

Hélder José de Oliveira e Sá

Agentes quelantes com utilização terapêutica



Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências e de Saúde

Porto, 2013

Hélder José de Oliveira e Sá

Agentes quelantes com utilização terapêutica



Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências e de Saúde

Porto, 2013

Hélder José de Oliveira e Sá

Agentes quelantes com utilização terapêutica

Trabalho original realizado por:

“Trabalho apresentado à Universidade
Fernando Pessoa como parte dos
requisitos para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas”

Sumário

As acumulações de metais no organismo humano podem ser resultado de disfunções genéticas que alteram o metabolismo dos metais no organismo, tais como a hemocromatose, a β -talassemia ou a doença de Wilson mas, também podem ser resultado de intoxicações por metais exógenos, como por exemplo, por chumbo, cádmio ou mercúrio, entre outros.

Os agentes quelantes têm sido o tratamento de eleição nestas situações, pois permitem sequestrar os íons metálicos, formando quelatos, que possibilitam a sua eliminação do organismo.

Apesar de existirem vários agentes quelantes disponíveis na terapêutica (EDTA, DTPA, dimercaptopropanol, penicilamina, desferroxamina, etc.), alguns efeitos colaterais graves e os inconvenientes da sua administração, têm levado ao desenvolvimento de análogos com melhores características, tais como: menor toxicidade, maior solubilidade em água, maior resistência à biotransformação, maior capacidade de atingir os locais onde os metais estão armazenados no organismo e a excreção mais rápida do quelato.

Abstract

The accumulation of metals in the human organism may result from genetic disorders that alter the normal metabolism of metals in the body, such as hemochromatosis, beta-thalassemia or Wilson's disease but it may also come from poisoning by exogenous metals such as for example, lead, cadmium or mercury, among others.

Chelating agents have been the treatment of choice in these situations because they allow metal ions sequestration, forming chelates which enable their removal from the body.

Although there are several therapeutic chelating agents available (EDTA, DTPA, dimercaprol, penicillamine, deferoxamine, etc.), the serious side effects, drawbacks in the drug administration and absence of metal binding specificity, have led to the development of analogs with improved characteristics such as: lower toxicity, higher water solubility, greater biotransformation resistance, improved ability to reach metals storage locations and faster excretion of the chelate.

Agradecimentos

Agradeço a todos os que me acompanharam ao longo da minha vida acadêmica: professores, familiares, colegas e amigos, que me deram alento e coragem nos momentos de maior dificuldade e que em muito contribuíram para a construção do cidadão e homem que hoje sou e futuro farmacêutico que virei a ser.

Manifesto a minha gratidão à Universidade Fernando Pessoa que me possibilitou as melhores condições de aprendizagem e docentes que me dotaram de conhecimentos e com quem tive o privilégio de privar ao longo da minha licenciatura.

À professora Doutora Renata Souto e à Doutora Adriana Pimenta, o meu muitíssimo obrigada por todo o tempo disponibilizado, por toda a paciência dedicada ao longo da elaboração deste trabalho. Agradeço a disponibilidade e receptividade que sempre tiveram para me ajudar no que fosse preciso, bem como a sua preciosa experiência no tema tratado nesta dissertação.

Às minhas amigas Bianca Castro e à Daniela Brandão, agradeço por todos os conselhos sábios que me foram dando, por toda a paciência e carinho cedidos em todos os momentos que mais necessitei.

Por fim, o meu muitíssimo obrigada a todos os que tornaram esta etapa da minha vida possível de finalizar, quer tenham estado envolvidos direta ou indirectamente nela.

Índice

	Página
I. Introdução	1
II. Metais	5
1. Intoxicação por metais	5
2. Caracterização dos principais metais tóxicos	6
i. Chumbo	6
ii. Arsénio	9
iii. Cádmio	10
iv. Mercúrio	12
v. Ferro	13
vi. Cobre	16
3. Patologias relacionadas com o desequilíbrio na homeostasia dos metais	21
i. Talassemia	21
ii. Hemocromatose	26
iii. Doença de Wilson	32
III. Agentes Quelantes	37
1. Definição e propriedades dos agentes quelantes	37
2. Dureza dos iões metálicos e ligandos	39
3. Eficácia dos agentes quelantes <i>in vivo</i>	40
4. Agente quelante ideal e as suas limitações na terapia	41
5. Agentes quelantes usados em terapia	42
i. 2,3-dimercaptopropanol	42
ii. Ácido 2,3-dimercaptosuccínico	44
iii. Novos análogos do ácido 2,3-dimercaptosuccínico	45
iv. 2,3-dimercaptopropano-1-sulfonato	46
v. Edetato dissódico de cálcio	47
vi. Ácido dietileno-triamino-pentaacético	48
vii. D-Penicilamina	49
viii. Desferroxamina	50

Agentes quelantes com utilização terapêutica

ix.	Deferiprona	52
x.	Tetra-etileno-tetra-amina	53
xi.	Ácido Nitriloacético	53
IV.	Novas estratégias terapêuticas	56
V.	Conclusão	57
VI.	Bibliografia	59

Índice de figuras:

	Página
Figura 1: Estrutura química do 2-clorovinildicloroarsina (lewisite)	3
Figura 2: Ação do 2,3-dimercaptopropanol (BAL) como antídoto do lewisite	3
Figura 3: Solução injetável de BAL	4
Figura 4: Inibição enzimática da biossíntese do grupo heme pelo chumbo	8
Figura 5: Trajeto do cádmio no organismo até provocar efeitos adversos	11
Figura 6: Absorção de ferro heme e ferro não heme	15
Figura 7: Absorção, distribuição e excreção do cobre no organismo humano.	18
Figura 8: Diversas formas de talassemia alfa	23
Figura 9: Ação da hepcidina	27
Figura 10: Diagrama para o diagnóstico da hemocromatose hereditária	31
Figura 11: Anéis de Kayser-Fleischer	33
Figura 12: Formação do complexo metal/ligando usando ligandos mono, bi e polidentado	37
Figura 13: Estrutura química do 2,3-dimercaptopropanol	43
Figura 14: Estrutura química do ácido meso-2,3-dimercaptossuccínico	44
Figura 15: Ésteres do ácido meso-2,3-dimercaptossuccínico	45
Figura 16: Estrutura química do DMPS	47
Figura 17: Estrutura química do CaNa_2EDTA	48
Figura 18: Estrutura química do ácido dietileno-triamino-pentaacético	49
Figura 19: Estrutura química da D-penicilamina	50
Figura 20: Estrutura química da desferroxamina	51
Figura 21: Formação de dois complexos entre o metal (M) e o agente quelante (C)	52
Figura 22: Estrutura química da deferiprona	53
Figura 23: Estrutura química da trientina	53
Figura 24: Estrutura química do ácido nitriloacético	54

Índice de tabelas:

	Página
Tabela 1: Resumo das principais fontes de intoxicação por metais e dos sinais e sintomas associados a essas intoxicações	19
Tabela 2: Eficácia da terapêutica combinada da desferroxamina com a deferiprona na redução dos níveis de ferritina no soro em pacientes com talassemia β <i>major</i>	26
Tabela 3: Valores de ferro em pacientes com hemocromatose hereditária	28
Tabela 4: Parâmetros bioquímicos de pacientes com doença de Wilson no momento do diagnóstico e no fim do estudo	36
Tabela 5: Agentes quelantes e as suas utilizações e efeitos adversos	54

Lista de abreviaturas:

A

ALA: Ácido δ -aminolevulínico

ALA-D: Ácido δ -aminolevulínico desidratase

ALA-S: Ácido δ -aminolevulínico sintetase

B

BAL: 2,3-Dimercaptopropanol

D

DAT: N1, N10-diacetiltriétilenotetramina

Dcytb: Citocromo B duodenal

DFO: Desferroxamina

DMPS: 2,3-dimercaptopropano-1-sulfonato

DMSA: Ácido meso-2,3-dimercaptossuccínico

DMT-1: Transportador de metal bivalente-1

DPA: D-penicilamina

DTPA: Ácido dietileno-triamino-pentaacético

E

EDTA: Ácido etileno diamina tetra-acético

EUA: Estados Unidos da América

F

FS: Ferritina sérica

H

HCH: Hemocromatose Hereditária

HCP1: Proteína transportadora do heme-1

HLA: Complexo maior de histocompatibilidade humano

H₂O₂: Peróxido de hidrogénio

I

IHF: Índice hepático de ferro

IL-6: Interleucina 6

IST: Índice de saturação da transferrina

L

L₁: Deferiprona

M

MAT: N1-acetiltriétilenotetramina

MchDMSA: Monociclohexil DMSA

MiADMSA: Monoisoamil-DMSA

MmDMSA: Monometil DMSA

N

NTA: Ácido nitrilotriacético

P

PFH: Provas de função hepática

T

TETA: Trientina

I. Introdução

Os metais são parte integrante da crosta terrestre e encontram-se principalmente na forma inorgânica. A exposição dos seres humanos a estes metais nos diversos ecossistemas resulta de diferentes fenómenos: atividades vulcânicas, combustão fóssil, incineração e indústria mineira. Sabe-se que, a contaminação do organismo pelos metais faz-se principalmente através da ingestão de alimentos e de água, ou através da inalação de ar ou de poeiras (Caussy et al., 2003).

Além de serem constituintes ativos da crosta terrestre, os metais são também parte integrante de muitos componentes estruturais e funcionais no corpo humano, apresentando grande relevância, em processos fisiológicos e patológicos (Flora e Pachauri, 2010). De fato, alguns metais intervêm em processos fisiológicos que envolvem o sistema nervoso central, sistema renal, sistema hematopoiético e sistema hepático. Assim é comum a classificação dos metais em dois grupos: metais essenciais e metais não essenciais. Os metais não essenciais (arsénio, cádmio, chumbo e mercúrio) não desempenham qualquer função fisiológica, enquanto que os metais essenciais (cobre, ferro, magnésio e zinco) participam em vários processos biológicos, agindo como, cofatores enzimáticos ou como grupos funcionais de proteínas, sendo indispensáveis para o normal funcionamento destes processos. Por exemplo, o ferro intervém em inúmeros processos importantes a nível fisiológico, nomeadamente no transporte de oxigénio, no metabolismo celular e também no desenvolvimento e diferenciação celular (Humphreys et al., 2012). No entanto, esta classificação não é absoluta, visto que, todos os metais presentes no organismo sejam eles essenciais ou não, podem causar toxicidade, caso a sua concentração seja elevada (Sinicropi et al., 2010). Assim, concentrações elevadas de metais essenciais como ferro e o cobre, podem tornar-se prejudiciais pois ambos têm um papel ativo em processos de oxidação-redução desencadeando uma reação, designada reação de Fenton (Equação 1), que leva à formação de um potente radical oxidante (hidroxilo) a partir do peróxido de hidrogénio (H_2O_2). Este grupo hidroxilo tem a capacidade de remover um átomo de hidrogénio dos ácidos gordos polinsaturados da membrana celular que, por sua vez, promove a peroxidação lipídica, resultando na acumulação de hidroperóxidos que destroem a estrutura e função da membrana.



Equação 1: Reação de Fenton

Em países mais industrializados, estes problemas são mais prementes uma vez que o aumento das indústrias implica um acréscimo da libertação de metais para o ecossistema e um conseqüente agravamento dos processos de toxicidade a eles associados.

No caso do Homem, o organismo apresenta mecanismos de defesa que tentam impedir o desenvolvimento de efeitos prejudiciais devidos à acumulação de metais, induzindo o transporte dos metais ligados a proteínas (transferrina, ferritina e ceruloplasmina). Outro mecanismo de defesa do organismo, é promovido pelos antioxidantes que têm como principal função a inibição ou redução dos efeitos negativos provocados nas células pelas espécies reativas de oxigênio. Existe uma grande variedade de substâncias antioxidantes, cuja classificação é feita de acordo com a função ou origem, em antioxidantes dietéticos ou antioxidantes intra e extracelulares (Koury e Donangelo, 2003).

No entanto, estes mecanismos biológicos de defesa podem não ser suficientes sendo necessária a administração de um agente quelante, adequado à intoxicação em causa, que possibilita a eliminação do metal do organismo, principalmente pela via renal (Andersen, 2004). Estes agentes químicos usados na terapia são macromoléculas (orgânicas ou inorgânicas) que se ligam a íões metálicos formando uma estrutura estável, em forma de anel, designada de quelato. O termo quelato, aplicado pela primeira vez em 1920 por Gilbert T. Morgan e H. D. K. Drew (Flora e Pachauri, 2010), deriva da palavra grega “chele” que significa pinça, uma vez que se forma uma estrutura heterocíclica entre o agente quelante e o metal que se assemelha às pinças de um caranguejo.

São vários os fatores que influenciam a ocorrência deste processo de quelatação (Vilensky e Redman, 2003):

- Natureza do metal, forma química e estado de oxidação.
- Agente quelante (tamanho do anel heterocíclico, grau de dureza dos doadores e aceitadores de electrões e estabilidade do complexo).

- Via de administração, biodisponibilidade, metabolismo, distribuição e excreção.

O primeiro agente quelante sintetizado por um grupo de bioquímicos em Oxford em 1940 foi o 2,3-dimercaptopropanol mais conhecido por British anti-lewisite (BAL). A descoberta deste quelante deveu-se à necessidade do ministério britânico em sintetizar um antídoto destinado ao combate de um potente gás tóxico usado como arma química o 2-clorovinildicloroarsina vulgarmente conhecido como lewisite (Figura 1).

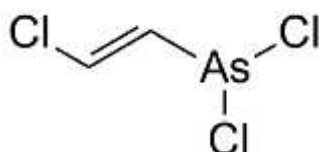


Figura 1: Estrutura química do 2-clorovinildicloroarsina (lewisite).

O lewisite é um composto organoclorado de arsénio, com grande afinidade para o grupos sulfidrilo (-SH) que atua como vesicante sobre a pele e mucosas, afetando também os pulmões e causando outros efeitos sistêmicos. Foi sintetizado em 1904, durante um trabalho de doutoramento de um estudante da Universidade Católica da América, e redescoberto no final da primeira guerra mundial por W. Lee Lewis que dirigia uma investigação sobre armas químicas. Apesar da síntese industrial deste material tóxico (posteriormente designado “orvalho da morte”) ter sido demasiado tardia para o seu uso durante a primeira guerra mundial, ele foi considerado um dos mais potentes agentes químicos de guerra (Vilensky e Redman, 2003). Assim, com o início da segunda grande guerra, o governo britânico financiou o desenvolvimento de antídotos para este e outros agentes químicos, que levou então à descoberta e fabrico do BAL como forma de combate ao lewisite (Figura 2).

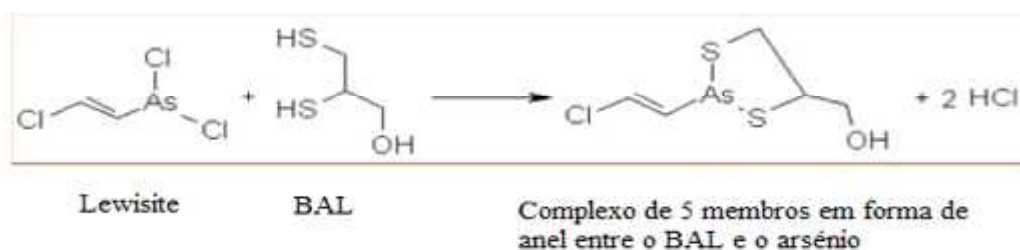


Figura 2: Ação do 2,3-dimercaptopropanol (BAL) como antídoto do lewisite (Flora e Pachauri, 2010).

A ação do BAL como antídoto deve-se à formação de um complexo pentagonal com o arsénio pertencente à cadeia do lewisite, promovendo assim, uma maior eliminação de este potente agente químico. Melhorias na síntese do antídoto permitiram o fabrico de soluções injectáveis (Figura 3) e pomadas, que revelaram ter uma elevada eficácia no tratamento (Vilensky e Redman, 2003).



Figura 3: Solução injetável de BAL (Vilensky e Redman, 2003)

Após a segunda guerra mundial, este agente passou a ser utilizado no tratamento de intoxicações por chumbo, mercúrio, ouro, arsénio e cobre, sendo esta última geralmente associada à doença de Wilson.

Durante a década de 1950, outros agentes quelantes - o ácido meso-2,3-dimercaptossuccínico (DMSA) e o 2,3-dimercaptopropano-1-sulfonato (DMPS) - começaram a ser utilizados na China e na antiga união soviética. Passadas duas décadas verificou-se a extensão do seu uso para os países ocidentais como antídoto para vários metais bivalentes. Já a desferroxamina (DFO), outro agente quelante, conheceu o seu uso, no ano de 1962, em pacientes com beta-talassemia por promover a eliminação do ferro pela via renal (Andersen e Aaseth, 2002).

No entanto, a utilização de um agente quelante acarreta inúmeros efeitos adversos graves, designadamente a redistribuição do metal tóxico, a eliminação de um metal essencial, a incapacidade de remoção do metal tóxico a nível intracelular, náuseas, cefaleias, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade. Assim, têm sido desenvolvidos análogos com melhores características que variam desde uma menor toxicidade, maior solubilidade em água, maior resistência à biotransformação e maior capacidade de atingir os locais onde os metais estão armazenados no organismo. São exemplos desses análogos o monoisoamil-DMSA (MiADMSA) e o monociclohexil DMSA (MchDMSA) (Flora e Pachauri, 2010).

II. Metais

1. Intoxicação por metais

A capacidade de ligação e as formas químicas do metal (elementares, orgânicos e inorgânicos), são dois dos parâmetros que condicionam a intoxicação por metais. A forma química influencia a farmacocinética do metal desde a sua absorção, distribuição até à capacidade de atingir o seu local de ação. As formas orgânicas são geralmente lipofílicas, e por consequência, atravessam mais facilmente as barreiras biológicas como a barreira gastrointestinal, a placenta e a barreira hematoencefálica. Já os metais na forma inorgânica têm natureza hidrofílica tendo por isso uma maior tendência a provocar toxicidade a nível renal (Sinicropi et al., 2010). O nível de toxicidade dos metais depende também da dose e tempo de exposição, e da via de exposição.

A interação e toxicidade de um elemento no organismo humano, pode ser dividida em três fases:

- 1. A fase da absorção:** A absorção de um metal difere consoante a via de exposição, visto que, a absorção gastrointestinal é diferente da absorção pulmonar e da absorção dérmica.
- 2. A fase de transporte:** O transporte ocorre geralmente pela corrente sanguínea e posteriormente passa para os fluídos celulares provocando os seus efeitos tóxicos. Normalmente os metais são transportados ligados a macromoléculas (proteínas, enzimas e polipéptidos), formando complexos com o metal. Contudo, o efeito tóxico dos metais deve-se essencialmente à interação com os grupos sulfidrilo (-SH) dos sistemas enzimáticos, provocando diversas alterações bioquímicas a nível subcelular, que desencadeiam sintomas clínicos localizados ou sistémicos.
- 3. A fase de excreção:** A excreção ocorre essencialmente pela via renal e fecal, sendo menos importante a excreção pelas unhas, cabelo e pele (Tavares e Carvalho, 1992).

A intoxicação por metais pode ser aguda, sub-aguda ou crónica. Na intoxicação aguda os sintomas surgem rapidamente (geralmente após algumas horas) e por um curto período de tempo. Os sintomas característicos são nítidos, objetivos e de fácil identificação. Vômitos, diarreia, cefaleia, náuseas e dores oculares são os principais sintomas deste tipo de intoxicação (Lopes et al., 2001; Flora e Pachauri, 2010). A intoxicação sub-aguda ocorre por exposição repetida a pequenas doses e tem aparecimento mais lento. Os sintomas são subjetivos e vagos (dor de cabeça, fraqueza, mal-estar, dor de estômago e sonolência, entre outros) havendo por isso o risco de ser mal definida e mal diagnosticada, podendo evoluir para uma intoxicação crónica. A intoxicação crónica resulta da exposição prolongada a doses pequenas ou moderadas de um ou mais agentes e manifesta-se tardiamente. Pode acarretar danos que incluem o desenvolvimento de paralisias, carcinomas e mal formações congénitas após o período de latência (Flora e Pachauri, 2010). Distúrbios do sistema nervoso central, delírios, alucinações, irritabilidade, mudança de personalidade, tremores, perspiração excessiva e perda de memória são os sintomas geralmente associados à intoxicação crónica (Lopes et al., 2001).

Nas intoxicações por metais, as crianças e os idosos são os grupos mais suscetíveis, destacando-se no entanto as crianças como o grupo mais sensível, porque em comparação com um adulto apresentam uma maior absorção gastrointestinal e maior permeabilidade da pele, visto que, a sua área de superfície é maior em relação ao seu peso corporal, permitindo assim, uma maior absorção percutânea em comparação com um adulto (Amler et al., 2003; Sinicropi et al., 2010).

Tal como anteriormente referido, a acumulação de metais no organismo pode resultar da exposição a fontes externas ou ser uma consequência de disfunções genéticas que alteram o metabolismo de alguns metais.

2. Caracterização dos principais metais tóxicos

2.i. Chumbo

A contaminação do ecossistema por chumbo resulta de atividades naturais e atividades exercidas pelo homem. Este é utilizado em diversas indústrias que envolvem o fabrico de baterias, pigmentos, plástico, revestimento de cabos, munições, verniz para cerâmicas, soldas, entre outros (Sinicropi et al., 2010). Sabe-se que o chumbo apresenta

duas formas tóxicas: o chumbo inorgânico, em que a intoxicação acontece essencialmente pelas vias respiratórias e digestivas, e o chumbo orgânico que, para além de causar intoxicação pelas vias anteriormente mencionadas, também pode ser absorvido pela pele (Moreira e Moreira, 2004). Na população em geral a absorção gastrointestinal é a via mais comum, sendo mais elevada em crianças (40%) do que em adultos (5-15%) (Sinicropi et al., 2010).

Após a absorção, o chumbo é distribuído por três compartimentos: sangue, tecidos moles (fígado, rins, medula óssea e cérebro), e tecidos mineralizados (ossos e dentes).

O seu tempo de semi-vida no sangue é cerca de 36 dias, 40 dias nos tecidos moles e 20 a 27 anos nos ossos (Moreira e Moreira, 2004).

As intoxicações agudas por chumbo não são muito frequentes e os seus sintomas incluem náuseas, vômitos, diarreia, fezes escuras, dor abdominal, anorexia, hipotermia e hipotensão. Em contrapartida, a intoxicação crónica, também conhecida por saturnismo, é mais frequente e está associada a quadros de anorexia, perda de peso, apatia ou irritabilidade, vômitos, fadiga, parestesias nas extremidades e anemia (Sinicropi et al., 2010).

Um dos efeitos tóxicos do chumbo é a inibição da síntese do grupo heme visto que é um potente inibidor enzimático, das enzimas ácido δ -aminolevulínico desidratase (ALA-D), coproporfirinogénio oxidase e ferroquelatase. Como consequência há acumulação do ácido δ -aminolevulínico (ALA), coproporfirinogénio III e protoporfirina IX (Figura 4). Um estudo realizado *in vivo* demonstrou que a enzima ácido δ -aminolevulínico sintetase (ALA-sintetase), que catalisa a formação do ALA através da reação da glicina com o succinil CoA, possui uma atividade aumentada devido à redução dos níveis do grupo heme. A inibição da ALA-D juntamente com o aumento da enzima ALA-sintetase provoca uma elevação acentuada dos níveis de ALA que, por possuir uma reduzida massa molecular, atravessa as membranas celulares levando a um aumento dos seus níveis no sangue, no soro e na urina, funcionando assim como um indicador biológico de uma intoxicação por chumbo (Shifer et al., 2005).

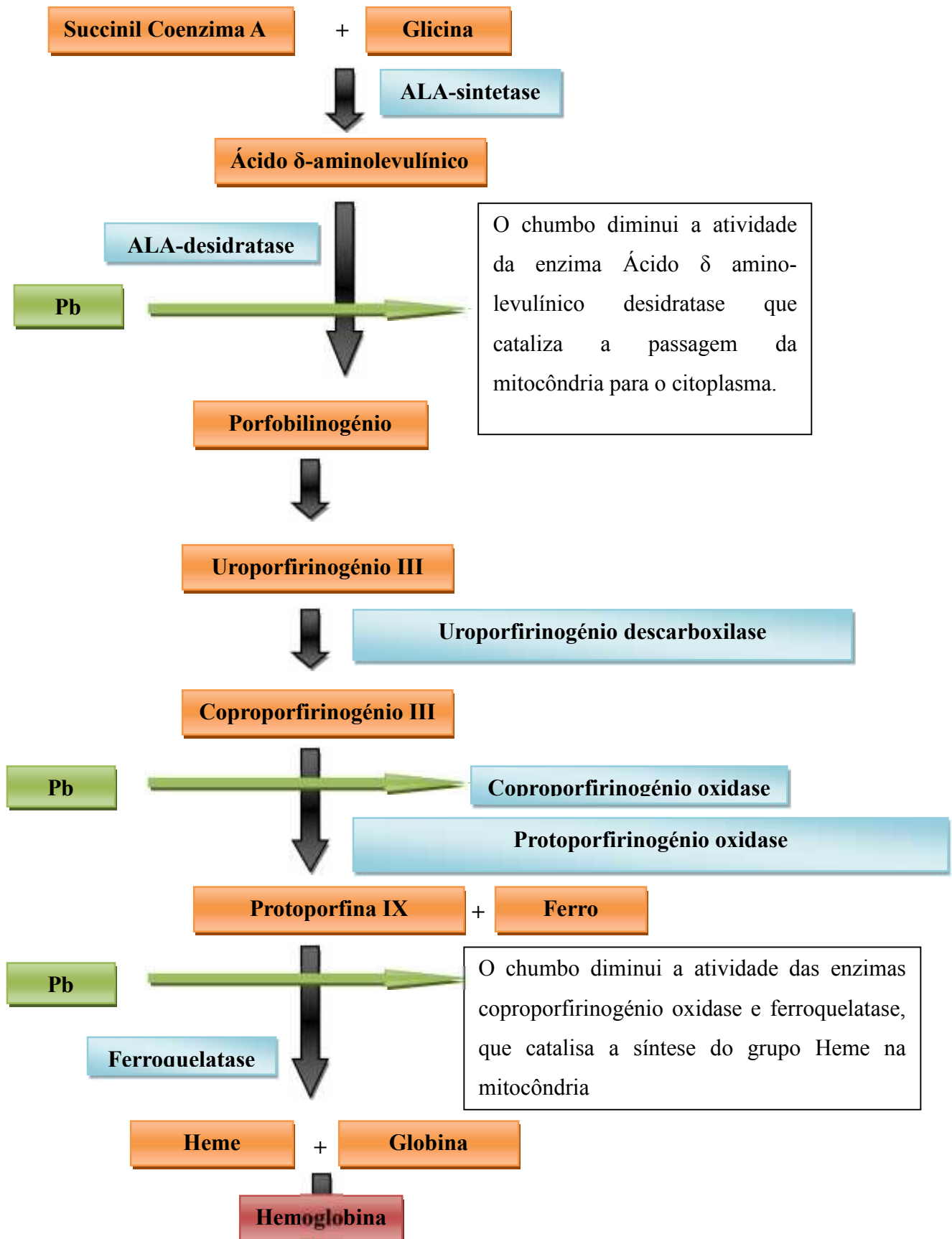


Figura 4: Inibição enzimática da biossíntese do grupo heme pelo chumbo (Silva, 2001).

2.ii. Arsénio

O grau de toxicidade do arsénio está relacionado com a forma química, nomeadamente a forma elementar, inorgânica ou orgânica. No entanto, as formas de arsénio inorgânico pentavalente e trivalente são consideradas as mais tóxicas (Sinicropi et al., 2010).

A intoxicação por arsénio pode ocorrer pela ingestão de alimentos, uso de medicamentos ou decorrente de atividades profissionais. Como o próprio nome indica, as intoxicações alimentares ocorrem devido à ingestão de alimentos e água contaminados pelo metal, onde o arsénio inorgânico é a forma química predominante. A intoxicação pelo consumo de medicamentos é provocada principalmente pela forma pentavalente de arsénio, usados com a finalidade de tratar diversas parasitoses. Estão também relatadas intoxicações por arsénio utilizando pastas dentífricas (Suarez et al., 2004).

A intoxicação por atividades no âmbito profissional pode ocorrer em inúmeras profissões de onde se destacam as indústrias farmacêutica, de pintura e do vidro, o fabrico de canalizações e a pirotecnia (Suarez et al., 2004).

Uma vez absorvido o trajeto do arsénio depende de diversos fatores nomeadamente, das reações de oxidação e de redução entre diferentes estados de oxidação de arsénio e das reações de metilação no fígado. No fígado o arsénio trivalente e o arsénio pentavalente são metabolizados a formas menos tóxicas - ácidos monometil arsénico e ácido dimetilarsínico - sendo posteriormente excretados pela via renal, impedindo assim a acumulação de arsénio no organismo. No entanto quando os níveis de arsénio absorvidos são demasiado elevados pode haver acumulação nas unhas e cabelos (Chen et al., 2012; Otles e Çaguindi, 2010).

São inúmeros os sintomas provocados pela intoxicação por arsénio, sendo várias as regiões do organismo afetadas: o sistema nervoso (causando delírios, desorientação, encefalopatia e convulsões), sistema gastrointestinal (náuseas, vômitos, dor abdominal e diarreias) e sistema renal (provocando danos graves no glomérulo e túbulos renais, levando à excreção de proteínas e hematúria).

São excelentes bioindicadores de intoxicação por arsénio o cabelo, a urina e o sangue sendo que relativamente a este último, a determinação só é possível no intervalo de 2 a

4 horas após a ingestão do metal. Já no que concerne à urina a identificação da intoxicação é possível num período mais alargado que pode ir até às 48 horas. Valores de arsénio próximos de 20 µg/L na urina são considerados normais, acima de 200 µg/L, indicam uma exposição elevada ao metal e acima de 500 mg/L apontam para concentrações muito tóxicas.

Após exposições muito longas ao metal os melhores bioindicadores são o cabelo e as unhas, onde se considera um valor inferior a 0,1 mg As/100 g como normal (Suarez et al., 2004).

2.iii. Cádmio

A concentração de cádmio nos ecossistemas é muito reduzida, estando associada a minérios de sulfuretos, zinco, chumbo e cobre (Sinicropi et al., 2010). Existem várias fontes de contaminação tais como:

- **Fontes naturais:** As maiores fontes naturais de cádmio na atmosfera são a atividade vulcânica e a erosão de rochas sedimentares e fosfatos marinhos.
- **Fontes industriais:** Na indústria da galvanoplastia (etapa que compreende a proteção do aço contra a corrosão), no fabrico de baterias, vidro, fotografias e pigmentos para tintas.
- **Fontes agrícolas:** Certos pesticidas fosfatados contendo cádmio provocam a contaminação de diversos alimentos como o arroz e o trigo (Navarro, 2007).

A intoxicação por cádmio na população em geral deve-se principalmente à ingestão de alimentos, ao fumo proveniente do tabaco e à exposição a resíduos industriais. Estima-se que a ingestão média se situe entre 8 a 25 µg por dia, sendo que, 80% provém da alimentação através do consumo de cereais, legumes e batatas (Sinicropi et al., 2010). A absorção de cádmio pela via gastrointestinal é aproximadamente 2 a 6% numa pessoa normal, mas se as reservas em ferro no organismo forem baixas, ocorre uma diminuição dos níveis de ferritina, que levam a um aumento da absorção do metal para 20% da dose ingerida. Pela via inalatória, por contato com o fumo de tabaco e exposição profissional, também são absorvidos níveis consideráveis de cádmio (Sinicropi et al., 2010).

Segundo os mesmos autores, o cádmio, após a absorção, liga-se à albumina e é transportado até ao fígado, promovendo a síntese da metalotioneína (proteína rica em cisteína). Ocorrido este mecanismo, o complexo metalotioneína-cádmio é libertado para o plasma, filtrado pelos glomérulos, onde posteriormente pode ser reabsorvido nos túbulos renais e clivado nos lisossomas libertando o ião Cd (II) o que por sua vez, provoca uma nova síntese de metalotioneína (Figura 5).

Pensa-se que, uma vez superada a capacidade de produção de metalotioneína, pode ocorrer o desenvolvimento de uma insuficiência renal. Por ser muito lenta a eliminação do cádmio (o tempo de semi-vida do cádmio varia entre 7 a 30 anos), este pode ficar acumulado no organismo, onde a sua concentração aumenta com a idade e o tempo de exposição (Navarro, 2007).

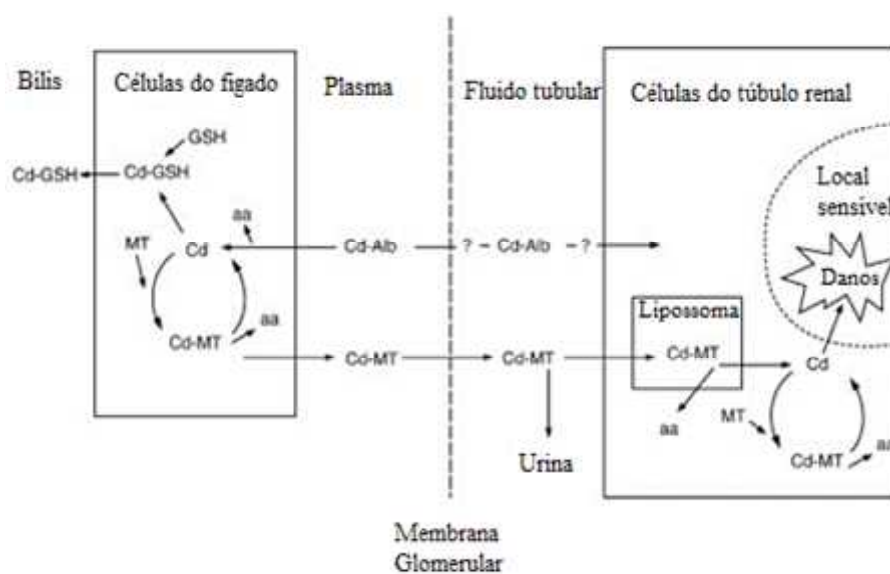


Figura 5: Trajeto do cádmio no organismo até provocar efeitos adversos. Cd- Cádmio; GSH- Glutaciona; MT- Metalotioneína (Sinicropi et al., 2010).

A toxicidade aguda por cádmio provoca edema pulmonar, hemorragia, hepatite fulminante, lesão testicular, podendo ser, em casos mais graves, fatal. Em contrapartida, a toxicidade crónica por cádmio pode provocar imunotoxicidade, nefrotoxicidade e osteotoxicidade. Mais recentemente este metal tem sido considerado como um potente carcinogénico humano, a nível do pulmão, próstata, pâncreas e rins (Sinicropi et al., 2010).

2.iv. Mercúrio

O mercúrio está presente essencialmente na crosta terrestre, sendo o cinábrio (HgS), a forma mais abundante. Nos inúmeros ecossistemas o mercúrio pode ser encontrado em três formas de oxidação diferentes (0, +1 e +2), na forma de vários complexos orgânicos, inorgânicos e na forma elementar, sendo esta última a mais predominante na atmosfera (Horvat, 1996).

As emissões de mercúrio originam-se a partir da evaporação de depósitos geológicos minerais, de atividades vulcânicas, da fotorredução do mercúrio bivalente em águas naturais e na formação biológica do dimetilmercúrio. O metilmercúrio, que corresponde à espécie mais tóxica de mercúrio, não é libertado pela atmosfera, resultando sim da atividade bacteriológica sobre o Hg (II) (Olivares, 2003).

Existem diversas aplicações para o mercúrio onde é usado devido às suas características fungicidas e antibacterianas em medicamentos, conservantes, em soluções nasais e oftálmicas, vacinas, produtos injetáveis, germicidas, diuréticos, e contraceptivos, podendo também ser utilizado em restaurações odontológicas, fabrico de pilhas, germicidas e fungicidas, em tintas e desinfetantes (Pavasi, 2006). A aplicação do mercúrio estende-se também a diferentes processos industriais que envolvem a fabricação de cloro e soda, aparelhos elétricos, lâmpadas, fungicidas, inseticidas, pigmentos, papel e instrumentos de medição (Olivares, 2003). Contudo, a utilização do mercúrio tem diminuído devido ao acordo mundial em 2009, com o objetivo de reduzir a exposição humana e ambiental a este elemento (WHO, 2012).

A forma orgânica de mercúrio é extremamente tóxica, por ser altamente lipossolúvel, apresentar uma elevada estabilidade e propriedades que permitem a sua passagem pelas membranas plasmáticas. A lipossolubilidade dos compostos organomercuriais facilita a absorção pela pele (até 100%) quando comparados aos compostos inorgânicos (Atsdr, 1999). Os vapores de mercúrio são incolores, inodoros, invisíveis e facilmente absorvidos pelos pulmões (cerca de 80%), constituindo a principal via de introdução de mercúrio metálico no organismo. Uma outra via de entrada de mercúrio é a via alimentar, através do consumo de peixe contaminado pelo metilmercúrio (Moreira et al., 1997). De fato, a biotransformação do mercúrio inorgânico em metilmercúrio representa um sério risco ambiental, uma vez que, este se acumula na cadeia alimentar aquática

através de um fenômeno denominado biomagnificação onde a concentração do metal aumenta à medida que se avança nos níveis tróficos. Assim, a concentração em mercúrio nos peixes predadores da extremidade da cadeia pode ser elevada, culminando, finalmente, no regime alimentar dos humanos (Moreira et al., 1997). No fígado é metabolizado a Hg elementar, sendo posteriormente eliminado na urina (60%) e nas fezes (40%), sob a forma de Hg (II) com um tempo de semi-vida de aproximadamente 60 dias, tal como o mercúrio inorgânico. O mercúrio orgânico, por sua vez, apresenta um tempo de semi-vida de 40 a 105 dias, sendo eliminado principalmente pela via biliar, após a complexação com a glutatona e cisteína no fígado. Os sintomas da intoxicação por mercúrio variam de acordo com o tempo de exposição e o tipo de mercúrio. Uma exposição aguda, geralmente rara, é provocada essencialmente pelo mercúrio elementar, desenvolvendo danos a nível pulmonar e caracterizando-se por dor torácica, dispneia, pneumonia e insuficiência pulmonar. Para além disso o mercúrio elementar, dada a sua natureza lipofílica pode atravessar facilmente a barreira hematoencefálica, induzindo danos a nível do sistema nervoso central. Neste caso, os sintomas caracterizam-se por polineuropatia, alucinações e perda de memória, entre outras. Em contrapartida, o mercúrio inorgânico pode danificar a mucosa da boca, faringe e intestino (Sinicropi et al., 2010). Em relação aos efeitos crónicos pela intoxicação do mercúrio, destacam-se principalmente os danos cerebrais, que podem levar à perda da coordenação motora, à alteração da fala, diminuição do campo visual e cegueira (Olivares, 2003).

2.v. Ferro

O ferro é indispensável para o equilíbrio do organismo, participando em múltiplos processos metabólicos como cofator para inúmeras enzimas, no transporte de oxigénio, na síntese de DNA e em reações químicas de oxidação-redução (Domingos, 2007).

A absorção de ferro pode ser classificada com base em dois tipos de ferro: ferro heme e ferro não heme. O ferro heme, que constitui a menor porção de ferro alimentar, é ingerido principalmente através de fontes animais provenientes de porções heme das hemácias do sangue desses animais. Já o ferro não heme, obtido a partir das fontes

vegetais e animais, é a maior porção de ferro alimentar. No entanto, a sua absorção é muito mais lenta dada a sua forte ligação a moléculas orgânicas (Santos, 2010).

A absorção de ferro dá-se principalmente no duodeno e jejuno, podendo ocorrer também em quantidade muito reduzida no estômago (Lima e Pedrozo, 2001). Cerca de 10% a 30% do ferro ingerido é absorvido, no entanto, existem fatores que podem alterar esta percentagem de absorção (Santos, 2010):

1. Fatores que favorecem a absorção:

- Períodos de escassez de ferro, períodos de crescimento (desenvolvimento das crianças) ou na gravidez em que a ferritina da mucosa fica reduzida, o que por sua vez, proporciona uma melhor absorção do ferro.
- Acidez e agentes redutores: O ácido clorídrico e o ácido ascórbico (vitamina C) promovem a absorção do ferro, através da sua ação redutora e o seu efeito sobre a acidez.
- Cálcio: O fosfato e o fitato competem com o ferro na absorção gastrointestinal, porém, na presença de cálcio, há remoção destes agentes (devido à sua ligação com o catião) minimizando assim este problema.

2. Fatores que dificultam a absorção

- Agentes ligantes: Os fosfatos, fitatos e oxalatos ligam-se ao ferro e diminuem a sua absorção. Por exemplo, o chá e café reduzem a absorção do ferro não heme.
- Secreções gástricas reduzidas: A realização de uma gastrectomia provoca a redução da secreção gástrica o que diminui a absorção de ferro.
- Infecção: Infecções graves dificultam a absorção de ferro.
- Doença gastrointestinal: Qualquer distúrbio que cause diarreia ou esteatorreia, leva a uma diminuição da absorção de ferro.

Normalmente a absorção de ferro ocorre em duas etapas: a absorção dos íons ferro (II) do lúmen intestinal para a mucosa intestinal e posterior transferência para o plasma onde se liga à transferrina, para ser transportado para os locais de armazenamento (Lima e Pedrozo, 2001). Os íons ferro (III), ou seja, no estado trivalente, provenientes dos vegetais e cereais, necessitam de ser convertidos em ferro (II) pela ação do citocromo B duodenal (Dcytb). Após a conversão são absorvidos pela ação do transportador de metal bivalente-1 (DMT-1). Por outro lado, o ferro heme é absorvido pela proteína transportadora do heme-1 (HCP1), localizada na membrana apical das células do duodeno (Figura 6) (Grotto, 2008).

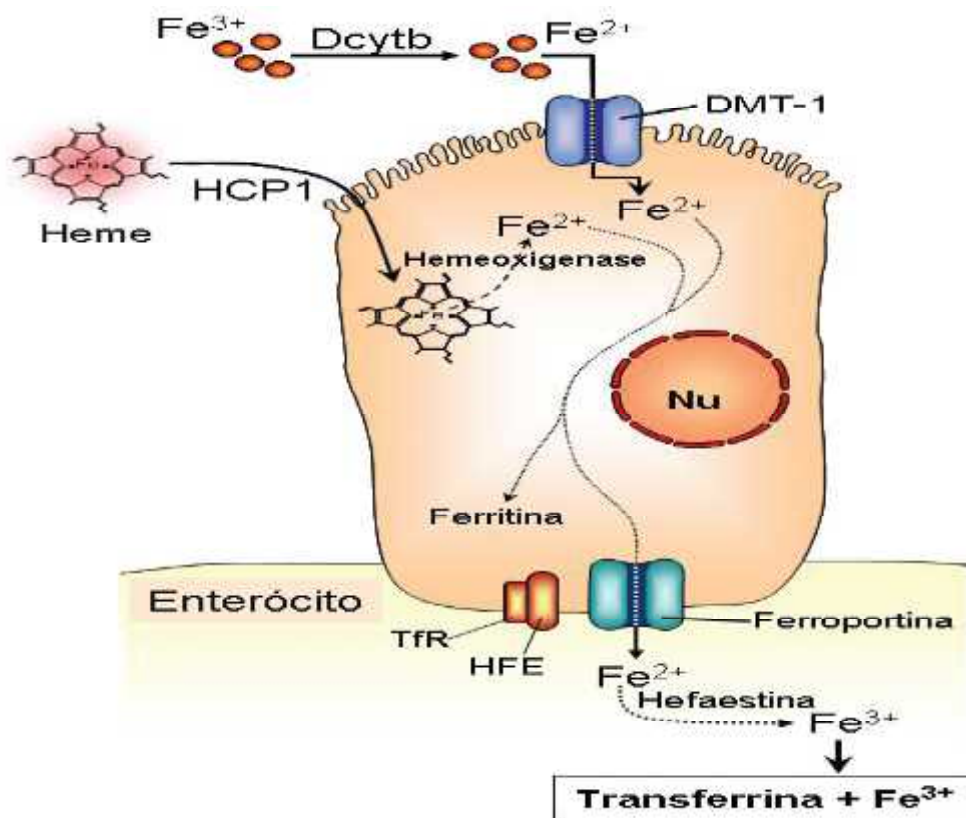


Figura 6: Absorção de ferro heme e ferro não heme. Dcytb - Citocromo B duodenal; DMT-1- Transportador de metal bivalente-1; HCP1- Proteína transportadora do heme-1 (Grotto, 2008).

Aproximadamente 2/3 do ferro está ligado à hemoglobina, 10% à mioglobina e enzimas contendo ferro e, o restante, encontra-se ligado à ferritina e hemossiderina que constituem locais de armazenamento intracelular (forma de proteção). A formação da ferritina deve-se à ligação do ferro à apoferritina, e encontra-se normalmente no fígado, baço, medula óssea e células reticuloendoteliais.

A eliminação do ferro é muito reduzida. No entanto, todo o ferro alimentar ingerido que não absorvido é eliminado pelas fezes (Lima e Pedrozo, 2001). A pequena quantidade de ferro excretado deriva, habitualmente, dos tecidos da pele que sofrem necrose, das células gastrointestinais e do sangue perdido durante a menstruação (Santos, 2010).

Quer o excesso quer a deficiência de ferro são extremamente prejudiciais, levando à disfunção do sistema imunológico com alteração nos órgãos linfóides, na função dos linfócitos, na resposta imune específica e na resistência do hospedeiro a agentes infecciosos. A deficiência em ferro no organismo pode levar ao desenvolvimento de uma anemia hipocrômica microcítica, enquanto que, o excesso de ferro no organismo pode provocar hemossiderose e hemocromatose (Lima e Pedrozo, 2001).

O ferro torna-se tóxico para o organismo quando não está ligado à transferrina, o que acontece quando a quantidade de ferro absorvido ultrapassa a capacidade de quelatação, ou seja, quando o organismo deixa de conseguir armazenar o ferro, resultando na libertação do ferro principalmente dos macrófagos, provocando a deposição do ferro nos hepatócitos e em outras células parenquimatosas.

O ferro livre atua como catalisador de reações oxidativas e conseqüentemente induz a síntese de radicais superóxidos e radicais hidroxilos. A conversão do superóxido em peróxido de hidrogénio (H_2O_2) pela superóxido dismutase causa peroxidação de lípidos da membrana de diversos organelos citoplasmáticos, levando a danos celulares, fibrose reativa e esclerose.

Os sintomas e os sinais clínicos da sobrecarga de ferro dependem da quantidade de ferro em excesso, da velocidade da acumulação de ferro e do tempo de exposição do organismo ao ferro livre. Os sintomas e os sinais clínicos caracterizam-se principalmente por: fadiga, artrite, dor abdominal, perda de peso, hepatomegalia, esplenomegalia, baixa estatura e artropatia. Todavia, com o decorrer do tempo e sem tratamento pode levar a casos mais graves tais como: cirrose hepática, insuficiência hepática, diabetes mellitus e hipotireoidismo (Cançado, 2007).

2.vi. Cobre

O cobre foi, provavelmente, o primeiro metal a ser descoberto e trabalhado pelo homem. O termo cobre é de origem latina, *cuprum*, que por sua vez, deriva da palavra

cyprium, utilizada para referir a ilha de Chipre, visto que, foi a principal fonte do metal do mundo antigo (Rodrigues et al., 2012). Este metal apresenta dois isótopos naturais estáveis ^{63}Cu , cuja abundância na natureza é de cerca de 69%, e o ^{65}Cu com 31%. A concentração do cobre na crosta terrestre é de cerca de 50 miligramas de cobre por quilo de solo (Román et al., 2010). Na natureza, o cobre é encontrado principalmente nos minerais calcocita, calcopirita e malaquita.

O cobre é um metal dúctil, maleável, excelente condutor elétrico e térmico, flexível, relativamente barato e muito resistente à corrosão. Quando combinado com outros elementos, apresenta número de oxidação +1, +2 e +3, sendo que o ião Cu^+ existente em soluções aquosas tende a sofrer dismutação passando a cobre sólido e a ião Cu^{2+} . No estado de oxidação +1 apresenta normalmente características insolúveis, diamagnéticas e cor branca, enquanto que, no estado de oxidação +2 tende a ser solúvel, paramagnético e colorido, sendo este último o estado mais abundante. Por outro lado, o cobre (III) é o que se encontra em menor quantidade, apresentando-se em apenas alguns compostos que geralmente são fortes agentes oxidantes (Rodrigues et al., 2012).

Segundo os mesmos autores, devido às suas propriedades, o cobre apresenta inúmeras utilizações, nomeadamente em equipamentos e sistemas elétricos, tais como geradores, transformadores, fios, cabos condutores, fogo de artifício, no fabrico de moedas e de obras de arte, entre outros.

O Cu^{2+} é um metal essencial aos seres vivos sendo a seguir ao ferro e zinco o metal mais abundante no organismo humano que necessita de uma ingestão diária recomendada de cerca de 2 a 5 mg de cobre (Rodrigues et al., 2012). Desempenha inúmeras funções entre as quais se destacam: a prevenção de anemia, doenças ósseas, danos celulares, participação na composição de um número elevado de proteínas e enzimas, realizando diversas funções nos processos bioquímicos (Rodrigues et al., 2012). O cobre dietético entra na circulação portal hepática após absorção a partir do intestino delgado (Figura 7). Nas células hepáticas, é processado e entra no sistema circulatório como cofator da ceruloplasmina (uma ferroxidase necessária para absorção de ferro pelo transferrina) ou ligado a várias pequenas proteínas ou ligantes, tais como a albumina ou a histidina. O excesso de Cu é excretado dos hepatócitos para a biliar e depois, para fora do corpo, nas fezes (Delange e Mintz, 2012; Pedrosa e Cozzolino, 1999). O fígado é, portanto, o órgão responsável pela distribuição de Cu por todo o

corpo, bem como a sua excreção, função que pode ser vista como desintoxicante. Todavia, se o metal for ingerido em concentrações muito elevadas ou em pacientes com a doença de Wilson (uma disfunção na homeostase de cobre devido a uma mutação no gene ATP7B que inibe a distribuição e desintoxicação de Cu no fígado, provocando uma sobrecarga de cobre no organismo) pode desencadear efeitos tóxicos.

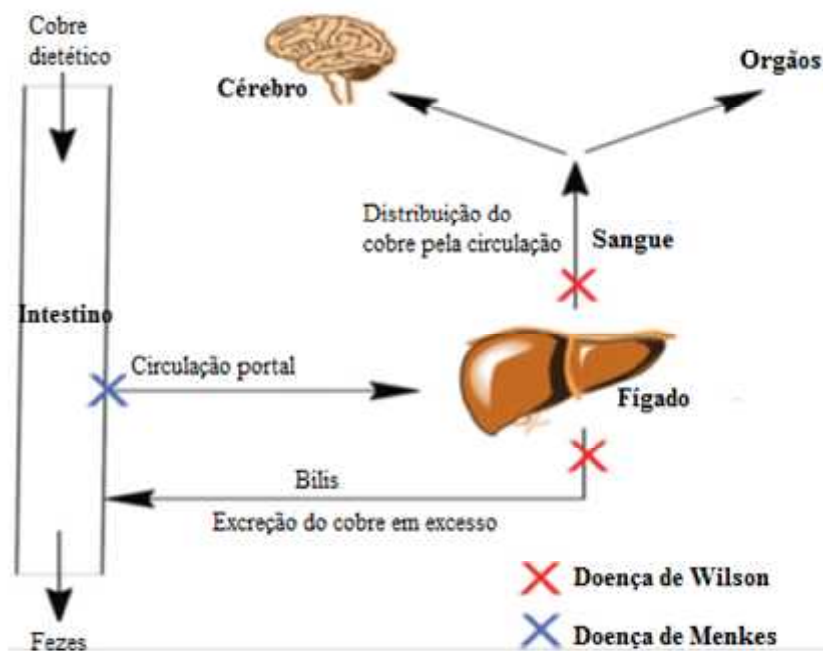


Figura 7: Absorção, distribuição e excreção do cobre no organismo humano. A doença de Wilson inibe a distribuição de cobre pelo organismo bem como eliminação do seu excesso pela via biliar (a vermelho). Na doença de Menkes não há absorção de cobre (a azul) (Delange e Mintz, 2012).

Por outro lado, condições como diarreias prolongadas, ingestão continuada de antiácidos e doses elevadas de zinco podem levar a uma deficiência em cobre. Esta situação caracteriza-se por anemia hipocrômica microcítica, anormalidades esqueléticas (especialmente a desmineralização), despigmentação da pele, dos cabelos e por fim, a produção deficiente de elastina (Román et al., 2010). Estes efeitos resultam fundamentalmente da alteração da função de diversos órgãos e enzimas. Há também uma patologia rara, designada de doença de Menkes que está também associada à deficiência em cobre. Trata-se de uma doença hereditária que resulta de uma mutação do gene ATP7A que desencadeia uma alteração no transporte intracelular de cobre, o que provoca uma menor absorção do metal. O período crítico desta patologia é durante

a infância, onde ocorre o desenvolvimento do cérebro, provocando diversas consequências neurológicas graves (Baierle et al., 2010).

O cobre pode desencadear efeitos tóxicos durante toda a vida, mesmo que a sua concentração no sangue esteja dentro dos intervalos de referência, devido à sua relação com as doenças neurodegenerativas. Distintos estudos referem a existência de associação entre o cobre e as doenças de Alzheimer e de Parkinson, demonstrando que a ingestão elevada de cobre pode estar associada a um aumento do declínio cognitivo (Baierle et al., 2010).

Na tabela a seguir apresentada (Tabela 1) tenta sintetizar-se para cada metal descrito as suas principais fontes de intoxicação e os mais relevantes sinais e sintomas.

Tabela 1: Resumo das principais fontes de intoxicação por metais e dos sinais e sintomas associados a essas intoxicações.

Metal	Fontes de intoxicação	Sinais e sintomas
Chumbo	Baterias, pigmentos, plásticos, revestimentos de cabos, munições, verniz para cerâmicas, soldas	Náuseas, vômitos, diarreia, fezes escuras, dor abdominal, hipotermia e hipotensão, apatia ou irritabilidade, vômitos fadiga, parestesias nas extremidades e anemia
Arsénio	Ingestão de alimentos, água contaminada, pastas dentífricas, indústria farmacêutica e da pintura e do vidro, fabrico de canalizações, pirotecnia.	Delírios, desorientação, encefalopatia, convulsões, náuseas, vômitos, diarreia, hematúria, danos graves no glomérulo e túbulos renais

Cádmio	Atividades vulcânicas, despejo de resíduos urbanos e resíduos do fabrico de cimento, galvanoplastia, fabrico de baterias e de vidro, fotografia, pigmentos para tintas, pesticidas fosfatados	Edema pulmonar, hemorragia, hepatite fulminante, lesão testicular, imunotoxicidade, nefrotoxicidade, osteotoxicidade
Mercúrio	Evaporação de depósitos geológicos, atividades vulcânicas e bacteriológicas, fotoredução do mercúrio	Dor torácica, dispneia, pneumonia, insuficiência pulmonar, danos no sistema nervoso central (polineuropatia, alucinações, perda de memória, alterações do campo visual e cegueira)
Ferro	Fontes animais (porção heme das hemácias) Fontes vegetais e cereais (porção não heme)	Fadiga, artrite, dor abdominal, perda de peso, hepatomegalia, esplenomegalia, baixa estatura, artropatia cirrose hepática e insuficiência hepática, diabetes mellitus, hipotireoidismo
Cobre	Fonte mineral (da Calcocite, calcopirita e malaquita), constituição da turquesa	Doença hepática crónica, crises cardíacas, distúrbios de movimento, alterações de personalidade, depressão e psicose

3. Patologias relacionadas com o desequilíbrio na homeostasia dos metais

Uma vez conhecidas as propriedades dos metais e o seu mecanismo de ação, torna-se pertinente o conhecimento das patologias, que frequentemente implicam a utilização de agentes quelantes. Existem algumas patologias que levam à acumulação de metais. É o caso da talassemia e da hemocromatose que provocam a acumulação de ferro, e da doença de Wilson, já referida anteriormente, que ocasiona uma acumulação de cobre.

3.i. Talassemia

A hemoglobina é uma metaloproteína tetramérica, que se encontra no interior das hemácias, e que é responsável pelo transporte de oxigénio dos pulmões até todos os tecidos. É constituída por quatro cadeias polipeptídicas, encontrando-se cada uma delas unida por ligação covalente dativa a um radical heme contendo ferro. Por sua vez, o ferro liga-se prontamente ao oxigénio (O_2), transportando-o a partir dos pulmões para os pontos de oxigenação do corpo, onde é facilmente libertado. Nos tecidos, regiões em que a concentração em O_2 é reduzida, a oxihemoglobina transforma-se em carboxihemoglobina devido à libertação de O_2 e captação de dióxido de carbono (Gartner e Hiatt, 1998).

No adulto, a hemoglobina é um tetrâmero composto por quatro cadeias polipeptídicas, existindo em cada cadeia um grupo heme. Todos os tipos de hemoglobina têm em comum o fato de serem constituídas por quatro cadeias de globina iguais duas a duas. A hemoglobina A ($\alpha_2\beta_2$) é a forma da hemoglobina mais comum, constituindo cerca de 98% de toda a hemoglobina. As formas mais incomuns são a hemoglobina F ($\alpha_2\gamma_2$) e a hemoglobina A₂ ($\alpha_2\delta_2$). A síntese destas cadeias da globina é codificada por genes reguladores existentes nos cromossomas 16 e 11.

A talassemia é uma doença hereditária autossómica recessiva que surge devido a mutações genéticas nas cadeias de globina que formam a hemoglobina, sendo classificada de acordo com a cadeia afetada (Hansel e Dintzis, 2006).

A doença é mais comum em países como a Itália, Grécia e em regiões onde existe uma grande prevalência de malária dado que esta mutação parece conferir aos seus

portadores uma sobrevivência seletiva contra a malária, levando assim à sua perpetuação. A α e β talassemia são as formas mais comuns (Hansel e Dintzis, 2006).

Talassemia α

As talassemias α são muito mais graves do que as talassemias β , porque podem afectar os quatro genes da alfa globina (os dois do pai e dois da mãe), em contrapartida a talassemia β afeta apenas dois. As talassemias α estão associadas à depleção de pelo menos um gene alfa da cadeia da globina no cromossoma 16, caracterizando-se pela deficiência ou ausência da produção da cadeia de globina alfa. Contudo, a talassemia α pode surgir devido ao excesso de cadeias β ou γ , provocando a formação da hemoglobina H (β_4) ou a hemoglobina Bart (γ_4), que desencadeiam um aumento da afinidade destas hemoglobinas pelo oxigénio e reduzem a capacidade de oxigenar os tecidos. São possíveis quatro formas de talassemia alfa, que estão relacionadas com a herança genética das duas cadeias alfa do pai e das duas da mãe (Figura 8):

- ✓ **Estado de portador assintomático:** Apenas é afetado um gene, ou seja quando apenas uma cadeia alfa está reduzida. Geralmente o portador é assintomático, sem apresentar um quadro clínico anémico e sem complicações hematológicas.
- ✓ **Traço para talassemia alfa:** Há a depleção de dois genes α . Geralmente o portador não evidencia sintomas, mas por vezes pode desencadear uma ligeira anemia microcítica, eritrocitose e anisopoiquilocitose mínima, sem o aumento da hemoglobina A2.
- ✓ **Doença da hemoglobina H:** Os três genes α da cadeia da globina estão ausentes, levando a um estado clínico de anemia microcítica moderada, anisopoiquilocitose moderada, inconstância da quantidade da hemoglobina H, aumento da quantidade da hemoglobina Bart, que por sua vez, sofre precipitação no citoplasma eritrocitário, formando os corpúsculos de Heinz.
- ✓ **Talassemia α homozigótica:** A depleção dos quatro genes, resulta em hidropisia fetal o que leva à morte no útero ou na vida neonatal recente. Apresenta um estado anémico muito grave, anisopoiquilocitose grave e grandes quantidades da hemoglobina Bart (Hansel e Dintzis, 2006).

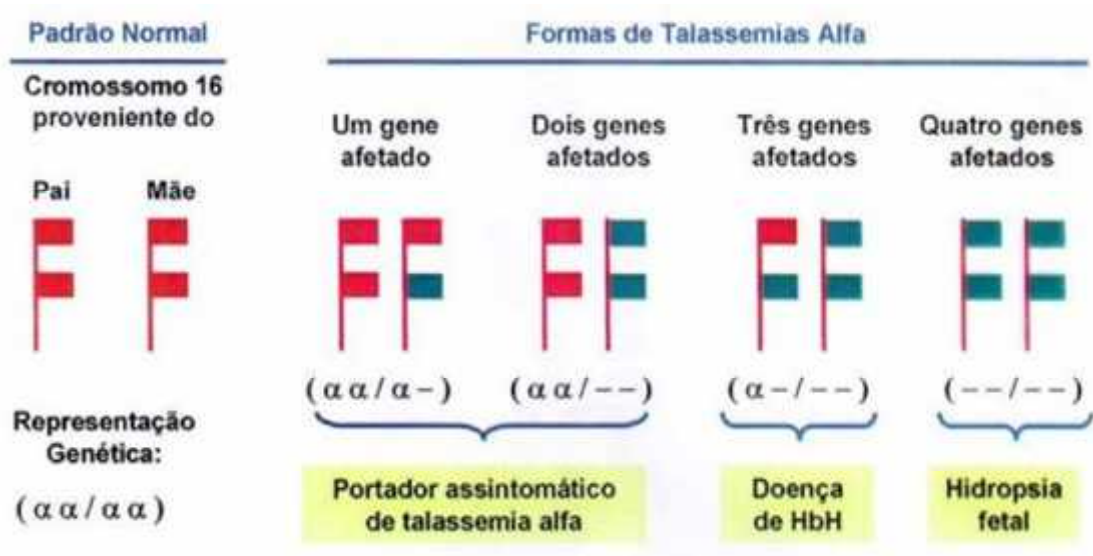


Figura 8: Diversas formas de talassemia alfa (Naoum).

Talassemia Beta

As talassemias β resultam de diversos distúrbios, nomeadamente uma mutação do gene da globina β do cromossoma 11, que provoca uma transcrição parcial ou mesmo a ausência da transcrição do gene da globina beta no momento da transcrição da cadeia (Hansel e Dintzis, 2006). As talassemias beta podem ser classificadas segundo a presença do gene (homozigótico ou heterozigótico) e de acordo com o tipo de defeito genético, podendo assim ser classificadas como talassemia homozigótica ou *major*, talassemia heterozigótica ou *minor* e talassemia intermédia (Mitchell et al., 2005).

A talassemia *major* é uma talassemia β homozigótica e advém da existência de grandes quantidades de cadeias α que se precipitam no citoplasma de precursores eritroides. Por outro lado, em situações de escassez de cadeias β , a hemoglobina eritrocitária é constituída essencialmente pela hemoglobina fetal ($\alpha_2\gamma_2$). Esta hemoglobina tem uma maior afinidade para o oxigénio, o que provoca a diminuição da oxigenação, e consequente aumento da produção de eritropoietina. Portanto, a medula óssea apresenta um maior número de células eritroides precursoras o que provoca um aumento do espaço da medula óssea, levando a malformações faciais e cranianas (Hansel e Dintzis, 2006).

Se as talassemias *major* não forem tratadas a evolução da doença é relativamente rápida, provocando a morte devido à instauração de uma anemia profunda. O tratamento

passa por efetuar transfusões sanguíneas que melhoram o estado clínico, como a anemia, e os aspetos secundários como a eritropoiese excessiva. No entanto, quando os pacientes são submetidos a diversas transfusões, a morbidade e a mortalidade é aumentada devido à acumulação tóxica de ferro, que provoca insuficiência cardíaca (Mitchell *et al.*, 2005). Podem também surgir outras complicações devido ao excesso de ferro na circulação tais como: excesso de ferro nas glândulas endócrinas (hipogonadismo e hipertiroidismo) e diabetes mellitus. Assim, é de extrema importância a monitorização dos níveis de ferro no organismo, através da dosagem dos níveis de ferritina sérica. No entanto, esta determinação indireta está sujeita a interferências de certas condições clínicas do paciente como por exemplo infeções onde os níveis de ferritina sérica podem estar aumentados. Outra situação diz respeito ao fato da determinação dos níveis de ferritina não englobarem a quantidade de ferro que está no interior do miocárdio. Deste modo, o melhor método para a determinação dos níveis de ferro é determinar a quantidade de ferro hepático, através da realização de uma biopsia hepática. Mais recentemente tem sido utilizada uma técnica alternativa e menos invasiva - a ressonância magnética nuclear - que permite avaliar o ferro hepático e cardíaco (Loggetto, 2006).

A talassemia β *minor* é uma talassemia heterozigótica, geralmente assintomática, pois a síntese de β -globina é suficiente. Esta talassemia é muito mais frequente que a talassemia *major*, e, apresenta menos complicações, destacando-se a anemia microcítica hipocrômica leve, anisocitose e granulações basofílicas.

A talassemia intermédia é também uma talassemia heterozigótica, e as suas características clínicas estão nos níveis intermédios entre as talassemias *major* e *minor* (Mitchell *et al.*, 2005).

Como referido anteriormente, as transfusões sanguíneas são o primeiro passo para o tratamento de um doente talassémico, embora provoquem um aumento dos níveis séricos de ferro.

A partir da década de setenta do século passado, passou a usar-se a desferroxamina (DFO), primeiro agente quelante de ferro, em complicações associadas aos elevados níveis de ferro. A terapia quelante é iniciada após duas determinações dos níveis de ferritina num espaço de 60 dias, superiores a 1000 ng/mL o que equivale a dez

transfusões. No entanto este agente quelante apresenta uma baixa adesão terapêutica devido aos seus efeitos secundários e às dificuldades associadas à administração que consiste na infusão subcutânea por um período de doze horas, cinco a seis dias por semana. Para ultrapassar esta fraca adesão terapêutica foram desenvolvidos quelantes como a deferiprona, administrada oralmente três a quatro vezes ao dia. A dose administrada depende do órgão afetado, sendo maior se for o coração, uma vez que por ser uma molécula de reduzidas dimensões consegue remover o ferro do miocárdio.

Outro agente lançado em 2006 foi a deferasirox, com uma eficácia semelhante ao DFO, mas administrado oralmente apenas uma vez por dia. Apesar de muito eficaz na remoção do ferro hepático, não existem ainda estudos que comprovem a sua ação sobre o miocárdio (Loggetto, 2006).

Foi realizado um estudo em 91 pacientes com idades compreendidas entre os dois e trinta anos (média de idades de $15,02 \pm 5,8$ anos) que receberam durante três a quatro semanas uma transfusão sanguínea de modo a manter os valores da hemoglobina acima de 9 g/dL. Concomitantemente era administrada uma dose de desferroxamina 40 mg/kg^{-1} por dia, por infusão subcutânea entre oito a dez horas, pelo menos cinco noites por semana. Como estes pacientes desenvolveram uma sobrecarga de ferro, foi implementada uma nova terapia com a associação da deferiprona (pela via oral numa dose de 75 mg/kg^{-1} por dia dividida por três tomas) à terapêutica anterior.

Dos 91 pacientes analisados, 6 revelaram perturbações gastrointestinais graves, 1 manifestou um persistente aumento das enzimas hepáticas, 2 desenvolveram agranulocitose, 2 mostraram artropatia, 2 morreram de septicemia e 2 tiveram que realizar uma transfusão de medula óssea, levando ao abandono do estudo destes pacientes. Dos restantes 76 pacientes, 21 não aderiram à terapêutica corretamente (embora a toma da deferiprona tivesse sido cumprida, a administração da desferroxamina não foi), o que também levou ao seu afastamento do estudo. No grupo que cumpriu a terapia corretamente, ou seja, cujos doentes receberam todas as administrações de desferroxamina e que cumpriram a posologia da deferiprona, totalizando 55 pacientes, a terapia combinada foi realizada entre 6 e 48 meses. Observou-se uma diminuição drástica nos níveis de ferritina no soro, de $3088 \pm 1299 \text{ ng/mL}$ (valor que provém de um estudo retrospectivo utilizando apenas desferroxamina) para $2051 \pm 935 \text{ ng/mL}$, houve um melhor funcionamento do miocárdio, pela redução

dos níveis de ferro, e observou-se também uma redução dos níveis de ferritina com o prolongamento da terapia (Tabela 2). Nos pacientes não conformes (administração de desferroxamina irregular e deferiprona regular), os níveis de ferritina no soro aumentaram para 5769 ± 2047 ng/mL, não demonstrando qualquer melhoria na funcionalidade do coração (Daar e Pathare, 2006).

Tabela 2: Eficácia da terapêutica combinada da desferroxamina (DFO) com a deferiprona (L_1) na redução dos níveis de ferritina no soro em pacientes com talassemia β *major* (Daar e Pathare, 2006).

		Número de pacientes	Níveis de ferritina sérica (ng/mL) ^a
Estudo retrospectivo com DFO		55	3088 ± 1299
Estudo combinado de DFO com L_1	6 meses	55	2530 ± 1211
	12 meses	42	2495 ± 1175
	18 meses	32	2433 ± 1154
	24 meses	24	2165 ± 889
	36 meses	12	1686 ± 917
	48 meses	7	997 ± 318
	Valor médio	-	2051 ± 935
Grupo não conforme		21	5769 ± 2047

^a valor médio \pm desvio padrão.

3.ii. Hemocromatose

A hemocromatose pode ser dividida em dois tipos: a hemocromatose primária, também designada hemocromatose hereditária (HCH), e a hemocromatose secundária. A hemocromatose hereditária resulta de um distúrbio homozigótico recessivo, enquanto que, a hemocromatose secundária advém de distúrbios que desencadeiam uma acumulação de ferro tais como: repetidas transfusões, eritropoiese ineficaz, ingestão excessiva de ferro ou doença hepática crônica. A proporção relativamente homem: mulher é de 6:1, devido à perda fisiológica de ferro nas mulheres, na menstruação e na

gravidez (Mitchell et al., 2005).

A hemocromatose hereditária é uma doença que afeta o metabolismo do ferro e está relacionada com o complexo *major* de histocompatibilidade humano (HLA), que por sua vez, leva à redução da produção de hepcidina, levando a um aumento na absorção de ferro e também à libertação do ferro dos macrófagos, proporcionando a acumulação progressiva e prejudicial de ferro no organismo. A hepcidina é uma proteína sintetizada no fígado, que regula de forma negativa o metabolismo do ferro, ou seja, em situações de excesso de ferro há maior expressão de hepcidina, enquanto que, em situações de deficiência de ferro ocorre o contrário. Por outro lado, a interleucina 6 (IL-6) atua diretamente nos hepatócitos levando a um aumento na produção de hepcidina. Assim sendo, a ação da hepcidina dá-se pela inibição do transportador do metal bivalente 1 (DMT-1) (Figura 9) (Grotto, 2008; Santos et al., 2009).

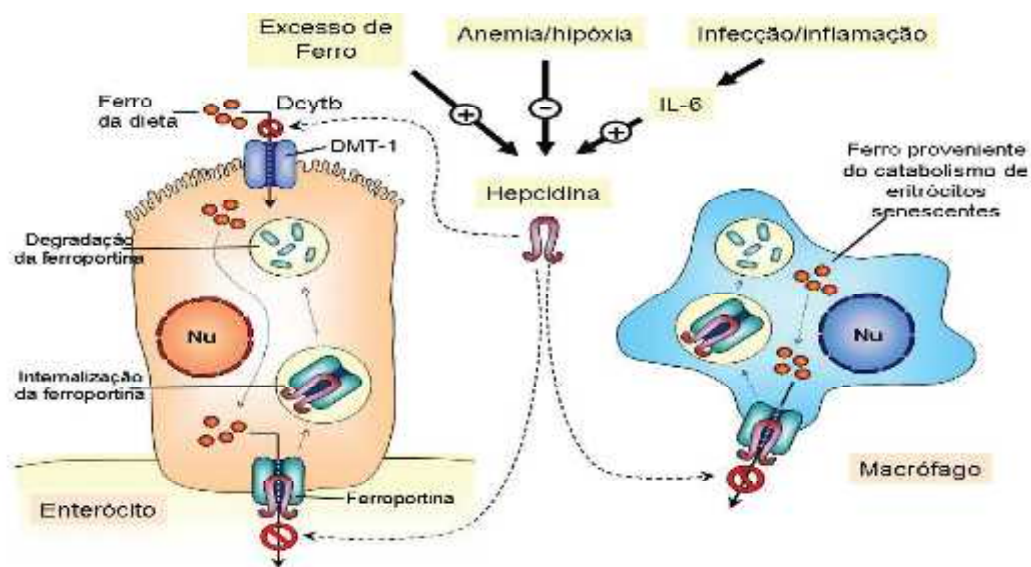


Figura 9: Ação da hepcidina. IL-6- interleucina 6; DMT-1- transportador do metal bivalente; Dcytb - Citocromo B duodenal (Grotto, 2008).

Em 1976, Simon e colaboradores, encontraram a predisposição genética para HCH, relacionada com o alelo HLA-A3. Sabe-se que 75% dos pacientes com hemocromatose hereditária são portadores deste tipo de HLA. A mutação genética responsável pela HCH está localizada no braço curto do cromossoma 6 (designado HFE), o que provoca a substituição de tirosina por cisteína na posição 282 (C282Y) numa região do gene envolvido na produção de $\beta 2$ microglobulina. Devido a esta alteração genética, uma redução na expressão do complexo HFE- $\beta 2$ microglobulina à superfície da célula das

criptas enterais, provoca o aumento na absorção de ferro luminal. Por outro lado, uma segunda alteração genética leva à alteração do aspartato por histidina na posição 63 (H63D) da mesma proteína o que contribui para o aparecimento desta patologia. No entanto, a sua prevalência no número de pacientes é muito inferior à primeira mutação anteriormente referida (Fornari et al., 2000).

A hemocromatose hereditária apresenta diversos sintomas, embora não presentes em todos os pacientes por razões que não estão completamente elucidadas. Os portadores de HCH absorvem duas a três vezes mais ferro da dieta do que uma pessoa normal. O valor normal de ferro plasmático é de 60 a 180 g/dL, e normalmente um terço da transferrina encontra-se saturada (Tabela 3). Os sintomas tendem a aparecer por volta dos 40 a 50 anos, embora os níveis de transferrina sérica estejam aumentados desde a adolescência. Em comparação com os homens, as mulheres tendem a desenvolver os sintomas mais tardiamente, visto que, o fluxo menstrual e o período gestacional diminuem a acumulação de ferro (Fornari et al., 2000; Hansel e Dintzis, 2006).

Tabela 3: Valores de ferro em pacientes com hemocromatose hereditária (Fornari et al., 2000).

Sérico	Normal	HCH
Ferro (mcg%)	60-180	180-300
Saturação de transferrina (%)	20-50	55-100
Ferritina		
Homens (ng/mL)	20-200	300-3000
Mulheres (ng/mL)	15-150	250-3000
Hepático		
Concentração de ferro (mg/g)	300-1500	3000 - 30.000
Índice de ferro^a	< 1,1	> 1,9

^a μmol de ferro por grama de tecido hepático a dividir pela idade do paciente em anos

Como já referido anteriormente, os sintomas da hemocromatose hereditária provém da acumulação de ferro tóxico nas células parenquimatosas, especialmente no fígado, coração e pâncreas (Hansel e Dintzis, 2006). Os sintomas iniciais desta patologia incluem astenia, letargia, fadiga, artralgia, perda da libido, impotência sexual no caso dos homens e amenorreia no caso das mulheres. Com o evoluir da doença tendem a

aparecer manifestações clínicas (Sousa et al., 2001; Hansel e Dintzis, 2006) que afetam vários órgãos tais como:

- ✓ **Fígado:** O fígado apresenta-se aumentado, de coloração castanho-vermelho, com cirrose micronodular e grânulos de ferro no interior dos hepatócitos e nos ductos biliares. A função hepática normalmente é bem preservada e os testes da função hepática podem ser normais, apesar da existência de grandes concentrações de ferro hepático e fibrose.
- ✓ **Pele:** Presença de hiperpigmentação devido à acumulação de melanina na derme, mais acentuada na face, partes extensoras do antebraço, pescoço, dorso das mãos, pernas, região genital e cicatrizes antigas.
- ✓ **Pâncreas:** O pâncreas apresenta-se com aspeto fibrótico, cor de ferrugem, apresenta-se também com uma concentração elevada de ferro nas células exócrinas e endócrinas. Cerca de 30 a 60% dos pacientes com HCH avançada exibem diabetes mellitus, sendo 70% insulino-dependentes.
- ✓ **Coração:** Os sintomas são característicos em 20 a 30% dos doentes, e o pigmento de ferro está presente nas fibras miocárdicas e associado a necrose de miócitos, fibrose e insuficiência cardíaca congestiva.
- ✓ **Sistema endócrino:** Os órgãos afetados são a hipófise, supra renal, tiroide, paratiroide e desenvolvimento de atrofia testicular devido a lesão hipofisária.
- ✓ **Articulações:** Pode ocorrer artropatia grave nos dedos das mãos.

O diagnóstico da hemocromatose hereditária divide-se essencialmente em três fases: identificação de sinais e sintomas sugestivos da doença, alteração dos parâmetros bioquímicos do metabolismo do ferro e, por fim, confirmação da deposição acentuada do metal por biopsia hepática e/ou por meio da realização de testes genéticos para a deteção de mutações da HCH (C282Y e H63D) (Sousa et al., 2001).

Segundo os mesmos autores, a partir da adolescência, quando há suspeita de HCH, o diagnóstico deve ser realizado se estiverem presentes os seguintes sintomas: astenia crónica, artralgia e/ou elevação das aminotransferases sem motivo aparente ("regra dos 3 As" pois como todos os sintomas se iniciam pela letra "a"). Após esta determinação,

torna-se essencial determinar os principais parâmetros do metabolismo do ferro, o índice de saturação da transferrina (IST) e ferritina sérica (FS). O IST é o teste isolado mais sensível para a determinação do fenótipo de homozigotos para HCH, sendo que o seu valor normal é de 30 a 40%. Em doentes com hemocromatose hereditária o IST é cerca de 60% nos homens e 50% nas mulheres. Por outro lado, a determinação do ferro sérico, é um parâmetro menos sensível, visto que, o seu valor se eleva em pacientes que se encontram na adolescência, sendo os seus valores normais entre 10 a 300 µg/L. A combinação destes dois parâmetros apresenta uma sensibilidade de 93%, quando o IST é superior a 45% e a FS se encontra aumentada num indivíduo saudável (Figura 10).

Para finalizar o processo de diagnóstico, procede-se à confirmação da presença da hemocromatose hereditária através da realização de uma biopsia hepática, com o objetivo de confirmar a sobrecarga de ferro, identificar o padrão característico de distribuição periportal e hepatocítica dos depósitos de ferro, promover a avaliação semiquantitativa do excesso de ferro, identificar a presença de fibrose e cirrose e para finalizar, detetar lesões pré malignas potenciais como os focos livres de depósitos de ferro (Sousa et al., 2001).

De acordo com os mesmos autores, um outro parâmetro na avaliação da sobrecarga de ferro é o índice hepático de ferro (IHF), expresso em µmol/g tecido seco a dividir pela idade em anos sendo os valores num paciente com esta patologia geralmente superiores a 1,9 enquanto que os seus valores normais se situam entre 0,7 e 1,1.

Um novo teste para a confirmação da HCH na prática clínica é a deteção das mutações C282Y e H63D pela técnica da reação em cadeia de polimerase, com sensibilidade de cerca de 90% e especificidade de 100%. Esta técnica consiste na recolha de amostras de DNA genómico a partir de sangue periférico, que posteriormente são submetidas a uma amplificação dos genes C282Y e H63D por meio da reação em cadeia de polimerase utilizando primers específicos. Em seguida, os produtos de amplificação são submetidos à digestão com as enzimas de restrição Bcl1 e SnaB1, proporcionando a deteção das mutações H63D e C282Y respetivamente (Leão, 2008; Sousa et al., 2001).

Agentes quelantes com utilização terapêutica

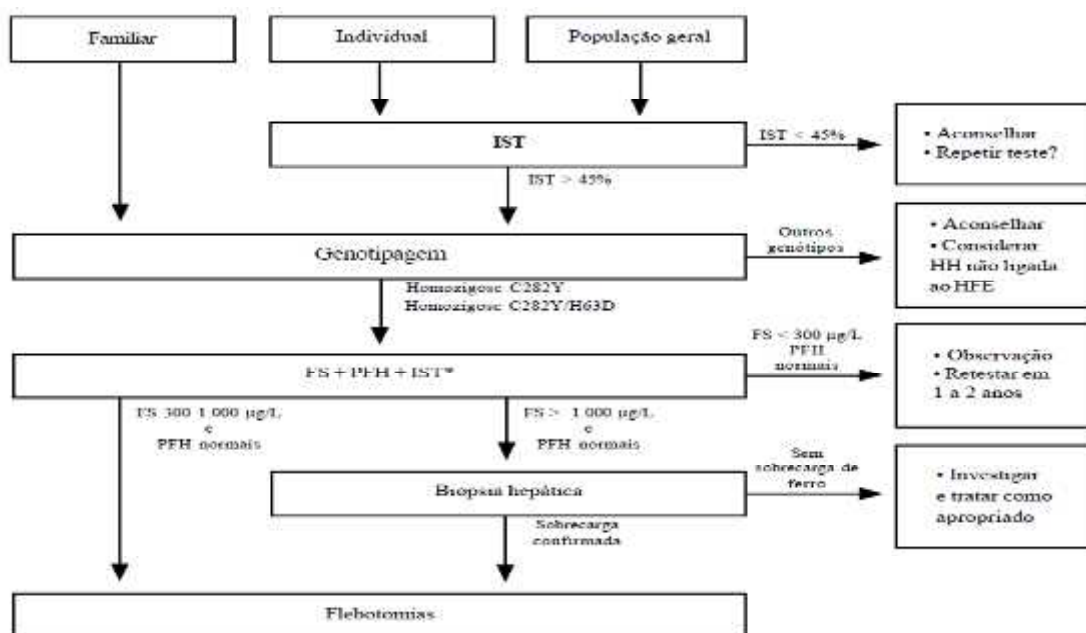


Figura 10: Diagrama para o diagnóstico da hemocromatose hereditária. IST, índice de saturação de transferrina; FS, ferritina sérica; PFH, provas de função hepática; *, se não realizado anteriormente (Sousa et al., 2001).

O método mais eficaz para tratamento da hemocromatose hereditária é a flebotomia, que remove eficazmente o ferro do organismo. A terapia deve ser iniciada o mais rapidamente possível desde que seja diagnosticado uma sobrecarga de ferro, preferencialmente ainda na fase assintomática. Todavia, esta terapia além de penosa tende a desenvolver anemia no paciente (Cançado e Chiattonne, 2010).

A terapia quelante com desferroxamina e a deferiprona também é utilizada. O uso isolado da desferroxamina não é comum, por ser uma terapia de elevado custo, de difícil administração, com vários efeitos secundários e uma ação ineficaz, uma vez que a excreção diária é de apenas 20 a 90 mg de ferro. Contudo, pode ser associada à flebotomia em alguns casos de HCH com cardiopatia e constitui uma opção terapêutica em pacientes que não toleram a terapia da flebotomia (Sousa et al., 2001). Uma outra opção é a utilização da deferiprona, um agente quelante absorvido pela via gastrointestinal, administrada numa dose total de 75 mg/kg/dia, devido ao tempo de semi vida curto do fármaco (cerca de 1,5 horas) (Gattermann, 2009). Por fim, e juntamente com medidas farmacológicas, também se procede a uma orientação dietética dos pacientes, aconselhando o paciente a evitar a ingestão de alimentos à base de ferro e de vitamina C e à abstenção de bebidas alcoólicas que levam a uma maior absorção de

ferro (Cançado e Chiattonne, 2010).

3.iii. Doença de Wilson

Conforme mencionado anteriormente, a doença de Wilson é um distúrbio autossômico recessivo, caracterizado pela acumulação de cobre no fígado e cérebro. Normalmente ocorre uma absorção excessiva de cobre, através da dieta, sendo o excesso eliminado pelo fígado através de dois mecanismos: a excreção pela via biliar ou pela conjugação no sangue com a ceruloplasmina (Hansel e Dintzis, 2006).

Esta patologia é desencadeada por uma mutação em ATP7B no cromossoma 13, que codifica uma ATPase transmembranar transportadora de cobre. Na doença de Wilson a absorção do cobre e o seu respetivo transporte para o fígado ocorrem normalmente, mas devido à mutação no gene ATP7B a excreção de cobre hepático para a circulação torna-se ineficaz, devido à secreção defeituosa de cobre para a via biliar e à conjugação com a ceruloplasmina estar alterada. Por consequência, vai desencadear-se uma acumulação de cobre no fígado, provocando a morte dos hepatócitos com a posterior libertação para a corrente sanguínea e deposição em tecidos extra hepáticos (Hansel e Dintzis, 2006; Mitchell et al., 2005).

Na fase inicial a doença de Wilson é geralmente assintomática, podendo por vezes, numa fase um pouco mais avançada, apresentar sintomas como fadiga, ausência de menstruação em mulheres na pré-menopausa e abortos espontâneos repetidos e inexplicáveis (Román et al., 2010). Em fases avançadas da doença, os sintomas estão diretamente interligados com a acumulação progressiva de cobre nos tecidos, destacando-se (Hansel e Dintzis, 2006; Román et al., 2010):

- ✦ **Sintomas neurológicos:** Expressão anormal da cara, disfagia, mobilidade ocular alterada, tremores e outros movimentos involuntários, distonia, rigidez, dificuldade na realização de movimentos rápidos e alternados, cefaleia e convulsões.
- ✦ **Sintomas abdominais:** Dor abdominal e hematemeses.
- ✦ **Sintomas a nível da pele:** Hiperpigmentação, ginecomastia e mancha azulada nas unhas.

- ✦ **Sintomas a nível ocular:** Formação de anéis de Kayser-Fleischer (pigmentação castanho dourado bilateral da córnea, circulando na periferia da íris), devido à acumulação de cobre na membrana de Decement (Figura 11).
- ✦ **Sintomas ósseos:** Osteomalacia, osteoporose, fraturas espontâneas e diversas artropatias.
- ✦ **Sintomas a nível do rim:** Disfunção glomerular e tubular renal, proteinúria, diminuição da filtração glomerular, aminoacidúria e fosfatúria.
- ✦ **Sintomas a nível do sangue:** Crises hemolíticas agudas transitórias.



Figura 11: Anéis de Kayser-Fleischer (Ala et al., 2007).

A patologia de Wilson pode ser dividida em quatro estágios de acordo com o desenvolvimento da doença (Román et al., 2010):

- ❖ **Estágio 1:** Acumulação do cobre no citosol e nos lipossomas dos hepatócitos. Nesta fase o paciente apresenta-se assintomático.
- ❖ **Estágio 2:** Ocorre a saturação dos hepatócitos, o cobre é libertado para a circulação e distribuído por todo o organismo. Nesta fase o paciente ainda está assintomático.
- ❖ **Estágio 3:** Em todos os tecidos há acumulação de cobre, que precede, cirrose e disfunção neurológica, oftálmica e renal. Nesta fase normalmente inicia-se o tratamento, com vista a reduzir os níveis de cobre e reduzir os sintomas.
- ❖ **Estágio 4:** Nesta última fase ocorrem danos tecidulares irreversíveis.

Não há um teste para o diagnóstico da doença de Wilson. Assim é necessário proceder à avaliação de diversos parâmetros como a história do paciente, exame físico, testes da função hepática, realização de hemograma completo, determinação do cobre sérico e da ceruloplasmina e a análise da urina 24 horas (Ala et al., 2007).

O tratamento desta patologia deve ser realizado o mais rapidamente possível, com vista a reduzir os efeitos provocados pelo excesso de cobre no organismo. A terapia é iniciada pela implementação de restrições alimentares, nomeadamente de produtos contendo grandes quantidades de cobre tais como: vísceras, cogumelos, frutos secos (amêndoas, avelãs e nozes) e chocolate. Estas restrições alimentares são utilizadas como adjuvantes do tratamento com agentes quelantes, onde se destaca a D-penicilamina. A D-penicilamina é absorvida no trato gastrointestinal e ingerida em jejum para que não haja alteração da sua biodisponibilidade. Este agente promove a quelatação do metal, levando à sua excreção, induzindo também a síntese hepática da metalotionina. A D-penicilamina apresenta inúmeras desvantagens como a sua ação anti piridoxina, que torna necessário a administração de vitamina B₆ diariamente numa dose de 25 a 50 mg/dia. Outros efeitos adversos são reações de hipersensibilidade como rash cutâneo, febre, linfadenomegalia, neutropenia, plaquetopenia e proteinúria. Mais tardiamente tendem a aparecer novos sintomas como nefrotoxicidade, toxicidade medular, alterações dermatológicas, polimiosite, perda de paladar e hepatotoxicidade.

Torna-se assim, evidente a necessidade de implementação de uma nova terapia, principalmente em pacientes em que se visualiza a deterioração dos sintomas neurológicos ou psiquiátricos logo após o início do tratamento. A Trientina surge como uma alternativa à D-penicilamina. Este agente, apesar de ser menos potente e efetivo, também quelata o cobre e promove a sua excreção a nível renal. Apesar dos efeitos adversos serem menos frequentes é de salientar a possibilidade de pancitopenia, deficiência de ferro, anemia sideroblástica, rash cutâneo e proteinúria (Sócio et al., 2009).

Segundo os mesmos autores, o zinco pode ser utilizado como terapia associada à D-penicilamina ou trientina, podendo mesmo ser usado como terapia única em pacientes assintomáticos. O zinco é administrado sob a forma de sal de acetato, sulfato ou outros, e interfere na absorção do cobre no trato gastrointestinal, por induzir a síntese hepática de metalotionina, que por apresentar elevada afinidade pelo cobre, diminui a sua absorção, levando à sua eliminação pelas fezes. A única desvantagem é a sua ação lenta e ocasionalmente o desenvolvimento de intolerância gástrica. Por fim, o transplante hepático é a única forma de tratamento para os pacientes que evoluem com insuficiência hepática grave e irreversível (Sócio et al., 2009).

Foi realizado um estudo entre 1987 a 2009, com 28 crianças com a doença de Wilson, 12 do sexo feminino e 16 do sexo masculino, entre 2 a 18 anos (média de idades de 11 anos). Para integrarem o estudo era necessário apresentarem pelo menos dois dos seguintes parâmetros: níveis de ceruloplasmina inferiores a 20 mg/mL em duas medições separadas, um nível de cobre urinário de 24 horas superior a 100 mcg ou a presença do anel Kayser-Fleischer. Pacientes assintomáticos com baixos níveis de ceruloplasmina mas com parentes de primeiro grau com a doença de Wilson foram também integrados (Kleine et al., 2012).

Antes de iniciarem a terapia, todos foram submetidos à avaliação de diversos parâmetros clínicos e bioquímicos. O resultado desta avaliação evidenciou que 12 pacientes eram assintomáticos e 16 sintomáticos. Destes 7 apresentavam hepatite, 1 insuficiência hepática e anemia hemolítica aguda, 5 apresentavam enzimas e resultados bioquímicos anormais e 3 exibiam hepatoesplenomegalia e diversos sinais neurológicos como por exemplo: disartria e tremores. A avaliação destes parâmetros permitiu também concluir que dos 28 participantes, 6 apresentavam o anel Kayser-Fleischer, sendo que 4 deles manifestavam também um quadro clínico de hepatite, 1 de insuficiência hepática e anemia hemolítica, e o último era assintomático.

O tratamento foi iniciado em 26 pacientes com a administração combinada de D-penicilamina (20 mg/Kg/dia), e piridoxina (25-50 mg/dia). Dois pacientes abandonaram o estudo, um por ter sido submetido a um transplante hepático e o outro por morte devido a uma insuficiência hepática grave, encefalopatia hepática e septicemia. Dos 26 pacientes que iniciaram o tratamento com D-penicilamina e piridoxina, 2 destes desenvolveram efeitos adversos severos (vômitos incontroláveis após 4 meses de tratamento e elastose perfurante serpiginosa após 72 meses de tratamento) tendo sido submetidos a uma nova terapia com trientina (550 a 750 mg/dia) e sulfato de zinco (300 a 450 mg/dia).

Os resultados obtidos deste estudo foram o melhoramento do quadro clínico dos 26 participantes tornando-se assintomáticos. Destes pacientes, 24 apresentaram valores normalizados de enzimas hepáticas e dois continuaram a apresentar valores anómalos, mas mantendo a função hepática normal. Este estudo também evidenciou uma melhoria nos diversos parâmetros bioquímicos e hematológicos (Tabela 4) (Kleine et al., 2012).

Tabela 4: Parâmetros bioquímicos de pacientes com doença de Wilson no momento do diagnóstico e no fim do estudo (Kleine et al., 2012).

Parâmetro	Nº de pacientes		Média ^a	Mediana
Hemoglobina (g/dL)	Início do estudo	27	12,45 ± 1,54	12,60
	Fim do estudo	27	13,62 ± 2,38	13,50
Hematócrito (%)	Início do estudo	27	37,24 ± 4,81	38,30
	Fim do estudo	27	39,56 ± 6,18	40,00
Leucócitos (/mm³)	Início do estudo	25	6254,00 ± 2801,04	6600,00
	Fim do estudo	26	5930,00 ± 2528,08	5800,00
Plaquetas (/mm³)	Início do estudo	26	236000,00 ± 131970,75	210000,00
	Fim do estudo	26	211000,00 ± 119184,64	184000,00
Aspartato aminotransferase (U/L)	Início do estudo	26	89,42 ± 65,21	69,50
	Fim do estudo	26	25,46 ± 13,89	21,50
Alanina transaminase (U/L)	Início do estudo	26	127,00 ± 112,30	100,00
	Fim do estudo	26	37,00 ± 25,50	33,50
Gama-glutamil transferase (U/L)	Início do estudo	26	85,98 ± 105,20	50,70
	Fim do estudo	25	30,38 ± 29,38	24,00
Fosfatase alcalina (U/L)	Início do estudo	25	464,80 ± 264,43	380,00
	Fim do estudo	25	256,50 ± 209,57	169,00
Bilirrubina total (g/dL)	Início do estudo	23	1,04 ± 0,70	0,70
	Fim do estudo	23	0,85 ± 0,51	0,79
Bilirrubina direta (g/dL)	Início do estudo	23	0,45 ± 0,40	0,30
	Fim do estudo	23	0,19 ± 0,10	0,20
Albumina (g/dL)	Início do estudo	19	3,79 ± 9,93	3,80
	Fim do estudo	19	4,31 ± 0,47	4,27

^a valor médio ± desvio padrão

III. Agentes quelantes

1. Definição e propriedades dos agentes quelantes

Os agentes quelantes são moléculas responsáveis pela formação de um complexo com estrutura em forma de anel através da sua conjugação por ligações covalentes dativas com iões metálicos. O composto formado por todos estes constituintes é denominado de quelato (Flora e Pachauri, 2010).

Os agentes quelantes possuem átomos que formam ligações covalentes com um ião metálico central, onde o número de ligações depende do tamanho do metal, da identidade do ligante e das interações eletrónicas (Shriver e Atkins, 2008). O número máximo de ligações que se podem estabelecer entre o ião central e os átomos dadores dos ligantes denomina-se de número de coordenação do metal. Ligantes que estabelecem apenas uma ligação ao ião central designam-se de ligantes monodentados, os que se ligam por intermédio de dois átomos são chamados bidentados e, se a ligação se dá por mais do que dois átomos ao ião metálico, denominam-se multidentados ou polidentatos (Figura 12) (Harris, 2001).

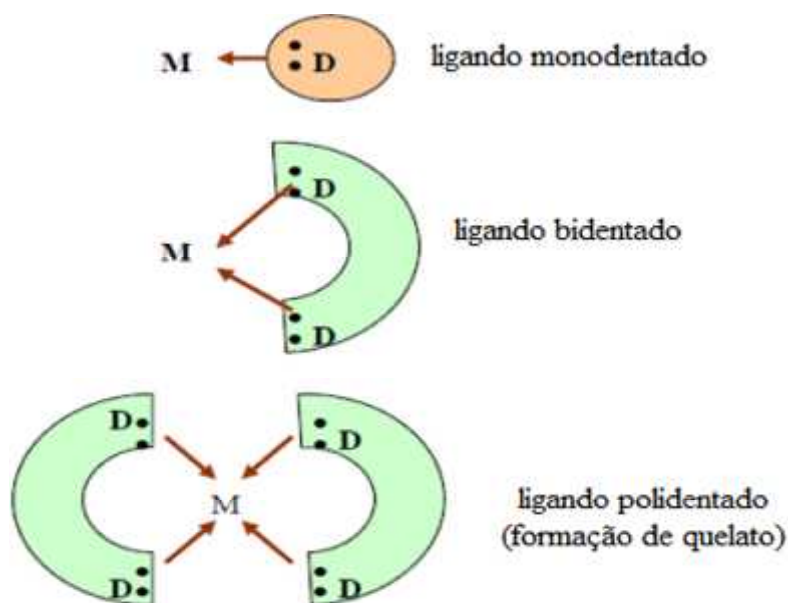


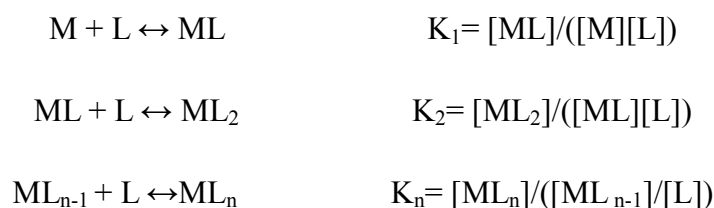
Figura 12: Formação do complexo metal/ligando com ligandos mono, bi e polidentado. M, metal; D, átomos dadores do agente complexante (Flora e Pachauri, 2010).

Quanto maior for o número de ligações do ligando com o íon metálico, maior é a estabilidade do complexo formado, pelo que a estabilidade de um complexo com um ligante bidentado ou multidentado é muito maior do que a estabilidade resultante da formação de um complexo com um ligando monodentado. A explicação para este fato prende-se com efeitos termodinâmicos na formação dos complexos. No processo de formação de um complexo, quer a entalpia quer a entropia contribuem para a energia livre da reação e por consequência para a magnitude da constante de estabilidade a ela associada (designada de constante de formação ou estabilidade). Para as várias reações de complexação, as diferenças na entalpia não são significativas mas as variações na entropia são notórias e, por isso, complexos formados a partir de ligandos multidentados apresentam constantes de formação muito maiores. Também, e não menos importante, o tamanho dos íons e o tamanho do anel, influenciam consideravelmente a estabilidade (Andersen, 2004).

A transposição de uma membrana lipídica por qualquer composto é normalmente condicionada por vários fatores. O mesmo acontece com os agentes quelantes, cuja tentativa de atravessar uma membrana lipídica é determinada por fatores inerentes à lipofilia, estado de ionização e peso molecular. Para atingir uma percentagem elevada de absorção oral, o quelante deve possuir uma elevada solubilidade lipídica para conseguir penetrar o trato gastrointestinal. Em contrapartida, o estado iónico é extremamente importante, uma vez que, moléculas sem carga vão penetrar mais facilmente as membranas celulares do que moléculas com carga. Também o tamanho molecular constitui um importante fator na absorção, uma vez que, os agentes quelantes com peso molecular inferior a 200 dalton usualmente predominam na absorção gastrointestinal, ao passo que, agentes quelantes com peso molecular superior a 500 dalton, tornam a absorção muito mais reduzida. A fim de obter uma elevada absorção oral o peso molecular do agente quelante deve ser inferior a 300 dalton, assim, quelantes hexadentados apresentam uma absorção oral inferior aos quelantes bidentados e tridentados dado que, os pesos moleculares destes últimos são muito menores (Zhou et al., 2012).

A maioria das reações entre o metal e o quelante, em solução, atingem rapidamente o equilíbrio, que por sua vez, dependem da natureza do agente quelante e da concentração

do quelante em circulação, que pode ser expressa quantitativamente pela seguinte constante (K):



As constantes acima expressas são constantes de formação parciais (ou consecutivas) correspondendo cada uma delas à ligação sucessiva de um ligante ao íon central, mas na realidade o que acontece em circulação é melhor expresso através da constante de estabilidade cumulativa ou global (β), estabelecida para complexos em que há apenas um íon metálico central, que compara diferentes agentes quelantes e a sua capacidade de formação de um complexo com o metal, podendo ser representada pela seguinte equação 2 (Andersen, 2004):

$$\beta = \frac{[ML_i]}{[M][L]^i} \quad \text{Equação 2}$$

2. Dureza dos íons metálicos e ligandos

A dureza/suavidade são características associadas aos doadores e aceitadores de eletrões, determinando a estabilidade na formação dos complexos (Andersen e Aaseth, 2002). Pearson em 1963 designou o termo duro ou macio para descrever a interação entre íons metálicos (ácidos de Lewis) e ligandos (bases de Lewis).

A caracterização dos íons duros assenta no fato de apresentarem um pequeno raio e uma grande carga. Têm uma nuvem eletrónica pouco disponível para a ligação com o agente complexante pelo que, os ligandos duros não cedem as suas densidades eletrónicas facilmente ao íon metálico. Assim, a combinação entre os íons metálicos e ligandos duros leva à formação de um complexo estável por simples forças eletrostáticas. Por outro lado, os íons metálicos e ligandos macios possuem uma nuvem eletrónica polarizada, o que torna mais fácil a sua partilha. Isto, por sua vez, provoca um aumento da covalência e a formação de um complexo altamente estável entre os íons metálicos e ligandos macios. Por fim, relativamente à combinação entre íons metálicos e ligandos com classificação diferente, é um exemplo, a combinação entre um íon metálico duro

com um ligando macio, onde o metal não aceita com facilidade a densidade eletrônica do ligando, levando à formação de um complexo com uma estabilidade muito baixa. Assim, os íons metálicos podem ser caracterizados em 3 grupos (Carvalho, 2011):

Primeiro grupo: Designado por classe de metais duros, a que pertencem os elementos do grupo IA, IIA e IIIA da tabela periódica.

Segundo grupo: Designa-se pela classe de metais intermédios, que inclui os metais pertencentes à primeira série de transição do titânio ao gálio.

Terceiro grupo: Denomina-se de classe de metais macios, onde estão abrangidos os metais do período do molibdénio ao antimónio e do tungsténio ao bismuto, e ainda os metais da série de transição da tabela periódica

3. Eficácia dos agentes quelantes in vivo

No organismo, os metais livres formam complexos na presença de pequenos ligandos biológicos, contudo, numa concentração muito reduzida. *In vivo* as reações de complexação entre os metais tóxicos e os agentes quelantes usados na terapia ocorrem mais facilmente do que a complexação com os ligandos biológicos. Apesar da constante de equilíbrio ser bastante favorável à formação do complexo entre o metal e o agente quelante esta eficácia na quelatação pode diminuir devido à competição entre os ligandos/metais e a cinética do transporte sistémico do agente quelante (Andersen, 2004).

A eficácia (E) de um agente quelante (L) para imobilizar um metal tóxico (M) pode ser descrita pela equação 3 que assume a existência de um equilíbrio entre o metal e o agente quelante com a formação do complexo metal-quelante (ML), excretado pela urina:

$$E = \frac{[ML]}{[M]} \quad \text{Equação 3}$$

Assim, tendo em consideração o que anteriormente foi referido para a constante de formação cumulativa ou global (β_{ML}) (Equação 2), verifica-se que a eficácia do agente quelante depende não só da estabilidade do complexo formado como da concentração do agente quelante (L) (Equação 4).

$$E = \frac{[ML]}{[M]} = \beta_{ML}[L]$$

Equação 4

O cálcio (Ca^{2+}) é um competidor biológico comum, que interfere na eficácia do agente quelante ao formar complexos com o agente (CaL). Nestas condições a concentração total de quelante (L_t) no plasma necessária para obter uma maior eficácia passa também a depender da constante de estabilidade do complexo CaL e da concentração em cálcio, podendo assim, ser expressas pela equação 5:

$$E = \frac{\beta_{ML} [L_t]}{\beta_{CaL} [Ca^{2+}]}$$

Equação 5

No entanto, devido à elevada complexidade dos sistemas biológicos, a eficácia dos agentes quelantes é melhor avaliada a partir de ensaios clínicos ou experiências em animais do que em cálculos teóricos (Andersen, 2004).

4. Agente quelante ideal e as suas limitações na terapia

Um agente quelante ideal deve apresentar as seguintes características:

- ✓ Elevada afinidade e baixa toxicidade;
- ✓ Elevada solubilidade em água;
- ✓ Resistência à biotransformação;
- ✓ Capacidade de competir com quelantes naturais;
- ✓ Capacidade para formar complexos menos tóxicos com o metal em comparação com a forma livre do metal;
- ✓ Capacidade de atingir os locais de armazenamento do metal, sendo capaz de entrar dentro da célula;
- ✓ Promover a eliminação rápida do metal tóxico;
- ✓ Possuir a mesma distribuição que o metal.

Hoje em dia, é difícil obter uma opinião unânime sobre a eficácia de um tratamento particular utilizando agentes quelantes, devido às diferentes condições experimentais, diferentes protocolos e espécies animais usadas na sua avaliação. Os tratamentos utilizados têm grandes limitações que envolvem: efeitos secundários que podem comprometer o tratamento com metais pesados, necessidade de pessoal especializado para a sua administração (visto que, o tratamento é frequentemente pela via parentérica), inexistência de um tratamento seguro e eficaz por via oral e por fim, ausência de um quelante que promova a eliminação rápida do metal tóxico do sangue e tecidos moles. Adicionalmente, o emprego destes agentes na terapia está associado a outros inconvenientes como: a redistribuição do metal tóxico pelo organismo, a diminuição de metais essenciais, a impossibilidade de remover o metal a nível intracelular, efeitos hepatotóxicos e nefrotóxicos, cefaleias, náuseas e hipertensão (Flora e Pachauri, 2010).

5. Agentes quelantes usados em terapia

Atualmente, existe uma ampla gama de agentes quelantes usados na terapia de patologias, onde se destacam o 2,3-dimercaptopropanol (BAL), ácido 2,3-dimercaptosuccínico (DMSA), novos análogos do DMSA, 2,3-dimercaptopropano-1-sulfonato (DMPS), ácido etilenodiamino-tetracético cálcico disódico (CaNa_2EDTA), ácido dietileno-triamino-pentaacético (DTPA), D-penicilamina, desferroxamina, 1,2-dimetil-3-hidroxipirid-4-ona (deferiprona) e ácido nitrilotriacético (NTA).

5.i. 2,3-dimercaptopropanol

Conforme já referido o 2,3-dimercaptopropanol (BAL), desenvolvido como antídoto para intoxicações causadas pelos gases arsenicais usados na guerra, tem sido utilizado em intoxicações por mercúrio, ouro e chumbo (Domingo, 1998).

O BAL é constituído por uma cadeia de três carbonos, dois grupos sulfidrilo (-SH) e um grupo hidroxilo, forma um complexo estável de cinco membros com o metal tóxico (Figura 13).

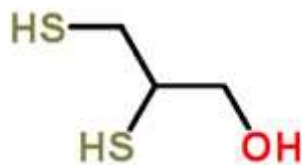


Figura 13: Estrutura química do 2,3-dimercaptopropanol (Chemspider, 2010).

Através de ensaios em humanos e modelos experimentais, o BAL demonstrou ser mais eficaz quando administrado imediatamente após a exposição ao metal. A sua ação consiste em impedir que os metais se liguem aos grupos sulfidrílicos das proteínas celulares, possibilitando a formação de mercaptidas (Brunton et al., 2010).

Devido à sua natureza oleosa, não pode ser administrado por via oral, sendo necessária a sua administração por via intramuscular, com utilização de uma solução de óleo de amendoim numa concentração 100 mg/mL, o que conseqüentemente torna a administração dolorosa e também pode originar reações alérgicas em pacientes alérgicos ao amendoim e seus derivados, tornando impossível a utilização deste quelante. O BAL atinge a sua concentração máxima ao fim de 30 a 60 minutos e possui um tempo de semi vida de quatro horas (Brunton et al., 2010; Flora e Pachauri, 2010).

Este agente quelante apresenta inúmeros efeitos adversos, que tendem a surgir numa administração intramuscular com dose de concentração igual ou superior a 5 mg/kg. Por outro lado, foram observados, em alguns casos, efeitos secundários que desapareceram duas horas após a administração de uma dose que variava entre 3,6 a 5,5 mg/kg. De entre estes efeitos secundários, os mais comuns são: hipertensão, taquicardia, náuseas e vômitos, cefaleias, secura dos lábios, da garganta e da boca, conjuntivite, rinorreia, lacrimejamento e sudorese (Vilensky e Redman, 2003). À semelhança de grande parte dos compostos quelantes, o BAL apresenta diversas desvantagens como, janela terapêutica estreita e redistribuição do arsénio para outros órgãos como o cérebro e os testículos (Flora e Pachauri, 2010).

5.ii. Ácido meso-2,3-dimercaptossuccínico

O ácido meso-2,3-dimercaptossuccínico (DMSA), também designado por succimer, é um derivado do dimercaptopropanol, ou seja, um análogo da estrutura química do BAL, constituído por dois grupos sulfidrilo (-SH) (Domingo, 1998; Flora e Pachauri, 2010) (Figura 14). Este agente possui uma natureza hidrofílica, que lhe permite ser administrado por via oral, apresentando uma elevada absorção gastrointestinal, o que constitui uma vantagem sobre o BAL (Flora e Pachauri, 2010).

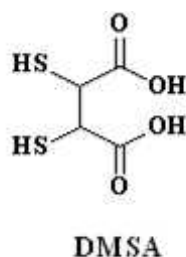


Figura 14: Estrutura química do ácido meso-2,3-dimercaptossuccínico (DMSA) (Flora e Pachauri, 2010).

O DMSA tem sido utilizado no processo de quelatação de metais tóxicos como o chumbo, mercúrio, cádmio e arsénio. No entanto, sofre uma extensa metabolização hepática, sendo posteriormente eliminado, juntamente com o metal pela via renal, pela via biliar e pulmonar (Rooney, 2007).

Na corrente sanguínea, cerca de 95% do DMSA encontra-se ligado a proteínas (principalmente à albumina), através de um dos dois grupos sulfidrilo e a um resíduo de cisteína da albumina, ficando um grupo sulfidrilo livre para quelatar o metal. Uma grande vantagem do DMSA em relação aos outros quelantes com grupos ditiol assenta no fato de este apresentar uma janela terapêutica mais alargada, sendo portanto considerado menos tóxico. Contudo, também apresenta algumas desvantagens, como o fato da sua distribuição ser extracelular devido à sua incapacidade em ultrapassar as membranas celulares e, por outro lado, não ser capaz de diminuir a neurotoxicidade do mercúrio (Flora e Pachauri, 2010). As reações adversas do DMSA incluem, desconforto gastrointestinal, neutropenia leve, erupções cutâneas e sintomas gripais (Rooney, 2007).

5.iii. Novos análogos do ácido meso-2,3-dimercaptossuccínico

Em estudos recentes, observou-se que os ésteres do DMSA (principalmente os mono e diésteres) podem ser mais eficazes na terapia de quelatação de metais tóxicos pelo fato de serem compostos mais lipofílicos. Estes são obtidos por esterificação alcoólica do DMSA, aumentando o comprimento da cadeia de carbonos (Figura 15) (Flora e Pachauri, 2010).

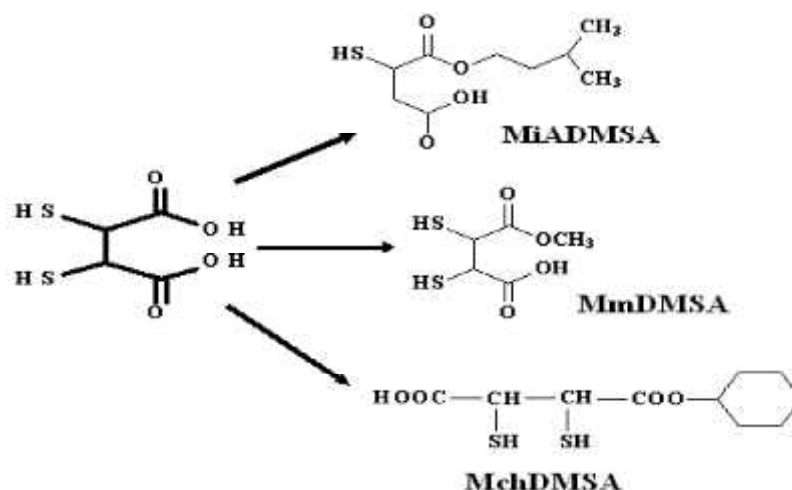


Figura 15: Ésteres do ácido meso-2,3-dimercaptossuccínico. MiADMSA, monoisoamil-DMSA; MmDMSA, monometil DMSA; MchDMSA, monociclohexil DMSA (Flora e Pachauri, 2010).

O monoisoamil-DMSA (MiADMSA) é um monoéster do DMSA, constituído por uma cadeia ramificada com cinco carbonos. Este agente quelante, que ainda se encontra em fase de estudo, mais concretamente na fase pré-clínica, indicia ser altamente eficaz na quelatação de metais tóxicos como o mercúrio, cádmio e arsénio (Flora e Kannan, 2005). Estudos em ratos demonstraram que o MiADMSA foi mais eficaz que o DMSA na eliminação do mercúrio inorgânico durante a gravidez e lactação. Assim, a ação do MiADMSA contra os efeitos tóxicos dos metais é promissora (Domingo, 1998).

O monometil DMSA (MmDMSA) possui uma estrutura química constituída por uma cadeia linear ramificada e um grupo metilo, ao passo que, o monociclohexil DMSA (MchDMSA), possui apenas uma cadeia de carbono cíclico. Relativamente ao DMSA, estes compostos evidenciam uma maior lipofilia, promovendo uma melhor passagem pelas membranas celulares tornando possível a sua administração por via oral.

Estudos recentes em ratos albinos demonstraram uma boa eliminação do cádmio do organismo, sem que se observasse a sua redistribuição pelo cérebro. Os mesmos estudos permitiram também concluir que os derivados monoésteres de álcoois superiores (monoésteres de três a seis carbonos), possuem uma melhor eficácia do que monoésteres inferiores (um a dois carbonos). Contudo, ainda é necessário a realização de estudos complementares para que estes dois agentes quelantes possam ser usados na terapia de quelatação (Flora et al., 2008).

5.iv. 2,3-dimercaptopropano-1-sulfonato

Tal como o DMSA, o 2,3-dimercaptopropano-1-sulfonato (DMPS) é um agente quelante hidrossolúvel, derivado do BAL, sintetizado em 1958 na antiga união soviética, onde era usado em intoxicações por chumbo, mercúrio, cádmio e arsénio (Figura 16) (Rooney, 2007). Na Alemanha, a utilização deste agente quelante no tratamento de intoxicações por mercúrio é legal, no entanto, nos EUA, a sua utilização não é permitida, a menos que seja autorizada pela Food and Drug Administration (FDA) (Flora e Pachauri, 2010).

A administração do DMPS é efetuada por via oral ou intramuscular, e devido à sua natureza hidrofílica, é distribuído principalmente no meio extracelular, podendo eventualmente, penetrar nas células através de mecanismos de transporte específicos (Flora e Pachauri, 2010; Rooney, 2007). Quando o DMPS é administrado na corrente sanguínea, cerca de 80% sofre oxidação em 15 minutos, e apenas 12% é encontrado no sangue sob a forma original. A principal via de eliminação do DMPS é pela via renal sob a forma oxidada de di-sulfitos (Vamnes et al., 2000). Os efeitos adversos do DMPS são semelhantes ao DMSA, caracterizando-se por desconfortos gastrointestinais, reações cutâneas e neutropenia leve. Porém, apresenta uma importante vantagem em relação ao DMSA, pelo fato de não existir redistribuição dos metais para o cérebro (Flora e Pachauri, 2010).

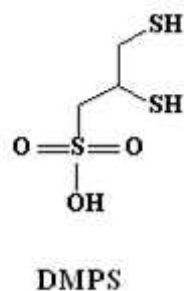


Figura 16: Estrutura química do DMPS (Flora e Pachauri, 2010).

5.v. Edetato dissódico de cálcio

O edetato dissódico de cálcio (CaNa_2EDTA) (Figura 17) é um sal do ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), um ácido poliaminocarboxílico, sintetizado em 1950 com a finalidade de tratar intoxicações por chumbo nas crianças (Flora et al., 2008). Nos primeiros estudos realizados com o EDTA, administrado via endovenosa, observaram-se inúmeros efeitos teratogênicos. Mas, em estudos posteriores concluiu-se que os efeitos teratogênicos eram provenientes da depleção de zinco e que poderiam ser eliminados com a administração de suplementos de zinco (Domingo, 1998). Posteriormente, o EDTA foi introduzido na terapêutica sob a forma de um sal de sódio (Na_2EDTA), no entanto, este sal quelata o cálcio do organismo, causando hipocalcemia (Flora e Pachauri, 2010). Assim, para superar este problema o CaNa_2EDTA foi introduzido no mercado para o tratamento de intoxicações por metais divalentes e trivalentes no organismo, pois estes metais possuem maior afinidade para o agente quelante do que o Ca^{2+} (Brunton et al., 2010). A principal utilização terapêutica deste quelante é o tratamento da intoxicação pelo chumbo, pois forma um complexo altamente estável com este metal.

O CaNa_2EDTA exibe uma absorção gastrointestinal muito reduzida (inferior a 5%), portanto, a sua administração é realizada pela via parentérica. A administração do quelante pela via intramuscular apresenta uma boa absorção, sendo no entanto, extremamente dolorosa, todavia, este problema pode ser ultrapassado pela mistura da solução CaNa_2EDTA com um anestésico local ou administrado intravenosamente. Na administração pela via intravenosa, o quelante é diluído numa solução de dextrose a 5% ou em soro fisiológico (Flora e Pachauri, 2010). Após a administração pela via

intravenosa o CaNa_2EDTA é eliminado com um tempo de semi-vida de 20 a 60 minutos. Cerca de 50% da dose administrada é eliminada pela urina passado uma hora e 95% em 24 horas sendo necessário uma função renal adequada para obter eficácia na terapia. Por outro lado, o EDTA sofre pouca metabolização hepática (Brunton et al., 2010).

Contudo, e à semelhança de outros agentes já mencionados, o CaNa_2EDTA também apresenta algumas desvantagens: elevada hidrossolubilidade, o que origina uma distribuição essencialmente extracelular, e a redistribuição do chumbo para outros tecidos, nomeadamente o cérebro (Flora e Pachauri, 2010). Por fim, devido à reduzida especificidade de ligação, o CaNa_2EDTA é responsável pela excreção e depleção de metais essenciais como o zinco, cobre, ferro, cobalto e magnésio (Flora et al., 2008). Alguns efeitos secundários estão associados à terapia com CaNa_2EDTA e incluem: nefrotoxicidade, arritmias, hipocalcémia, hipotensão, depressão da medula óssea, convulsões, problemas respiratórios, fadiga, cefaleias, febre, congestionamento nasal, lacrimejamento, lesões mucocutâneas, glicosúria, mialgia e hepatotoxicidade (Flora e Pachauri, 2010).

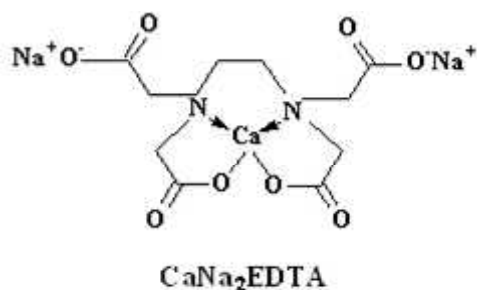


Figura 17: Estrutura química do CaNa_2EDTA (Flora e Pachauri, 2010).

5.vi. Ácido dietileno-triamino-pentaacético

O ácido dietileno-triamino-pentaacético (DTPA) (Figura 18) foi utilizado apenas experimentalmente, sob a forma de sais de CaNa_3DTPA e ZnNa_3DTPA nas intoxicações pelo plutónio, cobalto e zinco. Tanto o CaNa_3DTPA como o ZnNa_3DTPA possuem uma natureza bastante hidrossolúvel, o que leva a que a sua distribuição seja essencialmente extracelular, e a principal via de administração é a parenteral. Pode-se, no entanto,

também administrar pela via inalatória usando um nebulizador (Domingo, 1998; Flora e Pachauri, 2010). Todavia, este agente quelante após a administração é rapidamente eliminado pela via renal. Para contrariar esta rápida eliminação, em estudos recentes, o quelante foi incorporado em lipossomas, revelando uma melhor e mais eficaz eliminação do metal dos ossos e do fígado (Phan et al., 2006). A obtenção desta eficácia utilizando os lipossomas é devido a uma libertação modificada do agente quelante, onde os lipossomas retêm o fármaco encapsulado por um longo período de tempo e/ou libertá-lo a uma velocidade constante (Souto et al., 2011). O CaNa_3DTPA tem como grande desvantagem, a excreção e depleção de zinco do organismo, mas de fácil resolução, através da administração de um suplemento de zinco ou da administração do sal de zinco do DTPA que apresenta uma maior estabilidade. Alguns efeitos adversos no primeiro dia após a administração são: náuseas, vômitos, diarreia, calafrios, febre e contrações musculares. Em situações de gravidez a forma de zinco do DTPA é a melhor alternativa, uma vez que, a dose tóxica é 16 vezes menor (Domingo, 1998; Flora e Pachauri, 2010).

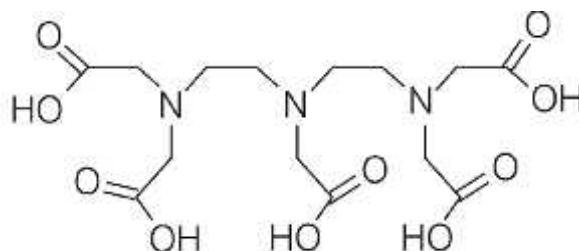


Figura 18: Estrutura química do ácido dietileno-triamino-pentaacético (DTPA) (Araújo, 2005).

5.vii. D-Penicilamina

A D-penicilamina (DPA; β - β dimetilcisteína ou 3-mercaptop-D-valina) é um aminoácido sulfidrilo, obtido de um produto de degradação da penicilina (Figura 19) (Flora e Pachauri, 2010). Walshe introduziu-o no mercado em 1956 para o tratamento de diversas intoxicações, nomeadamente por: cobre, mercúrio, chumbo e ferro (Domingo, 1998).

A DPA ostenta apenas um isômero com aplicação como agente quelante: o isômero D uma vez que, o isômero L causa neurite ótica. A DPA, é administrada oralmente e é relativamente bem absorvida a nível gastrointestinal (cerca de 50%), atingindo uma concentração plasmática máxima entre uma a três horas após a administração, independentemente da dose, que varia entre 1 a 2 mg/L. Contudo, os alimentos, os antiácidos e o ferro diminuem a sua absorção. A via intravenosa é também uma alternativa de administração deste agente.

No plasma, a DPA encontra-se maioritariamente ligada às proteínas (80%), particularmente à albumina, encontrando-se a fração restante na sua forma livre ou na forma metabolizada (dissulfuretos).

Este agente quelante é excretado sob a forma de dissulfuretos (mas também sob a forma inalterada) sendo a via de eleição a via renal. São conhecidos alguns dos efeitos adversos associados a este agente, nos quais se destacam: trombocitopenia, leucocitopenia, anorexia, náuseas e vômitos, distúrbios gastrintestinais, alopecia e proteinúria. Para além disto, a D-penicilamina está contra indicada em pacientes alérgicos à penicilina e em doentes com insuficiência renal (Brunton et al., 2010; Flora e Pachauri, 2010).

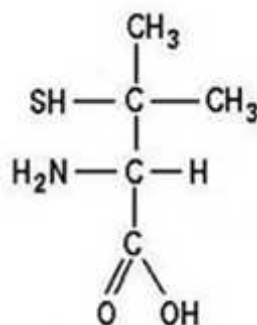


Figura 19: Estrutura química da D-penicilamina (Brunton et al., 2010).

5.viii. Desferroxamina

A desferroxamina (DFO) é um ácido tri-hidroxâmico, usado como agente quelante hexadentado em intoxicações por ferro e alumínio (Figura 20) (Bosque et al., 1995). Este quelante pode ser produzido quimicamente ou ser isolado a partir de um fungo: o *Streptomyces pilosus* (Flora e Pachauri, 2010).

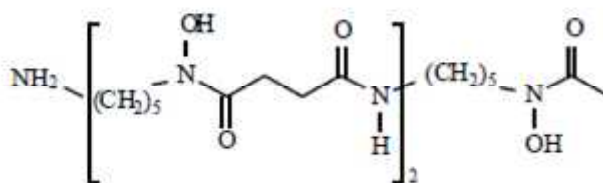


Figura 20: Estrutura química da desferroxamina (Flora e Pachauri, 2010).

A DFO apresenta um tempo de semi vida relativamente curto no plasma (5-10 minutos), pelo que, o fármaco deve ser administrado pela via parentérica (via subcutânea ou intravenosa) (Vermylen, 2008). Embora a via intramuscular seja uma alternativa, esta é contra indicada em situações de choque circulatório (Flora e Pachauri, 2010). A desferroxamina pode quelatar tanto o ferro livre, como o ferro ligado à ferritina e hemossiderina, formando um complexo ferrioxamina. Contudo, é importante referir que, a DFO é incapaz de se ligar ao ferro da transferrina e da hemoglobina (Pizzolati, 2010).

A desferroxamina quelata o ferro, envolvendo completamente a superfície do Fe^{3+} , formando um complexo estável (com blindagem completa do metal), impedindo assim, a reação entre biomoléculas e o metal, que iria proporcionar a formação de radicais livres. Já a quelatação com o EDTA recobre apenas parcialmente a superfície do Fe^{3+} levando à formação de um complexo aberto (blindagem incompleta) que proporciona a realização de determinadas reações (Figura 21) (Flora e Pachauri, 2010).

A DFO é genericamente bem tolerada com poucos efeitos secundários: infeções agudas, complicações pulmonares, toxicidade ocular e auditiva, náuseas e vômitos, trombocitopenia, diarreia, febre, caibras nas pernas e taquicardia (Bosque et al., 1995).

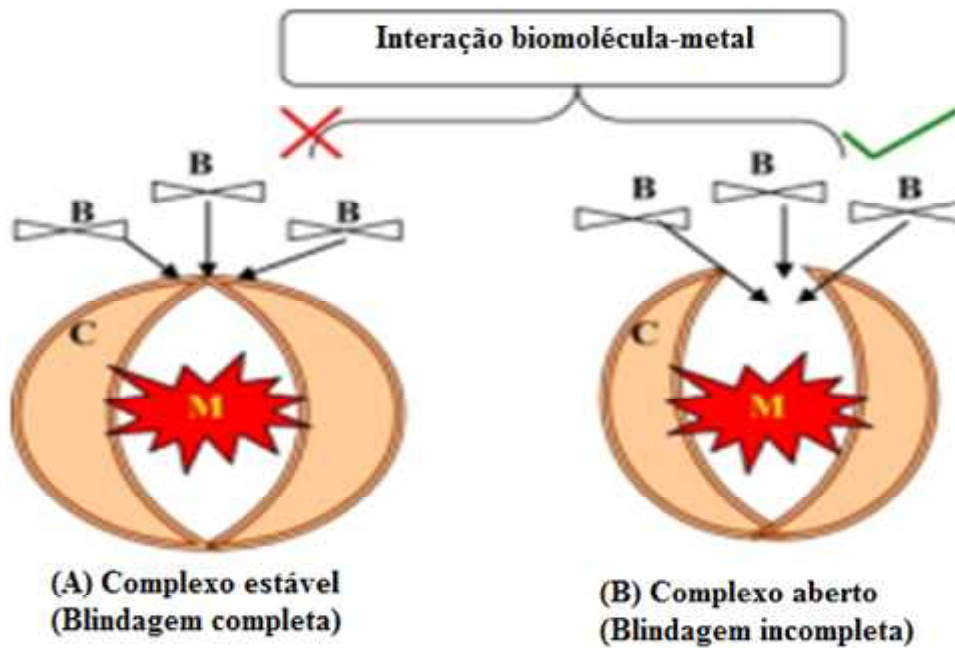


Figura 21: Formação de dois complexos entre o metal (M) e o agente quelante (C). Na estrutura A há a formação de um complexo estável que impede a interação com biomoléculas (B). Na estrutura B há a formação de um complexo que permite reações com as biomoléculas (Flora e Pachauri, 2010).

5.ix. Deferiprona

A deferiprona (1,2 dimetil-3-hidroxipirid-4-ona, L_1) (Figura 22) é um agente quelante sintético, desenvolvido no King's College de Londres em 1984 (Frabon e Tricta, 2003). É usada na terapia de intoxicações por ferro, proporcionando uma alternativa à desferroxamina, visto que, é muito menos dispendiosa e é rapidamente absorvida através do trato gastrointestinal. No entanto, a ingestão concomitante de determinados alimentos limita a velocidade de absorção, mas não diminui a quantidade absorvida do quelante (Swaran e Vidhu, 2010). Cerca de 85% da dose de deferiprona administrada pela via oral é metabolizada num conjugado glucoronídeo inativo, que posteriormente é excretado na urina, juntamente com os complexos deferiprona/ferro (Frabon e Tricta, 2003).

A deferiprona não constitui uma exceção no que diz respeito a efeitos adversos. Entre os efeitos secundários destacam-se a artropatia, sintomas gastrointestinais, cefaleias,

depleção de zinco e efeitos mais graves tais como agranulocitose e neutropenia (Flora e Pachauri, 2010).

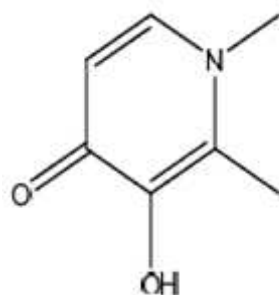


Figura 22: Estrutura química da deferiprona (Flora e Pachauri, 2010).

5.x. Tetra-etileno-tetra-amina

A tetra-etileno-tetra-amina (trientina; TETA) (Figura 23) é um agente quelante utilizado para intoxicações de cobre. Contudo, as intoxicações por este elemento são cada vez menores devido à diminuição da utilização de materiais que contenham este elemento.

Apesar de apresentar uma reduzida absorção gastrointestinal, é administrado pela via oral. A trientina é extensamente metabolizada no fígado em dois metabolitos: o N1-acetiltriétilenotetramina (MAT) e N1, N10-diacetiltriétilenotetramina (DAT) (Flora e Pachauri, 2010). Este agente quelante surgiu como uma alternativa à D-penicilamina para o tratamento da doença de Wilson, por apresentar menos efeitos adversos, embora ainda presentes: pancitopenia e a anemia sideroblástica com siderose hepática (Castro et al., 2009).

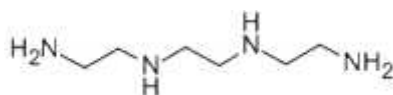


Figura 23: Estrutura química da trientina (Flora e Pachauri, 2010).

5.xi. Ácido Nitrilotriacético

O ácido nitrilotriacético (NTA) (Figura 24) é um ácido poliaminocarboxílico, com uma ação muito semelhante ao EDTA, usado como agente quelante em intoxicações por cálcio, ferro, cobre e níquel.

Pode ser administrado sob duas formas: um sal de sódio (Na_3NTA) e um sal de ferro (FeNTA). Os efeitos secundários deste agente quelante dependem essencialmente da via de administração e da dose, podendo em casos mais graves, desenvolver adenocarcinomas. Os efeitos adversos do FeNTA caracterizam-se basicamente pela sobrecarga de ferro no organismo e peroxidação lipídica em células. Já os efeitos secundários do Na_3NTA são resultantes da ligação ao zinco e cálcio (Flora e Pachauri, 2010).

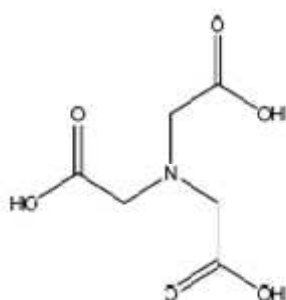


Figura 24: Estrutura química do ácido nitriloacético (Flora e Pachauri, 2010)

Na tabela a seguir apresentada (Tabela 5) tenta sintetizar-se para cada agente quelante descrito as suas principais utilizações e os mais relevantes efeitos adversos.

Tabela 5: Agentes quelantes, suas utilizações e principais efeitos adversos

Agente quelante	Utilizações nas intoxicações	Efeitos adversos
2,3- dimercaptopropanol (BAL)	Mercúrio. Chumbo, Ouro, Arsénio	Hipertensão, taquicardia, náuseas e vómitos, cefaleias, secura dos lábios e garganta e da boca, conjuntivite, rinorreia, lacrimejamento e sudorese
Succimer (DMSA)	Chumbo, Mercúrio, Cádmio, Arsénio	Desconforto gastrointestinal, neutropenia leve, erupções cutâneas e sintomas gripais
2,3-dimercaptopropano-	Chumbo, Mercúrio,	Desconforto gastrointestinal, neutropenia leve, erupções cutâneas e

Agentes quelantes com utilização terapêutica

1-sulfonato (DMPS)	Cádmio, Arsênio	sintomas gripais
Edetato disódico de cálcio (CaNa₂EDTA)	Chumbo	Nefrotoxicidade, arritmias, hipocalcemia, hipotensão, depressão da medula óssea, convulsões, problemas respiratórios, fadiga, febre, glicosúria, entre outros
Ácido dietileno-triamino-pentaacético (DTPA)	Plutônio, Cobalto, Zinco	Náuseas e vômitos, diarreia, febre, calafrios e contrações musculares
D-Penicilamina (DPA)	Cobre, Mercúrio, Chumbo, Ferro	Trombocitopenia, leucocitopenia, anorexia, náuseas e vômitos, distúrbios gastrointestinais, alopecia e proteinúria
Desferroxamina (DFO)	Ferro	Infeções agudas, complicações pulmonares, toxicidade ocular e auditiva, náuseas e vômitos, trombocitopenia, diarreia, febre, entre outros
Deferiprona (L₁)	Ferro	Artropatia, sintomas gastrointestinais, cefaleias, depleção de zinco, agranulocitose e neutropenia
Trientina (TETA)	Cobre	Pancitopenia, anemia sideroblástica com siderose hepática
Ácido nitriloacético (NTA)	Cálcio, Ferro, Cobre, Níquel	Adenocarcinoma, sobrecarga de ferro e peroxidação lipídica

IV. Novas estratégias terapêuticas

As estratégias futuras a nível da terapia de quelatação passam pelas terapias de combinação, nomeadamente a utilização de dois agentes quelantes de características distintas. A terapia de combinação consiste na administração de dois fármacos com mecanismos farmacológicos diferentes, provocando um efeito adicional e por vezes a obtenção de uma ação sinérgica. A finalidade da utilização de dois agentes quelantes baseia-se na capacidade de imobilizar os metais em compartimentos diferentes do organismo. Por outro lado, a utilização da terapia combinada tem como objetivo, reduzir a dose dos fármacos administrados, diminuindo assim os efeitos tóxicos dos fármacos e também a diminuição da redistribuição do metal tóxico (Flora e Pachauri, 2010).

Neste enquadramento, realizou-se um estudo em animais, que consistia no tratamento de uma intoxicação pelo arsénio, com MiADMSA e DMSA. Sendo o MiADMSA um fármaco lipofílico, permitiu a quelatação do metal a nível intracelular. Por outro lado, o DMSA quelata o metal tóxico a nível extracelular, promovendo uma excreção mais rápida e mais eficaz do metal. De salientar ainda que houve a redução dos efeitos secundários em comparação com uma monoterapia (Flora e Pachauri, 2010).

O DMSA e o DMPS, nos últimos 15 anos, têm vindo a ganhar uma maior aceitação entre os profissionais de saúde, essencialmente a nível de intoxicações por metais nos humanos. No entanto, ainda existem diversas áreas de investigação no processo de quelatação dos metais tóxicos, nas quais se destacam a ação e os mecanismos moleculares dos quelantes mais relevantes, o processo de quelatação intra e extracelular do metal, especialmente, no depósito e distribuição do metal pelos órgãos mais sensíveis, particularmente o cérebro. É necessário também investigar a ação do quelante em situações em que não haja uma exposição contínua/exponencial ao metal tóxico, os efeitos teratogénicos dos agentes quelantes e a diminuição da excreção de oligoelementos essenciais durante o processo de quelatação. Por fim, e não menos importante, o desenvolvimento de novos agentes quelantes para administrar pela via oral e com menos efeitos adversos em situação de doenças crónicas que provocam a acumulação do metal tóxico, como por exemplo, o cádmio, cobre, mercúrio e o ferro (Andersen, 2004; Andersen e Aaseth, 2002).

V. Conclusão

Vários metais exercem uma contribuição importante para o bom funcionamento do organismo humano, porém, podem representar um verdadeiro risco para a saúde, despoletando graves intoxicações.

O BAL foi o primeiro agente quelante a ser utilizado na terapia por intoxicações pelos metais. Este agente quelante, inicialmente desenvolvido como antídoto ao combate de um potente gás tóxico, é, hoje em dia, utilizado em intoxicações pelo chumbo, mercúrio e cobre, sobretudo resultantes de patologias como a doença de Wilson. Outro agente quelante usado nesta patologia é a D-penicilamina juntamente com o BAL, mas apresentam inúmeros efeitos adversos, dos quais se destacam: trombocitopenia, leucocitopenia, anorexia, náuseas e vômitos, distúrbios gastrointestinais, alopecia e proteinúria, hipertensão, taquicardia, rinorreia, lacrimejamento e sudorese. Assim tornou-se imperativo o desenvolvimento de novos quelantes com menos efeitos adversos. Anos após o desenvolvimento do BAL, surgiram dois novos agentes quelantes o DMSA e o DMPS, usados em intoxicações por chumbo, mercúrio, cádmio e arsénio. Estes dois agentes quelantes derivados do BAL, apresentam uma grande vantagem em relação a este último, visto possibilitarem a administração pela via oral e por apresentarem uma elevada absorção gastrointestinal. Daí, nos últimos anos terem conquistado a aceitação pelos profissionais de saúde. Outros dois agentes quelantes muito utilizados são a desferroxamina e a deferiprona principalmente na β -Talassemia e na hemocromatose hereditária, que promove a acumulação de ferro. No entanto, a terapia quelante nestas duas patologias não é tida como a primeira linha de tratamento. No caso da β -Talassemia a primeira abordagem assenta nas transfusões sanguíneas e posteriormente, e após um aumento da acumulação de ferro no organismo, inicia-se a terapia quelante. Já na hemocromatose hereditária a primeira abordagem terapêutica é feita por intermédio da flebotomia, que em contrapartida tende a desenvolver anemias no paciente.

Embora a terapia quelante, hoje em dia, seja vista como a principal via de tratamento para as diversas intoxicações pelos metais, esta não reúne consenso entre os profissionais de saúde. Na atualidade, existe uma vasta gama de agentes que podem ser utilizados para a quelatação dos metais, contudo, não existe na realidade um agente quelante ideal, pois a maioria apresenta inúmeras desvantagens e efeitos adversos.

Assim sendo, é imperativo a pesquisa e o desenvolvimento de novos agentes quelantes, nomeadamente, o desenvolvimento de agentes quelantes que proporcionem um tratamento mais eficaz e seguro, com menos efeitos adversos e contra indicações, com administração oral (visto que, a maioria é administrada pela via intravenosa), que possam ao mesmo tempo quelatar o metal a nível extracelular e intracelular e com menores efeitos teratogénicos.

No entanto, apesar de todos os inconvenientes dos agentes quelantes, é essencial compreender a importância dos mesmos para a eliminação do metal, dada a não existência de uma terapia alternativa. Assim, a utilização de uma terapia de combinação, ou diminuição da ingestão do metal tóxico através da alimentação deverá ser mais seriamente considerada para o tratamento das diversas intoxicações.

VI. Bibliografia

- Ala, A., *et alii.* (2007). Wilson's disease. *Lancet*, 369, pp. 397-408.
- Amler, S. N., *et alii.* (2003). Risk analysis, uncertainty factors, and the susceptibilities of children. *Human and ecological risk assessment*, 9, pp. 1701-1711.
- Andersen, O. (2004). Chemical and Biological Considerations in the Treatment of Metal Intoxications by Chelating Agents. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 4, pp. 11-21.
- Andersen, O. e Aaseth, J. (2002). Molecular Mechanisms of in Vivo Metal Chelation Implications. *Clinical Treatment of Metal Intoxications, Environmental Health Perspectives*, 10(5), pp. 887-890.
- Araújo, E. B. (2005). A utilização do elemento Tecnécio-99m no diagnóstico de patologias e disfunções dos seres vivos. [Em Linha]. Disponível em <<http://qnint.sbq.org.br/qni/visualizarTema.php?idTema=51>>. [Consultado em 10.03.2013].
- Atsdr (1999). Toxicological Profile for Mercury. *Atlanta: Division of Toxicology / Department of Health and Human Services.*
- Baierle, M., *et alii.* (2010). Possíveis efeitos do cobre sanguíneo sobre parâmetros hematológicos em idosas. *Jornal brasileiro de patologia e medicina laboratorial*, 46(6), pp. 463-470.
- Bosque, M. A., Domingo, J. L. e Corbella, J. (1995). Assessment of the developmental toxicity of deferoxamine in mice. *Springer-verlag*, 69, pp. 467-471.
- Brunton, L., *et alii.* (2010). Metais pesados e antagonistas dos metais pesados In: Brunton, L., *et alii.* *Goodman e Gilman: Manual de Farmacologia e Terapêutica.* ARTMED Editora.
- Cançado, R. D. (2007). Sobrecarga e quelação de ferro na anemia falciforme. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 3, pp. 316-326.
- Cançado, R. D. e Chiattonne, C. S. (2010). Visão atual da hemocromatose hereditária. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 32(6), pp. 469-475.

Carvalho, F. W. (2011). *Determinação das constantes de estabilidade dos complexos formados entre o aminoácido cisteína, N-Acetilcisteína e lisina com chumbo em solução aquosa*. Tese de doutoramento, Universidade Federal de Santa Maria.

Castro, M. G., *et alii*. (2009). Gravidez e Doença de Wilson. *Arquivos de Medecina*, 23,(4), pp.151-157.

Caussy, D., *et alli*. (2003). Lessons from case studies of metals: investigating exposure, bioavailability and risk. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56, pp. 45-51.

Chemspider, (2010). 2,3-dimercaptopropanol. [Em linha]. Disponível em <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2971.html> >. [Consultado em 02.05.2013].

Chen, J., *et alli*. (2012). Arsenic methylation, GSTO1 polymorphisms, and metabolic syndrome in an arseniasis endemic area of southwestern Taiwan. *Chemosphere*, 88, pp. 432-438

Daar, S. e Pathare, A. V. (2006). Combined therapy with desferrioxamine and deferiprona in beta thalassemia major patients with transfusional iron overload. *Annals Hematology*, 85, pp. 315-319.

Delange, P. e Mintz, E. (2012). Chelation therapy in Wilson's disease: from D-penicillamine to the design of selective bioinspired intracellular Cu(I) chelators. *Dalton Transaction*, 41, pp. 6359-6370.

Domingos, C. R. B. (2007). Aumento de ferro, hemocromatose hereditária e defeitos no gene HFE. O que conhecemos na população brasileira?. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 29(4), pp. 339-343.

Domingo, J. L. (1998). Developmental Toxicity Of Metal Chelating Agents. *Reproductive Toxicology*, 12(5), pp. 499-510.

Fabron, J. A. e Tricta, F. (2003). Terapia quelante oral com deferiprona em pacientes com sobrecarga de ferro. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 25(3), pp. 177-188.

Flora, S. J. S. e Kannan, G. M. (2005). Combined Administration of N-Acetylcysteine and Monoisomyl DMSA on Tissue Oxidative Stress During Arsenic Chelation Therapy. *Biological Trace Element Research*, 110(1), pp. 43-59.

Flora, S. J. S., Mittal, M. e Mehta, M. (2008). Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Division of Pharmacology and Toxicology*, 128(4), pp. 501-523.

Flora, S. J. S. e Pachauri, V. (2010). Chelation in Metal Intoxication. *International Journal of Environmental Research Public Health*, 7, pp. 2745-2788.

Fornari, F., *et alii*. (2000). Hemocromatose Hereditária. *Revista Médica HSPV*, 11(26), pp. 59-62.

Gartner, L. P. e Hiatt, J. L. (1998). *Tratado de Histologia em cores*, 3ª ed. Rio de Janeiro, Elsevier Editora.

Gattermann, N. (2009). The treatment of secondary hemochromatosis. *Deutsches Ärzteblatt International*, 106(30), pp. 499-504.

Grotto, H. Z. W. (2008). Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 30(5), pp. 390-397.

Hansel, D. E. e Dintzis, R. Z. (2006). *Fundamentos de Patologia*. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S.A..

Harris, D. C. (2001). *Análise Química Quantitativa*. Rio de Janeiro, LTC Editora.

Horvat, M. (1996). Mercury analysis and speciation in environmental samples. In: Bayens, W.; Ebinghaus, R.; Vasiley, O. (Eds.), *Global and regional mercury cycles: sources fluxes and mass balance*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, nº 21, pp. 135-159.

Humphreys, L. T., *et alli*. (2012). Rethinking iron regulation and assessment in iron deficiency, anemia of chronic disease, and obesity: introducing hepcidin. *Journal of academy of nutrition and dietetics*, 112, pp. 391-400.

Kleine, R. T., *et alii.* (2012). Wilson's disease: an analysis of 28 Brazilian children. *Clinical Science*, 67(3), pp. 231-235.

Koury, J. C. e Donangelo, C. M. (2003). Zinco, estresse oxidativo e atividade física. *Revista de Nutrição*, 16(4), pp. 433-441.

Leão, G. D. R. (2008). Análise das mutações C282Y e H63D no gene da proteína HFE em pacientes com hiperferritinemia. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia*, 30(3), pp. 257-258.

Lebre, R., *et alii.* (2005). Intoxicação aguda por sulfato de cobre: caso clínico. *Medicina interna*, 12(4), pp. 220-224.

Lima, I. V. e Pedrozo, M. F. M. (2001). *Ecotoxicologia do ferro e os seus compostos*, 4^a ed. Salvador, Centro de recursos ambientais.

Loggetto, S. R. (2006). Talassemia major e qualidade de vida. *Abrasta*, 28(4), pp. 284-285.

Lopes, A. R. C., *et alii.* (2001). *Manual de Biossegurança*. Salvador, Universidade Federal da Bahia editora.

Mitchell, R., *et alii.* (2005). *Fundamentos Robbins & Cotran Patologia Bases Patológicas das doenças*, 7^a ed. Rio de Janeiro, Elsevier Editora.

Moreira, F. R. e Moreira, J. C. (2004). A Importância da Análise de Especificação do Chumbo em Plasma para a Avaliação dos riscos à Saúde. *Química Nova*, 27(2), pp. 251-260.

Moreira, J. C., *et alii.* (1997). A presença de mercúrio em casa constitui um risco de contaminação humana e/ou ambiental? Relato de um caso. *Fundação Oswaldo Cruz*, 20(4), pp. 420-422.

Naoum, P. C.. Alterações eritrocitárias nas talassemias. [Em Linha]. Disponível em <<http://www.ciencianews.com.br/doencaeritro/Alterar%20E7%F5es%20Eritr.%20Nas%20Talasemias%20-%207/avalabb.htm>>. [Consultado em 16.12.12].

Navarro, R. A. (2007). *EL CADMIO, ¿CARCINOGENO PROSTÁTICO O NO?*. IX Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica

- Olivares, I. R. B. (2003). *Emissões antropicas de mercúrio para a atmosfera na região de paulinia (SP)*. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual de Campinas/SP.
- Oliveira, M. L. J., *et alii.* (2007). Mercúrio total em solos de manguezais da Baixada Santista e Ilha do Cardoso, estado de São Paulo. *Química Nova*, 30(3), pp. 519-524.
- Otles, S. e Çaguindi, O. (2010). Health importance of arsenic in drinking water and food. *Environment Geochem Health*, 32, pp. 367-371.
- Pavasi, T. (2006). *Avaliação de indicadores biológicos de exposição para As, Be, Cd, Hg, Ni, Pb em trabalhadores de incineradores de resíduos de serviços de saúde*. Dissertação (Mestrado), Instituto de Química da Universidade de São Paulo.
- Pedrosa, L. F. C. e Cozzolino, S. M. F. (1999). Alterações metabólicas e funcionais do cobre em diabetes mellitus. *Revista de nutrição, campinas*, 12(3), pp. 213-224.
- Phan, G., *et alii.* (2006). Predicting plutonium decorporation efficacy after intravenous administration of DTPA formulations: study of pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships in rats. *Pharmaceutical Research*, 23(9), pp. 2030-2035.
- Pizzolati, R. C. (2010). *Avaliação do efeito da desferroxamina e da Nacetilcisteína na nefropatia induzida pelo meio de contraste iodado em ratos diabéticos e não diabéticos*. Tese de Mestrado, Universidade do extremo sul Catarinenese
- Rodrigues, M. A., Silva, P. P. e Guerra, W. (2012). Cobre. *Química nova na escola*, 34(3), pp. 161-162.
- Román, D. A. L., Guerrero, D. B. e Luna, P. P. G. (2010). Enfermedad de Wilson. Dieta controlada en cobre. *In: Román, D. A. L.; Guerrero, D. B. e Luna, P. P. G. (Ed.). Dietoterapia, nutrición clínica y metabolismo*. Espanha, Díaz Santos, pp. 369-379.
- Rooney, J. P. K. (2007). The role of thiols, dithiols, nutritional factors and interacting ligands in the toxicology of mercury. *Toxicology*, 234(3), pp. 145-156.
- Santos, A. F. S. (2010). Ferro: Benefícios a Saúde. *8ª Mostra Acadêmica Unimep*.
- Santos, P. C. J. L., *et alii.* (2009). Alterações moleculares associadas à hemocromatose hereditária. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 31(3), pp. 192-202.

Schifer, T. S., Junior, S. B. e Montano, M. A. E. (2005). Aspectos Toxicológicos do chumbo. *Infarma*, 17(5), pp. 67-72

Shriver, D. F. e Atkins, P. W. (2008). *Química inorgânica*. Porto Alegre, Editora Bookman.

Silva, C. H. (2001). Uso de indicadores de dose interna e de efeito como ferramentas para avaliação da exposição ao chumbo. *Escola Nacional de Saúde Pública*, pp. 1-86.

Sinicropi, M. S., *et alii*. (2010). Chemical and biological properties of toxic metals and use of chelating agents for the pharmacological treatment of metal poisoning. *Archives of Toxicology*, 84(7), pp. 501-520.

Sócio, S. A., *et alii*. (2009). Doença de Wilson em crianças e adolescentes: como fazer diagnóstico precoce. *Revista medicina minas gerais*, 19(5), pp. 35-41.

Sousa, A. F. M.; Carvalho-Filho, R. J. e Chebli, J. F. (2001). Hemocromatose hereditária relato de caso e revisão da literatura. *Arquivos de Gastroenterologia*, 38(3), pp. 194-202.

Souto, E. B., *et alii*. (2011). *Novas formas farmacêuticas para administração de fármacos*. Porto, Edições Universidade Fernando Pessoa.

Suares, M. L., *et alii*. (2004). Análisis, diagnóstico y tratamiento de las intoxicaciones arsenicales. *Cuadernos de Medicina Forense*, 35, pp. 5-14.

Tavares, T. M. e Carvalho, F. M. (1992). Avaliação de exposição de populações humanas a metais pesados no ambiente: exemplo do recôncavo Baiano. *Química Nova*, 15(2), pp. 147-154

Vamnes, J. S., *et alii*. (2000). Diagnostic value of a chelating agent in patients with symptoms allegedly caused by amalgam fillings. *Journal Dental Research*, 79(3), pp. 868-74.

Vermlyen, C. (2008). What is new in iron overload?. *European Journal of Pediatrics*, 167(4), pp. 377-381.

Vilensky, J. A. e Redman, K. (2003). British anti-lewisite (dimercaprol): An amazing history. *Annals of Emergency Medicine*, 41, pp. 378-383.

WHO, World Health Organization (2012). El mercurio y la salud. [Em Linha]. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs361/es/index.html>>. [Consultado em 03.11.2012].

Zhou, T., *et alii*. (2012). Design of iron chelators with therapeutic application. *Dalton Transaction*, 41, pp. 6371-6389.