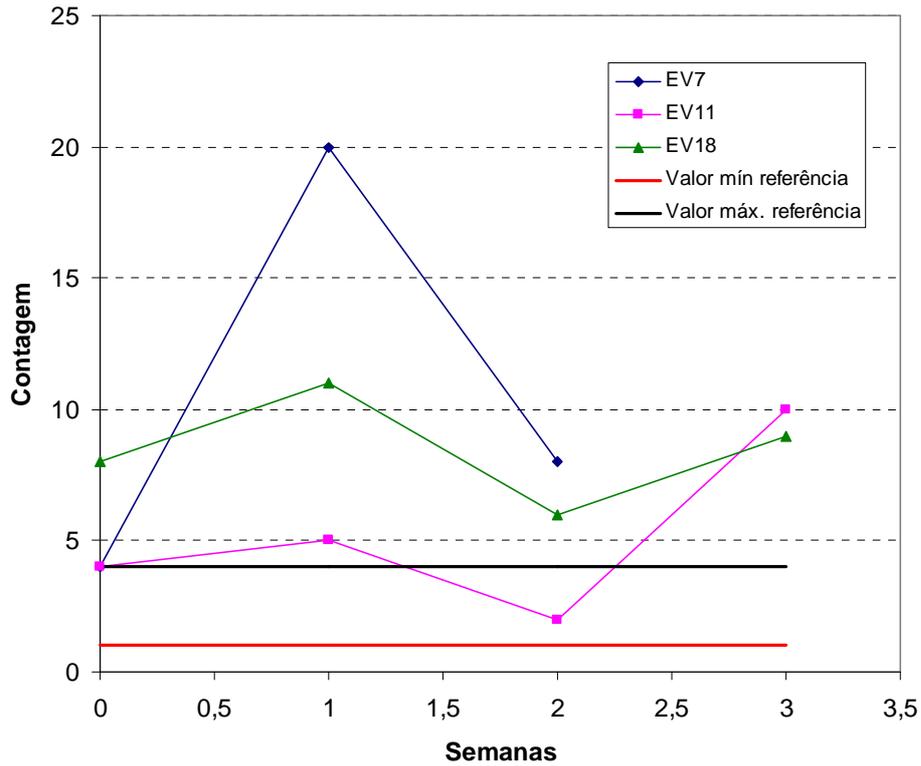
**Figura 16:** Contagem de linfócitos durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional



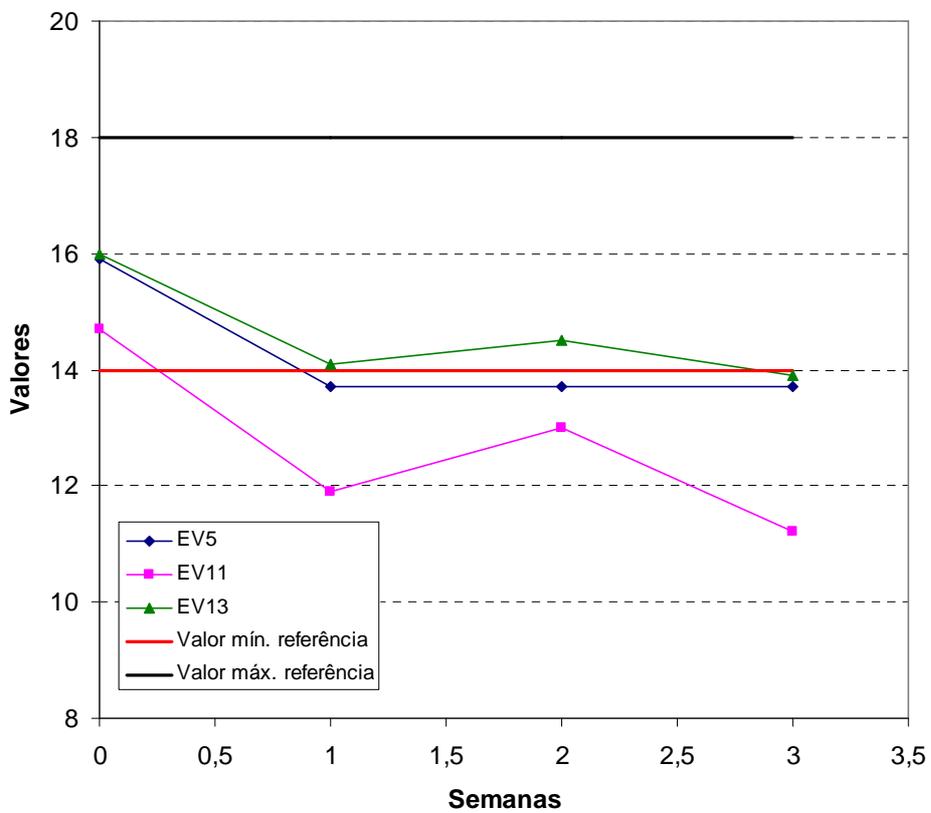
**Figura 17:** Contagem de neutrófilos durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional



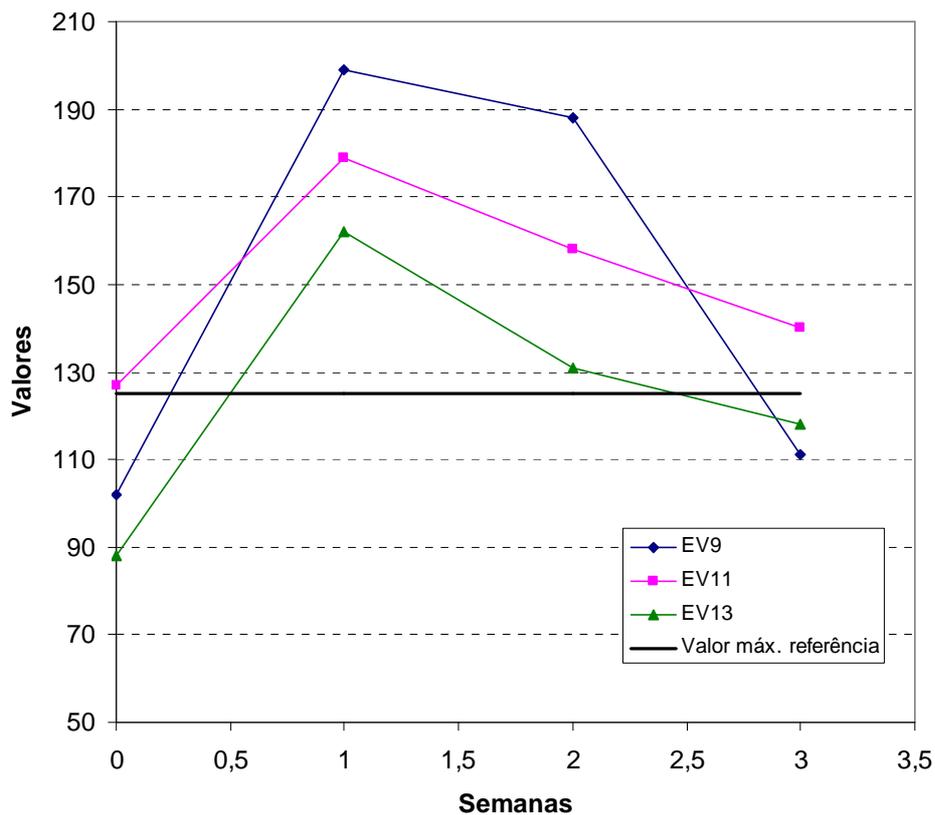
**Figura 18:** Valores de hematócrito durante o tratamento para dois pacientes do tratamento convencional



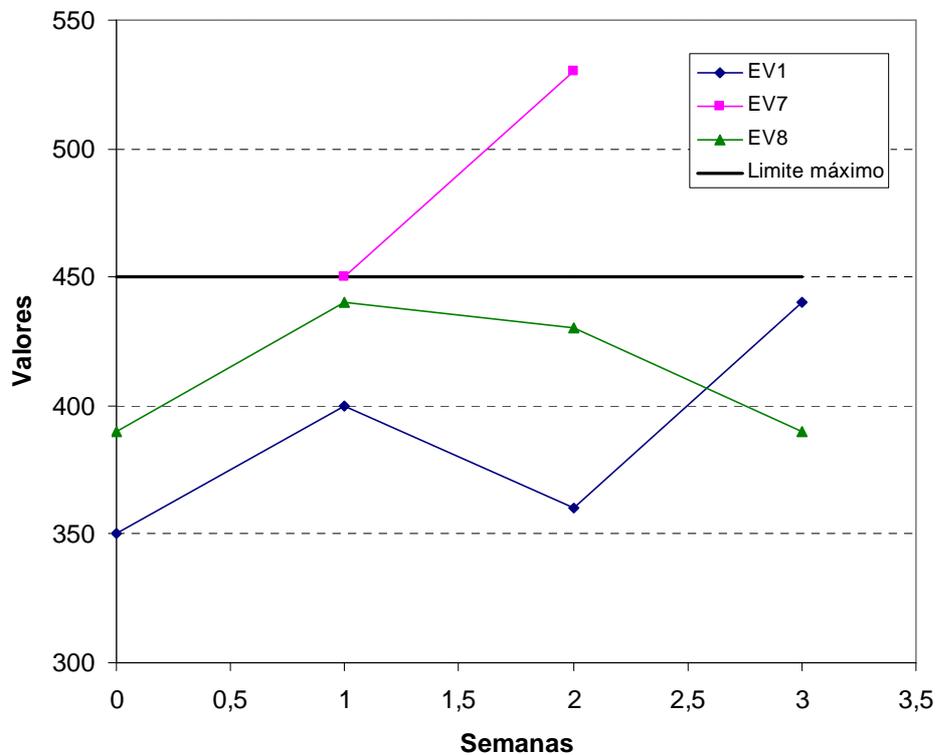
**Figura 19:** Contagem de eosinófilos durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional



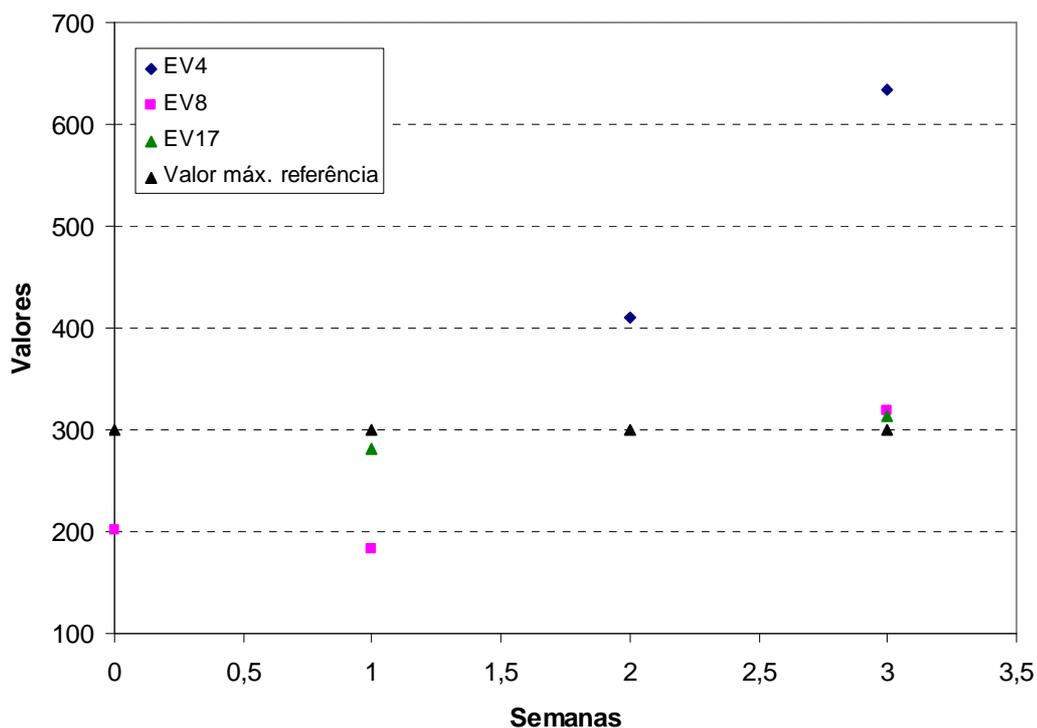
**Figura 20:** Valores de hemoglobina durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional



**Figura 21:** Valores de amilase durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional



**Figura 22:** Valores de Qtc durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional



**Figura 23:** Valores de Fosfatase Alcalina durante o tratamento para três pacientes do tratamento convencional

A Tabela 11 mostra a média dos valores obtidos para os parâmetros investigados, em todos os tempos de coleta. Nem todos os exames foram realizados em todos os pacientes, e um mesmo exame não necessariamente foi realizado num paciente em todas as semanas. Dessa forma, é dado o valor de n (número de resultados disponíveis para aquele exame, naquele tempo de coleta) para cada média. Apesar de serem médias referentes a valores muito variados, é possível ver claramente a tendência a elevação ou diminuição nos valores dos parâmetros como, por exemplo, no caso dos valores de TGP e de Htc.

**Tabela 11:** Médias dos valores dos exames laboratoriais dos pacientes do tratamento convencional

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>3 semanas</b>
<b>TGO</b>	24,88 (n = 16)	30,06 (n = 16)	32,31 (n = 16)	30,53 (n = 15)
<b>TGP</b>	23,50 (n = 16)	38,63 (n = 16)	42,38 (n = 16)	30,47 (n = 15)
<b>Linfócitos</b>	33,27 (n = 15)	31,77 (n = 13)	33,07 (n = 15)	35,46 (n = 13)
<b>Neutrófilos</b>	57,13 (n = 15)	58,93 (n = 14)	58,63 (n = 16)	57,40 (n = 15)
<b>Htc</b>	43,88 (n = 11)	41,32 (n = 14)	40,76 (n = 14)	40,84 (n = 14)
<b>Eosinófilos</b>	5,21 (n = 14)	5,42 (n = 12)	5,25 (n = 16)	5,79 (n = 14)
<b>Hgb</b>	14,35 (n = 13)	13,88 (n = 14)	13,50 (n = 14)	13,78 (n = 14)
<b>Amilase</b>	90,50 (n = 12)	140,88 (n = 8)	122,63 (n = 8)	99,60 (n = 10)
<b>Qtc</b>	360,00 (n = 5)	395,00 (n = 8)	406,36 (n = 11)	414,00 (n = 5)
<b>FA</b>	176,17 (n = 12)	182,42 (n = 12)	201,56 (n = 9)	273,11 (n = 9)

Os efeitos colaterais sintomáticos e as alterações laboratoriais apresentadas pelos pacientes sob tratamento com baixa dose e intralesional estão resumidos na tabela 12. A quantidade de efeitos sintomáticos relatados por esses pacientes variou entre 0 e 2 e a quantidade de alterações laboratoriais variou entre 1 e 5.

**Tabela 12:** Efeitos colaterais e alterações laboratoriais dos pacientes do tratamento com baixa dose e intralesional

<b>Paciente</b>	<b>Efeitos colaterais sintomáticos</b>	<b>Alterações Laboratoriais</b>
BD 1	nenhum	neutrofilia
BD 2	mialgia e artralgia	linfocitose, neutropenia (diminuição dos neutrófilos), diminuição do Htc, anemia.
IL 1	prurido no local da lesão e artralgia	linfocitose, eosinofilia
IL 2	dor no local da aplicação	neutrofilia, aumento de TGP e FA, aumento do Qtc (que levou à interrupção do tratamento com alteração para Anfotericina B lipossomal)
IL 3	prurido no local da lesão	neutrofilia, aumento de FA, aumento de bilirrubinas direta e total, aumento da uremia.

BD = Paciente submetido ao tratamento com dose baixa, de 5 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia

IL = Paciente submetido ao tratamento intralesional

Dentre todos os pacientes que participaram do estudo, seis tiveram que interromper temporariamente ou suspender definitivamente o tratamento, sendo três por alterações no eletrocardiograma, dois por alteração nos valores dos exames relativos à função hepática (TGO, TGP, FA) e um por alteração nos valores dos exames relativos à função pancreática (amilase).

As concentrações de antimônio no plasma apresentadas pelos pacientes que sofreram interrupções temporárias e suspensões definitivas dos tratamentos foram comparadas com os valores médios obtidos para o grupo de pacientes dos tratamentos em questão (Tabela 13). Encontram-se destacados, na tabela, os valores que superaram as médias, chamando-se atenção para o fato de que todos os pacientes que sofreram alguma interrupção no tratamento apresentaram, em algum momento, uma concentração acima da média do grupo de pacientes no mesmo tratamento.

**Tabela 13:** Comparação entre os valores de antimônio nos plasma de pacientes que sofreram interrupções e suspensões do tratamento e as médias.

Paciente	Ocorrência durante o tratamento	Cin (µg/L)	C1 pré (mg/L)	C1 pós (mg/L)	Cf pré (mg/L)	Cpele (µg/g)
<b>Média</b>	-		<b>0,11 ±</b>	<b>106,1 ±</b>	<b>0,210 ±</b>	<b>7,46 ±</b>
<b>EV</b>		<b>3,39 ±3,1</b>	<b>0,06</b>	<b>38,5</b>	<b>0,2</b>	<b>7,7</b>
EV 4	Interrupção temporária (função hepática)	3,936	0,208		0,159	27,34
EV 7	Suspensão definitiva (alteração no ECG)	2,943		162,391		-
EV 9	Interrupção temporária (função pancreática)	1,916	0,129		0,077	15,39
EV 10	Interrupção temporária (alteração no ECG)	6,198	0,061		0,186	3,43
EV 18	Interrupção temporária (função hepática)	9,71	0,089		0,131	6,01
<b>Média IL</b>	-	<b>6,85 ±</b>		<b>4,08 ±</b>	<b>0,501 ±</b>	<b>51,91 ±</b>
		<b>9,64</b>	-	<b>2,7</b>	<b>0,7</b>	<b>60,6</b>
IL 2	Suspensão definitiva (alteração no ECG)	10,31		2,448		-

EV = Paciente submetido ao tratamento convencional, com 20 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia

IL = Paciente submetido ao tratamento intralesional

Cin = concentração inicial de antimônio no plasma

C1 pré = concentração de antimônio no plasma com uma semana de tratamento, coletado antes da aplicação do medicamento

C1 pós = concentração de antimônio no plasma com uma semana de tratamento, coletado após a aplicação do medicamento

Cf pré = concentração de antimônio no plasma no final do tratamento, coletado até dois dias após a última dose do medicamento  
Cf pós = concentração de antimônio no plasma no final do tratamento, coletado após aplicação do medicamento.

#### **IV. Avaliação das correlações significativas nos pacientes com tratamento convencional**

Devido ao pequeno número de pacientes nos tratamentos de baixa dose e intralesional, não foi possível fazer análise estatística dos dados referentes a eles. Esses dados serão comentados no item “Discussão”.

Como houve pacientes onde tanto a segunda quanto a terceira amostras de sangue foram coletadas ou antes ou depois de uma aplicação de medicamento, foi possível fazer também uma comparação entre os teores de antimônio no plasma após uma semana de tratamento e os teores no término do tratamento. Foi observado que, em alguns pacientes, a concentração de antimônio é maior na primeira semana em relação ao final do tratamento, enquanto em outros a concentração no final do tratamento é maior. A diferença entre as concentrações inicial e final foi considerada como uma variável dicotômica (concentração final é maior ou é menor) para efeito de pesquisa de relações significativas, e será chamada Df-1.

Primeiramente, foi avaliada a existência de relações significativas entre as concentrações de antimônio encontradas, tanto no sangue nos diferentes tempos de coleta, quanto na pele, utilizando-se o teste de Correlação de Pearson e um Teste *t* para amostras independentes (no caso da variável Df-1). Foi encontrada apenas uma correlação significativa ( $n=5$ ;  $p=0.003$ ), entre a concentração de antimônio no plasma na primeira semana (coletada antes da aplicação do medicamento) e a concentração na pele ao final do tratamento.

Foram investigadas também possíveis correlações entre a quantidade de efeitos colaterais sintomáticos e alterações laboratoriais e características do paciente – sexo, idade, hábito tabagista e número de lesões. Foi encontrada apenas uma relação significativa - entre o número de lesões e a quantidade de efeitos colaterais sintomáticos ( $n = 18$ ;  $p < 0,0001$ ).

Em seguida, buscaram-se relações entre a quantidade de efeitos sintomáticos e alterações laboratoriais e a concentração de antimônio no plasma, nos diferentes tempos de coleta, e na pele. Foram encontradas quatro relações significativas, sendo duas com a quantidade de alterações laboratoriais e duas com a quantidade de efeitos sintomáticos. Os resultados encontrados estão resumidos na Tabela 14.

**Tabela 14:** Correlações significativas entre quantidade de efeitos e concentração de antimônio

<b>Correlação</b>	<b><i>p</i></b>
Quantidade de alterações laboratoriais X C1 pré (n = 5)	<0,001
Quantidade de efeitos sintomáticos X C1 pré (n = 5)	0,037
Quantidade de efeitos sintomáticos X Cpele (n = 16)	0,000
Quantidade de alterações laboratoriais X Df-1 (n = 9)	0,015

C1 pré = concentração de antimônio no plasma com uma semana de tratamento, coletado antes da aplicação do medicamento.

Cpele = concentração de antimônio na pele ao final do tratamento.

Df - 1 = Diferença entre a concentração final e na primeira semana de tratamento.

Utilizando-se o Teste *t* para amostras pareadas, foram avaliadas as significâncias das alterações laboratoriais apresentadas. Para isso, comparou-se, por exemplo, a diferença entre a média dos valores iniciais de TGO com a média dos valores de TGO após uma, duas e três semanas de tratamento. As correlações encontradas, que demonstram quais dessas diferenças foram significativas estatisticamente, estão mostradas na Tabela 15. Foram encontradas diferenças significativas para todos os parâmetros, exceto TGO.

**Tabela 15:** Significância das alterações laboratoriais

<b>Parâmetro</b>	<b>Correlação (n)</b>	<b>p</b>
<b>TGP</b>	2 semanas X final (13)	0,034
<b>Linfócitos</b>	1 semana X final (9)	0,002
	1 semana X 2 semanas (12)	0,003
	2 semanas X final (12)	0,019
<b>Neutrófilos</b>	inicial X 1 semana (11)	0,046
	inicial X 2 semanas (14)	0,045
	1 semana X 2 semanas (13)	0,023
<b>Htc</b>	inicial X 1 semana (9)	0,016
	inicial X 2 semanas (11)	0,003
	1 semana X 2 semanas (12)	0,002
	1 semana X final (11)	0,005
<b>Eosinófilos</b>	inicial X final (11)	0,043
<b>Hgb</b>	inicial X 1 semana (11)	0,030
	inicial X 2 semanas (13)	0,001
	1 semana X 2 semanas (12)	0,001
	1 semana X final (11)	< 0,0001
	2 semanas X final (12)	0,031
<b>Amilase</b>	inicial X final (8)	0,025
	1 semana X 2 semana (6)	0,033
<b>Qtc</b>	inicial X 1 semana (4)	0,038
	inicial X 2 semanas (3)	0,023
<b>FA</b>	2 semanas X final (5)	0,002

Para avaliar a magnitude das alterações em cada período (primeira, segunda ou terceira semanas) foi calculada, para cada exame e cada paciente, a diferença entre o valor do parâmetro com uma semana e o valor inicial, entre o valor com duas semanas e o valor com uma semana e entre o valor final e o valor com duas semanas. Os valores obtidos foram muito diferentes entre os pacientes, de forma que o simples cálculo das médias não retrataria fielmente os resultados. Dessa forma, os resultados serão expressos em termos do percentual de pacientes que tiveram a maior alteração em uma dada semana, sendo que o critério “maior alteração” se refere à maior diferença entre os valores de duas semanas consecutivas (por exemplo: se a diferença entre o valor de TGO na primeira semana e o inicial for 10, a diferença entre o valor na segunda semana e na primeira semana for 12 e entre a terceira e a segunda semanas for 15, então a maior alteração aconteceu na terceira semana). No caso dos valores de Hgb e Htc, uma maior alteração significa uma maior diminuição no valor do parâmetro; em todos os outros parâmetros, significa um maior aumento. Para fazer essa comparação, era necessário que o paciente tivesse realizado o exame em pelo menos três semanas consecutivas (dentro um total de quatro disponíveis – pré-tratamento, com uma semana, com duas semanas e no término do tratamento). Os valores de n mostrados, portanto, se referem à quantidade de pacientes preencheram esse requisito. Dos dez parâmetros avaliados, seis apresentaram a maior alteração já na primeira semana, um parâmetro apresentou a maior na segunda semana e outro parâmetro apresentou a maior alteração na terceira semana; nos dois restantes, um número semelhante de pacientes apresentou a maior alteração na primeira e na segunda semana (Tabela 16).

**Tabela 16:** Semana onde foi observada a maior alteração laboratorial, por parâmetro.

<b>Parâmetro</b>	<b>N total</b>	<b>1ª semana*</b>	<b>2ª semana*</b>	<b>3ª semana*</b>
<b>TGO</b>	14	<b>50%</b>	21,4%	28,6%
<b>TGP</b>	13	<b>38,5%</b>	<b>38,5%</b>	23%
<b>Linfócitos</b>	11	<b>36,4%</b>	<b>36,4%</b>	27,2%
<b>Neutrófilos</b>	12	33,3%	<b>41,7%</b>	25%
<b>Htc</b>	11	<b>54,5%</b>	9,1%	36,4%
<b>Eosinófilos</b>	8	12,5%	37,5%	<b>50%</b>

<b>Parâmetro</b>	<b>N total</b>	<b>1ª semana*</b>	<b>2ª semana*</b>	<b>3ª semana*</b>
<b>Hgb</b>	12	<b>50%</b>	33,3%	16,7%
<b>Amilase</b>	3	<b>100%</b>	0%	0%
<b>Qtc</b>	3	<b>66,7%</b>	0%	33,3%
<b>FA</b>	4	<b>75%</b>	0%	25%

Aplicando-se testes de correlação de Pearson, foram avaliadas as relações entre as concentrações de antimônio nos diferentes tempos de coleta e na pele e os valores dos exames laboratoriais obtidos (Tabela 17). Uma correlação positiva significa que, quanto maior a concentração de antimônio naquele tempo de coleta, maior o valor do exame laboratorial. Valores de correlação negativos significam o contrário: quanto maior a concentração de antimônio naquele tempo de coleta, menor o valor do exame laboratorial. Foram encontrados valores negativos apenas para os parâmetros Htc e Hgb, cujas alterações pesquisadas foram exatamente as diminuições dos seus valores. Para todos os outros parâmetros, uma maior concentração de antimônio significou um maior valor médio obtidos para aquele exame.

**Tabela 17:** Relações entre concentrações de antimônio e valores dos exames

<b>Relação encontrada</b>	<b>Correlação de Pearson</b>	<b><i>p</i></b>
TGO 1S X C1 pós (n = 13)	0,591	0,017
TGO 2S X C1 pré (n = 4)	0,995	0,002
TGO 2S X C1 pós (n = 12)	0,624	0,015
TGO F X Cf pré (n = 10)	0,626	0,026
TGO F X Cpele (n = 14)	0,686	0,003
TGP 1S X C1 pós (n = 13)	0,629	0,011
TGP 2S X C1 pós (n = 12)	0,653	0,011
TGP F X Cf pré (n = 10)	0,685	0,014
TGP F X Cpele (n = 14)	0,568	0,017
Linfócitos F Cpele (n = 13)	0,914	< 0,0001
Neutrófilos 2S X Cf pré (n = 11)	0,533	0,046

<b>Relação encontrada</b>	<b>Correlação de Pearson</b>	<b><i>p</i></b>
Htc 1S X C1 pós (n = 12)	0,676	0,008
Htc 2S X Cf pré (n = 9)	-0,855	0,002
Htc F X C1 pré (n = 4)	-0,969	0,016
Eosinófilos 2S X Cpele (n = 14)	0,482	0,041
Hgb 1S X C1 pós (n = 12)	0,776	0,002
Hgb 2S X Cf pré (n = 9)	-0,749	0,010
Hgb F X C1 pré (n = 4)	-0,932	0,034
Hgb F X Cf pós (n = 10)	0,677	0,016
FA F X Cpele (n = 9)	0,740	0,011

1S = primeira semana; 2S = segunda semana; F = final

Cin = concentração inicial de antimônio no plasma

C1 pré = concentração de antimônio no plasma com uma semana de tratamento, coletado antes da aplicação do medicamento

C1 pós = concentração de antimônio no plasma com uma semana de tratamento, coletado após a aplicação do medicamento

Cf pré = concentração de antimônio no plasma no final do tratamento, coletado até dois dias após a última dose do medicamento

Cf pós = concentração de antimônio no plasma no final do tratamento, coletado após aplicação do medicamento.

Cpele = concentração de antimônio na pele ao final do tratamento.

Finalmente, foi avaliado se a diferença entre apresentar uma maior ou menor concentração de antimônio ao final do tratamento, em relação à concentração apresentada com 1 semana de tratamento, tinha algum efeito em termos de efeitos colaterais. A única relação encontrada foi com a quantidade de efeitos laboratoriais apresentados ( $p= 0,015$ ), mostrando que os pacientes que apresentaram uma maior concentração de antimônio na primeira semana de tratamento, em relação à terceira, tiveram uma incidência maior de alterações em exames laboratoriais.

## DISCUSSÃO

### *Concentrações de antimônio nos pacientes*

Várias técnicas analíticas já foram empregadas para determinação de antimônio em material biológico. Neste estudo, foi escolhida a quantificação por ICP-MS por ser uma técnica que exige um preparo das amostras relativamente simples – apenas diluição, no caso das amostras de plasma, e digestão por microondas, no caso das amostras de pele - e que apresenta um baixo tempo de análise, cerca de treze segundos por amostra. Além disso, é uma técnica de boa precisão e exatidão, o que pode ser avaliado pelos desvios-padrão das leituras de cada amostra e pelas leituras do material de referência, respectivamente.

Os valores iniciais de antimônio em plasma de pacientes em tratamento com antimoniais encontrados nesse estudo (média de  $3,4 \pm 3,1$   $\mu\text{g/L}$  para pacientes do tratamento convencional) são mais altos que os reportados na literatura. Com exceção do paciente EV 14, todos eles negaram já terem sido tratados com medicamentos antimoniais anteriormente. O paciente EV 14 apresentou concentração inicial no plasma de  $3,25$   $\mu\text{g/L}$ , valor abaixo da média encontrada. Miekeley e cols (2002) fizeram um estudo com dez pacientes com Leishmaniose no Rio de Janeiro, e encontraram uma concentração média de antimônio no plasma, antes do início do tratamento, de  $0,69$   $\mu\text{g/L}$ . Bazzi e cols (2005) quantificaram antimônio no sangue de crianças da África do Sul e em adultos nos Estados Unidos, para avaliar a exposição ambiental dessas populações, encontrando uma concentração de  $0,85 \pm 0,9$   $\mu\text{g/L}$  para as crianças e  $2,51 \pm 1,1$   $\mu\text{g/L}$  para os adultos. Gebel e cols (1998), na Alemanha, estudando uma população exposta ao antimônio por contaminação ambiental e outra não exposta, encontraram valores de  $0,57 \pm 0,9$   $\mu\text{g/L}$  e de  $0,48 \pm 0,7$   $\mu\text{g/L}$ , respectivamente. Finalmente, Goullé e cols (2005) quantificaram simultaneamente vários metais no plasma de 100 voluntários saudáveis, na França, e encontraram um valor médio de  $0,11$   $\mu\text{g/L}$  de antimônio no plasma e  $0,08$   $\mu\text{g/L}$  no sangue total. Não foram encontrados dados referentes à concentração média de antimônio na população do DF.

No estudo de Miekeley e cols (2002), pacientes sendo tratados com uma dose intramuscular de  $5$  mg  $\text{Sb}^{\text{V}}/\text{kg}/\text{dia}$  apresentaram uma concentração estável de  $220 \pm 7$   $\mu\text{g/L}$  de antimônio no sangue durante o tratamento. As coletas foram realizadas 24 horas após a aplicação do medicamento, ou seja, logo antes da aplicação seguinte. Esses

valores são bem maiores do que os obtidos para os dois pacientes deste estudo tratados com a dose de 5 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia, porém administrada por via endovenosa, que apresentaram concentrações de 36,84 e 65,92 µg/L (quando coletadas antes da aplicação do medicamento). Esse resultado indica que, quando administrado por via endovenosa, o antimônio é eliminado mais rapidamente do organismo; essa hipótese deve ser testada com um número maior de pacientes para confirmação.

Num estudo realizado na Arábia Saudita, Jaser e cols (1995b) avaliaram a farmacocinética do antimônio no sangue de pacientes tratados com antimônio, com uma dose intramuscular única de estibogluconato de sódio, numa dose equivalente a 600 mg de antimônio. Eles encontraram um tempo médio de  $1,34 \pm 0,1$  horas para se atingir a concentração máxima de  $8,77 \pm 0,4$  mg/L. Mais importante, eles evidenciaram dois perfis distintos de metabolização do antimônio, que chamou de eliminadores rápidos e eliminadores lentos, e levantou a hipótese de que a existência desses dois perfis possa ser um dos responsáveis pelas diferentes respostas que os pacientes têm ao tratamento com antimônio.

No presente estudo, apesar de todos os pacientes do tratamento convencional receberem a mesma dose – que é calculada com base no peso corpóreo – as concentrações finais no plasma divergiram bastante, inclusive evidenciando também dois perfis distintos de farmacocinética do antimônio. Num deles, a concentração aumenta com o tempo; noutro, ela atinge um pico e depois tende a diminuir. Esse achado está de acordo com aquele de Jaser e cols (1995b), onde aqueles pacientes onde a concentração de antimônio aumentou com o tempo seriam os “eliminadores lentos”, e aqueles onde a concentração tende a diminuir seriam os “eliminadores rápidos”.

Buscaram-se outras explicações para as divergências entre as concentrações finais de antimônio apresentadas no plasma dos pacientes, além da evidente variabilidade individual, representada, por exemplo, pela existência de perfis farmacocinéticos distintos. Não foram excluídos do estudo pacientes portadores de patologias associadas, nem aqueles que reportaram o uso de algum medicamento. No caso dos pacientes do tratamento convencional, um paciente relatou ser hipertenso e fazer uso de captopril – paciente EV 11. Esse paciente apresentou concentrações menores do que a média: sua concentração inicial no plasma foi de 2,03 µg/L, a concentração no plasma com 1 semana (coletada após a aplicação do medicamento) foi de 71,10 µg/L, a concentração final no plasma (coletada até dois dias após o término do tratamento) foi de 0,104 µg/L e sua concentração na pele, ao final do tratamento, foi de

2,01 µg/g. As médias desses valores, obtidas para o grupo de pacientes do tratamento convencional, foram respectivamente 3,39 µg/L, 106,1 µg/L, 0,210 µg/L e 7,46 µg/g. Não foi encontrado, nos prontuários médicos, registro de que algum outro paciente do grupo de tratamento convencional fosse portador de outra patologia ou fizesse uso de outra medicação. A paciente BD 2, por sua vez, relatou o uso de fluoxetina, atenolol, bromazepam e omeprazol, e suas concentrações aparentemente não foram muito diferentes daquelas observadas no outro paciente de baixa dose.

Em um outro trabalho publicado por Jaser e cols (1995a), foi avaliada a farmacocinética do antimônio na pele de pacientes sujeitos ao mesmo tratamento intramuscular utilizando uma dose equivalente a 600 mg de antimônio. Foi encontrado um tempo médio de  $2,1 \pm 0,4$  horas para uma concentração máxima de  $5,02 \pm 1,44$  µg/g de pele. No Brasil, Dorea e cols (1990) avaliaram a concentração de antimônio na pele de sete pacientes tratados com injeções endovenosas na dose de 10 ou 20 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia, por 10 ou 20 dias, totalizando quatro grupos estudados. As biópsias foram coletadas no dia seguinte ao término do tratamento e o antimônio analisado por Ativação Neutrônica. Os resultados variaram entre 8,32 e 70,68 µg/g de pele, sendo a menor concentração referente a um paciente tratado com a dose de 10 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia por 20 dias e a maior referente a um paciente tratado com a dose de 20 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia por 20 dias. Não havia dados referentes à pacientes tratados com a dose de 10 mg por 10 dias.

As concentrações de antimônio encontradas nas biópsias de pele dos pacientes sob tratamento convencional no presente estudo variaram entre 0,83 e 42,28 µg/g, sendo alguns inferiores e outros comparáveis aos valores encontrados por Dorea e cols (1990) para a dose de 20 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia por 20 dias. Era esperado encontrar valores superiores nos pacientes sob tratamento intralesional, o que foi observado apenas para o paciente IL 03, que apresentou 189,50 µg/g. A concentração encontrada na biópsia do paciente IL 01, de 9,06 µg/g, foi semelhante à média dos pacientes do tratamento convencional.

Não temos explicação para o fato de os dois pacientes do tratamento com dose baixa terem apresentado concentrações na pele que, apesar de estarem dentro da faixa apresentada pelos pacientes do tratamento convencional, foram maiores que a média desses. No trabalho de Dorea e cols (1990), a concentração de antimônio observada nas biópsias dos pacientes que receberam tratamento por 20 dias na dose de 20 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia foram significativamente maiores do que aquelas observadas nos outros pacientes, que receberam 20 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia por 10 dias ou 10 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia por 20 dias; porém, o número de pacientes considerados foi muito baixo (7 no total, sendo 2 no

tratamento convencional e 5 nos outros dois citados), não podendo ser tomado como referência. O número de pacientes tratados com baixa dose no presente trabalho não permite generalizações, evidenciando a necessidade de se dar continuidade a essa investigação.

### ***Incidência de efeitos colaterais***

O grande número de protocolos de tratamento reportados para Leishmaniose cutânea (LC) indica que ainda não foi encontrada uma terapia única ideal para essa patologia. Utilizado há mais de 50 anos, o tratamento com drogas antimoniais continua sendo o tratamento de primeira escolha, apesar de reconhecidamente causar uma série de efeitos colaterais, podendo chegar à morte por arritmias cardíacas (OLIVEIRA e cols, 2005) ou falência renal aguda (RODRIGUES e cols, 1999).

Os resultados encontrados no presente estudo, tanto quanto aos efeitos colaterais sintomáticos quanto às alterações laboratoriais, foram semelhantes aos descritos na literatura. Em um estudo realizado no próprio Hospital Universitário de Brasília, comparando dois grupos de pacientes com LC, sendo um tratado com antimoniato de n-metil-glucamina endovenoso, na dose convencional, e outro com isotionato de pentamidina, os pacientes tratados com antimonial se queixaram principalmente de artralgia e mialgia, que foram relatadas por 34,1% e 31,7% dos pacientes, respectivamente. Alterações laboratoriais como elevação da creatinina sérica, leucopenia, eosinofilia e elevação das transaminases foram observadas em 42,4% dos pacientes do grupo dos antimoniais. Dez pacientes, dentre os 41 tratados com antimoniato de n-metil-glucamina, apresentaram distúrbios de repolarização ventricular (PAULA e cols., 2003).

Kashani e cols (2007) avaliaram a influência do antimoniato de n-metil-glucamina em testes de função hepática, renal e pancreática, retirando amostras de sangue antes e depois do tratamento com injeções intramusculares diárias do medicamento, na dose de 20 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia, por 15 dias. Foram encontrados valores de TGO, TGP e FA significativamente aumentados, porém a maioria dessas mudanças não foi clinicamente significativa. Nesse trabalho, os autores fazem uma breve revisão da literatura, mencionando estudos onde foram reportados aumentos nos níveis de amilase, TGO e TGP e diminuição na contagem de células brancas do sangue e hematócrito.

Lawn e cols (2006) analisaram os prontuários de 65 pacientes britânicos que retornaram de viagens à América Latina e que foram diagnosticados com LC ou

Leishmaniose Mucosa - LM, tendo sido tratados com estibogluconato de sódio. Quatro pacientes tiveram o tratamento interrompido, sendo um por toxicidade cardíaca, um por eritrodermia generalizada e febre após 3 doses e dois por dores musculoesqueléticas severas. Surgiram anormalidades nos eletrocardiogramas de 53% dos pacientes. O Qtc médio aumentou progressivamente de 389 msec para 404 msec após três semanas de tratamento. Seis pacientes desenvolveram prolongamento de QTc significante porém assintomática, mas nenhum desenvolveu efeitos colaterais. Um aumento nas concentrações séricas de TGO ou TGP acima do limite superior foi detectado em 85% dos pacientes, e triplicou em 33% dos pacientes. A concentração média de transaminases teve seu máximo no 12º dia de tratamento, e diminuiu depois apesar da continuação do tratamento. Os valores de base de amilase eram normais em todos os pacientes, mas durante o tratamento, um valor acima do limite máximo foi observado em 67% dos pacientes, e triplicou em 19% deles. A concentração média de amilase teve seu máximo no 9º dia e diminuiu depois, apesar da continuação do tratamento.

Um estudo realizado no Espírito Santo comparou a eficácia e a toxicidade do antimoniato de n-metil-glucamina e do estibogluconato de sódio, administrados na dose de 15 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia, por via intramuscular, por 20 dias seguidos. O índice de cura definitiva, recidivas e falha terapêutica foram semelhantes nos dois grupos, porém as dosagens de TGO e TGP no 10º e 20º dias foram mais elevadas no grupo do estibogluconato de sódio, quando comparadas às do antimoniato de n-metil-glucamina. Além disso, a média das diferenças entre as dosagens de TGO inicial e 10º dia, e de TGP entre o inicial e o 10º dia e entre o 10º e 20º dias foram mais elevadas no grupo do estibogluconato de sódio. Os dois grupos apresentaram toxicidade pancreática, entretanto a média dos valores das dosagens de amilase no 10º dia de tratamento também foi maior no segundo grupo. Os efeitos colaterais mais frequentes nos dois grupos foram anorexia, cefaléia, artralgia, febre e fraqueza muscular (DEPS e cols, 2000)

Os efeitos colaterais mais relatados no presente estudo foram artralgia e mialgia (ambos por 50% dos pacientes), incidência superior àquela encontrada por Paula e cols (2003). Os outros efeitos mais comuns, cefaléia (22%) e febre (17%), também foram encontrados por Deps e cols (2000).

As alterações laboratoriais mais frequentes no presente estudo foram linfocitose e aumento da amilase (55% cada), seguidos por neutrofilia, eosinofilia e aumento de TGP (50% cada), diminuição do Htc e aumento de TGO (44% cada) e

aumento do Qtc (33%). Alterações nos exames referentes à função hepática e pancreática são mencionadas em praticamente todos os artigos referentes ao tratamento com antimoniais pentavalentes (PAULA e cols, 2003; KASHANI e cols, 2007; LAWN e cols, 2006; SALDANHA e cols, 2000; MATTOS e cols, 2000).

A eosinofilia foi citada, dentre os trabalhos pesquisados, apenas por Paula e cols (2003) e por Nogueira e Sampaio (2001), que mencionam a eosinofilia como a alteração mais freqüente (15,2% de 125 indivíduos) nos hemogramas dos pacientes incluídos num estudo em série de casos realizado no HUB. Não foi encontrada nenhuma menção a neutrofilia induzida por tratamento com antimoniais pentavalentes, enquanto a diminuição do hematócrito é citada apenas na revisão da literatura feita por Kashani (2007)

O mecanismo exato da ação leishmanicida dos antimoniais pentavalentes ainda é desconhecido (CROFT e YARDLEY, 2002, RATH e cols, 2003; SINGH, 2006), porém nunca se considerou que a sua ação se devesse apenas à sua ação citotóxica direta. Vários estudos demonstraram que, apesar de sua ação leishmanicida direta *in vitro* e *in vivo*, em modelos animais, uma cura completa requer uma população de células-T intacta (CROFT e YARDLEY, 2002; SINGH, 2006). A linfocitose, que foi uma das duas alterações laboratoriais mais freqüentes desse estudo, portanto, pode ser atribuída ao fato de o medicamento induzir a proliferação dos linfócitos, como parte de sua ação antiparasitária, pela ativação das células de defesa do hospedeiro (LINDOSO e cols, 1996).

Alterações no eletrocardiograma, como o prolongamento do intervalo Qt, que é indicador de risco de arritmia, também são freqüentemente observadas nos trabalhos pesquisados, e foram responsáveis pela interrupção temporária no tratamento do paciente EV 10 (suspendeu por uma semana por alteração isquêmica) e pela suspensão definitiva do tratamento dos pacientes EV 07 e IL 02 (Qt = 530 ms e 510 ms, respectivamente). Esses pacientes foram posteriormente tratados com Anfotericina B lipossomal, da mesma maneira como descrito por Lawn e cols (2006).

Além das três interrupções mencionadas, outros três pacientes tiveram seus tratamentos temporariamente suspensos. Os pacientes EV 04 e EV 18 suspenderam o tratamento no 14º e 7º dias, respectivamente, por uma semana, devido a alterações nos exames de função hepática (TGO, TGP, FA). A paciente EV 09 suspendeu o tratamento no 7º dia, por uma semana, depois recebeu mais uma semana de medicação e suspendeu novamente por uma semana, tendo depois conseguido terminar o tratamento. As duas

interrupções foram devido a elevações nos níveis de amilase, indicando toxicidade pancreática. O total de suspensões e interrupções de tratamento foi de seis ocorrências, sendo cinco do tratamento convencional e uma do tratamento intralesional, representando 26% do total de pacientes do estudo e 28% dos pacientes do tratamento convencional. Quanto calculamos a incidência de suspensões e interrupções separadamente, temos 17,4% de suspensões temporárias e 8,7% de interrupções definitivas. Essa incidência é semelhante àquela descrita no estudo de Lawn (2006), que foi de 6% de interrupções.

Foi feita uma comparação entre os teores de antimônio nas amostras dos pacientes que sofreram interrupção / suspensão do tratamento com os valores médios obtidos para cada esquema terapêutico (Tabela 13). Observa-se que, em pelo menos um dos períodos de coleta, a concentração de antimônio nesses pacientes foi maior do que a média dos valores apresentados para os pacientes sob o mesmo tratamento. No caso dos pacientes EV 10, EV 18 e IL 2, porém, apenas a concentração inicial era superior à média, e os valores se mostraram abaixo da média nos períodos de coleta seguintes. Não foi evidenciado, portanto, nenhum padrão de relação entre concentração de antimônio e a interrupção / suspensão do tratamento.

Por ainda não haver substituto adequado aos antimoniais, é necessário que se continue estudando seu funcionamento, visando à otimização dos esquemas terapêuticos prescritos e a menor incidência possível de efeitos colaterais. Nesse sentido, vários testes têm sido feitos com doses diferentes da convencional de 20 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia, ou com outras vias de administração. Em alguns centros de tratamento de Leishmaniose, esses “tratamentos alternativos” fazem parte da rotina de atendimento.

Na literatura, são descritos poucos efeitos colaterais para o tratamento com doses inferiores à estabelecida pelo Ministério da Saúde, de 20 mg Sb<sup>v</sup>/kg/dia, como dor no local das injeções, ligeira artralgia e/ou náusea (OLIVEIRA-NETO e MATTOS, 2006). Nesse estudo, os dois pacientes de baixa dose eram portadores de doença de Chagas, mas enquanto o paciente BD 01 apresentou apenas neutrofilia, a paciente BD 02, que era também cardiopata e hipertensa, apresentou mialgia, artralgia, linfocitose, neutropenia (diminuição na contagem de neutrófilos), diminuição do Htc e anemia. Não é possível avaliar se essa incidência de efeitos colaterais teria sido semelhante caso a paciente não tivesse essas outras patologias associadas.

Da mesma maneira, poucos efeitos colaterais são associados ao tratamento intralesional, sendo o principal dor no local da lesão. Foram acompanhados, nesse

estudo, três pacientes com tratamento intralesional. O paciente IL 01, portador de Doença de Chagas, relatou prurido no local da lesão e artralgia, e apresentou eosinofilia e linfocitose. A paciente IL 02 descobriu ser diabética durante os exames no ambulatório de Dermatologia, tendo apresentado, em seu primeiro exame, um nível de glicose quatro vezes maior do que o máximo da faixa de referência. Ela relatou apenas dor no local da lesão, mas apresentou neutrofilia, aumento de TGP e FA e aumento de Qtc, o que levou à interrupção do tratamento com mudança para anfotericina B lipossomal. Finalmente, o paciente IL 03, que não era portador de nenhuma patologia, relatou também apenas prurido no local da lesão, porém foram detectados neutrofilia, aumento de FA e bilirrubinas (também indicadores de função hepática) e aumento da uremia, sugerindo alteração na função renal.

Não é possível generalizar esses dados provenientes dos pacientes recebendo os “tratamentos alternativos”, devido ao pequeno número de sujeitos em cada um deles, e também porque a maioria dos pacientes alocados nesses grupos era portador de alguma outra patologia, o que torna os grupos não comparáveis com o tratamento convencional. Pode ser feita, porém, uma comparação considerando apenas os pacientes de cada grupo. Considerando-se os dois pacientes de baixa dose, ambos chagásicos, aquele que não era portador de outras patologias associadas sofreu menos efeitos colaterais do que aquela que era; porém, o mesmo não se aplica aos pacientes do grupo intralesional, onde o paciente IL 03, que era saudável exceto pela lesão cutânea, apresentou mais efeitos colaterais do que o IL 01, que era chagásico.

#### ***A existência de uma relação significativa dose-efeito***

Vários autores mencionam, em seus trabalhos, que existe uma relação de dependência entre a dose e o tempo de tratamento com antimoniais pentavalentes e os efeitos colaterais apresentados pelos pacientes (SALDANHA e cols, 2000; MATTOS e cols, 2000; NAME e cols, 2005). Não foi encontrada na literatura pesquisada, porém, nenhum estudo que mostrasse quantitativamente essa correlação.

Nesse estudo, foram pesquisadas todas as correlações possíveis entre características dos pacientes, concentração de antimônio no plasma em diferentes tempos de coleta, concentração de antimônio na pele, efeitos colaterais sintomáticos relatados e alterações laboratoriais apresentadas.

Inicialmente, buscaram-se relações entre as concentrações de antimônio, e comprovou-se apenas que uma maior concentração na primeira semana de tratamento

(coletada antes da aplicação do medicamento) está relacionada com uma maior concentração na pele, ao final do tratamento.

Em seguida, comparando-se a quantidade de efeitos colaterais sintomáticos, características dos pacientes, quantidade de alterações laboratoriais e concentrações de antimônio, evidenciou-se que um maior número de lesões está diretamente relacionado com uma maior quantidade de efeitos colaterais sintomáticos, talvez por evidenciar um caso mais grave de LC. A concentração de antimônio no plasma na primeira semana (coletada antes da aplicação do medicamento) está diretamente relacionada tanto com a quantidade de alterações laboratoriais quanto com a quantidade de efeitos sintomáticos, que está relacionada também com a concentração de antimônio na pele ao final do tratamento. A quantidade de alterações laboratoriais também está relacionada com a variável Df-1, mostrando que os pacientes que apresentam uma concentração de antimônio maior na primeira semana de tratamento, em relação ao seu final, apresentaram mais alterações laboratoriais.

Após calcularem-se as médias dos parâmetros laboratoriais avaliados em cada tempo de coleta de sangue, foram testadas as significâncias das alterações laboratoriais em si. Os resultados, mostrados na Tabela 15, comprovam que, com o tratamento, os exames dos pacientes são significativamente alterados. O presente estudo encontrou que, para TGO e TGP, a maior concentração média foi em duas semanas de tratamento, enquanto a amilase e o número de neutrófilos tiveram seus picos em uma semana de tratamento. Tanto o Qtc quanto a FA foram crescentes ao longo de todo o tratamento, enquanto o Htc e Hgb tiveram a menor concentração média com duas semanas. A contagem de linfócitos caiu na primeira semana, mas depois aumentou, enquanto a de eosinófilos aumentou na primeira semana, diminuiu na segunda e aumentou novamente na terceira, não sendo evidenciado nenhum padrão. Os dados da tabela 16 mostram que, na maioria dos casos, as maiores alterações laboratoriais já acontecem na primeira semana de tratamento. Os resultados encontrados foram comparáveis aos obtidos por Deps e cols (2000).

Foi encontrado que o aumento de TGO, TGP e eosinófilos e a diminuição de Htc na primeira semana foram significativamente maiores do que na segunda semana, enquanto o aumento de linfócitos, Qtc e diminuição de Hgb foram significativamente maiores na segunda semana em relação à terceira. Foi encontrado também que o aumento de TGP na terceira semana foi significativamente menor do que o aumento da segunda semana.

Finalmente, ao testar se os valores dos exames laboratoriais estavam relacionados com as concentrações de antimônio, encontraram-se diversas correlações significativas (Tabela 17), mostrando que uma maior concentração de antimônio significa uma maior concentração de TGO, TGP e FA, uma maior contagem de linfócitos, neutrófilos e eosinófilos e uma menor concentração de Hgb e Htc. Essas relações não foram encontradas para todos os tempos de coleta, mas o conjunto de resultados obtidos em todas as avaliações é suficiente para se afirmar que a relação entre administração de medicamentos antimoniais e incidência de efeitos colaterais é dose-dependente.

Supunha-se que uma grande vantagem do tratamento intralesional seria evitar os efeitos colaterais sistêmicos do medicamento (FAGHIHI e TAVAKOLI-KIA, 2003), sendo relatos como efeitos adversos apenas dor e desconforto durante a aplicação do medicamento (OLIVEIRA-NETO e cols, 1997; MUJTABA e KHALID, 1999). Os resultados obtidos para a quantificação de antimônio no plasma dos pacientes desse estudo, porém, deixam claro que existe absorção sistêmica do antimônio quando aplicado pela via intralesional, e foram evidenciados efeitos colaterais condizentes com a ação do antimônio em diversos órgãos, tais como alteração na função hepática e renal, prolongamento do intervalo Qt e modificação nas contagens de células brancas.

## CONCLUSÃO

É senso comum que os antimoniais pentavalentes, quando empregados no tratamento da Leishmaniose, causam efeitos colaterais. Existem inúmeros trabalhos, citados ao longo dessa dissertação, mencionando uma série de sintomas, alterações em exames laboratoriais e até mesmo patologias associadas ao uso desses medicamentos, podendo chegar ao extremo de ocorrer morte, em decorrência de falência renal ou arritmias cardíacas.

Sempre se assumiu como verdadeira a relação dose-dependente entre os antimoniais pentavalentes e a incidência de efeitos colaterais, mas essa relação ainda não havia sido mostrada estatisticamente. Pelo estudo de um grupo de pacientes que, apesar de receberem a mesma dose relativa do medicamento (20 mg Sb<sup>V</sup>/kg/dia), apresentaram diferentes concentrações plasmáticas e cutâneas de antimônio, foi possível comprovar que uma maior concentração desse elemento está relacionada a uma maior incidência de efeitos colaterais, e que a maioria das alterações nos exames laboratoriais apresentadas estão diretamente relacionadas ao medicamento. Esses achados mostram que realmente a relação entre os medicamentos antimoniais e seus efeitos colaterais é dose-dependente. Numa etapa posterior, um estudo semelhante poderia ser realizado, focando-se nos esquemas de tratamento de baixa dose e intralesional, para se obter um número de sujeitos maior que possibilite avaliação estatística dos seus dados.

Neste estudo, também foi otimizado um método simples para quantificação de antimônio em biópsias de pele através de digestão por microondas e quantificação por ICP-MS. Espera-se que esse método possa ser aplicado a outras matrizes biológicas, tais como órgãos que reconhecidamente são alvos de antimoniais, como o fígado, os rins e o pâncreas, para numa etapa seguinte, utilizando um modelo animal, testar a influência da concentração de antimônio diretamente nos órgãos afetados e as manifestações clínicas e laboratoriais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARANA, B.; RIZZO, N.; DIAZ, A. Chemotherapy of cutaneous leishmaniasis: a review. **Med. Microbiol. Immunol.**, 190, 93-95, 2001.
2. BALAÑA-FOUCE, R.; REGUERA, R.M.; CUBRÍA, J.C.; ORDÓÑEZ, D. The Pharmacology of Leishmaniasis. **Gen. Pharmacology**, 30, 435-443, 1998.
3. BASANO, S.A.; CAMARGO, L.M.A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Rev. Bras. Epidemiol.**, 7, 328-337, 2004.
4. BARBOSA, F. **Comunicação pessoal**, julho, 1998.
5. BAZZI, A.; NRIAGU, J.O.; INHORN, M.C.; LINDER, A.M. Determination of antimony in human blood with inductively coupled plasma – mass spectrometry. **Journal of Environ. Monit.**, 7, 1251 – 1254, 2005.
6. BOCCA, B.; FORTE, G.; PETRUCCI, F.; SENOFONTE, O.; VIOLANTE, N.; ALIMONTI, A. Development of methods for the quantification of essential and toxic elements in human biomonitoring. **Annali Ist. Superiore di Sanità**, 41, 165-170, 2005.
7. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1.943, de 18 de outubro de 2001. Disponível em <[www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)>, acesso em 16/11/05.
8. BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde – FUNASA. Manual de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana. 5ª ed. Brasília, 2000. 62p.
9. BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde – FUNASA. Guia de Vigilância Epidemiológica. 5ª ed. Brasília, 2002. 842p.
10. BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde – FUNASA. <[www.funasa.gov.br](http://www.funasa.gov.br)>, acesso em 22/11/05.
11. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. 2ª ed. Brasília, 2007. 182p.
12. CHAGAS, A.C.; PESSOA, F.A.C.; MEDEIROS, J.F.; PY-DANIEL, V.; MESQUITA, E.C.; BALESTRASSI, D.A. Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) em uma vila de exploração de minérios – Pitinga, município de Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. **Rev. Bras. Epidemiol.**, 9, 186-192, 2006.

13. CROFT, S.L.; COOMBS, G.H. Leishmaniasis – current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. **Trends in Parasitology**, 19, 502-508, 2003.
14. CROFT, S.L.; YARDLEY, V. Chemotherapy of leishmaniasis. **Current Pharmaceutical Design**, 8, 319-342, 2002.
15. DAWSON, M.; DOBLE, P.; BEAVIS, A.; LI, L.L.; SOPER, R.; SCOLYER, R.A.; UREN, R.F.; THOMPSON, J.F. Antimony by ICP-MS as a marker for sentinel lymph nodes in melanoma patients. **The Analyst**, 128, 217-219, 2003.
16. DELVES, H.T.; SIENIAWSKA, C.E.; FELL, G.S.; LYON, T.D.B.; DEZATEUX, C.; CULLEN, A.; VARIEND, S.; BONHAM, J.R.; CHANTLER, S.M. Determination of Antimony in Urine, Blood and Serum and in Liver and Lung Tissues of Infants by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. **The Analyst**, 122, 1323-1329, 1997.
17. DEMICHELLI, C.; FIGUEIREDO, T.L.; CARVALHO, S.; SINESTERRA, R.D.; LOPES, J.C.D.; FRÉZARD, F. Physico-chemical characterization of meglumine antimoniate. **BioMetals**, 12, 63-66, 1999.
18. DEPS, P.D.; VIANA, M.C.; FALQUETO, A.; DIETZE, R. Avaliação comparativa da eficácia e toxicidade do antimonio de N-metil-glucomina e do Estibogluconato de Sódio BP88® no tratamento da Leishmaniose cutânea localizada. **Rev. da Soc. Bras. de Med. Tropical**, 33, 535-543, 2000.
19. DOREA, J.G.; MERCHAN-HAMANN, E.; RYAN, D.E.; HOLZBECHER, J. Retention of Antimony in Skin Biopsies of Leishmaniasis Patients after Treatment with N-Methylglucamine Antimoniate. **Clin. Chemistry**, 36, 680-682, 1990.
20. FAGHIHI, G.; TAVAKOLI-KIA, R. Treatment of cutaneous leishmaniasis with either topical paromomycin or intralesional meglumine antimoniate. **Clinical and Experimental Dermatology**, 28, 13-16, 2003.
21. FERREIRA, L.S. **Preparação de lipossomas contendo paromomicina para o tratamento tópico da Leishmaniose cutânea**. 2002. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.
22. FURTADO, T.; VIEIRA, J.B.F. Geografia da Leishmaniose tegumentar americana no Brasil. **Anais bras. Dermatol.**, 57, 135-140, 1982.
23. GASSER JR., R.A.; MAGILL, A.J.; OSTER, C.N.; FRANKE, E.D.; GRÖGL, M.; BERMAN, J.D. Pancreatitis induced by pentavalent antimonial agents during treatment of leishmaniasis. **Clinical Infect. Dis.**, 18, 83-90, 1994.

24. GEBEL, T.; CLAUSSEN, K.; DUNKELBERG, H. Human biomonitoring of antimony. **Int. Arch. Occup. Environ. Health**, 71, 221-224, 1998.
25. GOULLÉ, J.P.; MAHIEU, L.; CASTERMANT, J.; NEVEU, N.; BONNEAU, L.; LAINÉ, G.; BOUIGE, D.; LACROIX, C. Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair Reference values. **Forensic Science International**, 153, 39-44, 2005.
26. GUYTON, A.C.; HALL, J.E. Cardiac Output, Venous Return, and Their Regulation. In: **Textbook of Medical Physiology**. Philadelphia, ed. 11, 232 – 245, 2006.
27. HUANG, J.; HU, X.; ZHANG, J.; LI, K.; YAN, Y.; XU, X. The application of inductively coupled plasma mass spectrometry in pharmaceutical and biomedical analysis. **J. of Pharm. and Biomed. Analysis**, 40, 227-234, 2006.
28. JASER, M.A.; EL-YAZIGI, A.; KOJAN, M.; CROFT, S.L. Skin Uptake, Distribution, and Elimination of Antimony following Administration of Sodium Stibogluconate to Patients with Cutaneous Leishmaniasis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 39, 516-519, 1995. (a)
29. JASER, M.A.; EL-YAZIGI, A.; CROFT, S.L. Pharmacokinetics of Antimony in Patients Treated with Sodium Stibogluconate for Cutaneous Leishmaniasis. **Pharmaceutical Research**, 12, 133-116, 1995. (b)
30. KAFETZIS, D.A.; VELISSARIOU, I.M.; STABOULI, S.; MAVRIKOU, M.; DELIS, D.; LIAPI, G. Treatment of paediatric visceral leishmaniasis: amphotericin B or pentavalent antimony compounds? **International Journal of Antimicrobial Agents**, 25, 26-30, 2005.
31. KASHANI, M.N.; FIROOZ, A.; ESKANDARI, S.E.; GHOORCHI, M.H.; KHAMESIPOUR, A.; KHATAMI, A.; JAVADI, A.; DOWLATI, Y. Evaluation of meglumine antimoniate effects on liver, kidney and pancreas function tests in patients with cutaneous leishmaniasis. **Eur. J. Dermatol**, 17, 513-515, 2007.
32. LAWN, S.D.; ARMSTRONG, M.; CHILTON, D.; WHITTY, C.J.M. Electrocardiographic and biochemical adverse effects of sodium stibogluconate during treatment of cutaneous and mucosal leishmaniasis among returned travelers. **Transactions of the Royal Soc. of Trop. Med. and Hygiene**, 100, 264 – 269, 2006.
33. LEE, S.A.; HASBUN, R. Therapy of cutaneous leishmaniasis. **Int. J. Infect. Dis.**, 7, 86-93, 2003.

34. LINDOSO, J.A.L.; GIDLUND, M.; GOTO, H. Anti-leishmanial drug Glucantime® induces cell-mediated oxidative modifications of low density lipoprotein (LDL). **Memórias do Int. Oswaldo Cruz**, 91, Suppl., 272, 1996.
35. MASMOUDI, A.; MAALEJ, N.; BOUDAYA, S.; TURKI, H.; ZAHAF, A. Les effets indésirables du Glucantime® en intralésionnel dans le traitement de la leishmaniose cutanée. **Médecine et maladies infectieuses**, 36, 226-228, 2006.
36. MATLASHEWSKI, G. Leishmania infection and virulence. **Med. Microbiol. Immunol.**, 190, 37-42, 2001.
37. MATTOS, M.N.; FRIEDMAN, R.K.; SILVA FILHO, I.L.; OLIVEIRA-NETO, M.P. Pancreatite: um dos efeitos adversos da terapia antimonial na Leishmaniose. **An. Bras. Dermatol**, 75, 45-50, 2000.
38. MAY, T.W.; WIEDMEYER, R.H. A Table of Polyatomic Interferences in ICP-MS. **Atomic Spectroscopy**, 19, 150-155, 1998.
39. MIEKELEY, N.; MORTARI, S.R.; SCHUBACH, A.O. Monitoring of total antimony and its species by ICP-MS and on-line ion chromatography in biological samples from patients treated for leishmaniasis. **Anal. Bioanal. Chem**, 372, 495-502, 2002.
40. MINODIER, P.; PAROLA, P. Cutaneous leishmaniasis treatment. **Travel Med. and Infectious Disease**, 5, 150-158, 2007.
41. MUTJABA, G.; KHALID, M. Weekly vs. fortnightly intralesional meglumine antimoniate in cutaneous leishmaniasis. **International J. of Dermatology**, 38, 607-609, 1999.
42. NAME, R.Q.; BORGES, K.T.; NOGUEIRA, L.S.C.; SAMPAIO, J.H.D.; TAUIL, P.L.; SAMPAIO, R.N.R. Clinical, epidemiological and therapeutic study of 402 patients with American cutaneous leishmaniasis attended at University Hospital of Brasilia, DF, Brazil. **An. bras. Dermatol.**, 80, 249-254, 2005.
43. NOGUEIRA, L.S.C.; SAMPAIO, R.N.R. Estudo hospitalar da Leishmaniose tegumentar americana (LTA): epidemiologia e tratamento. **An. bras. Dermatol**, 76, 51-62, 2001.
44. OLIVEIRA, M.C.; AMORIM, R.F.B.; FREITAS, R.A.; COSTA, A.L.L. Óbito em caso de Leishmaniose cutâneo-mucosa após o uso de antimonial pentavalente. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, 38, 258-260, 2005.
45. OLIVEIRA-NETO, M.P.; SCHUBACH, A.; ARAÚJO, M.L.; PIRMEZ, C. High and Low Doses of Antimony (Sb<sup>v</sup>) in American Cutaneous Leishmaniasis. A Five

- Years Follow-up Study of 15 Patients. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 91, 207-209, 1996.
46. OLIVEIRA-NETO, M.P.; SCHUBACH, A.; MATTOS, M.; COSTA, S.C.G.; PIRMEZ, C. Intralesional therapy of American cutaneous leishmaniasis with pentavalent antimony in Rio de Janeiro, Brazil – an area of *Leishmania (V.) braziliensis* transmission. **Intern. Journal of Dermatology**, 36, 463-468, 1997. (a)
47. OLIVEIRA-NETO, M.P.; SCHUBACH, A.; MATTOS, M.; COSTA, S.C.G.; PIRMEZ, C. Treatment of American cutaneous leishmaniasis: a comparison between low dosage (5 mg/kg/day) and high dosage (20 mg/kg/day) antimony regimens. **Pathol Biologie**, 45, 496-499, 1997. (b)
48. OLIVEIRA-NETO, M.P.; MATTOS, M.S. An alternative antimonial schedule to be used in cutaneous leishmaniasis when high doses of antimony are undesirable. **Rev. da Soc. Bras. de Med. Tropical**, 39, 323-326, 2006.
49. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL de SAÚDE. Disponível em <[www.who.int/leishmaniasis/en](http://www.who.int/leishmaniasis/en)>, acesso em 22/04/08.
50. PATRIARCA, M. The Contribution of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry to Biomedical Research. **Microchemical Journal**, 54, 262-271, 1996.
51. PAULA, C.D.R.; SAMPAIO, J.H.D.; CARDOSO, D.R.; SAMPAIO, R.N.R. Estudo comparativo da eficácia de isotionato de pentamidina administrada em três doses durante uma semana e de N-metil-glucamina 20mgSbV/kg/dia durante 20 dias para o tratamento da forma cutânea da Leishmaniose tegumentar americana. **Rev. Soc. Bras. Med Tropical**, 36, 365-371, 2003.
52. RATH, S.; TRIVELIN, L.A.; IMBRUNITO; T.R.; TOMAZELA, D.M.; JESUS, M.N.; MARZAL, P.C.; JUNIOR, H.F.A.; TEMPONE, A.G. Antimoniais empregados no tratamento da Leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**, 26, 550-555, 2003
53. REGUERA, R.M.; CUBRÍA, J.C., ORDÓÑEZ, D. The pharmacology of leishmaniasis. **Gen. Pharmac.**, 30, 435-443, 1998.
54. REITHINGER, R.; DUJARDIN, J.C.; LOUZIR, H.; PIRMEZ, C.; ALEXANDER, B.; BROOKER, S. Cutaneous leishmaniasis. **Lancet Infect. Dis.**, 7, 581-596, 2007.
55. RODRIGUES, M.L.O.; COSTA, R.S.; SOUZA, C.S.; FOSS, N.T.; ROSELINO, A.M.F. Nephrotoxicity attributed to meglumine antimoniate (Glucantime) in the treatment of generalizes cutaneous leishmaniasis. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, 41, 33-37, 1999.

56. ROMERO, G.A.S.; FLORES, E.M.M.; NORONHA, E.F.; MACÊDO, V.O. High frequency of skin reactions in patients with leishmaniasis treated with meglumine antimoniate contaminated with heavy metals. A comparative approach using historical controls. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 98, 145-149, 2003.
57. SALDANHA, A.C.R.; ROMERO, G.A.S.; GUERRA, C.; MERCHAN-HAMANN, E.; MACEDO, V.O. Estudo comparativo entre estibogluconato de sódio BP 88® e antimoniato de meglumina no tratamento da Leishmaniose cutânea II. Toxicidade bioquímica e cardíaca. **Rev. da Soc. Bras. de Med. Tropical**, 33, 383-388, 2000.
58. SANTOS, M.A.M.; MARQUES, R.C.; FARIAS, C.A.; VASCONCELOS, D.M.; STEWART, J.M.; COSTA, D.L.; COSTA, C.H.N. Predictors of an unsatisfactory response to pentavalent antimony in the treatment of American visceral leishmaniasis. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, 35, 629-633, 2002.
59. SCHUBACH, A.O.; MARZOCHI, K.B.F., MOREIRA, J.S.; SCHUBACH, T.M.P.; ARAÚJO, M.L.; VALE, A.C.F.; PASSOS, S.R.L.; MARZOCHI, M.C.A. Retrospective study of 151 patients with cutaneous leishmaniasis treated with meglumine antimoniate. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, 38, 213-217, 2005.
60. SINGH, N. Drug resistance mechanisms in clinical isolates of *Leishmania donovani*. **Indian J. Med Res.**, 123, 411-422, 2006.
61. SINGH, S.; SIVAKUMAR, R. Challenges and new discoveries in the treatment of leishmaniasis. **J. Infect. Chemotherapy**. 10, 307-315, 2004.
62. VALE, E.C.S.; FURTADO, T. Leishmaniose tegumentar no Brasil: revisão histórica da origem, expansão e etiologia. **Anais Bras. Dermatol.**, 80, 421-428, 2005.

## ANEXO I

### Resultados dos exames e efeitos colaterais sintomáticos apresentados

#### Paciente EV 01

Parâmetro	Inicial	1 semana	2 semanas	Final do tratamento	Valores de referência
TGO	16	19	19	19	0 – 32
TGP	13	14	19	12	0 – 31
Linfócitos	32	36	39	28	20 – 33
Neutrófilos	-	55	42	60	50 – 60
Htc	39,4	34,4	37,3		37 – 48
Eosinófilos	3	-	14	8	1 – 4
Hgb	13,1	12,1	11,5	-	12 – 15
Amilase	-	-	-	131	0 – 125
Qtc	350	400	360	440	450 (ou aumento > 50)
FA	-	195	105	-	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	-	Dor nos dentes, mialgia	Artralgia, prurido	Cefaléia	--

#### Paciente EV 02

Parâmetro	Inicial	1 semana	2 semanas	Final do tratamento	Valores de referência
TGO	-	19	23	29	0 – 32
TGP	-	22	24	30	0 – 31
Linfócitos	-	38	40	-	20 – 33
Neutrófilos	-	58	54	68	50 – 60
Htc	-	43,4	41,5	39,2	42 - 56
Eosinófilos	-	-	3	1	1 – 4
Hgb	-	14,7	13,3	14,2	14 - 18
Amilase	-	-	-	-	0 – 125
Qtc	-	370	400	-	450 (ou aumento > 50)
FA	-	-	-	-	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	nenhum	Cefaléia, mialgia	Cefaléia, mialgia, artralgia	--

**Paciente EV 03**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	21	18	-	65	0 – 32
TGP	15	15	-	59	0 – 31
Linfócitos	23	-	-	63	20 – 33
Neutrófilos	70	-	-	63	50 – 60
Htc	-	41,0	-	39,4	37 – 48
Eosinófilos	2	-	-	1	1 – 4
Hgb	-	13,6	-	13,5	12 – 15
Amilase	137	-	-	-	0 – 125
Qtc	-	-	-	380	450 (ou aumento > 50)
FA	209	-	-	-	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	Prurido, dificuldade em engolir, boca seca	Prurido, pápulas na pele, artralgia, cansaço	Mialgia, artralgia, náusea, sono, sede	--

**Paciente EV 04**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	20	-	62	25	0 – 32
TGP	19	-	50	28	0 – 31
Linfócitos	27	-	36	40	20 – 33
Neutrófilos	53	-	61	49	50 – 60
Htc	-	-	-	-	42 - 56
Eosinófilos	13	-	17	3	1 – 4
Hgb	-	-	-	-	14 - 18
Amilase	105	-	66	80	0 – 125
Qtc	-	-	410	-	450 (ou aumento > 50)
FA	-	-	411	634	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	nenhum	Artralgia, enjôo	nenhum	--

**Paciente EV 05**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	15	19	16	16	0 – 32
TGP	1	21	17	15	0 – 31
Linfócitos	28	43	37	38	20 – 33
Neutrófilos	64	53	49	52	50 – 60
Htc	49,5	43,1	43,6	41,2	42 - 56
Eosinófilos	-	2	8	4	1 – 4
Hgb	15,9	13,7	13,7	13,7	14 - 18
Amilase	-	127	86	-	0 – 125
Qtc	-	-	410	500	450 (ou aumento > 50)
FA	230	207	-	197	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	nenhum	nenhum	mialgia	--

**Paciente EV 06**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	26	18	25	-	0 – 32
TGP	60	37	45	-	0 – 31
Linfócitos	22	27	22	-	20 – 33
Neutrófilos	72	66	72	-	50 – 60
Htc	-	-	-	44,7	42 - 56
Eosinófilos	1	1	1	-	1 – 4
Hgb	-	-	-	14,4	14 - 18
Amilase	113	-	-	128	0 – 125
Qtc	370	-	-	-	450 (ou aumento > 50)
FA	65	182	145	-	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	nenhum	nenhum	nenhum	--

**Paciente EV 07**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	19	19	40	-	0 – 32
TGP	15	19	26	-	0 – 31
Linfócitos	38	20	19	-	20 – 33
Neutrófilos	55	55	69	-	50 – 60
Htc	-	39,3	34,4	-	42 - 56
Eosinófilos	4	20	8	-	1 – 4
Hgb	12,9	13,1	11,6	-	14 - 18
Amilase	63	-	-	-	0 – 125
Qtc	-	450	530	-	450 (ou aumento > 50)
FA	151	143	-	-	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	Mialgia, artralgia, febre	artralgia	(tratamento suspenso)	--

**Paciente EV 08**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	19	21	32	54	0 – 32
TGP	16	18	29	55	0 – 31
Linfócitos	33	20	27	21	20 – 33
Neutrófilos	63	73	71	68	50 – 60
Htc	-	39,7	35,6	42,5	37 – 48
Eosinófilos	1	3	1	3	1 – 4
Hgb	13,2	13,5	11,8	13,7	12 – 15
Amilase	98	-	-	-	0 – 125
Qtc	390	440	430	390	450 (ou aumento > 50)
FA	202	183	-	319	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	nenhum	nenhum	artralgia	--

**Paciente EV 09**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	30	36	42	35	0 – 32
TGP	44	43	38	31	0 – 31
Linfócitos	34	31	31	35	20 – 33
Neutrófilos	61	63	65	59	50 – 60
Htc	43,3	43,3	43,8	38,4	37 – 48
Eosinófilos	2	1	1	4	1 – 4
Hgb	13,7	14,1	14,5	12,8	12 – 15
Amilase	102	199	188	111	0 – 125
Qtc	-	380	420	-	450 (ou aumento > 50)
FA	125	149	161	186	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	Cefaléia, artralgia	nenhum	nenhum	--

**Paciente EV 10**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	17	-	-	22	0 – 32
TGP	11	-	-	19	0 – 31
Linfócitos	45	-	37	36	20 – 33
Neutrófilos	48	-	56	61	50 – 60
Htc	47,0	-	41,6	44,7	42 - 56
Eosinófilos	5	-	4	-	1 – 4
Hgb	15,2	-	14,6	15,1	14 - 18
Amilase	61	-	-	52	0 – 125
Qtc	-	-	420	-	450 (ou aumento > 50)
FA	190	-	257	285	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	nenhum	nenhum	nenhum	--

**Paciente EV 11**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	98	35	23	31	0 – 32
TGP	48	19	15	25	0 – 31
Linfócitos	30	26	37	30	20 – 33
Neutrófilos	49	65	54	57	50 – 60
Htc	44,3	36,3	40,1	35,2	42 - 56
Eosinófilos	4	5	2	10	1 – 4
Hgb	14,7	11,9	13,0	11,5	14 - 18
Amilase	127	179	158	140	0 – 125
Qtc	360	410	-	360	450 (ou aumento > 50)
FA	313	167	165	149	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	febre	nenhum	nenhum	--

**Paciente EV 12**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	20	31	22	27	0 – 32
TGP	22	39	28	30	0 – 31
Linfócitos	-	-	-	-	20 – 33
Neutrófilos	52	63	63	44	50 – 60
Htc	45,7	45,4	44,5	43,2	42 - 56
Eosinófilos	15	5	4	23	1 – 4
Hgb	15,3	15,6	14,9	14,6	14 - 18
Amilase	-	111	92	69	0 – 125
Qtc	-	-	390	-	450 (ou aumento > 50)
FA	178	203	203	204	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	nenhum	Redução no apetite	Redução no apetite e mialgia	--

**Paciente EV 13**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	16	19	19	18	0 – 32
TGP	6	9	12	10	0 – 31
Linfócitos	25	20	23	22	20 – 33
Neutrófilos	65	73	66	69	50 – 60
Htc	47,1	42,2	42,6	40,8	42 - 56
Eosinófilos	6	3	6	4	1 – 4
Hgb	16,0	14,1	14,5	13,9	14 - 18
Amilase	88	162	131	118	0 – 125
Qtc	-	360	-	-	450 (ou aumento > 50)
FA	145	125	-	171	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	Mialgia	nenhum	Mialgia	--

**Paciente EV 14**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	22	25	24	25	0 – 32
TGP	27	46	36	25	0 – 31
Linfócitos	33	-	36	39	20 – 33
Neutrófilos	59	-	53	54	50 – 60
Htc	41,8	-	41,0	42,6	42 - 56
Eosinófilos	3	-	3	2	1 – 4
Hgb	14,8	-	13,6	14,0	14 - 18
Amilase	55	-	-	74	0 – 125
Qtc	330	350	330	-	450 (ou aumento > 50)
FA	156	-	-	-	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	Cefaléia, hipotensão	nenhum	Cefaléia	--

**Paciente EV 15**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	23	34	27	24	0 – 32
TGP	41	61	44	37	0 – 31
Linfócitos	38	42	34	36	20 – 33
Neutrófilos	50	47	56	55	50 – 60
Htc	42,7	41,3	41,8	41,6	42 - 56
Eosinófilos	6	2	4	2	1 – 4
Hgb	14,6	14,4	14,3	15,2	14 - 18
Amilase	78	-	126	-	0 – 125
Qtc	-	-	-	-	450 (ou aumento > 50)
FA	-	177	189	-	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	Mialgia, artralgia, descamação da pele	Mialgia, artralgia	Fraqueza muscular	--

**Paciente EV 17**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	18	19	21	27	0 – 32
TGP	15	19	29	35	0 – 31
Linfócitos	48	38	37	38	20 – 33
Neutrófilos	49	50	58	52	50 – 60
Htc	35,0	33,9	36,2	35,4	42 - 56
Eosinófilos	-	8	2	7	1 – 4
Hgb	11,7	11,6	11,6	11,7	14 - 18
Amilase	-	114	134	-	0 – 125
Qtc	-	-	-	-	450 (ou aumento > 50)
FA	-	281	-	313	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	Mialgia e febre	nenhum	nenhum	--

**Paciente EV 18**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	18	99	31	41	0 – 32
TGP	23	178	85	46	0 – 31
Linfócitos	43	36	41	35	20 – 33
Neutrófilos	47	47	49	50	50 – 60
Htc	46,9	48,2	46,7	42,9	42 - 56
Eosinófilos	8	11	6	9	1 – 4
Hgb	15,5	15,8	16,1	14,9	14 - 18
Amilase	59	87	-	93	0 – 125
Qtc	-	-	370	-	450 (ou aumento > 50)
FA	150	177	178	-	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	nenhum	nenhum	artralgia	--

**Paciente EV 19**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	-	50	91	-	0 – 32
TGP	-	58	181	-	0 – 31
Linfócitos	-	36	-	-	20 – 33
Neutrófilos	-	51	-	-	50 – 60
Htc	-	47,0	-	-	42 - 56
Eosinófilos	-	4	-	-	1 – 4
Hgb	-	16,1	-	-	14 - 18
Amilase	-	148	-	-	0 – 125
Qtc	-	-	-	-	450 (ou aumento > 50)
FA	-	-	-	-	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	nenhum	prurido	nenhum	--

**Paciente BD 01**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	19	-	19	6	0 – 32
TGP	17	-	18	3	0 – 31
Linfócitos	34	33	28	34	20 – 33
Neutrófilos	58	62	67	53	50 – 60
Htc	41,9	45,0	44,9	43,0	42 - 56
Eosinófilos	2	2	2	5	1 – 4
Hgb	14,5	15,5	15,3	14,4	14 - 18
Amilase	-	109	-	-	0 – 125
Qtc	-	-	346	-	450 (ou aumento > 50)
FA	161	-	-	-	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	nenhum	nenhum	nenhum	--

**Paciente BD 02**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	80	83	49	45	0 – 32
TGP	65	68	46	39	0 – 31
Linfócitos	50	71	56	53	20 – 33
Neutrófilos	40	26	40	41	50 – 60
Htc	37,1	38,1	34,2	39,2	37 – 48
Eosinófilos	2	1	2	2	1 – 4
Hgb	12,0	12,4	11,4	12,3	12 – 15
Amilase	-	-	-	-	0 – 125
Qtc	440	430	430	380	450 (ou aumento > 50)
FA	759	479	-	389	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	mialgia	mialgia	artralgia	--

**Paciente IL 01**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	19	-	24	18	0 – 32
TGP	15	-	18	17	0 – 31
Linfócitos	26	30	38	33	20 – 33
Neutrófilos	65	65	55	59	50 – 60
Htc	-	44,5	44,5	47,3	42 - 56
Eosinófilos	4	1	5	3	1 – 4
Hgb	-	15,0	15,5	15,1	14 - 18
Amilase	77	96	66	84	0 – 125
Qtc	-	-	-	-	450 (ou aumento > 50)
FA	145	134	132	176	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	nenhum	nenhum	Prurido, artralgia	--

**Paciente IL 02**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	22	25	18	-	0 – 32
TGP	42	56	40	-	0 – 31
Linfócitos	-	30	25	-	20 – 33
Neutrófilos	-	65	71	-	50 – 60
Htc	-	45,6	42,9	-	37 – 48
Eosinófilos	-	2	1	-	1 – 4
Hgb	-	15,6	14,8	-	12 – 15
Amilase	48	53	41	-	0 – 125
Qtc	400	-	510	-	450 (ou aumento > 50)
FA	342	318	364	-	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	Dor no local da aplicação	nenhum	(suspendeu o tratamento)	--

**Paciente IL 03**

<b>Parâmetro</b>	<b>Inicial</b>	<b>1 semana</b>	<b>2 semanas</b>	<b>Final do tratamento</b>	<b>Valores de referência</b>
TGO	14	5	15	15	0 – 32
TGP	9	1	13	10	0 – 31
Linfócitos	-	26	26	30	20 – 33
Neutrófilos	-	65	67	61	50 – 60
Htc	-	45,6	43,8	47,8	42 - 56
Eosinófilos	-	2	2	1	1 – 4
Hgb	-	15,7	14,7	15,9	14 - 18
Amilase	62	128	-	72	0 – 125
Qtc	-	-	-	-	450 (ou aumento > 50)
FA	105	370	106	108	65 – 300
Efeitos Sintomáticos	--	Prurido no local da lesão	nenhum	nenhum	--

## ANEXO II

### Formulário de acompanhamento dos pacientes

Ficha de acompanhamento do paciente				
Nome do paciente:		Sexo: ( ) F ( ) M	Idade:	
Data do início do tratamento: / /	Modo de tratamento: ( ) endovenoso ( ) intralesional		Código do paciente:	
Número de lesões:	Local das lesões:			
Fumante:	Profissão:			
Já teve Leishmaniose? Quando? De qual tipo?				
Em caso afirmativo, qual foi o tratamento?				
Data de coleta	Tipo de amostra		Efeitos colaterais apresentados no momento	Características das lesões
	( ) sangue	cód.		
	( ) pele sadia	cód.		
	( ) pele da lesão	cód.		
	( ) sangue	cód.		
	( ) pele sadia	cód.		
	( ) pele da lesão	cód.		
	( ) sangue	cód.		
	( ) pele sadia	cód.		
	( ) pele da lesão	cód.		
	( ) sangue	cód.		
	( ) pele sadia	cód.		
	( ) pele da lesão	cód.		