



UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade De Ciências e Tecnologia

Metais de Transição e o Sistema Nervoso Central:
Toxicidade, Uso em Diagnóstico e Opções Terapêuticas

Beatriz Maria Gil Augusto

*Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Ciências
Farmacêuticas*

Trabalho efetuado sob a orientação do Professor Doutor João Paulo Gil Lourenço

2022

DECLARAÇÃO DE AUTORIA DE TRABALHO

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados nos textos e constam da listagem de referências incluída.

Copyright © 2022 Beatriz Maria Gil Augusto

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de reportórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Dedico este trabalho aos meus pais e irmã, que me inspiraram e motivaram para nunca desistir.

AGRADECIMENTOS

Após 5 longos anos de altos e baixos, curvas e contracurvas, chegou ao fim, esta caminhada tão especial e marcante. Com ela aprendi e cresci muito, não só de forma profissional, mas também de forma pessoal.

Primeiramente, gostaria de deixar um enorme agradecimento ao meu orientador, o Professor Doutor João Lourenço, por me despertar interesse na vasta área que é a Química Inorgânica, e por todo o acompanhamento e ajuda que prestou ao longo deste trabalho.

Também gostaria de agradecer a todos os docentes fizeram parte deste percurso e por mostrarem e partilharem o gosto que têm pela ciência.

Quero agradecer muito aos meus pais e irmã por todo o apoio incondicional que me deram durante estes 5 anos. Aos meus amigos Liliana Silva, Carina Marques, Catarina Nascimento, João Martins, Ricardo Simões, Yuliya Maslenko e Patrícia Santos pelo apoio, ajuda e amizade durante esta meia década de convivência. Com vocês a meu lado as coisas difíceis tornaram-se mais toleráveis.

RESUMO

Desde a revolução industrial, as doenças agudas ou crônicas resultantes da exposição a metais pesados têm vindo a aumentar gradualmente. Em humanos, o Sistema Nervoso Central (SNC) e o Periférico (SNP) encontram-se entre os sistemas que são mais impactados pela bioacumulação de metais pesados, sendo os danos bastante significativos e bem documentados. Estes danos incluem deficiências mentais, neurológicas e cognitivas.

Os metais essenciais como o cobre (Cu) ou o zinco (Zn), são fundamentais para o bom funcionamento a nível bioquímico e fisiológico do ser humano. Assim, o inadequado fornecimento dos mesmos (acima ou abaixo dos níveis homeostáticos), poderá levar à função aberrante do SNC, e conseqüentemente, ao surgimento de várias doenças, síndromes e/ou efeitos adversos. Já no caso do mercúrio (Hg) ou do chumbo (Pb), visto não terem função biológica estabelecida, são denominados de metais não essenciais, sendo que a sua acumulação é bastante prejudicial para o bom funcionamento do organismo.

O excesso de metais essenciais ou a presença de outros metais não essenciais no organismo exige tratamento adequado, sendo a terapêutica quelante o tratamento primário para a intoxicação de metais pesados. Por outro lado, alguns metais são úteis em medicina de diagnóstico, já que inúmeras patologias neurodegenerativas beneficiam, no que diz respeito à deteção, do uso da ressonância magnética, como o caso da doença de *Parkinson* (DP).

Sendo o SNC um dos sistemas de órgãos que sofre de forma mais significativa com a alteração da homeostasia de metais pesados, é difícil negar o papel importante que estes metais apresentam a nível biológico no ser humano. Assim, a presente monografia tem como objetivo a análise sistemática da literatura científica no que diz respeito à função de alguns dos metais de transição (essenciais e não essenciais) no SNC, incluindo as doenças/ síndromes ou efeitos adversos associados ao desequilíbrio da homeostasia destes, a sua importância a nível de diagnóstico e as opções terapêuticas no sentido de restabelecimento dos equilíbrios biológicos.

Palavras-chave: Sistema Nervoso Central, metais essenciais, metais não essenciais, toxicidade, diagnóstico, opções terapêuticas.

ABSTRACT

Since the industrial revolution, acute or chronic illnesses resulting from exposure to heavy metals have gradually increased. In humans, the Central Nervous System (CNS) and Peripheral Nervous System (PNS) are among the systems that are most impacted by the bioaccumulation of heavy metals, the damage being quite significant and well documented. These damages include mental, neurological and cognitive impairments.

Essential metals such as copper (Cu) or zinc (Zn) are essential for the proper functioning of human beings at a biochemical and physiological level. Thus, their inadequate supply (above or below homeostatic levels) may lead to aberrant CNS function, and consequently, to the emergence of various diseases, syndromes and/or adverse effects. In the case of mercury (Hg) or lead (Pb), since they have no established biological function, they are called non-essential metals, and their accumulation is quite harmful to the proper functioning of the body.

Excess essential metals or the presence of other non-essential metals in the body requires adequate treatment, with chelation therapy being the primary treatment for heavy metal intoxication. On the other hand, some metals are useful in diagnostic medicine, as numerous neurodegenerative pathologies benefit, in terms of detection, from the use of magnetic resonance imaging, such as the case of Parkinson's disease (PD).

As the CNS is one of the organ systems that suffers most significantly from the change in the homeostasis of heavy metals, it is difficult to deny the important role that these metals play at a biological level in humans. Thus, the present monograph aims at the systematic analysis of the scientific literature regarding the function of some of the transition metals (essential and non-essential) in the CNS, including diseases/syndromes or adverse effects associated with the imbalance of their homeostasis, its importance in terms of diagnosis and therapeutic options in the sense of restoring biological balances.

Keywords: Central Nervous System, essential metals, non-essential metals, toxicity, diagnosis, therapeutic options.

ÍNDICE REMISSIVO

ÍNDICE.....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS	V
ÍNDICE DE TABELAS.....	VI
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VII

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO	10
II. EFEITO DOS METAIS PESADOS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL 12	
2.1 MERCÚRIO.....	12
2.1.1 EFEITOS NEUROTÓXICOS DO METILMERCÚRIO	21
2.1.2 TRATAMENTO DA TOXICIDADE DO METILMERCÚRIO.....	23
2.2 CHUMBO	25
2.2.1 EFEITOS NEUROTÓXICOS DO CHUMBO.....	30
2.2.2 TRATAMENTO DA TOXICIDADE DO CHUMBO	34
2.3 ZINCO	36
2.3.1 EFEITOS NEUROLÓGICOS DO ZINCO.....	39
2.3.1.1 DEFICIÊNCIA DE ZINCO.....	40
2.3.1.1.1 TRATAMENTO DA DEFICIÊNCIA DE ZINCO	41
2.3.1.2 EXCESSO DE ZINCO.....	43
2.3.1.2.1 TRATAMENTO DA TOXICIDADE DE ZINCO.....	44
2.4 COBRE	45
2.4.1 EFEITOS NEUROLÓGICOS DO COBRE.....	47
2.4.1.1 DEFICIÊNCIA DE COBRE	47
2.4.1.1.1 TRATAMENTO DA DEFICIÊNCIA DE COBRE	49
2.4.1.2 EXCESSO DE COBRE	49
2.4.1.2.1 TRATAMENTO DA TOXICIDADE DE COBRE.....	51
III. DIAGNÓSTICO: USO DE METAIS PESADOS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL.....	53
3.1 IMAGIOLOGIA POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA: AGENTES DE CONTRASTE	53
3.1.1 COMPLEXOS DE GADOLÍNIO.....	54
3.1.1.1 DEPOSIÇÃO DE GADOLÍNIO NO CÉREBRO	60
3.2 MÉTODOS DE MEDICINA NUCLEAR DE EMISSÃO DE RADIAÇÃO.....	62
3.2.1 TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA POR EMISSÃO DE FOTÃO ÚNICO (SPECT).....	63
3.2.1.1 SPECT-CT.....	67
3.2.1.2 SPECT-MR.....	68
3.2.2 TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE POSITRÕES (PET)	69

3.2.2.1	PET-CT	74
3.2.2.2	PET-MR.....	75
IV.	CONCLUSÃO.....	76
V.	BIBLIOGRAFIA.....	77

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura II-1. Esquema do percurso do mercúrio no meio ambiente. Adaptado da referência (20).</i>	13
<i>Figura II-2. Esquema do percurso do vapor de mercúrio libertado pelas amálgamas dentárias. Adaptado da referência (15).</i>	17
<i>Figura II-3. Esquema do percurso do mercúrio elementar no organismo e a sua distribuição nos diferentes órgãos. Adaptado da referência (13).</i>	18
<i>Figura II-4. Esquema do percurso do mercúrio orgânico no organismo e a sua distribuição nos diferentes órgãos. Adaptado da referência (13).</i>	19
<i>Figura II-5. Níveis ambientais de mercúrio numa área de contaminação intermédia (A) e um local extremamente contaminado como o desastre da baía de Minamata no Japão (1953-1956) (B) (29).</i>	22
<i>Figura II-6. Representação da estrutura química do ácido meso-2,3-dimercaptossuccínico (4, DMSA, dmsaH4) e do ácido d,l-2,3-dimercaptopropano-1-sulfonato (5, DMPS, dmppsH3) (33).</i>	24
<i>Figura II-7. Elevada ingestão materna de cálcio pode reduzir a exposição de chumbo ao feto, ao reduzir a quantidade de chumbo absorvido do intestino materno ou reabsorvido do esqueleto materno. Adaptado da referência (50).</i>	29
<i>Figura II-8. O sexo influencia a perda de volume cerebral associada à exposição do chumbo (masculino à esquerda; e feminino à direita); Uma representação composta de regiões com perda significativa de volume para participantes do CLS (estudo do chumbo em Cincinnati associada a concentrações médias de chumbo no sangue infantil é mostrada a vermelho e amarelo sobreposta a um modelo cerebral padrão masculino (esquerda) e feminino (direita) (54).</i>	33
<i>Figura II-9. Esquema Hipotético da Neurotoxicidade do Zinco. Adaptado da referência (72).</i>	44

<i>Figura II-10. Captação e efluxo de cobre nas barreiras cerebrais. Adaptado da referência (81).</i>	47
<i>Figura III-1. Interações entre complexos de Gd e a água. Adaptado da referência (92).</i>	56
<i>Figura III-2. Representação das diferenças na estabilidade dos agentes de contraste contendo gadolínio, tanto entre agentes lineares não iônicos e iônicos (a) e entre agentes lineares e macrocíclicos (b). Adaptado da referência (103).</i>	58
<i>Figura III-3. Micrografias de microscopia eletrônica de transmissão mostram a localização celular de gadolínio em amostras de tecido do núcleo denteado de A (paciente controle) e B (paciente exposto a gadolínio). Os espectros de raio-X são mostrados com os picos de gadolínio indicados pela sobreposição vermelha. Fotomicrografias de microscopia de luz de amostras de núcleos denteados de C (paciente controle) e D (paciente exposto ao gadolínio) (106).</i>	60
<i>Figura III-4. Diagrama da típica câmara de Anger com todos os seus componentes principais. Adaptado da referência (115).</i>	64
<i>Figura III-5. Representação esquemática do funcionamento da (a) tomografia computadorizada de emissão de fóton único (SPECT). Adaptado da referência (33).</i>	64
<i>Figura III-6. Tomografia computadorizada (CT), tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT) e SPECT/CT do crânio de um paciente com osteomielite da base do crânio (SBO) envolvendo o osso mastóide esquerdo com alterações ósseas destrutivas correspondentes (124).</i>	67
<i>Figura III-7. FDG PET. (A) demência de Alzheimer, (B) demência frontotemporal e (C) captação normal de ¹⁸F-FDG. As setas brancas indicam áreas corticais hipometabólicas (116).</i>	70
<i>Figura III-8. Representação esquemática do funcionamento da (b) tomografia por emissão de pósitrons (PET). Adaptado da referência (33).</i>	71
<i>Figura III-9. Agentes PET baseados em cobre: [Cu²⁺(ATSM)] (à esquerda) e [Cu²⁺(GTSM)] (à direita) (119).</i>	72
<i>Figura III-10. Imagens da fase atrasada de ⁶²Cu-ATSM PET nos pacientes (esquerda) e no controle (direita) (136).</i>	73

ÍNDICE DE TABELAS

<i>Tabela II-1. Valores-limite de migração dos brinquedos ou dos componentes de brinquedos para o chumbo. Adaptado da referência (43).</i>	26
--	----

Tabela II-2. Sintomas/Condições causados(as) por deficiência/excesso substancial de zinco. Adaptado da referência (68). 39

Tabela III-1. Radiofármacos utilizados em SPECT. Adaptado da referência (110)...... 65

LISTA DE ABREVIATURAS

3D	Tridimensional
A β P	Proteína β -amilóide
aC	Antes de Cristo
ACGds	Agentes de Contraste à Base de Gadolínio (III)
AMPA-R	<i>α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic Acid Receptor</i> (Recetor de Glutamato do tipo Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico)
ATP	<i>Adenosine triphosphate</i> (Adenosina Trifosfato)
ATP7A	<i>ATPase Copper Transporting Alpha</i> (Transportador de Cobre ATPase)
ATP7B	<i>ATPase Copper Transporting Beta</i> (Transportador de Cobre ATPase)
AVC	Acidente Vascular Cerebral
BAL	<i>British Anti-Lewisite</i>
BCE	Barreira Sangue- Líquido Cefalorraquiano
BHE	Barreira Hematoencefálica
BLRV	<i>Blood Lead Reference Value</i> (Valor de Referência de Chumbo no Sangue)
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> (Centro de Controlo e Prevenção de Doenças)
cGMP	<i>Current Good Manufacturing Practice Regulations</i> (Boas Práticas de Fabrico)
CHMP	<i>Committee for Medicinal Products for Human Use</i> (Comité dos Medicamentos para Uso Humano)
CLS	<i>Cincinnati Lead Study</i> (Estudo do Chumbo em Cincinnati)
CT	<i>Computerized Tomography</i> (Tomografia Computadorizada)
CTR1	Transportador de Cobre 1

DA	Doença de <i>Alzheimer</i>
DAT	<i>Dopamine Active Transporter</i> (Transportador de Dopamina)
dC	Depois de Cristo
DM	Doença de <i>Menkes</i>
DMSA	<i>Meso-2,3-Dimercaptosuccinic Acid</i> (Ácido Meso-2,3-Dimercaptossuccínico)
DMPS	<i>2,3-Dimercapto-1-Propanesulfonic Acid</i> (Ácido 2,3-Dimercaptopropano-1-Sulfonato)
DP	Doença de <i>Parkinson</i>
DTPA	<i>Pentetic Acid or Diethylenetriaminepentaacetic Acid</i> (Ácido Dietilenotriaminopentacético)
DW	Doença de <i>Wilson</i>
ECD	<i>Ethylene Cysteine Diethylester Dihydrochloride</i> (Dicloridrato de Etilenocisteína Dietiléster)
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EM	Esclerose Múltipla
EMA	<i>European Medicines Agency</i> (Agência Europeia de Medicamentos)
FSN	Fibrose Sistémica Nefrogénica
Glu	Glutamato
GSH	<i>Glutathione</i> (Glutationa)
hCTR1	<i>Human Copper Transporter 1</i> (Transportador de Cobre Humano 1)
H _v	Expressa o movimento da água entre o elemento de volume e o exterior
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
MiADMSA	<i>Monoisoamyl meso-2,3-dimercaptosuccinic Acid</i> (Ácido Monoisoamil meso-2,3-dimercaptossuccínico)
MN	Medicina Nuclear
MR	<i>Magnetic Resonance</i> (Ressonância Magnética)
MT	Metalotioneína
NMDA-R	<i>N-methyl D-aspartate Glutamate Receptor</i> (Recetor de Glutamato tipo N-metil-D-aspartato)
BLLs	<i>Blood Lead Levels</i> (Concentração de Chumbo no Sangue)
PC	Plexo Coroide

PET	Tomografia por Emissão de Positrões
PR	<i>Pulse Rate</i> (Tempo entre Pulsos)
PTEs	<i>Potentially Toxic Elements</i> (Elementos Potencialmente Tóxicos)
QI	Quociente de Inteligência
RDA	<i>Recommended Dietary Allowances</i> (Dose Dietética Recomendada)
SBO	<i>Skull Base Osteomyelitis</i> (Osteomielite da Base do Crânio)
SE	<i>Spin Echo Time</i> (Tempo do Eco do <i>Spin</i>)
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
SOD	Superóxido Dismutases
NPs	Nanopartículas
SPECT	<i>Single-Photon Emission Computerized Tomography</i> (Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único)
SPIONs	<i>Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles</i> (Nanopartículas de Óxido de Ferro Superparamagnéticos)
T1	Tempo de Relaxação Longitudinal
T2	Tempo de Relaxação Transversal
TCE	Traumatismo Crânio-Encefálico
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
UE	União Europeia
VDLC	Canais de Cálcio do Tipo L Dependentes de Voltagem
ZIP	Família das Proteínas Zrt/Irt

I. INTRODUÇÃO

Os metais pesados são definidos quimicamente por alguns autores como elementos metálicos com massa molar relativamente elevada que se encontra entre os $63,5 - 200,6 \text{ g.mol}^{-1}$ e com densidade acima dos 5 g.cm^{-3} . Alguns destes metais existem nos organismos vivos em quantidades vestigiais desempenhando funções vitais, no entanto, mesmo nestes casos, uma quantidade excessiva é normalmente bastante prejudicial (1,2).

Estes metais são rotineiramente usados para fins industriais, tendo, por isso, uma enorme importância no nosso quotidiano, o que os torna uma fonte de exposição para os humanos. Como exemplos de fontes de exposição incluem-se a água, o ar e a comida contaminados, que podem estar associados à exposição de metais no ambiente de trabalho, como no caso do trabalho nas minas (1–3).

Desde a revolução industrial, as doenças agudas ou crónicas resultantes da exposição a metais pesados têm vindo a aumentar gradualmente. Entre estas doenças encontram-se as deficiências mentais, neurológicas e cognitivas, dado que, em humanos, os danos no Sistema Nervoso Central (SNC) e Periférico (SNP) são bastante significativos e bem documentados, de entre os vários órgãos que são impactados pela bioacumulação de metais pesados (3,4).

O SNC é constituído pelo encéfalo e pela medula espinhal, e funciona como o centro de coordenação dos mamíferos. Este baseia-se na receção de informações sensoriais de órgãos altamente especializados em tecidos periféricos, filtrando, processando e retransmitindo *inputs* por meio de vias excitatórias e inibitórias/modulatórias, convergentes e divergentes, tendo como principal objetivo coordenar as respostas apropriadas ao estímulo inicial, possibilitando a interação do ser humano com o ambiente de forma bem-sucedida (2,5).

De forma a proteger o cérebro, na sua forma integral, de produtos químicos/metals tóxicos, a circulação sistémica do corpo é separada do microambiente do cérebro total pela barreira hematoencefálica (BHE) e pelo plexo coroide (PC) (6).

A entrada dos metais pesados no SNC é possível graças à passagem destes pela BHE. Esta barreira é uma estrutura especializada que desempenha um papel fundamental na ativação e migração das células sanguíneas durante processos patológicos e fisiológicos do SNC. Devido às propriedades hidrofílicas das espécies metálicas tais como os iões metálicos livres (normalmente na forma de aquocomplexos) e os complexos de metais com aminoácidos ou proteínas, não seria expectável que pudessem atravessar a BHE de uma forma significativa, visto que as características desta barreira limitam grandemente a difusão de substâncias não lipofílicas para dentro ou fora do cérebro. No entanto, dado que esse processo ocorre, conclui-se assim que o transporte de metais pela BHE é mediado por transportadores. O tecido neural apresenta características únicas que o tornam vulnerável a xenobióticos no geral, tais como a sua interconectividade com outros sistemas de órgãos, a sua estrutura complexa, o longo período de desenvolvimento e a mielinização (2,7,8).

Os metais essenciais como o cobre (Cu), ferro (Fe), zinco (Zn) e cobalto (Co), são fundamentais para o bom funcionamento a nível bioquímico e fisiológico do ser humano. Funcionam como cofatores essenciais para a expressão funcional de várias proteínas, sendo necessários para ativar e estabilizar enzimas, tais como as metaloproteínas. Assim, o inadequado fornecimento dos mesmos (acima ou abaixo dos níveis homeostáticos), poderá levar à função aberrante do SNC, e conseqüentemente, ao surgimento de várias doenças, síndromes e/ou efeitos adversos. Já no caso do alumínio (Al), mercúrio (Hg) ou do chumbo (Pb), visto não terem função biológica estabelecida, são denominados de metais não essenciais, sendo que a sua acumulação é prejudicial ao ser humano (3,7,9,10).

Na sua grande maioria, os metais são absorvidos pelo trato gastrointestinal, pelos pulmões ou pela pele e, conseqüentemente, entram na circulação sistémica. O metal pode depois entrar no SNC a partir do sangue através da BHE ou do sangue que atravessa o PC pelo líquido cefalorraquidiano, de onde se pode difundir no SNC. Enquanto que os metais essenciais (como o cobre), têm de passar a barreira através de transportadores semelhantes aos encontrados no trato gastrointestinal, os metais não essenciais passam, geralmente, por mimetismo molecular (2,8).

O excesso de metais essenciais ou a presença de outros metais não essenciais no organismo exige tratamento adequado, sendo a terapêutica quelante o tratamento primário

para a intoxicação de metais pesados. Por outro lado, alguns metais são úteis em medicina de diagnóstico, já que inúmeras patologias neurodegenerativas beneficiam, no que diz respeito à detecção, do uso da ressonância magnética, como o caso da doença de *Alzheimer* (DA) ou a doença de *Parkinson* (DP) (11,12).

Como anteriormente referido, dado que o SNC é dos sistemas de órgãos que sofre de forma mais significativa com a alteração da homeostasia de metais pesados, é difícil negar o papel importante que estes metais apresentam a nível biológico no ser humano. Assim, a presente monografia terá como objetivo apresentar a função dos metais pesados, especificamente do mercúrio e do chumbo (metais não essenciais) bem como do zinco e do cobre (metais essenciais) no SNC, as doenças/ síndromes ou efeitos associados ao desequilíbrio da homeostasia (excesso ou déficit) destes. Para além disso, pretende demonstrar a importância que os metais pesados têm a nível de diagnóstico e das opções terapêuticas no sentido de restabelecimento dos equilíbrios biológicos.

II. EFEITO DOS METAIS PESADOS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

METAIS NÃO ESSENCIAIS

A acumulação de metais no corpo humano poderá levar à toxicidade sistémica e conseqüentemente à indução de danos a inúmeros órgãos, mesmo com baixos níveis de exposição. Em geral, os metais mais tóxicos para o ser humano são o chumbo, cádmio, metilmercúrio e o arsénio, dado terem como órgãos alvo os rins, fígado e cérebro, originando nefrotoxicidade, hepatotoxicidade e neurotoxicidade (6).

2.1 MERCÚRIO

O mercúrio é um metal pesado (massa molar $200.59 \text{ g mol}^{-1}$) e apresenta três estados de oxidação (0, I e II). É considerado um elemento especial dado ter a capacidade de formar amálgamas com outros metais (com algumas exceções), e de ser o único metal que, na forma elementar, existe como metal líquido (13–16).

O Hg é um elemento altamente tóxico, tal como o cádmio ou o chumbo, no entanto, difere destes metais pelo facto de estar presente no ambiente sob a forma de diferentes espécies que exibem variadas propriedades toxicológicas:

- Mercúrio elementar (Hg^0);
- Compostos de mercúrio inorgânico (mercúrio mercurioso Hg_2^{+2} e mercúrio mercúrico Hg^{+2});
- Compostos de mercúrio orgânico (por exemplo, metilmercúrio (CH_3Hg^+ , MeHg^+) ou etilmercúrio ($\text{C}_2\text{H}_5\text{Hg}^+$, EtHg^+)) (2,15,17).

O comportamento biológico, farmacocinético e significado clínico das várias formas de mercúrio variam de acordo com sua estrutura química (13).

As fontes naturais e antropogénicas emitem mercúrio na sua forma elementar ou em vapor (Hg^0) na atmosfera, onde o vapor de mercúrio é oxidado à sua forma inorgânica (Hg^+ e Hg^{2+}). Por meio da chuva, atinge as bacias hidrográficas e o solo, como esquematizado na *figura II-1*. Nas águas dos oceanos, lagos e rios, o mercúrio inorgânico é microbiologicamente convertido na forma orgânica (CH_3Hg^+ , metilmercúrio) por bactérias redutoras de sulfato (18,19).

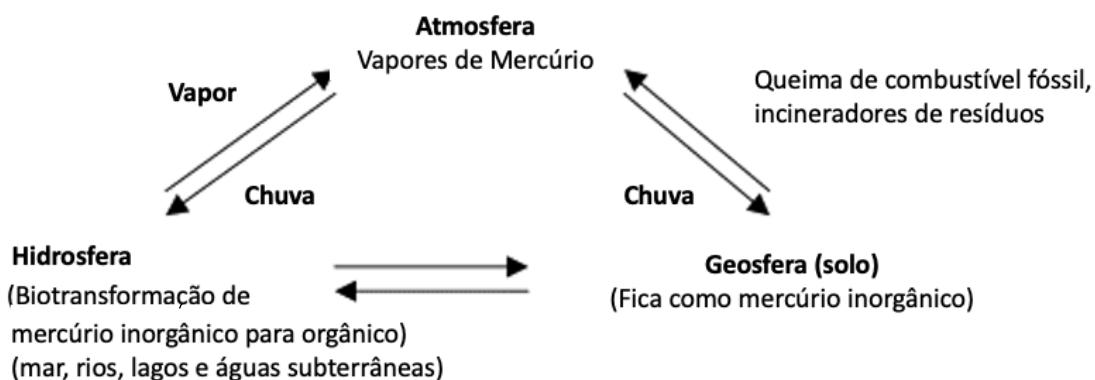


Figura II-1. Esquema do percurso do mercúrio no meio ambiente. Adaptado da referência (20).

O mercúrio é o elemento não radioativo mais tóxico para a saúde humana. Na forma de Hg^0 , é altamente solúvel em lípidos, permitindo que atravesse facilmente a BHE e as bicamadas lipídicas das células e organelos celulares. O vapor de mercúrio também penetra na mucosa e no tecido conjuntivo das cavidades oral e nasal e pode ser transportado para as células nervosas. Quando o Hg^0 sob a forma de vapor é inalado,

apenas 20% é expirado enquanto que 80% é absorvido e acumulado nos tecidos e células na sua forma oxidada de Hg^{2+} (15,18).

A fonte, o destino ambiental, a exposição e a toxicidade dos vários tipos de mercúrio variam entre eles, sendo que a toxicidade no ser humano varia de acordo com a forma de mercúrio, dose e taxa de exposição (13,21).

O mercúrio é um elemento natural com uma concentração de aproximadamente 80 mg.kg^{-1} na crosta terrestre e de $0,3 \text{ ng.L}^{-1}$ na água do mar. É emitido para a atmosfera e libertado no meio ambiente através da atividade vulcânica, meteorização de rochas, bem como através do resultado da atividade humana. Esta última é a principal causa das emissões de mercúrio, especialmente a partir de centrais elétricas a carvão, processos industriais, queima de carvão residencial para aquecimento e para cozinhar, incineradores de resíduos e como resultado da mineração de mercúrio, ouro e de outros metais (14,21,22).

As atividades humanas têm aumentado as concentrações atmosféricas totais de mercúrio em cerca de 450% acima dos níveis naturais. O aumento inclui os efeitos do mercúrio emitido por fontes antropogénicas no passado que ainda circula na biosfera, conhecido como *legacy mercury*. As emissões até o final do século XIX, principalmente da mineração de ouro e prata nas Américas, e mineração e refinação de mercúrio contribuíram mais para este aumento atual de mercúrio em solos e oceanos do que todas as fontes industriais do século XX combinadas (21).

Este é o único metal que é considerado um poluente “global” dado que na sua forma elementar (Hg^0) tem um tempo de residência atmosférica de 0,8 meses a 1,7 anos, permitindo que viaje longos percursos. Eventualmente, será depositado nos solos, águas e/ou plantas. A partir daí, o mercúrio poderá revolatilizar para o ar, ou ser transportado pela água e/ou entrar na cadeia alimentar (14,21).

Além disso, o mercúrio tem sido usado numa ampla gama de produtos que vão desde o tratamento de sementes, restaurações dentárias e conservantes em vacinas. Assim, todos nós estamos expostos ao mercúrio de alguma forma e nalguma concentração (17).

As exposições humanas ao mercúrio elementar e inorgânico podem ocorrer em ambientes ocupacionais e por meio do contacto com produtos que contenham mercúrio.

O Hg^0 é um líquido volátil à temperatura ambiente e pressão atmosférica. Este é raramente encontrado no seu estado puro, pelo que é extraído, por exemplo, do cinábrio (HgS). Foi comumente utilizado em termômetros, no entanto, devido às preocupações de exposição humana e libertação de mercúrio no ambiente, este já não é utilizado. O Hg^0 não é atualmente utilizado em indústria como anteriormente foi, com a exceção do processo de cloro-álcali, amálgamas dentárias, *switches* eletrônicos e lâmpadas fluorescentes (13,21).

A amálgama dentária é uma fonte significativa de exposição de mercúrio nos seres humanos. Esta representa uma fonte de vapor de mercúrio, sendo que os indivíduos com amálgama têm 2 a 12 vezes mais mercúrio nos tecidos do corpo em comparação com indivíduos sem amálgama. Esta é composta por, aproximadamente 50% de mercúrio elementar juntamente com prata e cobre, bem como pequenas quantidades de outros metais como o zinco. Assim, o mercúrio é libertado continuamente sob a forma de vapor num estado não ionizado (Hg^0), iões ou partículas muito pequenas, que são consequentemente inaladas ou ingeridas. A amálgama também pode representar um risco ocupacional para dentistas e ainda causar a libertação de mercúrio para a atmosfera durante o processo de cremação (16,17,23,24).

A melhoria nos materiais odontológicos e nas práticas que reduzem a necessidade de restauros dentários, resultou no declínio, em aproximadamente duas vezes, dos níveis de mercúrio na urina na última década nos Estados Unidos da América (21).

Os compostos inorgânicos de Hg são usados numa vasta gama de produtos médicos e cosméticos: antissépticos, pós para dentição e cremes para clarear a pele (13).

O cloreto mercurioso (calomel, Hg_2Cl_2) tem uma solubilidade muito baixa em água e, portanto, não é considerado perigoso. No entanto, o uso de pó de dentição contendo mercúrio mercurioso em bebés levou a um aumento acentuado no nível de mercúrio urinário (17).

Os compostos orgânicos de mercúrio consistem em Hg complexado com grupos alquil ou fenil. Os compostos de alquil Hg têm sido usados como inseticidas e fungicidas, no entanto, devido a incidentes de envenenamento em massa envolvendo sementes de grãos tratadas com Hg, este não é mais usado. Os compostos de fenil Hg são usados como conservantes em medicamentos, como timerosal, antissépticos e desinfetantes. O timerosal (etilmercúrio), é usado em quantidades muito pequenas como conservante

nalgumas vacinas e produtos farmacêuticos. Apesar dos compostos etil- e metilmercúrio terem propriedades toxicológicas semelhantes, têm algumas diferenças que devem ser notadas, nomeadamente o facto do etilmercúrio ser degradado mais rapidamente para Hg^{2+} e para doses equivalentes, pelo que menos mercúrio será encontrado no cérebro após a exposição ao EtHg^+ em comparação com o MeHg^+ (13,17,22).

A Organização Mundial de Saúde monitoriza há mais de 10 anos as evidências científicas relacionadas com uso do timerosal como conservante de vacinas e chegou consistentemente à conclusão de que não há evidências de que a quantidade de timerosal usada nas vacinas represente um risco à saúde (22).

A forma mais importante de mercúrio orgânico é o MeHg^+ . A exposição dietética ao MeHg^+ é principalmente através de peixes, mariscos e mamíferos marinhos. Os grupos populacionais com elevado consumo destes alimentos tendem a apresentar maior exposição, embora estes também proporcionem inúmeros benefícios à saúde, representando um dilema para o bem-estar geral. Tanto os fetos como os bebés também são vulneráveis aos efeitos do mercúrio, pelo que mulheres grávidas e mães recentes também são uma preocupação para a exposição ao mercúrio (21).

O MeHg^+ ao ser ingerido, bioacumula-se em peixes e mariscos. O metilmercúrio também se biomagnifica, ou seja, grandes peixes predadores (por exemplo, atum, peixe-espada e tubarões) são mais propensos a ter altos níveis de mercúrio como resultado do consumo de muitos peixes mais pequenos que adquiriram mercúrio através da ingestão de plâncton (13,22).

Todas as formas de mercúrio são tóxicas, mas os principais efeitos diferem. Exposições ao mercúrio elementar podem afetar o sistema nervoso. A exposição ao vapor de Hg^0 e ao MeHg^+ produz sintomas no SNC, enquanto que, quando ocorrem exposições aos sais mono e divalentes de mercúrio, o rim é o órgão-alvo (15).

As exposições ao metilmercúrio estão associadas a efeitos adversos no desenvolvimento do cérebro, especialmente em fetos, evidenciado em eventos de envenenamento de metilmercúrio no Japão e Iraque. A partir dos resultados de vários estudos realizados, é possível concluir que as exposições crónicas ao metilmercúrio de nível relativamente baixo também podem estar associadas a uma série de outros

resultados adversos à saúde, afetando, por exemplo, os sistemas cardiovascular e imunológico (2).

O Hg^0 no estado líquido é pouco absorvido, pelo que apresenta baixo risco de saúde. Assim, o mercúrio elementar apresenta efeito tóxico primariamente por inalação de vapores de mercúrio. Este pode causar irritação a nível ocular e a nível da pele, apesar de ser absorvido lentamente pela mesma. Já as gotas de mercúrio elementar poderão ser absorvidas através do contacto ocular. A ingestão não é uma via importante de exposição aguda dado que o mercúrio elementar não é absorvido pelo trato gastrointestinal (13,25).

No caso de exposição a mercúrio elementar devido às amálgamas dentárias, o mercúrio absorvido varia de 9 a 17 μg /dia. O percurso do vapor de mercúrio libertado pelas amálgamas dentárias está esquematizado na *figura II-2*. Este é inalado e facilmente absorvido pelos pulmões e pelas membranas mucosas, e é no sangue, que o mercúrio elementar é oxidado a mercúrio mercúrico parcialmente sob a influência da catalase (e que, conseqüentemente, influencia a absorção de mercúrio pelo cérebro). Depois, distribui-se por todo o corpo, depositando-se em diferentes tecidos e células (15,17,26).

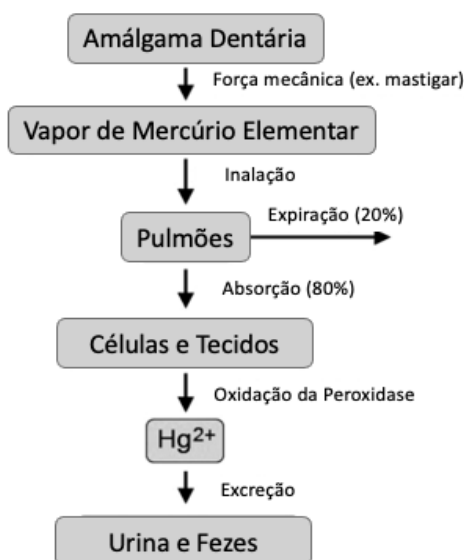


Figura II-2. Esquema do percurso do vapor de mercúrio libertado pelas amálgamas dentárias. Adaptado da referência (15).

A forma oxidada de Hg^{2+} é muito tóxica devido ao seu longo tempo de semivida em tecidos não renováveis, como o cérebro, e a sua capacidade de se ligar

irreversivelmente aos grupos sulfidrilo (-SH) do tiol (as moléculas com grupos SH são referidas como tióis), como representado na *figura II-3*. Os grupos -SH são omnipresentes em peptídeos e proteínas em todo o corpo, sendo que a maioria tem um papel importante a nível da função ou estrutura de inúmeras proteínas. Assim, a ligação irreversível Hg-S- resulta na alteração da estrutura das proteínas e inibição da sua função enzimática. A afinidade de ligação do Hg ao sulfidrilo é maior em comparação com a do Cd, As e Pb, sendo indicativo do maior papel da reatividade do tiol na toxicidade do Hg (18,26).

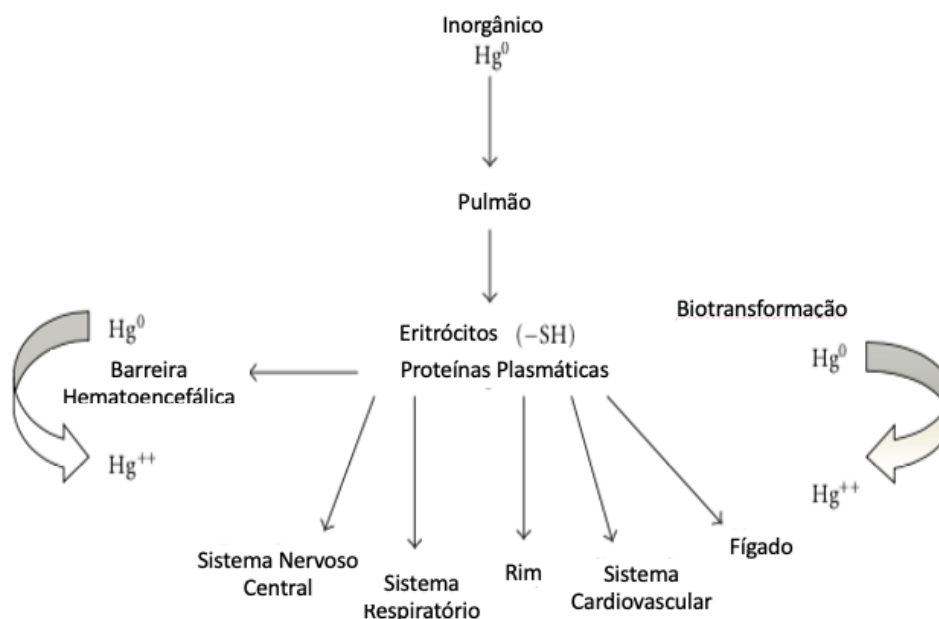


Figura II-3. Esquema do percurso do mercúrio elementar no organismo e a sua distribuição nos diferentes órgãos. Adaptado da referência (13).

O mercúrio inorgânico reage imediatamente com moléculas intracelulares, como enzimas, glutatona (GSH), resíduos de cisteína, tubulina, canais iónicos e transportadores, podendo induzir a inativação de proteínas como hormonas e cofatores de enxofre, bloqueando os seus grupos funcionais (-SH) e causando lesão celular e também neuronal. Essas interações inibem as atividades de tais moléculas e interferem nas funções celulares normais; além disso, mesmo concentrações muito baixas de Hg²⁺ diminuem os níveis de GSH e aumentam o *stress* oxidativo (15,18).

Isto porque a absorção de mercúrio elementar no tecido cerebral também é marcadamente dependente dos níveis de GSH cerebral, já que uma redução de 20% no conteúdo de GSH no cérebro resultará num aumento de 66% no conteúdo de mercúrio no cérebro (17).

O mercúrio inorgânico também se pode ligar aos grupos tiol da α -tubulina e β -tubulina, a principal proteína monomérica constituinte dos microtúbulos neuronais, bloqueando o processo de montagem e levando à desintegração dos túbulos. Além disso, a exposição ao mercúrio inorgânico pode alterar a homeostase do cálcio pelo comprometimento da bomba de Ca-ATP, causando danos cerebrais (18).

Relativamente aos compostos de mercúrio inorgânico, os sais de mercúrio são facilmente absorvidos pelo trato gastrointestinal, e acumulam-se principalmente nos rins, e, de seguida, no fígado. Os compostos inorgânicos mercuriosos e mercurícos não afetam o SNC atuando a nível da produção de reações inflamatórias nos rins e aparelho gastrointestinal, visto que os seus órgãos-alvo são os do trato gastrointestinal, do sistema imunológico e os rins. O mercúrio inorgânico é excretado em grande parte através da urina e fezes, e parcialmente através do leite materno, suor e lágrimas (2,13,15,16).

Já a nível dos compostos de mercúrio orgânico, dando como exemplo o MeHg^+ , este é prontamente absorvido por inalação e cerca de 80% é retido após a exposição ao vapor. Se o MeHg^+ estiver presente num aerossol, a taxa de absorção dependerá do tamanho e das características das partículas. O MeHg^+ também pode ser absorvido através da pele intacta. No caso de exposição oral, o seu percurso encontra-se esquematizado na *figura II-4*. A taxa de absorção do MeHg^+ no trato gastrointestinal é alta (cerca de 90-95%), embora o MeHg^+ encontrado nos alimentos esteja ligado aos grupos $-\text{SH}$, e contribui para sua alta toxicidade e grau de biodisponibilidade (15,17).

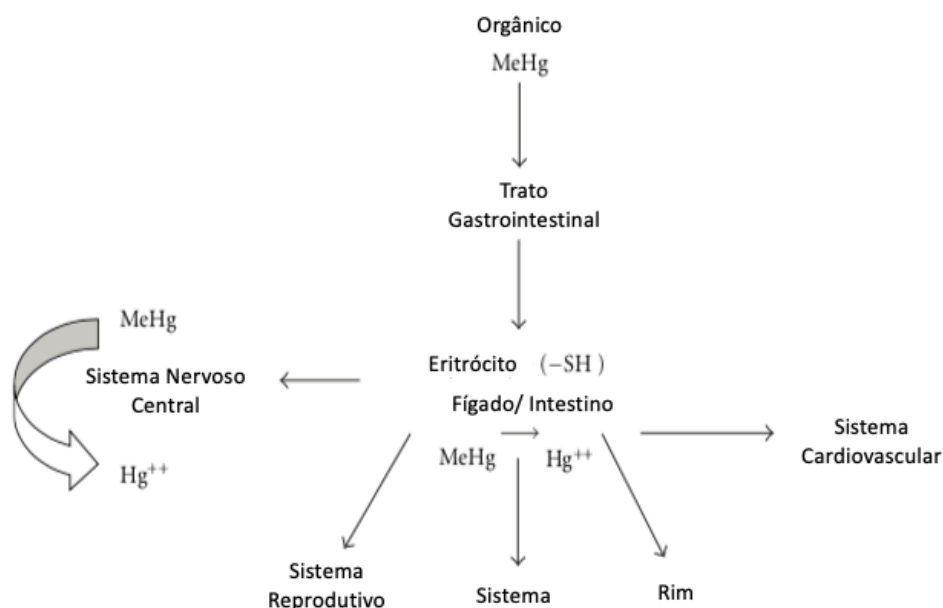


Figura II-4. Esquema do percurso do mercúrio orgânico no organismo e a sua distribuição nos diferentes órgãos. Adaptado da referência (13).

Após a absorção, o MeHg^+ é distribuído pelo corpo, penetrando no SNC. Aproximadamente 10% da carga corporal é encontrada na região da cabeça e 5% no compartimento sanguíneo. A distribuição para todos os tecidos tem a duração de aproximadamente 30h, sendo que a absorção no cérebro é mais lenta do que para outros órgãos. No entanto, o cérebro tem alta afinidade para com o MeHg^+ , sendo que as concentrações podem ser 3 a 6 vezes superiores que no sangue (13,27,28).

No caso de uma gravidez, como os compostos orgânicos de mercúrio são lipofílicos, o MeHg^+ atravessa facilmente a barreira placentária, sendo transportado através da placenta e depositado no feto. Isto tem consequências tóxicas para o desenvolvimento do cerebelo do feto (13,15).

Em equilíbrio, o cérebro fetal pode ter a mesma concentração que o cérebro da mãe. No entanto, a concentração sanguínea fetal em humanos pode ser maior do que a da mãe, sendo que os níveis de Hg no cérebro fetal são cerca de 5 a 7 vezes maiores do que no sangue materno. Isso pode ser devido a diferenças na hemoglobina, pois esta é a principal proteína de ligação do MeHg^+ nos eritrócitos, e o conteúdo de hemoglobina difere entre a mãe e o feto (13,15).

Em qualquer nível de acumulação, a parestesia aparece como o primeiro sintoma de envenenamento por compostos de mercúrio orgânico e pode progredir para ataxia, disartria, constrição do campo visual e perda de audição (15).

Usando o mimetismo molecular, o MeHg^+ pode atravessar facilmente a BHE, chegando às células da glia e aos neurónios, onde é convertido em mercúrio inorgânico.

A desmetilação do metilmercúrio em tecidos de mamíferos pode ser inferida de forma indireta a partir do aparecimento de Hg inorgânico em indivíduos expostos ao MeHg^+ . A clivagem da ligação C-Hg no MeHg^+ é um fenómeno comum em mamíferos. No entanto, dado que o processo é muito lento, uma explicação plausível para o aparecimento de Hg inorgânico no cérebro e noutros tecidos será a clivagem espontânea da ligação C-Hg (29).

Do ponto de vista químico, o MeHg^+ é caracterizado como um ácido fraco e tem alta afinidade por grupos nucleofílicos, como os grupos -SeH (grupo selenol) e -SH

(grupo sulfidrilo ou tiol) presentes na estrutura de várias biomoléculas, podendo diminuir parcialmente a sua capacidade antioxidante. Isto ocorre porque, no caso do selênio, as selenoenzimas apresentam uma ação protetora contra o *stress* oxidativo no cérebro, sendo que uma dieta rica em selênio poderá proteger contra a toxicidade do metilmercúrio (18,19).

A natureza eletrofílica do metilmercúrio facilita a reação com vários grupos tiol (presentes em proteínas sulfidrilo e na GSH) que são essenciais para combater o *stress* oxidativo. Isto irá contribuir para a inibição da captação de cistina e cisteína pelos astrócitos, comprometendo a síntese da GSH e o estado redox celular. Assim, estas interações modificam a estrutura da proteína, o estado oxidativo e a função biológica (18,19,27).

2.1.1 EFEITOS NEUROTÓXICOS DO METILMERCÚRIO

No SNC, o MeHg^+ pode afetar muitos tipos de células, no entanto, evidências sugerem que os astrócitos representam um local preferencial para a sua acumulação, desempenhando um papel crucial na neurotoxicidade do MeHg^+ . Estas células têm um papel essencial no desenvolvimento, função e plasticidade do cérebro: coordenam o desenvolvimento e a sobrevivência neuronal, controlam a formação e a função das sinapses e desempenham um papel importante na formação dos circuitos neuronais. Além disso, os astrócitos realizam outras funções críticas no cérebro, incluindo a formação da BHE e a expressão de transportadores de neurotransmissores (27).

O mercúrio inorgânico presente nos astrócitos inibe a captação de glutamato e aspartato, aumentando a concentração de glutamato na fenda sináptica, resultando em altos níveis de glutamato extracelular, e causando efeitos neurotóxicos no SNC (18,27).

Para além dos efeitos nos astrócitos, também pode estimular a produção e secreção de proteases lisossômicas nas células microgliais, levando também à toxicidade neuronal (27).

Historicamente, ocorreram duas grandes epidemias devido ao envenenamento por MeHg^+ , que demonstraram que este composto era a causa da disfunção neurológica

O segundo evento de intoxicação por MeHg^+ causou 452 mortes entre 6.148 pacientes que apresentaram distúrbios sensoriais (parestesia), motores (ataxia, disartria) e visuais após a ingestão de pão caseiro feito de grãos de semente tratados com compostos orgânicos de mercúrio, incluindo metil e etilmercúrio (17,18).

Devido ao período de latência da neurotoxicidade do MeHg^+ , as vítimas do desastre iraquiano não apresentaram sintomas durante o período de consumo do pão. Os primeiros sintomas a ocorrer eram geralmente a parestesia, que foi rapidamente sucedida por sintomas mais graves como ataxia, disartria e constrição da visão (17).

2.1.2 TRATAMENTO DA TOXICIDADE DO METILMERCÚRIO

A estratégia da quelação é uma abordagem terapêutica no caso da exposição prolongada a íons de metais pesados que poderá resultar na neurodegeneração. No entanto, é primeiro necessário determinar se os doentes estão a sofrer exposição aguda ou crónica, bem como identificar e remover prontamente a fonte de exposição ao mercúrio (18,19).

Em relação à exposição aguda ao MeHg^+ , o procedimento geral para mitigar os efeitos tóxicos do MeHg^+ depende quase exclusivamente do uso de quelantes como o ácido 2,3-dimercapto-1-propanol (dimercaprol, *British Anti-Lewisite* ou BAL) ou o seu análogo, o ácido meso-2,3-dimercaptossuccínico (DMSA; Succimer®). Estes agentes possuem o grupo -SH nas suas estruturas, que formam complexos que são excretados mais rapidamente que os complexos com GSH ou com cisteína (19,29).

O dimercaprol é um ditiol que forma um anel estável de cinco membros entre os seus grupos sulfidrilo e, neste caso, o MeHg^+ , promovendo a sua eliminação. Este é administrado por via intramuscular, dado apresentar baixa absorção gastrointestinal. Para além disso, leva ao aumento significativo da deposição de chumbo no cérebro, aumentando consequentemente os seus efeitos neurotóxicos (31,32).

Devido às desvantagens constatadas, o dimercaprol tem sido substituído por agentes quelantes mais modernos como o DMSA ou o ácido 2,3-dimercaptopropano-1-sulfonato (DMPS), representados na *figura II-6* (32).

A natureza hidrofílica do DMSA aumenta a sua absorção a nível gastrointestinal, permitindo a administração por via oral, tornando-se uma alternativa mais vantajosa comparativamente ao BAL. Para além disso, o DMSA apresenta uma margem terapêutica mais ampla, menos efeitos adversos e melhor remoção de MeHg^+ , inclusive da região cerebral. No entanto, uma grande desvantagem associada ao DMSA é a sua distribuição extracelular, uma vez que é incapaz de atravessar a membrana celular. As reações adversas mais comuns são o desconforto gastrointestinal e as reações cutâneas (11,31).

Embora o DMPS seja incapaz de reduzir os níveis de metilmercúrio no cérebro, pode removê-lo eficientemente dos rins. A intoxicação crónica por mercúrio inorgânico parece ser melhor tratada com dmpsH_3 , enquanto o dmsaH_4 parece ser o mais eficaz para casos de envenenamento por mercúrio orgânico (31,33).

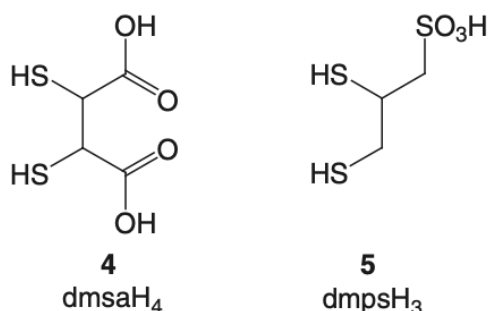


Figura II-6. Representação da estrutura química do ácido meso-2,3-dimercaptosuccínico (4, DMSA, dmsaH_4) e do ácido d,l-2,3-dimercaptopropano-1-sulfonato (5, DMPS, dmpsH_3) (33).

No entanto, as abordagens terapêuticas disponíveis para tratar a intoxicação por MeHg^+ bem como a eficácia terapêutica são limitadas porque os agentes quelantes têm difícil acesso a onde o MeHg^+ se encontra acumulado. Assim, novas opções são necessárias para substituir e/ou complementar as estratégias atuais. Além disso, o uso de agentes quelantes é um tratamento sistémico pouco específico que remove não só os metais não essenciais, mas pode também remover metais essenciais. Portanto, dependendo da história clínica do paciente, a administração de quelantes pode causar efeitos adversos significativos (19,29).

2.2 CHUMBO

O chumbo é um metal pesado (massa molar de 207.2 g mol^{-1}) e apresenta três estados de oxidação (0, II e IV), sendo que o chumbo (II) é associado principalmente a compostos inorgânicos de chumbo e o chumbo (IV) é encontrado principalmente em compostos de chumbo orgânico. Este é um metal branco-azulado, macio, mau condutor de eletricidade, altamente maleável e muito resistente à corrosão (34–36).

Os romanos foram os primeiros a usar o Pb em grande escala (de 500 aC a 300 dC) para tubos de abastecimento de água, louças e utensílios de cozinha e adoçante para vinho. Isto resultou num aumento da libertação de chumbo atmosférico (2,37,38).

O Pb é um elemento de fácil acesso que é encontrado em depósitos de minério de chumbo distribuídos por todo o mundo. Este metal é transferido continuamente entre o ar, a água e o solo por processos químicos e físicos naturais, como a precipitação, deposição seca de poeira e o fluxo de corrente/rio (39).

As fontes de emissão com origem antropogénica de Pb incluem a fabricação e aplicação de pesticidas contendo Pb; combustão de carvão e petróleo; mineração e fundição de minério; e fabricação e uso de produtos contendo Pb (5,39).

Apesar dos perigos reconhecidos, este metal continua a ter grande aplicação comercial incluindo na produção de baterias para carros, munição de armas, ligas metálicas, solda, vidro, pigmentos, cosméticos, cerâmica glazeada, joelheria, plástico (ex. brinquedos) e na medicina tradicional (5,39,40).

A exposição ambiental ao chumbo tem sido reduzida nas últimas três décadas, devido à sua eliminação como aditivo na gasolina e da redução do contacto com tintas à base de chumbo e outros produtos contendo este metal, como soldas de chumbo em recipientes usados para conter alimentos enlatados. No entanto, apesar das regulamentações que impõem limites de Pb nas várias indústrias referidas, a exposição humana ao chumbo continua, pois o chumbo não se degrada no meio ambiente, permanecendo fortemente absorvido pelo solo (5,39).

As fontes mais comuns de exposição atual ao chumbo são tintas à base de chumbo em casas mais antigas, solo contaminado, e água potável contaminada (devido à corrosão da canalização de chumbo em construções antigas ou linhas de suprimento) (41,42).

A exposição ao chumbo é uma preocupação de saúde pública, especialmente na primeira infância (do nascimento até aos 6 anos), pois as crianças estão mais em risco dada a proximidade da zona de respiração infantil ao Pb, e o aumento da atividade “mão-boca”, sobretudo no caso das crianças que sofrem de pica. A fonte primária de exposição em crianças ao Pb é de poeiras superficiais quando praticam atividades que aumentam a sua exposição de diversas origens, nomeadamente de tintas deterioradas à base de Pb. A exposição a altos níveis de Pb em crianças está associada a viver em áreas contaminadas por Pb (36,39).

Embora medidas de saúde pública associadas a melhorias nas condições de trabalho tenham reduzido a incidência de intoxicação grave por chumbo, ainda há muita preocupação com os efeitos da exposição a baixas concentrações. Em Portugal, encontram-se no Decreto-Lei n.º 137/2017, as diretivas de adaptação nas áreas de géneros alimentícios, produtos vegetais, segurança de brinquedos, etc., relativamente à segurança da presença de alguns compostos, como o caso do chumbo. Nesse documento, são apresentados os valores-limite de migração dos brinquedos ou dos componentes de brinquedos para vários compostos, nomeadamente para o chumbo (*tabela II-1*) (5,43).

Tabela II-1. Valores-limite de migração dos brinquedos ou dos componentes de brinquedos para o chumbo. Adaptado da referência (43).

Elemento	mg/kg de material do brinquedo seco, quebradiço, em pó ou maleável	mg/kg de material do brinquedo líquido ou viscoso	mg/kg de material do brinquedo raspado
Chumbo	2,0	0,5	23

Todos os brinquedos e produtos infantis comercializados no território da UE devem atender aos critérios de segurança mencionados na Diretiva de Segurança de Brinquedos 2009/48/CE (40).

Numa avaliação na UE de 2005 a 2020 sobre o “risco químico” de produtos para crianças contaminados, detetaram mais de 6.000 resultados, incluindo muitos itens infantis contaminados por contaminantes orgânicos e/ou PTEs (elementos potencialmente tóxicos) (40).

Estimam-se que, no ano 2000, 120 milhões de pessoas tinham níveis de chumbo no sangue de 5-10 µg/dl, e aproximadamente o mesmo número apresentou níveis acima dos 10 µg/dl. Os dados de todas as crianças nas amostras demonstraram que 97% viviam em regiões em desenvolvimento; 40% tinham níveis de chumbo no sangue acima de 5 µg/dl, e 20% acima de 10 µg/dl. Menos de 10% das crianças apresentaram níveis acima de 20 µg/dl, mas 99% delas viviam em regiões em desenvolvimento (44).

A magnitude da resposta tóxica depende de vários fatores, incluindo a dose, duração da exposição, a saúde, estilo de vida, idade e o estado nutricional da pessoa exposta, e, no caso da mulher, a sua altura na vida (filhos, lactação, menopausa) (45).

Tanto o Pb inorgânico quanto o orgânico são absorvidos lentamente mas consistentemente pelo corpo humano através das vias oral e inalatória (em ambientes ocupacionais, dependendo do tamanho das partículas); enquanto que apenas os compostos orgânicos de Pb podem ser absorvidos pela pele (2,39,46).

No caso da via inalatória, pode ocorrer tanto a inalação de Pb inorgânico, que consiste em aerossóis particulados que podem ser depositados no trato respiratório aquando da inalação de aerossóis; como a inalação de Pb orgânico (ex. tetraetil ou tetrametil-Pb), sendo que, segundo estudos clínicos, determinou-se que 60 a 80% do que foi depositado no trato respiratório, foi absorvido (39).

Se a exposição do Pb inorgânico ocorrer por via oral, a eficácia da absorção depende da ingestão alimentar do indivíduo antes da exposição, tanto quantitativa (já que o consumo de alimentos diminui a absorção de chumbo solúvel em água) quanto qualitativa (devido às interações com outros elementos da dieta, por exemplo, uma dieta deficiente em cálcio e ferro foi associada ao aumento na absorção de chumbo). Também

é bem conhecido que a eficiência da absorção gastrointestinal do chumbo solúvel em água é dependente da idade e substancialmente maior em crianças do que em adultos (5,39,46).

Assim, como mencionado anteriormente, o chumbo representa uma ameaça particularmente grande para crianças pequenas/bebês, visto estarem mais predispostas a comportamentos que aumentam a ingestão de poeiras superficiais de Pb através do contacto elevado com chumbo em forma de poeira, no solo e nas tintas; devido à conversão elevada de chumbo ósseo para o sangue e órgãos; os mecanismos de defesa não totalmente desenvolvidos, como no caso do sistema urinário, dado que as crianças têm a taxa de filtração glomerular (TFG) mais baixa, secreção tubular e capacidade de reabsorção insuficientes; e dada a absorção gastrointestinal elevada de chumbo em comparação com adultos, possivelmente devido a uma combinação de diferenças fisiológicas na dieta e nutrição (2,46,47).

A absorção do chumbo solúvel em água pelo trato gastrointestinal varia. No entanto, em geral, os adultos absorvem cerca de 10% da quantidade ingerida, ao passo que as crianças absorvem à volta dos 40% (5,39,48).

De qualquer das maneiras, os efeitos tóxicos sistémicos primários do Pb são os mesmos, independentemente da via de entrada no corpo. Entre os principais efeitos da toxicidade do Pb, os efeitos neurológicos são os de maior preocupação visto serem significativos em bebês e crianças, podendo resultar no decréscimo da função neurológica ao longo da vida. Assim, é possível concluir que o dano cerebral induzido pelo Pb depende da idade e do nível de exposição (2,6).

Uma vez absorvido, o chumbo entra para a corrente sanguínea, onde cerca de 1% se encontra presente no plasma, e os restantes 99% ficam ligados aos eritrócitos. Este metal é subsequentemente distribuído pelos tecidos moles na medula óssea, rins, fígado, músculos e cérebro; e, posteriormente, distribuído pela matriz óssea. O Pb acumula-se nos ossos e dentes, podendo representar até 90% da carga de chumbo corporal em adultos. Nos ossos, o chumbo substitui o cálcio e está associado à osteoporose e redução do tempo de cicatrização de fraturas em adultos. Em comparação com os ossos, os dentes acumulam chumbo a longo prazo, pelo que são melhores indicadores de exposição cumulativa ao chumbo, porque as perdas nos dentes são muito mais lentas. Nos estados patológicos que

levam ao aumento da renovação óssea, como o hipertireoidismo, é possível que haja intoxicação aguda. A migração de fragmentos de projéteis de arma de fogo retidos para o espaço articular ou para uma região adjacente ao osso tem sido associada ao desenvolvimento de sinais de intoxicação por chumbo anos ou décadas após a lesão por arma de fogo (5,34,45).

O chumbo atravessa a barreira placentária e representa um potencial risco para o feto. Dado que o Pb não se acumula na placenta, a concentração de Pb no sangue materno é quase semelhante à do sangue fetal. Os níveis de chumbo no leite materno também aumentam com o nível de chumbo no sangue materno, representando um risco adicional para o recém-nascido (5,49).

A ingestão elevada de cálcio (> 2.000 mg/dia) em mulheres com baixa exposição ao chumbo, pode atenuar os aumentos induzidos pela gravidez nas concentrações de chumbo no sangue materno, diminuindo a reabsorção óssea materna ou desmineralização durante a gravidez e a subsequente liberação de chumbo do osso, minimizando a exposição do feto ao Pb, como representado na *figura II-7* (49,50).

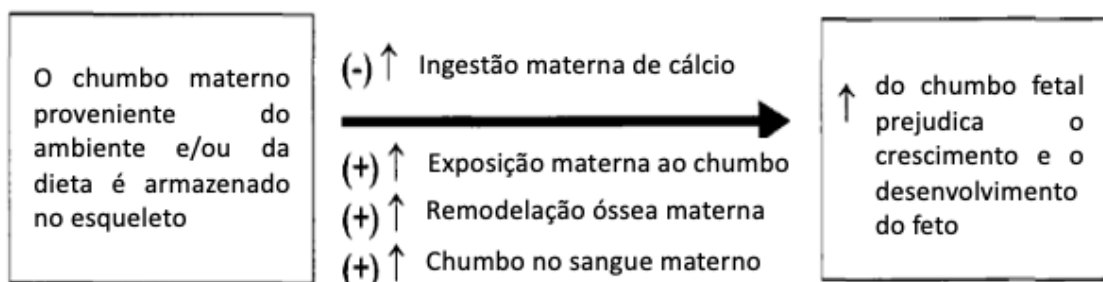


Figura II-7. Elevada ingestão materna de cálcio pode reduzir a exposição de chumbo ao feto, ao reduzir a quantidade de chumbo absorvido do intestino materno ou reabsorvido do esqueleto materno. Adaptado da referência (50).

A capacidade do chumbo de atravessar a barreira hematoencefálica deve-se principalmente à sua capacidade de substituir os íons de cálcio (Ca^{2+}). Geralmente as crianças absorvem significativamente mais Pb do que os adultos devido a uma barreira hematoencefálica subdesenvolvida (45,49).

O chumbo distribui-se pelo corpo, seguindo a distribuição do cálcio. A meia-vida do chumbo nos ossos são décadas, no cérebro é cerca de 2 anos, enquanto que no sangue aproxima-se da dos eritrócitos (~35 dias). Por esta razão, o nível de chumbo no sangue, é

principalmente um indicador de exposição recente, sendo a variável mais comum usada para estabelecer o grau de exposição em estudos de intoxicação infantil por chumbo (49).

2.2.1 EFEITOS NEUROTÓXICOS DO CHUMBO

Tanto o SNP quanto o SNC são alvos do chumbo, sendo que os efeitos neurológicos e neurotóxicos do chumbo são bem reconhecidos tanto em adultos como em crianças. A gravidade dos efeitos depende de uma combinação de fatores, incluindo a intensidade e a duração da exposição. No entanto, as crianças são mais vulneráveis do que os adultos aos efeitos do chumbo porque, como mencionado anteriormente, a absorção fracionada do Pb ingerido é maior do que em adultos e o SNC em desenvolvimento é mais vulnerável à toxicidade em comparação com um sistema nervoso totalmente desenvolvido, fazendo com que mais chumbo chegue ao cérebro das crianças do que no caso dos adultos (36,39,45).

Os compostos de chumbo orgânico são, do ponto de vista toxicológico e cinético, distintos dos compostos de chumbo inorgânico em termos de absorção e distribuição e, devido à sua maior lipofilicidade, são rapidamente distribuídos nos tecidos moles. Embora não existam funções fisiológicas específicas para o Pb inorgânico ou orgânico no corpo humano, os sintomas da exposição ao Pb diferem significativamente entre os dois (2,36).

O Pb inorgânico afeta vários sistemas, incluindo o sistema esquelético, o sistema hematopoiético, o SNP e o SNC. A intoxicação aguda por Pb inorgânico é rara visto resultar, de modo geral, da inalação industrial de monóxido de chumbo em grandes quantidades (2,45).

Os sintomas neurológicos característicos da exposição ao Pb incluem dor e fraqueza muscular, cólicas, parestesia, tremores, fadiga, déficit de memória e de atenção, e compreensão verbal. A ocorrência de sintomas graves em geral requer vários dias ou semanas de exposição recorrente (2,45).

O diagnóstico de intoxicação aguda por chumbo inorgânico pode ser difícil dado poder ser confundida com apendicite, úlcera péptica, cólica biliar, etc. Se tiver havido ingestão de fragmentos de tinta ou verniz que contenham chumbo, será possível identificar opacidades na radiografia abdominal (45).

Exposições crônicas graves ao Pb levam à encefalopatia por Pb, caracterizada por insônias, falta de atenção, vômitos, convulsões e coma. As exposições crônicas a baixos níveis de Pb têm efeitos neurológicos e comportamentais menos graves, como diminuição da libido, alterações de humor (irritabilidade, nervosismo), dor de cabeça, depressão, fadiga, esquecimento, letargia, e dificuldade na concentração (2,45).

Os efeitos neuropatológicos da exposição crônica ao Pb inorgânico no SNC incluem edema de células endoteliais e necrose dos capilares cerebrais e do cerebelo, perda de células neuronais, extravasamento capilar e edema cerebral, edema intersticial e desmielinização de fibras nervosas. Existem vários mecanismos moleculares implicados na exposição ao Pb, incluindo produção de *stress* oxidativo e interrupção da sinalização celular dependente de Ca^{2+} (2).

O diagnóstico de intoxicação deve ser confirmado com dosagem de chumbo no sangue total. Embora esse exame reflita a concentração do metal contida naquele momento no sangue e nos tecidos moles, a maioria dos pacientes com doença relacionada com chumbo apresenta concentrações acima da variação normal (45).

A intoxicação por compostos orgânicos de chumbo atualmente é muito rara, em grande parte devido à abolição a nível mundial do uso de chumbo tetraetílico e tetrametílico como aditivos antidetonantes na gasolina. Estes comportam-se como gases no trato respiratório e são absorvidos numa maior extensão do que os compostos de Pb inorgânico. Entretanto, compostos orgânicos de chumbo como estearato de chumbo ou naftenato de chumbo ainda estão em uso nalguns processos comerciais. Enquanto que o Pb inorgânico pode afetar vários sistemas de órgãos, o Pb orgânico é principalmente uma toxina do SNC (2,45).

Dado que os compostos orgânicos de chumbo atingem predominantemente o sistema nervoso central, produzem efeitos dependentes da dose e restritos aos padrões de dano neural, incluindo a diminuição da função cognitiva, a nível da atenção, memória e

aprendizagem; função neuromotora e neurossensorial alteradas; humor e comportamento alterados; e diminuição da velocidade de condução nervosa periférica (39,45).

Assim, enquanto que o chumbo inorgânico produz uma encefalopatia e neuropatia clinicamente definíveis, dependentes da idade, via de exposição e dose, a síndrome clínica causada pelo chumbo orgânico é caracterizada por apresentar três etapas: inicia-se com sintomas de letargia, seguidos de hiperexcitabilidade, agressão e tremores, e, por fim, convulsões, insônia, ataxia, paralisia e morte (2,36,39,51).

As concentrações de chumbo no sangue em homens adultos não expostos ocupacionalmente são inferiores a 0,8 $\mu\text{mol/L}$ e um pouco menores em mulheres e crianças. A exposição recente ou prolongada é indicada pelo aumento das concentrações de chumbo no sangue, podendo surgir sintomas potencialmente graves se o chumbo no sangue for superior a 4,0 $\mu\text{mol/L}$ (34).

Os efeitos adversos à saúde em crianças causados pela exposição ao chumbo incluem défices intelectuais e comportamentais, incluindo hiperatividade; défices na função motora, função cognitiva diminuída; humor alterado e comportamentos que podem contribuir para défices de aprendizagem, função neuromotora e neurossensorial alteradas, neuropatia periférica e encefalopatia (39,45,52).

Num estudo *cohort*, em que 565 neozelandeses foram acompanhados durante quatro décadas, a exposição ao chumbo na infância foi significativamente associada à menor função cognitiva e *status* socioeconómico aos 38 anos. A maior exposição ao chumbo na infância também foi associada a maiores declínios no Quociente de Inteligência (QI) desde a infância até a idade adulta e maiores declínios em relação aos pais no *status* socioeconómico ocupacional. Para além disso, estudos experimentais mostraram que a exposição ao chumbo na infância está associada à perda de volume cerebral em adultos, em regiões cerebrais responsáveis pelas funções executivas, regulação do comportamento e controlo motor. A exposição ao chumbo tem um efeito maior nos volumes cerebrais em homens do que em mulheres (representado na *figura II-8*), o que pode ajudar a explicar a maior incidência de comportamentos antissociais entre homens do que mulheres (52–54).

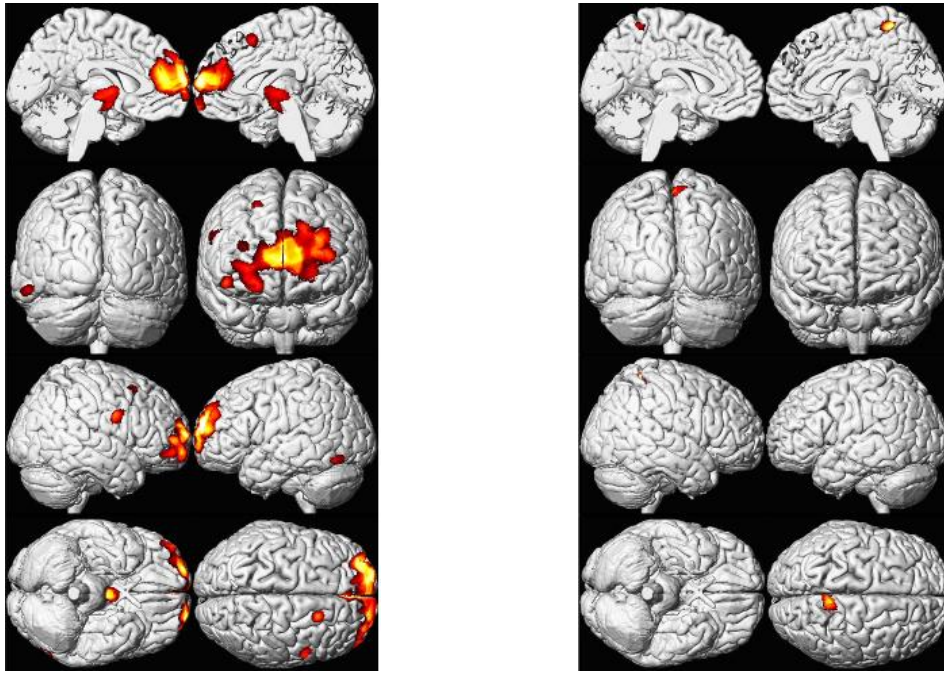


Figura II-8. O sexo influencia a perda de volume cerebral associada à exposição do chumbo (masculino à esquerda; e feminino à direita); Uma representação composta de regiões com perda significativa de volume para participantes do CLS (estudo do chumbo em Cincinnati associada a concentrações médias de chumbo no sangue infantil é mostrada a vermelho e amarelo sobreposta a um modelo cerebral padrão masculino (esquerda) e feminino (direita) (54).

Em concentrações de BLL (valores de Pb no sangue) $<30 \mu\text{g/dL}$, os sinais e sintomas de toxicidade aguda normalmente não são observados, no entanto, o déficit neurocomportamental resultante da exposição ao chumbo pode ocorrer na ausência de sintomas clínicos. O envenenamento por chumbo nesses níveis mais baixos de exposição é muito mais comum e é particularmente insidioso devido à falta de sinais físicos diagnósticos definitivos (49).

À medida que os BLLs aumentam para $>30 \mu\text{g/dL}$, são observados sinais e sintomas de toxicidade gastrointestinal e neurológica. Os sintomas de intoxicação grave por chumbo em crianças estão tipicamente associados a uma concentração de chumbo no sangue de $70 \mu\text{g/dL}$, mas podem ocorrer em algumas crianças a uma concentração de $50 \mu\text{g/dL}$. Os primeiros sintomas incluem letargia, cólicas abdominais, anorexia e irritabilidade. As crianças que sobrevivem são severamente comprometidas a nível cognitivo (36,49).

A definição de “baixo nível” de exposição ao chumbo foi alterada progressivamente ao longo do tempo. Sinais de efeitos na saúde e deficiência intelectual em crianças com BLLs abaixo de 10 mg/dL já tinham surgido em 1991, quando o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) estabeleceu 10 mg/dL como um nível de preocupação (55).

Assim, até 2012, as crianças eram identificadas como tendo um “nível preocupante” de chumbo no sangue se o resultado do teste fosse 10 ou mais microgramas por decilitro ($\mu\text{g}/\text{dL}$) de chumbo no sangue. Em 2012, o valor de referência de chumbo no sangue (BLRV) para crianças correspondente ao percentil 97,5 foi estabelecido em 5 $\mu\text{g}/\text{dL}$ (56).

Atualmente, o CDC usa um BLRV de 3,5 $\mu\text{g}/\text{dL}$ para identificar crianças com níveis de chumbo no sangue superiores aos níveis da maioria das crianças. Este novo valor de referência de chumbo no sangue mais baixo significa que mais crianças podem ser identificadas como tendo exposição ao chumbo, permitindo que pais, médicos, autoridades de saúde pública e comunidades ajam mais cedo para reduzir a exposição futura da criança ao chumbo (56).

2.2.2 TRATAMENTO DA TOXICIDADE DO CHUMBO

O foco principal do tratamento da exposição ao chumbo é reduzir o nível de chumbo circulante na corrente sanguínea. Para esse fim, a primeira linha de intervenção da intoxicação por chumbo é, como no caso anterior, interromper a exposição ao chumbo e administrar terapia de quelação. Esta envolve a introdução de um ou mais agentes quelantes que se ligam ao chumbo, facilitando a sua excreção (57).

Os agentes de quelação recomendados para a quelação de chumbo incluem alguns também usados para o tratamento da intoxicação do Hg como o ácido meso-2,3-dimercaptossuccínico oral (DMSA; Succimer[®]), o 2,3-dimercapto-1-propanol (*British Anti-Lewisite* (BAL)) ou o $\text{CaNa}_2\text{-EDTA}$ (ácido etilenodiamino tetra-acético de cálcio dissódico). Os protocolos da administração para estes agentes dependem de vários fatores, nomeadamente a sintomatologia, a idade do paciente e o nível de BLL (39,57).

O DMSA reduz os níveis de chumbo no sangue através do aumento da excreção de zinco numa extensão muito menor do que outros quelantes, e tem efeitos mínimos

sobre o cálcio, ferro, magnésio e cobre. Este é administrado por via oral e apresenta efeitos adversos como erupções cutâneas, anorexia, náuseas e vômitos (39,58).

O CaNa_2EDTA é um derivado do ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e é utilizado para o tratamento de intoxicações por metais que apresentem maior afinidade pelo agente quelante do que o Ca^{2+} . O sucesso do uso de CaNa_2EDTA no tratamento da intoxicação por chumbo deve-se, em parte, à capacidade do Pb deslocar o cálcio do quelato. Este forma um complexo metal-quelato estável que é excretado pelo rim, removendo apenas o chumbo extracelular. O CaNa_2EDTA é administrado por via parenteral e aumenta 20 a 50 vezes a excreção renal de Pb. Foi determinado que a terapêutica combinada de CaNa_2EDTA com o MiADMSA (monoisoamil-DMSA) mostrou ter um melhor desempenho na restauração de variáveis bioquímicas e clínicas originadas pela exposição subaguda ao chumbo em ratos adultos, comparativamente à monoterapia com esses agentes quelantes (11,31,39,59).

Relativamente a efeitos adversos, estes incluem erupção cutânea, febre, fadiga, sede, mialgias, calafrios e arritmias cardíacas. Para além disso, o tratamento prolongado com CaNa_2EDTA pode resultar na depleção de alguns metais, nomeadamente do zinco e cobre (31,39).

O BAL é administrado por via parentérica e forma compostos quelato-metal estáveis intra e extracelularmente. Este é eliminado principalmente pelos rins, sendo que uma pequena quantidade é eliminada na bÍlis, resultando no aumento da excreção fecal de Pb. Os indivíduos encefalopáticos com toxicidade aguda grave por chumbo são geralmente tratados com dimercaprol intramuscular, isolado ou em combinação com EDTA (em que o dimercaprol é administrado antes para evitar a redistribuição de chumbo para o cérebro). Várias reações adversas foram associadas ao BAL, incluindo hipertensão, dor de cabeça, febre, náuseas e vômitos (32,39,57).

A melhor abordagem é evitar a exposição ao chumbo. É recomendado que os pais eduquem os filhos sobre como prevenir o envenenamento acidental por chumbo. As estratégias de tratamento não são igualmente efetivas para todos devido a vários fatores desde os genéticos aos ambientais e aos nutricionais (58).

METAIS ESSENCIAIS

Os metais essenciais (ex. Zn, Cu ou Fe) mostram uma curva de dose-resposta hormética em forma de U, onde tanto a ingestão insuficiente quanto a ingestão excessiva

de um metal essencial são deletérias. Estes metais, apesar de serem necessários para o bom funcionamento de várias enzimas e proteínas, quando ocorre uma disfunção da homeostasia, os efeitos de déficit ou excesso do metal levam à disfunção de vários órgãos onde estes metais possam atuar, direta ou indiretamente (2,11).

2.3 ZINCO

O zinco é um metal de transição com uma aparência azul-prateada assim que cortado e é ligeiramente quebradiço à temperatura ambiente. Faz parte do grupo 12 da tabela periódica e possui 30 elétrons dispostos numa configuração eletrônica de $[Ar] 3d^{10} 4s^2$. O Zn é um metal essencial necessário para muitos seres vivos, incluindo os seres humanos. Este é o segundo metal de transição mais abundante depois do ferro, é um cofator para mais de 300 enzimas e metaloproteínas, e encontra-se presente em mais de 1000 fatores de transcrição que requerem zinco para as suas atividades (60–63).

O corpo humano contém aproximadamente 2 g de zinco. Este é distribuído principalmente no sangue, rins, fígado, ossos e cérebro. No SNC, o Zn é um dos metais mais prevalentes e desempenha funções biológicas de enzimas, proteínas e de fatores de transcrição bem como a manutenção de vários mecanismos homeostáticos. As funções biológicas do zinco podem ser divididas em três categorias: estrutural, reguladora e catalítica (64,65).

O zinco regula a atividade de proteínas, como recetores e enzimas que estão envolvidas na regulação de vários processos, incluindo a regulação da transdução de sinal e transcrição gênica e processos de transporte. A nível catalítico, o zinco atua como antioxidante através da catálise de cobre/zinco-superóxido dismutase e da regulação positiva da expressão de metalotioneína (MT) (64).

O papel estrutural do zinco envolve proteínas que formam domínios capazes de coordenar, o que facilita o enovelamento proteico para produzir moléculas biologicamente ativas. A grande maioria dessas proteínas forma uma estrutura semelhante a um “dedo de zinco” criada por centros de quelação, incluindo resíduos de cisteína e histidina (65).

Na natureza, o zinco é encontrado principalmente como óxido de zinco (ZnO) ou como sulfeto de zinco (ZnS), na forma de esfalerite (mineral composto de ZnS) (66).

Os compostos de zinco são bastante utilizados para os mais diversos fins, tais como em produtos farmacêuticos (ex. loção de calamina), sabonetes e baterias. O óxido de zinco é o composto de zinco mais conhecido e mais utilizado. É encontrado como ingrediente em protetores solares e como pigmento em plásticos, cosméticos, etc. As preparações tópicas de Zn incluem aquelas usadas na pele, muitas vezes na forma de ZnO, como o caso da pasta de lassar, que é utilizada para proteger contra a *rash* da fralda. O Zn quelatado é usado em colutórios bucais para prevenção do mau hálito. O piritionato de zinco é amplamente incluído em champôs para prevenção da caspa (63,67).

O zinco metálico é usado mais comumente como revestimento protetor de outros metais, como do ferro e também é um componente de várias ligas metálicas. Este é mais reativo que o ferro ou o aço e, portanto, atrairá quase toda a oxidação local até que seja totalmente corroído. Uma camada superficial protetora de óxido e carbonato de Zn ($Zn_5(OH)_6(CO_3)_2$) é formada à medida que o Zn se corrói. Muitas ligas de zinco podem ser encontradas em componentes elétricos de utensílios domésticos (63,66).

A exposição da população em geral ao zinco ocorre principalmente por ingestão. O zinco é difundido em alimentos comumente consumidos, mas tende a ser abundante naqueles de origem animal, particularmente em carnes vermelhas (ex. carne de vaca), e alguns frutos do mar (ex. ostras), enquanto que frutas e vegetais têm concentrações relativamente baixas deste metal (65–67).

Para além do zinco obtido através da alimentação, também o uso de suplementos alimentares com zinco, aumenta o consumo diário do mesmo. Os sais de zinco podem ser obtidos em lojas de produtos naturais e em farmácias. Na maioria dos suplementos vitamínicos e minerais diários, o Zn é incluído em formas como ZnO, acetato de Zn ou gluconato de Zn (63,67).

Devido a atividades como a mineração, produção de aço, entre outros, o zinco é libertado no meio ambiente. Dito isto, outras vias possíveis para a exposição ao zinco são a água e o ar. O zinco em rios que atravessam áreas industriais e de mineração pode chegar a 20 ppm. Felizmente, o tratamento eficaz das águas de esgoto reduz muito esta concentração (66,67).

Existem três principais vias de absorção do zinco no corpo humano: por inalação, através da pele ou por ingestão. Cada tipo de exposição afeta partes específicas do corpo e permite a absorção de diferentes quantidades de zinco (61).

A inalação de fumo contendo zinco geralmente ocorre por processos industriais como a galvanização, afetando principalmente os trabalhadores. A absorção dérmica do zinco ocorre especialmente por ser um componente comum de vários tratamentos tópicos para prevenção/tratamento de algumas condições (61,68).

Visto que o zinco é um oligoelemento essencial, a absorção oral de pequenas quantidades é essencial para a sobrevivência. A dose dietética recomendada (RDA) para o zinco é de 11 mg/dia para homens (> 19 anos) e 8 mg/dia para mulheres (> 19 anos), estes correspondem a aproximadamente 0,16 mg/kg/dia para homens e 0,11 mg/kg/dia para mulheres (61,66).

O zinco é libertado dos alimentos durante a digestão sob a forma de iões livres (Zn^{2+}), e posteriormente ligar-se-ão a ligandos secretados endogenamente antes de serem transportados para os enterócitos no duodeno e jejuno. A grande maioria do zinco é absorvida pelo intestino delgado por um mecanismo mediado por transportadores, sendo o jejuno o local com maior taxa de transporte. Proteínas de transporte específicas podem facilitar a passagem do zinco através da membrana celular para a circulação portal (65,69).

O intestino é o principal órgão no qual as variações na biodisponibilidade afetam as necessidades dietéticas de zinco. Esses efeitos ocorrem por meio de dois processos regulatórios principais: absorção de zinco exógeno e reabsorção de zinco endógeno. Manter a homeostase do zinco celular é essencial para a sobrevivência. Os ajustes na absorção total de zinco e na excreção intestinal endógena são os principais meios de manter a homeostase deste metal (65,69).

A regulação da homeostase também ocorre no cérebro. A BHE separa o zinco plasmático do cérebro sob condições fisiológicas. A família das proteínas Zrt/Irt (ZIP) e de transportadores de Zn (ZnTs) foram identificadas para regular a concentração de zinco e controlar/manter a homeostase do zinco nas células endoteliais. A família ZIP aumenta o zinco citoplasmático (através do aumento da sua absorção), diminuindo assim o zinco plasmático e estimulando a libertação deste. A família de ZnTs reduz o zinco

citoplasmático, facilitando o movimento do zinco citoplasmático para os organelos intracelulares e resultando no acréscimo das concentrações plasmáticas de zinco (70,71).

2.3.1 EFEITOS NEUROLÓGICOS DO ZINCO

O Zn tem impacto no sistema imunológico e possui propriedades neuroprotetoras, pelo que, alterações nos níveis plasmáticos deste metal, têm consequências particularmente no SNC e no sistema imunológico (71).

Existem quantidades substanciais de zinco nas vesículas pré-sinápticas e são libertadas com glutamato durante a excitação neuronal. Acredita-se que o zinco libertado sinápticamente desempenhe papéis cruciais nas funções normais do cérebro, pelo que o seu défice prejudica o desenvolvimento cerebral e as capacidades de aprendizagem e memória. Normalmente, os mecanismos homeostáticos devem evitar que o zinco se acumule no cérebro para atingir concentrações tóxicas, não obstante, estudos recentes indicaram que o excesso de zinco está relacionado a várias doenças neurodegenerativas e tem um papel causal na morte neuronal tardia após isquemia global transitória (61,72).

A importância do Zn para a função do SNC tem sido sugerida como fator chave no desenvolvimento de diversas doenças neurodegenerativas, como a DA, a DP e a Esclerose Múltipla (EM). A importância fisiológica da homeostase do Zn em humanos, bem como a mutação dos transportadores ZIP e ZnT na genética humana são demonstradas pelas consequências deletérias das doenças neurodegenerativas e sintomas associados que constam na *tabela II-2* (71,72).

Tabela II-2. Sintomas/Condições causados(as) por deficiência/excesso substancial de zinco. Adaptado da referência (68).

Deficiência de Zinco	Excesso Substancial de Zinco
Redução da condução nervosa	Letargia mental
Letargia devido a efeitos mentais	Redução da atividade focal
Patologia da capacidade neurossensorial	-
Patologia da capacidade psiquiátrica	-

2.3.1.1 DEFICIÊNCIA DE ZINCO

A deficiência de zinco é amplamente prevalente sendo um grande problema de subnutrição a nível mundial, particularmente na África Subsaariana e no sul da Ásia. O teor de zinco dos suprimentos nacionais de alimentos pode ser inadequado para atender às necessidades de zinco de aproximadamente 15 a 20% da população mundial. Isto poder-se-á dever a uma alimentação rica em cereais e legumes devido à sua elevada concentração em ácido fítico (ou fitato), reduzindo assim a biodisponibilidade de Zn (69,73).

Embora a ingestão dietética inadequada de zinco possa ser, em alguns casos, a causa da deficiência de zinco, os inibidores da absorção de zinco são o fator causador mais comum. O ácido fítico é o principal fator dietético conhecido por limitar a biodisponibilidade do zinco. Nos alimentos, este é composto por uma mistura de diferentes formas fosforiladas de fosfato de inositol; o hexafosfato é geralmente a forma principal, mas trifosfatos, tetrafosfatos e penta-fosfatos também estão presentes (69,74).

Em comparação com adultos, os bebês, crianças, adolescentes, mulheres grávidas e lactantes têm necessidades aumentadas de zinco e, portanto, correm maior risco da sua depleção (69).

Tanto a deficiência nutricional quanto a hereditária geram sintomas semelhantes, e a deficiência clínica de zinco causa um espectro de efeitos, desde sintomas leves a graves. A deficiência condicionada de zinco foi observada em pacientes com síndrome de má absorção, doença hepática, doença renal crônica, e outras doenças crônicas (61,75).

Os sistemas de órgãos conhecidos por serem afetados clinicamente por estados graves de deficiência de zinco incluem os sistemas epidérmico, gastrointestinal, imunológico e o SNC. Em geral, as manifestações clínicas da deficiência de zinco variam com a idade. Durante as fases iniciais de desenvolvimento humano, danifica gravemente o desenvolvimento do cérebro e prejudica a capacidade de aprendizagem e de memória. Na primeira infância, a diarreia é um sintoma proeminente (60,69,72,76).

Os sinais clínicos de deficiência grave de zinco foram identificados principalmente em pessoas que sofrem de acrodermatite enteropática, um distúrbio

metabólico autossômico recessivo raro resultante de uma mutação no transportador intestinal ZIP4. Os sinais neuropsiquiátricos incluem irritabilidade, instabilidade emocional, tremores e ataxia cerebelar ocasional. O hipogonadismo masculino, a perda de peso e o atraso no crescimento também são características clínicas proeminentes (61,69,75).

As manifestações clínicas da deficiência moderada de zinco são encontradas principalmente em pacientes com baixa ingestão de zinco na dieta, abuso de álcool, má absorção, doença renal crônica e debilitação crônica. Os sintomas incluem hipogonadismo em homens, alterações na pele, falta de apetite, letargia mental e atraso na cicatrização de feridas (61,75).

As baixas concentrações celulares de Zn podem desencadear a apoptose em vários tipos de células, incluindo hepatócitos, fibroblastos, precursores de células T, glioma e células testiculares. Os mecanismos envolvidos na indução da apoptose secundária à deficiência de Zn são múltiplos e diferem entre os diferentes tipos celulares. O déficit de Zn leva à inibição da proliferação de células neuronais que é secundária a uma paragem na fase G₀/G₁ do ciclo celular, sendo responsável por desencadear a morte neuronal apoptótica (77).

2.3.1.1.1 TRATAMENTO DA DEFICIÊNCIA DE ZINCO

As principais estratégias de intervenção para a deficiência de zinco são a diversificação/modificação da dieta, suplementação, fortificação e biofortificação (69).

A diversificação ou modificação da dieta é uma abordagem sustentável de longo prazo para melhorar a ingestão de vários nutrientes simultaneamente. As estratégias de diversificação ou modificação da dieta têm o potencial de aumentar a ingestão de zinco biodisponível tanto a nível comunitário como a nível familiar. Estas estratégias incluem a produção/promoção de alimentos de origem animal (por exemplo, por aquacultura); e as intervenções agrícolas e estratégias de processamento para aumentar a absorção de zinco em dietas à base de plantas tanto a nível comercial como doméstico (69).

Os programas de suplementação são úteis para direcionar subgrupos vulneráveis da população, que têm um alto risco particular de deficiências de micronutrientes. Esta estratégia mostrou resultados benéficos quando aplicada em doentes com doenças neurodegenerativas ou doentes mais suscetíveis a tal, como o caso de doentes que tenham sofrido de traumatismo crânio-encefálico (TCE). A suplementação melhorou a taxa de recuperação neurológica e levou à redução da mortalidade em pacientes com lesão cerebral grave. No entanto, é necessário avaliar a resposta ideal determinando a dosagem eficaz, o momento e os resultados terapêuticos para o tratamento com zinco em pacientes com traumatismo craniano (64,69).

O conhecimento sobre os fatores dietéticos que inibem a absorção de zinco e sobre as formas de superar ou remover esses fatores é essencial ao projetar estratégias para melhorar a nutrição de zinco de grupos vulneráveis. Por exemplo, o ferro pode ter um efeito negativo na absorção de zinco, se administrado em conjunto num suplemento, enquanto que nenhum efeito é observado quando as mesmas quantidades estão presentes (como fortificantes) numa refeição. Já no caso de aminoácidos como a histidina, e outros iões de baixo peso molecular, como o EDTA, são conhecidos por terem um efeito positivo na absorção de zinco e têm sido usados para suplementos de zinco. As questões práticas que devem ser abordadas incluem saber se os suplementos são a melhor escolha, e se esse for o caso, a sua segurança a curto, médio e longo prazo (60,74).

A fortificação de alimentos é uma estratégia mais económica e sustentável do que a suplementação para superar a deficiência de Zn quando esta está amplamente distribuída numa população. Os programas de fortificação também podem ser direcionados especificamente para grupos de alto risco, como bebés e crianças pequenas, que consomem determinados tipos de alimentos, como por exemplo, as fórmulas infantis (69).

A biofortificação inclui um conjunto de estratégias com o objetivo de melhorar a biodisponibilidade de zinco em alimentos vegetais, a partir da engenharia genética, através do aumento da expressão de compostos que aumentam a absorção de zinco (por exemplo, os aminoácidos) ou através da redução do conteúdo de inibidores (por exemplo, o fitato) (69,74).

2.3.1.2 EXCESSO DE ZINCO

A rutura da homeostase do zinco causa danos graves nos neurónios. Os níveis excessivos de Zn suprimem a absorção de cobre e ferro, promovendo a produção de espécies de oxigénio reativas nas mitocôndrias, interrompendo as atividades de enzimas metabólicas e ativando processos apoptóticos (76).

Geralmente, os casos de toxicidade aguda de zinco ocorrem devido a incidentes de intoxicação alimentar resultantes do armazenamento de alimentos ou bebidas em recipientes galvanizados. A nível de sintomatologia, tanto pode ocorrer a nível gastrointestinal (ex. náuseas, vómitos, dor abdominal e eventual anemia), como a nível neurológico (ex. letargia - estado patológico de falta de resposta, inatividade e tonturas) (68,78).

Por exemplo, em situações em que doentes façam suplementação excessiva de zinco, estes poderão desenvolver deficiência severa de cobre sofrendo de sintomas como anemia, leucopenia e neutropenia (78).

A inalação pulmonar de quantidades contínuas/excessivas de zinco pode causar problemas patológicos. A inalação de zinco sob a forma de óxido de zinco de origem industrial poderá causar tremores e calafrios, sintomas associados à “febre de fumos metálicos” ou tremores de zinco (68).

A nível da absorção dérmica, sabe-se que o zinco é um componente comum de vários tratamentos tópicos. No entanto, a extensão da absorção de zinco é influenciada por vários fatores, nomeadamente pelo pH da pele. Assim, de forma geral, a exposição ao zinco por via dérmica não constitui um risco patológico significativo (67,68).

Estudos recentes revelaram que o excesso de zinco libertado numa condição patológica é tóxico para o SNC e a relação entre zinco e a morte neuronal após isquemia cerebral traumática foi especificamente estudada (71).

No SNC, o Zn ocorre em duas formas: a primeira está fortemente ligada às proteínas e, a segunda, a forma livre (Zn^{2+}) encontrada nas vesículas pré-sinápticas. O zinco coexiste com o glutamato (Glu) nas vesículas pré-sinápticas e é secretado com a excitação neuronal. Em condições normais, o zinco secretado liga-se a um recetor de glutamato tipo NMDA (NMDA-R) e modula a excitabilidade pós-sináptica. A proteína

β -amilóide (A β P), que também é secretada nas fendas sinápticas, agrega-se e forma canais nas membranas. O zinco liga-se ao canal A β P e inibe o influxo de Ca^{2+} através do canal, desempenhando assim um papel protetor, como representado na *figura II-9* (71,72).

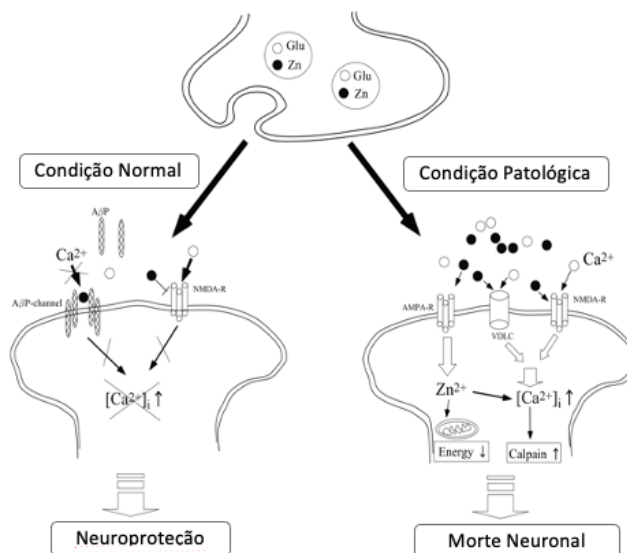


Figura II-9. Esquema Hipotético da Neurotoxicidade do Zinco. Adaptado da referência (72).

No entanto, em condições patológicas como a isquemia, grandes quantidades de zinco são libertadas nas fendas sinápticas e translocadas para neurónios-alvo pós-sinápticos através do canal de Ca^{2+} relacionado ao recetor de glutamato do tipo AMPA (AMPA-R) ou outras vias, como os canais de cálcio do tipo L dependentes de voltagem (VDLC). Esse zinco inibe inúmeras enzimas, incluindo enzimas respiratórias das mitocôndrias e causa esgotamento de energia. Além disso, o zinco aumenta os níveis intracelulares de Ca^{2+} e potencializa os efeitos do glutamato. O aumento de Ca^{2+} desencadeia várias vias apoptóticas, incluindo a ativação de calpaína. A dishomeostasia de zinco e cálcio eventualmente gera morte neuronal tardia após isquemia global transitória, representado na *figura II-9* (72).

2.3.1.2.1 TRATAMENTO DA TOXICIDADE DE ZINCO

Geralmente, o tratamento de intoxicação de Zn é feito através de agentes quelantes de ácido aminocarboxílico (à base de etilenodiamina) como o ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) ou o ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA). O DTPA e o EDTA apresentam uma forte tendência para se dissociarem de metais como o sódio, potássio ou

cálcio, em favor da ligação com o zinco em matrizes biológicas onde este metal (ou outros íons metálicos di- e trivalentes) está presente. Foi demonstrado que a quelação com CaNa_2EDTA ou com DTPA aumenta a excreção de zinco nas fezes e na urina e, conseqüentemente, diminui com sucesso os níveis de zinco em doentes que apresentam toxicidade. De entre os dois agentes mencionados, o sal de cálcio do DTPA foi determinado o mais protetor contra a toxicidade aguda por zinco (33,79,80).

2.4 COBRE

O cobre (Cu) é um metal de transição essencial de grande importância para o desenvolvimento e função normais do cérebro. Apesar de existirem alguns compostos com cobre nos estados de oxidação Cu^{3+} e Cu^{4+} , a bioquímica do cobre é amplamente dominada por compostos Cu^+ e Cu^{2+} , dado que estes íons formam vários complexos com ligandos inorgânicos e orgânicos (81,82).

O cobre é essencial para a fisiologia humana dado participar como cofator de enzimas metabólicas que estão criticamente envolvidas na respiração (citocromo c oxidase), ativação de péptidos neuroendócrinos (peptidil- α -monooxigenase), síntese e depuração de catecolaminas (dopamina- β -monooxigenase), metabolismo do ferro (ex. ceruloplasmina), defesa contra o *stress* oxidativo (superóxido dismutases (SOD), SOD1 e SOD3) e muitos outros processos celulares. A facilidade do cobre para alternar entre um estado oxidado, Cu (II), e um estado reduzido, Cu (I), é usada por cuproenzimas envolvidas em reações redox. No entanto, as mesmas propriedades redox também podem gerar espécies reativas de oxigênio (por exemplo, por reações do tipo *Fenton*: $\text{Cu}^{\text{I}} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Cu}^{\text{II}} + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$), como a geração de radicais superóxido e hidroxilo (9,81,83–86).

A principal fonte de exposição diária de cobre para o corpo humano é através da dieta, sendo que esta nos países ocidentais contém em média entre 0,6 a 1,6 mg de cobre por dia e o requisito dietético recomendado tanto para homens como para mulheres de idade adulta (19-50 anos) é de 900 $\mu\text{g}/\text{dia}$ de cobre. Este metal é encontrado em frutos do mar, chocolate, cogumelos, vinho tinto, leguminosas, batata, nozes e carne bovina. A maioria do cobre encontrado em alimentos sólidos está presente sob a forma cuprosa Cu^+ , enquanto que a encontrada na água potável está na forma cúprica Cu^{2+} . Esta diferença na

valência do Cu pode resultar em mecanismos distintos de absorção e distribuição no corpo (65,82–85).

Outras vias de exposição ocupacional ao cobre ocorrem através da inalação de material particulado, poeiras e névoas gerados por atividades antropogênicas tais como a soldagem, mineração e fundição de metais (82,87).

O Cu é principalmente absorvido na superfície das microvilosidades intestinais (parte proximal do intestino delgado) como Cu^+ pelo transportador de Cobre 1 (CTR1). No caso da absorção de Cu^{2+} , este é possivelmente absorvido pelo transportador de metal bivalente 1 ou outros transportadores de metal. Para além do intestino, alguma absorção pode ocorrer no estômago, onde o ambiente ácido promove a solubilidade do cobre pela dissociação de macromoléculas contendo cobre derivadas de fontes alimentares (65,82).

O cobre no sangue é geralmente ligado à ceruloplasmina antes de ser transportado para as células através do transportador de cobre ATPase (ATP7A). Uma vez na célula, várias *chaperones* de Cu distribuem-no para organelos e enzimas ou excretam-no da célula por meio de ATP7A e ATP7B. O ATP7B é altamente expresso no fígado e moderadamente expresso no cérebro, e está localizado na rede transGolgi dessas células para gerir a distribuição e excreção celular de cobre. O ATP7A é expresso principalmente na membrana plasmática basal das células intestinais para mediar o efluxo de Cu^+ (82,87).

O cérebro é o segundo órgão, depois do fígado, que acumula a maior quantidade de cobre. Este é transportado para o cérebro como íão de cobre livre através das células endoteliais cerebrais que compõem a barreira hematoencefálica (BHE), pelo CTR1, e libertam cobre no parênquima cerebral através do ATP7A. O cobre é então distribuído para o parênquima cerebral e para o líquido cefalorraquidiano (LCR), onde é absorvido pelas células epiteliais do plexo coróide que formam a barreira Sangue-LCR (BCE). O cobre absorvido por essas células é libertado no sangue pelo ATP7A ou armazenado pelo ATP7B para transporte potencial no LCR, como esquematizado na *figura II-10* (81,84).

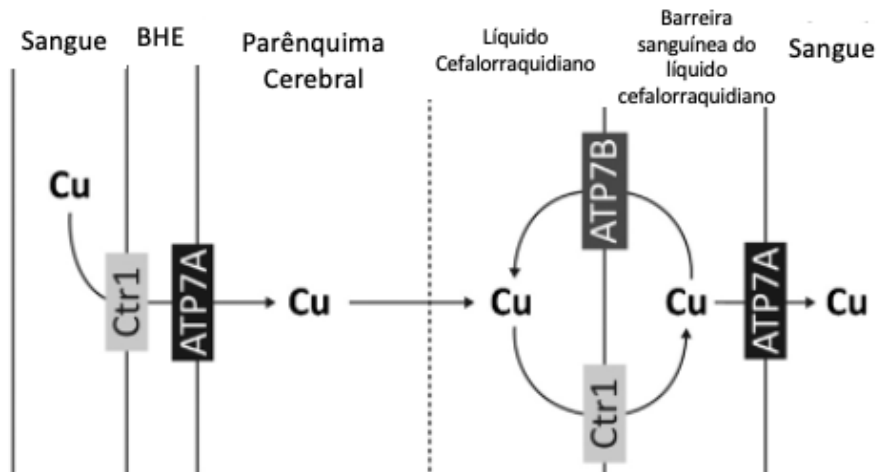


Figura II-10. Captação e efluxo de cobre nas barreiras cerebrais. Adaptado da referência (81).

2.4.1 EFEITOS NEUROLÓGICOS DO COBRE

A disfunção homeostática pode resultar de desequilíbrios alimentares ou de mutações genéticas dos Cu-ATPases (ATP7A e ATP7B): a perda de função do ATP7A resulta na deficiência sistêmica de Cu devido à incapacidade das células intestinais de transportar e distribuir Cu^+ absorvido para o resto do corpo (causa da doença de *Menkes* (DM)); a perda de função do ATP7B resulta na acumulação de cobre, particularmente no fígado e no cérebro, devido à incapacidade de o excretar, sendo uma causa da doença de *Wilson* (DW). Ou seja, a perda de função nas ATPases é responsável tanto pela doença de *Wilson* quanto pela doença de *Menkes*. A deficiência de cobre leva à diminuição da atividade de enzimas fisiologicamente importantes, enquanto o excesso de cobre produz espécies reativas que danificam vários componentes celulares (81,82,85).

Ambas as doenças hereditárias exibem comumente deficiências neurológicas e neuropsiquiátricas, incluindo declínio cognitivo, sugerindo que tanto a deficiência quanto o excesso de Cu podem desencadear danos neurológicos graves no cérebro (82).

2.4.1.1 DEFICIÊNCIA DE COBRE

Como mencionado anteriormente, o cobre serve como cofator para importantes enzimas metabólicas, como o citocromo C oxidase e o superóxido dismutase de cobre-

zinco, que têm com função a oxidação mitocondrial e a defesa antioxidante, respetivamente. Assim, o défice de cobre pode tornar o cérebro ainda mais suscetível ao *stress* oxidativo, uma vez que a atividade defeituosa do citocromo c oxidase pode resultar no aumento da produção de superóxido pela cadeia respiratória e/ou na atividade prejudicada das superóxido dismutases dependentes de cobre (SOD) 1 e 3 resultando no enfraquecimento da defesa antioxidante (81,88).

A deficiência de cobre de origem não-genética ocorre com pouca frequência em humanos e dá-se devido à má absorção de cobre ou devido a uma dieta pobre em cobre. Os bebés desnutridos são particularmente vulneráveis (85).

Já a deficiência de cobre de origem genética ocorre geralmente devido a mutações no ATP7A, que resulta no défice da sua atividade. Isto resulta na falha da entrega de cobre do epitélio intestinal para a corrente sanguínea e, conseqüentemente, é caracterizada por um défice geral de cobre. Estas mutações poderão estar associadas à doença de *Menkes*, um distúrbio neurodegenerativo grave; ou à síndrome do corno occipital (81,89).

A doença de *Menkes* é uma doença hereditária rara ligada ao cromossoma X que envolve o metabolismo do cobre. Os pacientes geralmente apresentam um percurso clínico grave. A doença é caracterizada por distúrbios do tecido conjuntivo, neurodegeneração grave (tanto a nível de deficiências mentais como de desenvolvimento) e morte precoce (maioria dos doentes morre na primeira infância) (81,85,88,90).

A DM apresenta-se geralmente em bebés com 2 a 3 meses de idade do sexo masculino com início de hipotonia, convulsões, défice de crescimento e perda de marcos de desenvolvimento previamente obtidos. Os doentes são geralmente diagnosticados aos 3-6 meses de idade, muitas vezes devido a apresentarem alterações físicas características do cabelo/ face que, em conjunto com sintomas neurológicos típicos, sugerem o diagnóstico (89,90).

O primeiro sinal de DM pode ser o cabelo emaranhado e sem brilho no topo da cabeça aos 1-2 meses de idade, com pele pálida e protuberância frontal ou occipital. A regressão do desenvolvimento torna-se óbvia por volta dos 5-6 meses de idade (90).

À medida que a disfunção motora progride, surgem sintomas de sonolência e letargia, pelo que os movimentos espontâneos se tornam limitados. A maioria dos

pacientes morre no terceiro ano de vida por infecção, pela própria degeneração neurológica ou por complicações vasculares (90).

A Síndrome do Corno Occipital é uma variante alélica mais branda da doença de *Menkes*. Esta síndrome compartilha as anormalidades do cabelo e do tecido conjuntivo da doença de *Menkes* clássica, no entanto, a principal distinção entre ambas é a observação radiológica das calcificações (exostoses simétricas) occipitais características (89,90).

Como o fenótipo neurológico nesta variante é leve (incluindo capacidade intelectual baixa a normal, hipotensão ortostática e diarreia crónica), os indivíduos afetados geralmente só são diagnosticados mais tarde (meados da infância) (89,90).

2.4.1.1.1 TRATAMENTO DA DEFICIÊNCIA DE COBRE

Na doença de *Menkes*, as crianças afetadas devem ser identificadas e o tratamento deverá ser iniciado dentro de 10 dias após o nascimento. O objetivo de um tratamento específico para DM é fornecer cobre de maneira a estar disponível para as enzimas dentro de todas as células que o requerem como cofator (89,90).

A administração oral de cobre é ineficaz, pois o cobre fica preso nos intestinos, pelo que deverá ser suplementado por via parenteral ou subcutânea. As administrações parenterais de compostos de cobre podem melhorar o resultado clínico, pelo menos se iniciadas logo após o nascimento, em especial em recém-nascidos com atividade residual de ATP7A, dado serem mais propensos a responder a este tratamento do que aqueles com mutações completas de perda de função. Entre os compostos de cobre disponíveis, a histidina de cobre provou ser a mais eficaz. O resultado positivo da suplementação de cobre-histidina depende do início precoce e da presença de ATP7A pelo menos parcialmente funcional (81,90).

2.4.1.2 EXCESSO DE COBRE

O excesso de cobre celular induz o *stress* oxidativo devido ao seu potencial redox resultando em graves danos a nível da integridade e da função celular, nomeadamente a doença hepática e distúrbios neurológicos e psiquiátricos (88).

A principal proteína reguladora da homeostase do cobre é a ATP7B. O mau funcionamento da proteína ATP7B causada por mutações no gene ATP7B leva à doença de *Wilson*, caracterizada por hepatotoxicidade e degeneração neurológica (88).

Além da doença de *Wilson*, a toxicidade por cobre de origem genética tem sido implicada em algumas outras doenças raras como a cirrose infantil indiana e a toxicose idiopática por cobre. Estas doenças são caracterizadas pela acumulação de cobre na primeira infância, mas a contribuição relativa de fatores genéticos e/ou exposição ambiental elevada ao cobre permanece indefinida (85).

O excesso de cobre também pode ter origem não genética, no entanto, é pouco frequente e geralmente resulta da ingestão de bebidas ou água potável contaminadas com cobre ou da ingestão deliberada de sais de cobre (II) (85).

A doença de *Wilson* é um distúrbio hereditário autossômico recessivo do equilíbrio do cobre que leva a danos hepáticos, distúrbios neurológicos e/ou psiquiátricos de grau variável, e de distúrbios oftalmológicos que ocorrem através de um defeito genético na ATPase ATP7B (81,88).

Devido à função deficiente do ATP7B, o cobre não pode ser secretado dos hepatócitos na biliar (redução das concentrações séricas de cobre) e acumula-se no fígado e noutros tecidos, incluindo no cérebro, levando à toxicidade crônica do cobre (aumento acentuado da concentração de cobre no cérebro) (5,81,83).

Uma característica neuropatológica típica da DW consiste na ocorrência de astrócitos anormais. As alterações morfológicas dos astrócitos normais ocorrem como consequência do excesso de cobre no cérebro. Estas células têm muitas funções importantes no cérebro tais como a manutenção da homeostase do cobre e a defesa do cérebro contra o *stress* oxidativo, que, com a sua disfunção, leva ao comprometimento destas funções (81,86).

Os sintomas são altamente variáveis e apresentam-se mais comumente entre os 5 e os 35 anos de idade. As principais características, tanto da forma hepática como da neurológica podem ser distinguidas, mas muitos pacientes apresentam uma mistura de ambas. Geralmente, após um período de vida precoce assintomático, as formas hepáticas predominantes aparecem vários anos antes (entre os 8 e os 18 anos) das formas

neurológicas (manifestação durante o início da idade adulta). Em pacientes com apresentações neurológicas, as anormalidades incluem dificuldade de fala (disartria), disfagia, distonia, rigidez, tremor ou movimentos coreiformes, marcha anormal e caligrafia descoordenada. A doença de *Wilson* pode ser classificada corretamente como um distúrbio do movimento (5,83,88,89).

Até um terço dos pacientes podem sofrer de sintomas psiquiátricos incluindo alterações na personalidade (irritabilidade, raiva, autocontrole deficiente), depressão e ansiedade, em casos extremos, sintomas psicóticos. Os distúrbios do humor são a manifestação psiquiátrica mais comum da DW (83,88,89).

A nível oftálmico, as deposições granulares de cobre na córnea causam o anel de *Kayser-Fleischer*. Este é observado em até 95% dos indivíduos com a forma neurológica da doença de *Wilson*, mas, na ausência de sintomas neurológicos, apenas em 50-60% dos casos (88).

2.4.1.2.1 TRATAMENTO DA TOXICIDADE DE COBRE

Todos os pacientes com doença de *Wilson* (mesmo na fase pré-sintomática) precisam de terapêutica farmacológica ao longo da vida. O tratamento envolve a remoção do excesso de cobre, seguida de manutenção da sua homeostase. O cobre de origem nutricional também deve ser mantido abaixo das 2 mg por dia, ou seja, doentes com DW devem evitar alimentos com concentrações muito altas de cobre, pelo menos no primeiro ano de tratamento. As modificações dietéticas suportam a terapêutica, mas como a monoterapia, a dieta por si só não é suficiente. Em geral, as alternativas de tratamento farmacológico incluem quelantes de cobre e sais de zinco (5,83,88).

Os sais de zinco são altamente adequados para o tratamento de pacientes pré-sintomáticos devido aos seus poucos efeitos colaterais (81,88).

Estes sais (por exemplo, sob a forma de acetato ou de sulfato) limitam a absorção intestinal do cobre dietético ao induzirem a síntese do quelante de cobre endógeno, metalotioneína, nas células epiteliais intestinais. O cobre ligado à metalotioneína é excretado através da descamação dos enterócitos após alguns dias através das fezes. Para além disso, o zinco também limita a acumulação de cobre nas células cerebrais (5,81,88,89).

A terapia com acetato de zinco tem valor particular em doentes jovens e pré-sintomáticos e pacientes grávidas devido aos possíveis efeitos teratogênicos fetais de outros compostos e como terapia de manutenção, para manter o nível de cobre em equilíbrio após a redução anterior de cobre. No entanto, apesar da sua baixa toxicidade em comparação com a de outros fármacos, pode mesmo assim causar irritação gástrica quando introduzido (5,88,89).

Supõe-se que os pacientes sintomáticos tenham uma sobrecarga extensa de cobre, e o objetivo principal do tratamento farmacológico é um balanço negativo de cobre. Isso é realizado por terapia de quelação com D-penicilamina ou trietilenotetramina (também denominada de trientina) até que a excreção de cobre sérico livre e de cobre urinário esteja dentro da faixa normal, restaurando e mantendo a homeostase do cobre no corpo. Na maioria dos casos, este tratamento tem a duração de 6 a 12 meses ou até mais (81,83,88).

Com o tratamento farmacológico correto e precoce (antes da lesão hepática ou cerebral avançada), há uma melhoria da função hepática e das transaminases em > 90% dos pacientes, geralmente em 2 - 6 meses, enquanto que a melhoria neurológica é observada em 50 a 60% dos pacientes num período mais longo (1-3 anos). A adesão desempenha o papel mais importante para o sucesso do tratamento a longo prazo, tanto nos casos sintomáticos quanto nos pré-sintomáticos (83).

A D-penicilamina (dimetilcisteína) tem sido usada como principal agente para remoção do cobre. Trata-se de um quelante que forma um complexo em anel com o cobre. É facilmente absorvida pelo trato gastrointestinal, sofrendo rápida excreção na urina (5).

Os efeitos colaterais consistem em náuseas, vômitos e neuropatia ótica. Em cerca de 10% dos casos, ocorre agravamento neurológico com este fármaco. O tratamento deve ser monitorizado através de exames frequentes à urina e hemogramas completos. A piridoxina (vitamina B6) geralmente é prescrita como adjuvante para colmatar a tendência de desenvolvimento de deficiência dessa vitamina durante a administração crônica de D-penicilamina (5,89).

No caso de doentes intolerantes à penicilamina ou em pacientes com doença de *Wilson* com apresentações neurológicas, o tratamento com penicilamina poderá levar ao agravamento do quadro clínico do doente. O dicloridrato de trietilenotetramina (trieno) é

um agente quelante alternativo adequado com um potencial de efeitos adversos mais reduzido e com menor probabilidade do agravamento neurológico (5,89).

A preservação da função neurológica em pacientes com comprometimento neurológico com tetratiomolibdato de amônio pode ser superior do que com trientina. Este fármaco funciona tanto para diminuir a absorção de cobre quanto para reduzir o cobre livre em circulação. É de ação muito rápida e pode restaurar o equilíbrio normal do cobre em várias semanas, em comparação com os vários meses necessários com outros quelantes de cobre ou com o zinco (5,89).

Nos casos em que o diagnóstico tardio ou a má adesão resultam em dano hepático irreversível, o transplante de fígado é uma hipótese viável. No entanto, é uma situação rara uma vez que a condição geralmente responde à terapia médica (89).

III. DIAGNÓSTICO: USO DE METAIS PESADOS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

O uso de metais pesados como agentes de contraste em métodos de prognóstico e diagnóstico de doenças, como os métodos de medicina nuclear de emissão de radiação e os métodos de ressonância magnética (MR), tem uma enorme relevância, principalmente para a detecção de processos inflamatórios ou tumores (91).

3.1 IMAGIOLOGIA POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA: AGENTES DE CONTRASTE

Os agentes de contraste para MR são amplamente utilizados para aumentar a diferença de contraste entre tecidos normais e anormais. Esta função é extremamente importante no caso das metástases cerebrais que podem ter um tamanho muito pequeno, pelo que a capacidade de distinção da lesão é muito importante para o diagnóstico. Assim, com isto em conta, o principal objetivo do desenvolvimento de agentes de contraste para MR é identificar agentes capazes de atingir tecidos específicos (92,93).

Estes agentes podem ser categorizados de acordo com: a via de administração, composição química, presença ou ausência de átomos metálicos, as propriedades magnéticas, o efeito na imagem de ressonância magnética, a biodistribuição e a sua aplicação (92).

A respeito das propriedades magnéticas dos agentes de contraste para MR, estes podem ser divididos em duas classes: o primeiro grupo é composto por compostos paramagnéticos, como o gadolínio (Gd); e o segundo grupo é composto por elementos de transição como o manganês e o ferro. O íon metálico mais comumente usado em agentes de contraste de MR é o íon lantanídeo gadolínio (III), pois apresenta um alto momento magnético e é o íon mais estável com elétrons desemparelhados (92,94).

Vários fatores podem ser desejáveis na escolha de um agente de contraste, como a maior relaxividade que resulta num maior sinal para melhor detecção da lesão; maior estabilidade do quelato de gadolínio (menos transmetalção); e, se o contraste for comparável, é preferível optar por meia dose a uma dose completa, para reduzir custos e potencialmente reduzir os efeitos adversos (93).

A fim de reduzir a toxicidade dos íons metálicos, o conceito de quelação foi introduzido. Para preparar agentes de contraste à base de íons metálicos, a técnica de formação de complexos quelatados é amplamente utilizada. Os efeitos colaterais tóxicos agudos e crônicos induzidos pelo íon metálico, bem como pelo agente quelante, são acentuadamente reduzidos devido à complexação (92).

3.1.1 COMPLEXOS DE GADOLÍNIO

O gadolínio é um metal pesado raro no meio ambiente com massa molar de 64 g mol⁻¹ que pertence à família dos lantanídeos. Tal como outros metais lantanídeos, o estado de oxidação mais comum do gadolínio é +3 e o raio iônico é de 0,99 Å. Os agentes de contraste à base de gadolínio (III) (ACGds) clinicamente disponíveis são todos ligados por um quelante orgânico quando são usados como agente de contraste para ressonância magnética porque o gadolínio livre é altamente tóxico (95–97).

Os ACGds como classe, são um dos exemplos mais bem-sucedidos de fármacos inorgânicos. Este sucesso advém das suas excelentes propriedades paramagnéticas, permitindo que sejam usados como agentes de contraste para imagens da MR do cérebro, coluna e órgãos parenquimatosos, com o objetivo de fornecerem informações diagnósticas e prognósticas essenciais que muitas vezes não podem ser obtidas com outras

técnicas não invasivas, bem como o seu perfil de segurança muito favorável quando comparados a outros agentes de contraste ou fármacos (94,95,97).

Os agentes de contraste paramagnéticos são os agentes de contraste de MR mais proeminentes. As propriedades paramagnéticas dos agentes de contraste devem-se à presença de elétrons desemparelhados, que, no caso do Gd (III), tem 7 (orbitais 4f semi-preenchidas). Estes também são chamados de agentes de contraste positivos porque aumentam o sinal de MR nas regiões onde se distribuem, funcionando como intensificadores de contraste de maneira a melhorar a qualidade da imagem com exames de MR (94,98,99).

Todos os ACGds usados clinicamente utilizam um ligando baseado em poliaminopolicarboxilato octadentado e têm um nono local de coordenação disponível para ligação com a água. Durante a MR, os tecidos são sujeitos a pulsos de radiofrequência na presença de um campo magnético. Este campo magnético induz a existência de 2 níveis energéticos, em que o estado fundamental corresponde ao alinhamento do momento magnético individual dos prótons (associado ao *spin* nuclear) com o campo magnético. A aplicação de radiação eletromagnética de frequência adequada induz a excitação de prótons (inversão do *spin* nuclear). Um protocolo de pulsos de excitação e aquisição otimizados permitem o registro do tempo e forma de relaxação dos prótons, o que dá posteriormente origem a uma imagem de MR. Dado que a maior parte do sinal de MR resulta dos prótons das moléculas de água e, havendo diferenças na quantidade e mobilidade de água nos diversos tecidos, é possível a imagiologia sem a administração de qualquer fármaco adicional. No entanto, a administração de um fármaco contendo um elemento paramagnético provoca alterações nos tempos de relaxação dos prótons, dando origem a um aumento ou diminuição do sinal observável resultante dos prótons que se encontram próximos do elemento paramagnético. No caso dos complexos de Gd, isto consegue-se usando uma molécula de água numa das posições de coordenação. Dado a grande labilidade do Gd, este ligando é rápida e continuamente substituído por moléculas de água da segunda esfera de coordenação, conseguindo-se assim um efeito sobre um grande número de prótons. Assim, uma vez injetado, o gadolínio interage com as moléculas de água (*figura III-1*), resultando numa emissão de sinal mais forte por parte dos prótons, ajudando a obter uma imagem com maior contraste (94,99,100).

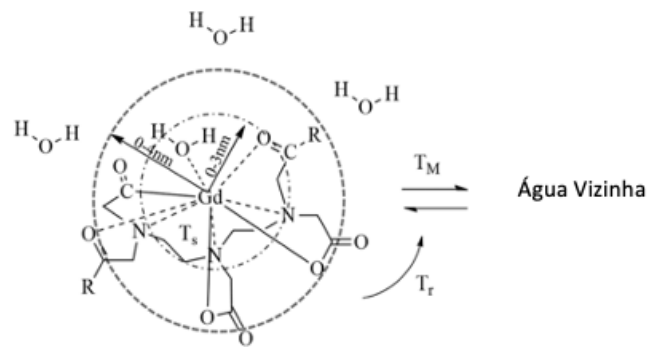


Figura III-1. Interações entre complexos de Gd e a água. Adaptado da referência (92).

A intensidade variável do sinal do tecido é determinada pelo tempo de relaxação (T1 e T2) e pela densidade de prótons. Os agentes de contraste contendo gadolínio encurtam o tempo de relaxação T1 (ou longitudinal) e T2 (ou transversal) dos prótons da água vizinha. Estes efeitos aumentam a intensidade do sinal das imagens ponderadas em T1 e reduzem a intensidade do sinal das imagens ponderadas em T2 na MR. O encurtamento de T1 ocorre em concentrações mais baixas de gadolínio, enquanto que o encurtamento de T2 ocorre em concentrações mais altas de gadolínio, o que é de uso clínico limitado devido ao risco aumentado de toxicidade. Em diferentes tecidos os tempos de relaxação podem ser muito menores devido à interação da água com macromoléculas e também pela presença de espécies paramagnéticas endógenas como a ferritina (92,94,98,100,101).

$$SI = [H]H_v \left(\exp\left(\frac{-SE}{T_2}\right) \left(1 + \frac{PR}{T_1}\right) \right)$$

Em que

[H] – concentração de prótons das moléculas de água;

H_v – expressa o movimento da água entre o elemento de volume e o exterior;

SE – “*spin echo time*”;

PR – tempo entre pulsos;

T₁ – tempo de relaxação associado à transferência de energia dos prótons excitados para a vizinhança (tempo de relaxação longitudinal);

T₂ – tempo de relaxação associado à transferência de energia entre o estado excitado e fundamental (tempo de relaxação longitudinal) (33).

A capacidade dos ACGds para delinear a patologia cerebral é baseada principalmente na distribuição não específica. A patologia é detetada devido à anatomia ou fisiologia alterada. Um exemplo disso é o uso de ACGds para detetar a rutura da BHE, dado que estes agentes não penetram esta barreira. O aumento de contraste do cérebro pode surgir de patologias como o cancro primário ou metastático, a esclerose múltipla, ou o acidente vascular cerebral (AVC) (94).

A estabilidade do complexo Gd^{3+} -ligando é afetada pela sua estrutura molecular, pelo que, de acordo com a mesma, os ACGds podem ser classificados em 2 grandes grupos: moléculas macrocíclicas (anel), nas quais o Gd^{3+} está completamente envolvido na cavidade do ligando, protegendo-o de catiões endógenos e subsequente da transmetalção; e moléculas de cadeia aberta (linear), que são mais flexíveis, permitindo que o ião gadolínio seja acedido mais facilmente por catiões concorrentes (97,101,102).

As diferenças na estabilidade termodinâmica e cinética desses ligandos podem ser causadas pelas suas diferentes estruturas químicas, sendo que os ACGds macrocíclicos tendem a ter constantes de dissociação mais baixas, e, portanto, são considerados mais estáveis que os ACGds lineares, como representado na *figura III-2-b*. Quanto maior a constante de dissociação, maior a probabilidade do gadolínio livre ser libertado na circulação e nos tecidos (95,97,100).

Os ACGds (tanto lineares quanto macrocíclicos) podem ainda ser sub-classificados, consoante a sua estabilidade, em iónicos e não iónicos (*figura III-2-a*). As variedades iónicas são geralmente mais estáveis do que as não iónicas porque os ligandos carregados negativamente ligam-se mais fortemente aos catiões gadolínio carregados positivamente do que os ligandos neutros. Assim sendo, os quelatos lineares não iónicos são os menos estáveis e os quelatos macrocíclicos iónicos são os mais estáveis (97,100–102).

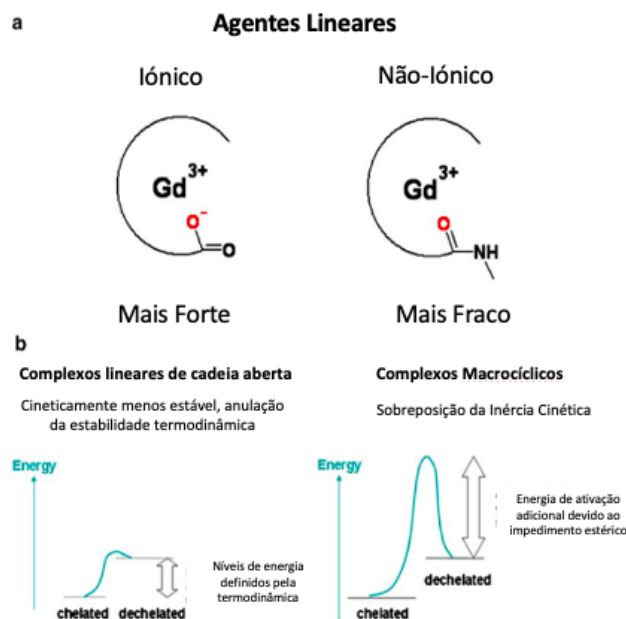


Figura III-2. Representação das diferenças na estabilidade dos agentes de contraste contendo gadolínio, tanto entre agentes lineares não iônicos e iônicos (a) e entre agentes lineares e macrocíclicos (b). Adaptado da referência (103).

Os ACGds têm importantes usos clínicos não oncológicos e oncológicos. A nível não oncológico, é possível ajudar a distinguir entre tumores e cistos benignos a partir da presença do realce central ou do realce nodular periférico numa massa de etiologia desconhecida. A nível oncológico, a MR com contraste pode ajudar a facilitar a identificação adequada da lesão e o tratamento adequado. O conhecimento da localização das lesões a partir do realce do contraste pode ajudar a orientar a biópsia para a parte mais vascular e viável do tumor (101).

No cérebro, a MR com ACGds aumenta a visibilidade das metástases, auxiliando na sua deteção e é considerada o “padrão de ouro” para a avaliação de metástases, bem como malignidades primárias do SNC (101).

Comparativamente à medicina nuclear (MN), os ACGds têm um efeito imediato. Em vez do doente aguardar durante um determinado período de tempo após receber o radiofármaco para aparecer a imagem, na MR o agente de contraste pode ser administrado antes ou enquanto o paciente está no *scanner* e, em poucos minutos, surgem as imagens diagnósticas. Ao contrário dos marcadores radioativos usados na medicina nuclear, os

ACGds apresentam um maior tempo de prateleira, visto serem mais estáveis, e não precisam de ser sintetizados apenas após a identificação da necessidade (94).

Todos os ACGds aprovados para uso clínico foram considerados como tendo uma ampla margem de segurança quando usados em doses relativamente baixas (0,1–0,3 mmol/kg) em pacientes com função renal normal. O registro de segurança acumulado é excelente, com reações adversas graves ocorrendo em aproximadamente 0,03% de todas as administrações. Visto estes dados, os ACGds foram considerados seguros durante vários anos e usados liberalmente mesmo em pacientes com comprometimento da função renal e pacientes em hemodiálise (97,98).

Em 2006, um estudo de *Markmann et al.*, determinou que existia uma forte correlação entre o surgimento de fibrose sistémica nefrogénica (FSN) em pacientes com insuficiência renal em estágio final e a exposição prévia a gadodiamida (*Onmiskan®* complexo linear não iónico) (95,104).

Devido à excreção da maioria dos ACGds através dos rins, houve uma maior preocupação com o impacto da função renal na deposição de gadolínio. No entanto, mesmo após o reconhecimento da FSN, a comunidade médica continuou a considerar segura a administração de complexos de gadolínio a pacientes com função renal normal (95,105).

A maior parte da toxicidade conhecida do ião Gd^{3+} livre está relacionada com duas propriedades: a sua insolubilidade em pH fisiológico, resultando na excreção sistémica muito lenta; e um raio iónico próximo ao do Ca^{2+} , resultando no processo de transmetalção (97,101).

Assim, em quelatos instáveis, o ião gadolínio pode, dependendo do ambiente local (pH ácido), ser separado do ligando por transmetalção. Este mecanismo permite que o ião Gd^{3+} se dissocie em sistemas biológicos, fazendo com que os catiões endógenos, como o Ca^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} e Fe^{3+} sejam capazes de trocar de lugar com o Gd^{3+} no ligando. Uma vez livre, o Gd^{3+} pode-se ligar a aniões endógenos, e precipitar localmente como um sal (hidróxido de gadolínio, carbonato de gadolínio ou fosfato de gadolínio), ou outros ligandos, como o citrato, e se depositar nos tecidos em vez de sofrer eliminação adequada na urina ou biliar (97,101,102).

Especificamente na competição entre o Gd^{3+} e o Ca^{2+} , esta pode resultar em danos nas funções celulares normalmente desempenhadas pelo Ca^{2+} , como o bloqueio dos canais de cálcio dependentes de voltagem que afeta a condução nervosa (transmissão de impulsos nervosos) e a contração de músculos lisos, esqueléticos e cardíacos (97,101).

3.1.1.1 DEPOSIÇÃO DE GADOLÍNIO NO CÉREBRO

Supostamente, em condições normais, os ACGds não podem penetrar a BHE intacta, sendo que, apenas no caso de algumas condições patológicas, a integridade e a função desta barreira pode ser afetada e permitir que os ACGds penetrem a barreira. No entanto, estudos recentes concluíram que o gadolínio pode-se depositar no cérebro após múltiplas administrações IV de ACGds (macrocíclicos não iônicos ou lineares) em indivíduos sem anormalidades intracranianas nem disfunção renal/ hepatobiliar grave. As preocupações foram levantadas pela primeira vez após relatos de realce de sinal prolongado e não diminuído no núcleo denteado e globo pálido de pacientes que receberam agentes de contraste $Gd(III)$, como representado na *figura III-3* (94,95,105,106).

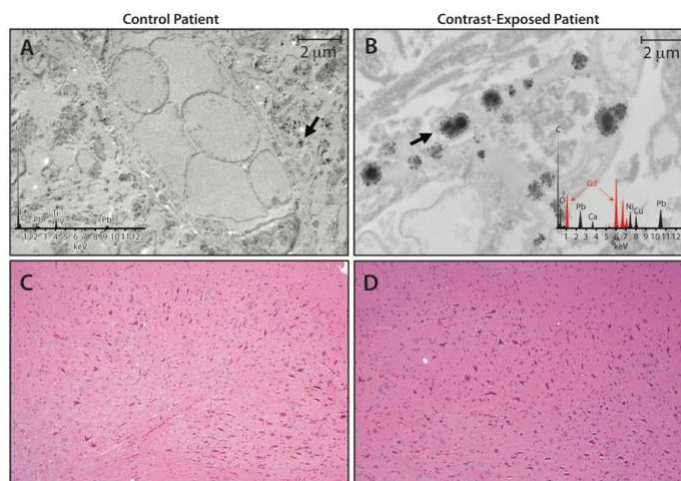


Figura III-3. Micrografias de microscopia eletrônica de transmissão mostram a localização celular de gadolínio em amostras de tecido do núcleo denteado de A (paciente controlo) e B (paciente exposto a gadolínio). Os espectros de raio-X são mostrados com os picos de gadolínio indicados pela sobreposição vermelha. Fotomicrografias de microscopia de luz de amostras de núcleos denteados de C (paciente controlo) e D (paciente exposto ao gadolínio) (106).

Estas descobertas desafiam o conhecimento atual da biodistribuição e da segurança destes agentes de contraste. A deposição no tecido neuronal parece ocorrer em todos os pacientes expostos ao gadolínio e é detetável com apenas quatro doses de ACGds ao longo da vida (106,107).

O gadolínio não é um constituinte biológico natural e, uma vez dentro dos tecidos, persiste por longos períodos. No entanto, não está completamente claro se o gadolínio acumulado nos tecidos, incluindo nos tecidos neuronais, é Gd^{3+} livre ou complexado. Como anteriormente mencionado, os agentes macrocíclicos apresentam uma estabilidade muito maior do que os agentes lineares, visto que estes últimos apresentam constantes de dissociação mais altas, estando, por sua vez, associados a uma maior acumulação no tecido (especialmente no núcleo denteado e globo pálido). Assim, a possibilidade de que o gadolínio acumulado seja Gd^{3+} livre deve ser fortemente considerada, bem como os potenciais efeitos toxicológicos (97,100,105).

Os efeitos a longo prazo da deposição de $Gd(III)$ no SNC permanecem desconhecidos e nenhum efeito tóxico foi ainda identificado, pois apesar da evidência direta de deposição de gadolínio em tecidos neurais, não foi possível detetar alterações histológicas mediadas por gadolínio que pudessem sugerir citotoxicidade. Não obstante, a descoberta de depósitos de gadolínio nos núcleos dos neurónios merece investigação adicional à luz do potencial genotóxico e citotóxico de metais lantanídeos livres, e estimularam uma nova onda de atividade regulatória (94,106).

A 20 de julho de 2017, a Agência Europeia de Medicamentos (EMA), através do Comité dos Medicamentos para Uso Humano (CHMP) concluiu a sua revisão dos agentes de contraste de gadolínio, confirmando as recomendações para restringir o uso de alguns agentes lineares de gadolínio usados em exames de ressonância magnética e suspender as autorizações de outros, a fim de evitar quaisquer riscos que possam estar associados à deposição cerebral de gadolínio. Esta não é a primeira vez que os agentes lineares de gadolínio estão sob investigação pela EMA. Em 2007, a EMA emitiu um alerta sério sobre a relação entre FSN e quelantes lineares. No entanto, as evidências científicas da época foram consideradas insuficientes para prosseguir com a proibição no mercado europeu (99,102).

Todos os complexos lineares intravenosos (p.ex. gadodiamida, ácido gadopentético e gadoversetamida) devem ser suspensos na UE, exceto o ácido gadoxético e o ácido gadobénico, pois sofrem captação hepática e podem ser usados para imagens de lesões hepáticas pouco vascularizadas, especialmente em imagens de fase tardia, que não podem ser adequadamente estudadas com outros agentes (99).

As suspensões ou restrições aos agentes lineares poderão ser levantadas se as empresas envolvidas fornecerem evidências de novos benefícios num grupo de pacientes identificado que superem o risco de deposição no cérebro ou se as empresas puderem modificar os seus produtos para que não libertem gadolínio (de forma significativa) ou causem a sua retenção em tecidos (99).

3.2 MÉTODOS DE MEDICINA NUCLEAR DE EMISSÃO DE RADIAÇÃO

A medicina nuclear (MN) é definida como uma especialidade médica que utiliza materiais radioativos no diagnóstico, prognóstico e tratamento de doenças. A imagem na MN envolve a administração de uma pequena quantidade de material radioativo (também conhecido como radiofármaco ou radiotraçador) por injeção, ingestão ou inalação. Tais métodos são particularmente úteis na produção de imagens que podem ser usadas não apenas para fornecer informações anatómicas sobre a localização e extensão de uma lesão, mas também para monitorizar a atividade dinâmica, que, no caso do cérebro, é feita através do estudo do fluxo sanguíneo cerebral, do comportamento das vias neurotransmissoras específicas e do metabolismo cerebral (108,109).

As modalidades de MN mais utilizadas são a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT) e a tomografia por emissão de positrões (PET). Tanto o SPECT como o PET resultam na aquisição de imagens tridimensionais (3D). A imagem é obtida pela administração de um radiofármaco (em quantidades muito pequenas), obtido através de um radionuclídeo marcado com uma molécula biologicamente ativa. A exibição tomográfica da distribuição do radiofármaco do SPECT bem como do PET melhora significativamente a capacidade de discernir a captação anormal da captação fisiológica normal (108,110,111).

As imagens de MN com SPECT e PET têm um papel complementar significativo na neuroimagem de tumores cerebrais incluindo metabolismo, fisiologia e funcionalidade do tumor, além das capacidades da imagem anatómica isolada, facilitando o diagnóstico diferencial bem como o planejamento do tratamento. A variedade de radiotraçadores utilizados com SPECT e PET permite a avaliação *in vivo* de processos metabólicos e moleculares, incluindo a utilização de glicose, expressão de transportadores de nucleosídeos e aminoácidos, entre outros (110,111).

3.2.1 TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA POR EMISSÃO DE FOTÃO ÚNICO (SPECT)

Como referido anteriormente, a tomografia computadorizada por emissão de fóton único é uma técnica utilizada em MN que facilita o diagnóstico/ prognóstico através da imagem de corpo inteiro ou de determinados órgãos, incluindo o cérebro (112).

Apesar da SPECT cerebral permitir o estudo da função deste órgão a partir de vários parâmetros, atualmente a forma mais importante e mais utilizada da SPECT cerebral é a imagem de perfusão cerebral clínica. O uso de radiofármacos de perfusão cerebral e, mais recentemente, de sistemas de neurotransmissores cerebrais resultou no desenvolvimento de uma série de aplicações para o SPECT cerebral em neurologia e psiquiatria. As indicações foram estabelecidas em casos de demência, epilepsia, e da doença de *Parkinson* (DP) (112).

Apesar das inovações nas últimas décadas, a realidade é que os sistemas SPECT apresentam-se, maioritariamente, inalterados. Tipicamente, consistem numa ou mais câmaras de *Anger* (*figura III-4*), sendo o seu principal componente o detetor. Este é composto pelo colimador, pelos cristais de cintilação, que no caso das câmaras de *Anger*, consistem num único cristal (ex. NaI(Tl)), que absorve fótons gama de alta energia incidentes e emite fótons ultravioleta (e até mesmo visíveis) em energias mais baixas; e atrás do qual estão tubos fotomultiplicadores em múltiplas projeções ao redor do paciente, que transformam os fótons de baixa energia num sinal elétrico, de maneira a registar as emissões gama do radiotraçador biologicamente distribuído e calcular a energia dos raios gama (111,113,114).

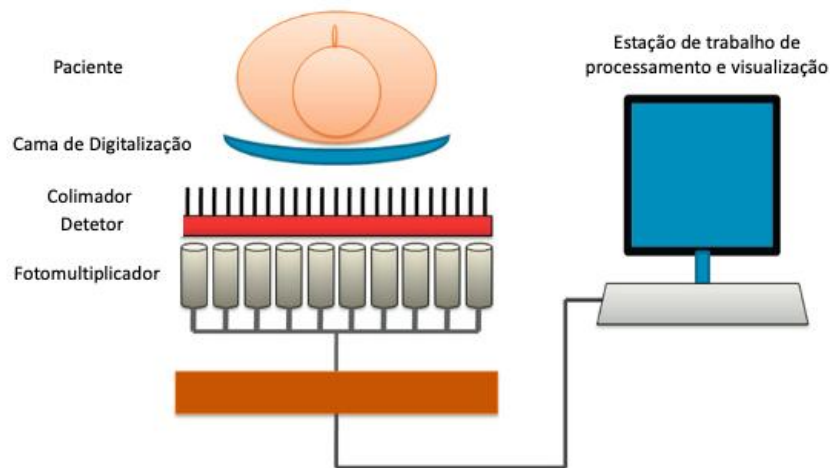


Figura III-4. Diagrama da típica câmara de Anger com todos os seus componentes principais. Adaptado da referência (115).

Com este princípio de detecção, o fóton de alta energia (gama) é primeiro convertido em fótons de energia mais baixa e, posteriormente, convertido em elétrons (sinal) (figura III-5). Isto é comumente referido como conversão indireta (114).

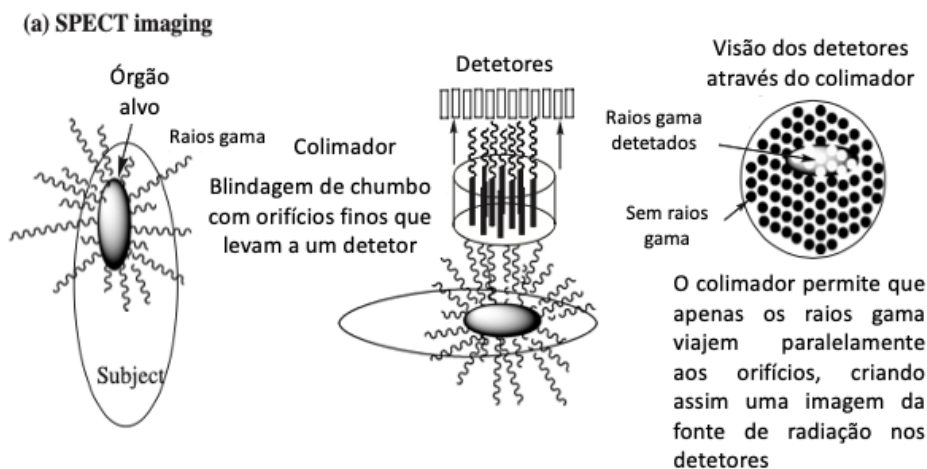


Figura III-5. Representação esquemática do funcionamento da (a) tomografia computadorizada de emissão de fóton único (SPECT). Adaptado da referência (33).

O processo do SPECT inicia-se, geralmente, com a administração do radiofármaco (marcado, por exemplo, com ^{99m}Tc ou ^{123}I) por via intravenosa. A imagem é iniciada pelo menos 40 minutos após a administração do radiofármaco para aumentar ainda mais o contraste da imagem. A imagem SPECT tridimensional surge a partir da combinação de uma série de imagens bidimensionais obtidas, em geral, por sistemas de

uma ou mais câmaras gama que realizam uma órbita elíptica ou circular em torno do paciente, que deve estar completamente estacionário. A imagem 3D melhora significativamente a localização e a resolução do contraste em comparação com as imagens planares, dado ser possível reconstruir dados em qualquer plano necessário (110,112,116).

A imagiologia cerebral utiliza radionuclídeos tanto no estudo do fluxo sanguíneo cerebral como no estudo dos transportadores de dopamina. Na *tabela III-1*, é possível observar os radionuclídeos utilizados para a imagem cerebral SPECT (110,116).

Tabela III-1. Radiofármacos utilizados em SPECT. Adaptado da referência (110).

Radiofármacos	Fotões (keV)	Produção	Dose (mCi)*	Tempo de meia-vida
Tálio - 201	68-82	Ciclotrão	3-5	73 horas
Tecnécio-99m HMPAO ECD	140	Gerador	15-30	6 horas
¹²³ I-ioflupano	159	Ciclotrão	3-5	13 horas

* Doses para adulto para indicações cerebrais específicas, tais como a recorrência tumoral, perfusão cerebral, e imagem dos transportadores de dopamina.

O fluxo sanguíneo cerebral regional pode ser determinado a partir do uso de radiofármacos marcados com tecnécio-99m (^{99m}Tc), como o Bicisato, dicloridrato de etilenocisteína dietiléster (ECD) (*Neurolite*®), e o Exametazima, hexametilpropileno amina oxima (HMPAO) (*Ceretec*®); usado regularmente para a avaliação da perfusão cerebral em doenças neurológicas. Ambos são complexos pequenos, neutros e lipofílicos (116–118).

As indicações mais comuns para o uso de imagens do fluxo sanguíneo cerebral são para a doença cerebrovascular, a deteção precoce e diagnóstico diferencial de demência, a avaliação da lesão cerebral traumática e a avaliação da morte encefálica (116).

O ^{99m}Tc é um radionuclídeo emissor que, por decaimento, apenas emite radiação γ ($t_{1/2} = 6$ h) e é utilizado em cerca de 80% de todos os procedimentos de MN a nível mundial. Isto deve-se ao facto das suas propriedades serem as ideais para imagens com câmaras γ (ex. SPECT): apresenta emissão única de radiação γ de 140,5 keV que é ideal

para as câmaras gama; não garante carga adicional de radiação para o paciente; a sua produção é barata e está prontamente disponível a partir dos geradores de $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$; e os radiofármacos estéreis à base de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ são fáceis de preparar a partir de *kits* comerciais, podendo ser produzidos diariamente sem a necessidade de equipamentos caros (116–119).

Os complexos de $[^{99\text{m}}\text{Tc}]$ -SPECT, como o $[^{99\text{m}}\text{Tc}]$ -TRODAT-1, podem ser utilizados como biomarcadores específicos para doenças neurodegenerativas. Este complexo é um derivado de tropano marcado com tecnécio-99m, que se liga ao transportador de dopamina (DAT), e pode ser usado para obter imagens do sistema dopaminérgico, auxiliando o diagnóstico da DP. A função deste é a recaptação da dopamina libertada na sinapse em vesículas no terminal nervoso pré-sináptico. O défice dopaminérgico na doença de *Parkinson* envolve a degeneração da via nigroestriatal com perda de terminais nervosos dopaminérgicos. A dopamina é um neurotransmissor importante no SNC, pelo que a sua deficiência nos gânglios basais leva à doença de *Parkinson*. Assim, a imagem do transportador de dopamina pode ser usada para diagnosticar a DP e diferenciá-la de outras causas de tremor em repouso (5,116,119–121).

Embora a preparação de $[^{99\text{m}}\text{Tc}]$ - TRODAT-1 seja mais conveniente, este apresenta uma baixa capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, resultando numa captação cerebral inferior à de $[^{123}\text{I}]$ - ioflupano. O iodo-123 (^{123}I) ($t_{1/2} = 13,2$ h) é um radiohalogénio produzido através do ciclotrão. O ^{123}I -ioflupano (fluoropropil carbometoxi iodofenil nortropano, ^{123}I -FP-CIT, *DaTSCAN*) geralmente não é um radiofármaco muito utilizado dado que a sua produção e distribuição são caras, e o seu tempo de meia-vida é extenso. No entanto, dada a escassez mundial do isótopo pai, ^{99}Mo , que é necessário para produzir $^{99\text{m}}\text{Tc}$, o $[^{99\text{m}}\text{Tc}]$ - TRODAT-1 foi amplamente substituído pelo ^{123}I -ioflupano (116,118,119).

Atualmente, a imagiologia SPECT é pouco utilizada para a investigação de tumores cerebrais. Isto deve-se em grande parte ao aumento da utilização de PET/CT e PET/MR, que demonstraram melhor resolução e sensibilidade nas imagens em comparação com a SPECT. No entanto, a SPECT é ainda útil em situações limitadas (110).

3.2.1.1 SPECT-CT

A imagiologia SPECT pode produzir imagens funcionais com alta resolução espacial, no entanto, a grande limitação destas imagens é a falta de correlação anatômica. Por esta razão, a tomografia computadorizada (CT) ou a ressonância magnética (MR) foram incorporadas em alguns sistemas SPECT (122).

A CT e a MR fornecem dados anatômicos, enquanto que a imagiologia SPECT e PET fornecem dados fisiológicos/moleculares. A resolução espacial da MR e CT é significativamente maior do que SPECT e PET. As informações integradas adquiridas destes modelos individualmente ou por meio de sistemas híbridos contribuem para um diagnóstico e prognóstico mais precisos, uma análise da localização/extensão do tumor, planejamento do tratamento e avaliação pós-tratamento (111,122).

Relativamente à imagiologia SPECT/CT, a tomografia computadorizada (CT) produz uma imagem realizada com uma fonte externa de raios X para obter dados de imagens anatômicas tridimensionais, como representado na *figura III-6*. Assim, não só torna possível a produção de imagens de alta resolução, para além de corrigir a atenuação dos fótons (122,123).

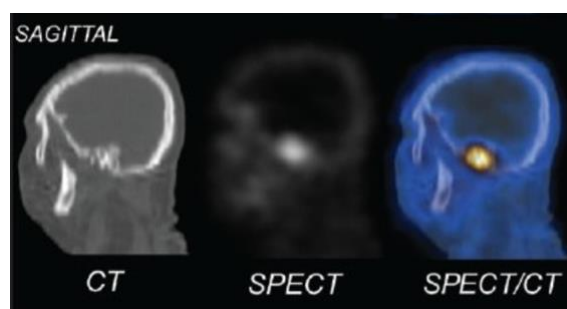


Figura III-6. Tomografia computadorizada (CT), tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT) e SPECT/CT do crânio de um paciente com osteomielite da base do crânio (SBO) envolvendo o osso mastóide esquerdo com alterações ósseas destrutivas correspondentes (124).

A modalidade SPECT/CT, apesar de não tão conhecida quanto a PET/CT, oferece algumas vantagens: permite imagens de isótopos duplos, possibilitando a localização precisa da captação por cada radiofármaco; a dose de radiação de radiofármacos à base de ^{99m}Tc é mais baixa que em comparação com a maioria dos emissores de positrões; os

radiofármacos baseados em ^{99m}Tc e ^{201}Tl utilizados em imagens de SPECT do cérebro estão mais prontamente disponíveis e são menos caros em comparação com emissores de positrões, que são produzidos por ciclotrão; e as câmaras gama com recursos SPECT e até SPECT/CT são mais baratas do que os sistemas PET/CT e PET/MR atuais (110,118).

Relativamente a desvantagens, a movimentação do paciente pode levar a erros de registo e correção de atenuação errada ou mesmo à localização incorreta da deposição do radiofármaco, que apesar de serem semelhantes aos artefactos encontrados em imagens PET/CT e PET/MR, são mais graves em SPECT/CT. Nesta modalidade, existem menos fótons disponíveis para contribuir com a imagem dado que apresenta maior quantidade dos fótons de energia mais baixos emitidos pelos radionuclídeos utilizados na SPECT cerebral, no entanto, alguns radioisótopos são usados para minimizar este efeito (^{99m}Tc em vez de ^{201}Tl). Para além disso, a imagem SPECT apresenta maior ruído e menor sensibilidade que em comparação com a PET, e leva mais tempo a criar uma imagem SPECT diagnóstica, o que oferece mais oportunidades para artefactos (110,125).

Apesar do PET ter inúmeras vantagens em relação ao SPECT, os avanços para alcançar uma maior sensibilidade nas câmaras gama, e melhor resolução espacial/qualidade de imagem tornam cada vez mais próxima a melhoria significativa das imagens cerebrais de SPECT e SPECT/CT, e conseqüente aumento da utilização destas modalidades (110).

3.2.1.2 SPECT-MR

A MR apresenta várias características vantajosas comparativamente à CT. Exemplo disso é o melhor contraste dos tecidos moles e a ausência de radiação ionizante. A SPECT/MR junta as informações funcionais obtidas pela imagem SPECT com as informações anatómicas de alta resolução fornecidas pela MR. A combinação de SPECT e MR oferece assim vantagens sinérgicas sobre qualquer uma das modalidades isoladas (126).

Com o objetivo de otimizar a imagem obtida a partir de SPECT/MR, estão a ser desenvolvidas nanopartículas (NPs) com propriedades SPECT/MR. Graças às propriedades físicas das NPs, estas podem ligar-se a um número elevado de

radionuclídeos (para imagens SPECT) e agentes de contraste (para imagens MR), aumentando assim a relação sinal-ruído das imagens obtidas. Os NPs de óxido de ferro superparamagnéticos (SPIONs) (Endorem/Feridex ®) foram usados como agentes de MR dado que alteram o tempo de relaxação transversal dos prótons contidos no tecido circundante, resultando no aumento do contraste. A marcação radioativa de SPIONs com ^{99m}Tc ofereceu resultados pré-clínicos promissores de agentes SPECT/MR de dupla modalidade (126–129).

No entanto, o desenvolvimento de um sistema híbrido SPECT/MR verdadeiramente simultâneo tem tido vários desafios, nomeadamente a compatibilidade de componentes (por exemplo, detetores) com a MR, daí que sejam poucos aqueles que estejam a ser comercializados (126).

3.2.2 TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE POSITRÕES (PET)

A tomografia de emissão de positrões (PET) pode fornecer informações sobre tecidos e processos biológicos através do uso de radiofármacos. Dentro do SNC, a sensibilidade molecular da PET permite: a quantificação de interações alvo-ligando com grande seletividade, tornando-se particularmente útil na compreensão das patologias, possibilitando a monitorização da evolução das mesmas; e a identificação de potenciais novos alvos para fins terapêuticos. No entanto, não fornece a visualização clara das estruturas anatómicas, que é a sua principal limitação (118,130,131).

Especificamente no parênquima cerebral, as técnicas de imagem da atividade dinâmica envolvem principalmente a PET, usando uma variedade de radiofármacos para medir a atividade metabólica através das alterações do transporte e metabolismo da glicose (^{18}F -FDG), como representado na *figura III-7*; para medir a perfusão (^{13}N - NH_3 ou ^{82}Rb) e a ligação e captação de neurotransmissores específicos, como a dopamina na DP, entre outros. Os métodos de PET permitem assim uma análise detalhada da função cerebral para melhor perceber, compreender e distinguir a função cerebral normal da patológica (108,110,118).

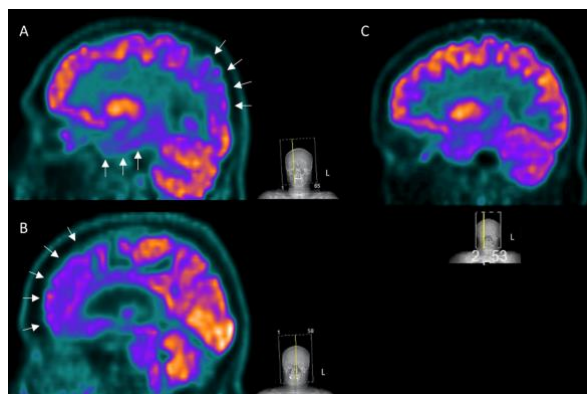


Figura III-7. FDG PET. (A) demência de Alzheimer, (B) demência frontotemporal e (C) captação normal de ^{18}F -FDG. As setas brancas indicam áreas corticais hipometabólicas (116).

A imagem por PET é baseada na detecção de radioatividade emitida (detecção de fótons emitidos) após uma pequena quantidade de um traçador radioativo ser administrada, por exemplo, pela via intravenosa na veia periférica do paciente, e, subsequentemente, distribuída por todo o corpo através da corrente sanguínea. A imagem PET é realizada no paciente 40 minutos após a injeção e leva cerca de 10 a 40 minutos para ser concluída (110,131,132).

Os radiofármacos necessários são geralmente marcados com um dos emissores de pósitrons de curta duração, carbono-11 (^{11}C ; $t_{1/2} = 20,4$ min) ou flúor-18 (^{18}F ; $t_{1/2} = 109,8$ minutos). À medida que o radioisótopo sofre decaimento por emissão de pósitrons (β^+), um pósitron é emitido do núcleo e atravessa os tecidos por uma curta distância antes de ser aniquilado. Quando o pósitron encontra um eletrão, ocorre a aniquilação e um par de fótons γ de 511 keV de aniquilação move-se em direções aproximadamente opostas. Os fótons γ são emitidos da superfície do corpo humano e podem ser detetados por detetores PET, que utilizam essa informação para reconstruir a imagem, como representado esquematicamente pela *figura III-8*. Este princípio de detecção por coincidência elimina a necessidade de um colimador físico, tornando as imagens PET com maior qualidade do que as SPECT, dado que a ausência de um colimador resulta em muito mais fótons detetados, pelo que a compensação de resolução/sensibilidade inerente à imagem gama, significa que, na prática, a resolução espacial da imagem PET é significativamente maior do que a de SPECT (110,117,131,132).

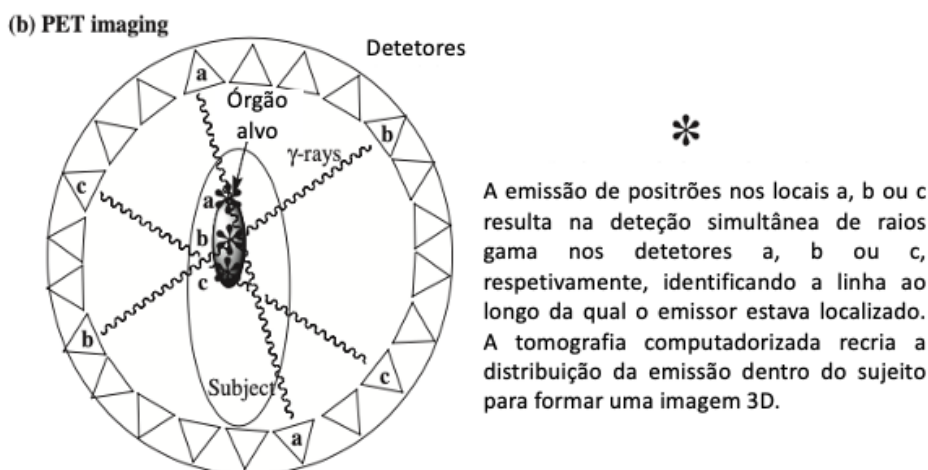


Figura III-8. Representação esquemática do funcionamento da (b) tomografia por emissão de positrões (PET). Adaptado da referência (33).

O cobre-64 (^{64}Cu , $t_{1/2} = 12,7 \text{ h}$) é um radionuclídeo produzido através do ciclotrão que exibiu propriedades físicas complementares para fins diagnósticos e/ou terapêuticos. Como mencionado anteriormente, a desregulação da homeostase do cobre está associada, de forma direta ou indireta, à patogênese. Isto é, as concentrações superiores ou inferiores de cobre, bem como os níveis de cobre inapropriadamente distribuídos no cérebro estão associados a um amplo espectro de distúrbios neurodegenerativos, como a doença de *Parkinson*, doença de *Alzheimer* e doença de priões (119,133,134).

Vários isótopos emissores de positrões de cobre encontraram utilidade em imagens baseadas em PET. Estes incluem: ^{60}Cu ($t_{1/2} = 20 \text{ min}$), ^{62}Cu ($t_{1/2} = 9,7 \text{ min}$), ^{61}Cu ($t_{1/2} = 3,4 \text{ h}$) e ^{64}Cu ($t_{1/2} = 12,7 \text{ h}$). Em geral, o ^{64}Cu é usado para diagnóstico e terapêutica, enquanto que o ^{62}Cu é usado apenas como diagnóstico (119,133).

O ^{64}Cu tem sido usado para radiomarcador uma variedade de proteínas, nanopartículas e pequenas moléculas, e tem uma meia-vida mais longa permitindo imagens durante tempo suficiente para a captação nos tecidos e subsequente efluxo e excreção. A emissão de positrões de baixa energia de ^{64}Cu também permite a produção de imagens de alta qualidade comparável ao “padrão de ouro”, o ^{18}F PET (119,134).

Ao contrário da maioria dos radiofármacos convencionais, o $^{64}\text{Cu}^{2+}$ não requer complexação com proteínas ou outros ligandos de direcionamento caros. A ausência da etapa de radiomarcagem fornece uma vantagem única, dado que simplifica o estabelecimento do protocolo sob as configurações atuais em conformidade com as Boas

Práticas de Fabrico (cGMP), o que é necessário para obter a aprovação regulatória para o uso clínico deste radiofármaco (133,135).

Além disso, $^{64}\text{CuCl}_2$ é um dos poucos radiofármacos que pode diretamente ser utilizado na imagiologia PET de vários tipos de cancro. Assim, o uso de $^{64}\text{CuCl}_2$ pode ser menos dispendioso do que outros métodos que empregam outros radionuclídeos. Geralmente, o ^{64}Cu está disponível na forma de solução de $^{64}\text{CuCl}_2$ (ou iões $^{64}\text{Cu}^{2+}$). Antes da administração, é diluído numa solução salina ou solução salina tamponada com fosfato (PBS), diminuindo assim a natureza ligeiramente ácida da solução de $^{64}\text{CuCl}_2$, para atingir o pH na faixa de 6-7,5 (133,135).

Inicialmente foram desenvolvidos agentes PET à base de Cu sob a forma de complexos planos quadrados, como o Cu(II)(diacetil-bis(N₄-metiltiosemicarbazona)) [Cu^{2+} (ATSM)] e o Cu(II)(glioxal-bis(N₄-metil-3-tiosemicarbazonato)) [Cu^{2+} (GTSM)], presentes na *figura III-9* (119).

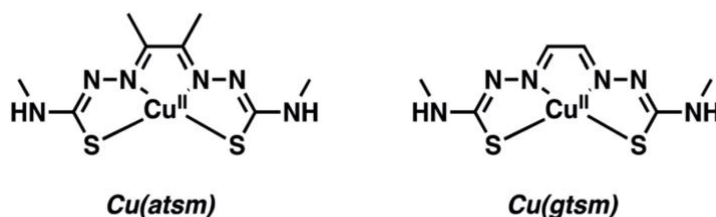


Figura III-9. Agentes PET baseados em cobre: [Cu^{2+} (ATSM)] (à esquerda) e [Cu^{2+} (GTSM)] (à direita) (119).

O ^{62}Cu -ATSM usado como radiofármaco PET demonstrou um aumento do *stress* oxidativo na região do cérebro estriado em pacientes com doença de *Parkinson*, indicando que o *stress* oxidativo se associa à neurodegeneração no sistema nigroestriatal na DP (*figura III-10*). A ^{62}Cu -ATSM apresenta alta permeabilidade de membrana e a sua acumulação indica um estado de redução excessiva causado principalmente pela disfunção mitocondrial, que leva ao *stress* oxidativo (119,136).

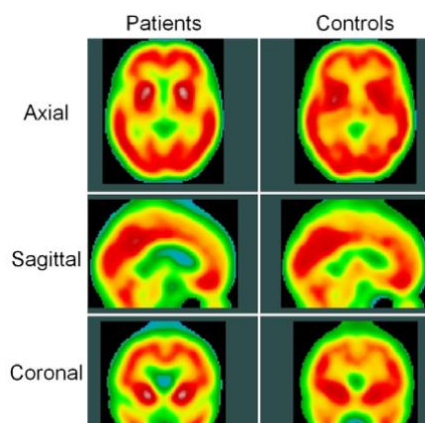


Figura III-10. Imagens da fase atrasada de $^{62}\text{Cu-ATSM}$ PET nos pacientes (esquerda) e no controlo (direita) (136).

O $^{64}\text{Cu-ATSM}$ tem sido extensamente utilizado em MN como um radiofármaco PET para a imagem de hipoxia em cancros de cérebro e pescoço. O $^{64}\text{Cu-ATSM}$ apresentou uma boa estabilidade e permeabilidade na BHE com acumulação concomitante em regiões do cérebro que sofrem de *stress* oxidativo (119,135).

O interesse contínuo em sistemas Cu^{2+} forneceu um impulso para desenvolver análogos de $^{64}\text{Cu-ATSM}$ com propriedades específicas de estímulos, como o caso do $^{64}\text{Cu-GTSM}$, a variante mais facilmente reduzida de $^{64}\text{Cu-ATSM}$. O $^{64}\text{Cu-GTSM}$ apresenta boa permeabilidade no BHE e, permitiu o aumento das concentrações de ^{64}Cu no cérebro, possibilitando que o ^{64}Cu pudesse ser usado como uma ferramenta de imagem como biomarcador de diagnóstico, para detetar mudanças na concentração de iões de cobre livres no contexto do estudo de doenças neurodegenerativas (119,133).

Com o desenvolvimento subsequente de radionuclídeos de Cu, foi alcançada uma deteção mais localizada de cobre no corpo humano. Com o uso de ^{64}Cu como radiotraçador, foi possível confirmar o aumento *in vivo* da captação de Cu. Assim, ^{64}Cu , em combinação com a tecnologia PET, fornece um método não invasivo para avaliar vários tipos de cancro (133,135).

O cobre desempenha um papel importante nos processos de angiogénese e de metástase de células cancerígenas. Os tecidos malignos foram caracterizados como tendo níveis mais altos de Cu, sendo a hipótese mais contemplada o facto de haver sobreexpressão do transportador de cobre humano 1 (hCTR1) em células cancerígenas,

incluindo células de glioblastoma. Basicamente, existe um comportamento diferente entre células normais e tumorais. Nas células normais, o ^{64}Cu permanece no citoplasma, enquanto nas células tumorais entra no núcleo (133,135).

Com base nesse conhecimento, foi proposto que o hCTR1 poderia ser usado como um alvo promissor para imagens moleculares de uma ampla variedade de cânceros. O aumento da captação de cobre nas células cancerígenas pode ser facilmente rastreado *in vivo* usando o íon de cobre radioativo ($^{64}\text{Cu}^{2+}$) como radiofármaco (135).

O potencial da utilização de íons $^{64}\text{Cu}^{2+}$ diretamente como radiofármaco para imagens PET é extremamente promissor para o tratamento personalizado do câncer em humanos. No entanto, a maioria dos estudos que envolvem esta estratégia permanecem em fase de desenvolvimento clínico (135).

O flúor-18 é o radionuclídeo PET mais usado no mundo, em grande parte devido ao uso generalizado do radiofármaco ^{18}F -FDG em estudos e a nível clínico. Este radiofármaco é transportado ativamente (pela ação de um transportador de glicose) através da BHE e acumula-se em regiões de aumento do metabolismo aeróbico da glicose (111,117,137).

3.2.2.1 PET-CT

A tomografia computadorizada (CT) funciona a partir da conversão de elétrons (energia elétrica) em fótons de raios X, que, por sua vez, são passados através de um objeto (neste caso, o corpo humano), e, de seguida, reconvertidos em elétrons novamente. A densidade do objeto é inversamente proporcional ao número de raios X que o atravessaram. Este é um método que demonstra alterações morfológicas com o uso de contraste intravascular e de fluxo sanguíneo devido a circunstâncias patológicas (138,139).

Como mencionado anteriormente, no modelo PET-CT, a CT é utilizada para correção de atenuação do PET, e as imagens anatômicas e funcionais impostas estão disponíveis imediatamente após o exame para comprovação. Assim, a imagem híbrida de tomografia por emissão de positrões/tomografia computadorizada (PET/CT) fornece informações metabólicas e a estrutura anatômica combinando PET e CT, tornando esse

método significativamente superior à PET ou à CT sozinhas e melhorando muito os seus resultados clínicos (131,138).

A tomografia por emissão de positrões/tomografia computadorizada (PET/CT) integrada com o radiofármaco PET mais comum, ^{18}F -FDG, é estabelecido como um marco importante na avaliação por imagem de pacientes com várias patologias, nomeadamente o cancro. A PET/CT tem sido muito utilizada em oncologia clínica, neurologia e cardiologia, tanto a nível de estudos da função cerebral e cardíaca, como a nível do desenvolvimento farmacológico (131,140,141).

Os principais fatores limitativos deste método de diagnóstico são o baixo contraste de tecidos moles e a exposição à radiação. Esta última é uma especial preocupação para os pacientes submetidos repetidamente a exames de PET/CT e para os pacientes pediátricos, que são sensíveis à radiação ionizante (131).

3.2.2.2 PET-MR

Apesar da PET/CT ser um marco na imagem molecular e ser amplamente utilizada no diagnóstico clínico do cancro, para aplicações que exigem alto contraste de tecidos moles e baixas doses de radiação, a PET/MR é mais qualificada (131).

A neuroimagem foi um dos motivos para o desenvolvimento da técnica de PET/MR, com o primeiro protótipo apresentado em 1997. A PET/MR combina as características únicas da MR, incluindo, a avaliação da neuroanatomia com resolução de contraste tecidual superior à CT com excelente contraste de tecidos moles e informações estruturais com alta resolução espacial; com as informações fisiológicas e metabólicas quantitativas fornecidas pela PET. A PET/MR também pode fornecer um procedimento diagnóstico mais eficiente, pois o paciente pode ser poupado de fazer a PET e a MR separadamente (111,116,131,142).

A PET/MR é uma tecnologia mais recente do que a PET/CT, e apresenta algumas vantagens relativamente a esta modalidade, tais como o facto de a MR não apresentar nenhuma radiação ionizante, permitindo que os pacientes sejam submetidos a vários exames sem que a radiação seja uma preocupação; e de apresentar um excelente contraste

de tecidos moles, tornando-se bastante útil em imagens de ambientes de tecidos heterogêneos, como o cérebro, sendo a modalidade preferida em neuro-oncologia. Outra vantagem é que a PET/MR simultânea aumenta a conveniência do paciente, reduzindo o tempo total do exame (111,131,142).

Apesar das vantagens constatadas, a PET/MR também apresenta limitações em relação ao PET/CT, nomeadamente o preço do sistema, a sua disponibilidade, a redução no conforto do doente (visto que, em geral, o diâmetro do orifício do sistema PET/MR é de 60 cm, enquanto o diâmetro do orifício típico de um PET/CT é de 70 cm ou mais, podendo causar claustrofobia) (142,143).

Como em todas as aplicações médicas que utilizam radiação ionizante, o benefício dos procedimentos PET e SPECT deve ser avaliado considerando os riscos para o paciente. A otimização da dose leva em consideração a administração da quantidade de radioatividade que forneça imagens de qualidade suficiente para obter as informações clínicas relevantes, mantendo a menor dose de radiação possível para o paciente (143).

IV. CONCLUSÃO

A modernização global é responsável pela enorme aplicação de metais pesados na indústria, agricultura, saúde e tecnologia, levantando preocupações sobre os seus potenciais efeitos na saúde humana.

O sistema nervoso central é um dos sistemas mais impactados pela bioacumulação de metais pesados, pelo que foram descritas, em maior profundidade, as consequências da neurotoxicidade (e da deficiência de metais essenciais) no cérebro humano, bem como as opções terapêuticas para posterior restabelecimento dos equilíbrios biológicos.

A estratégia de quelação é a abordagem terapêutica de primeira linha para o tratamento da toxicidade por metais pesados. No entanto, é um tratamento sistémico pouco específico que remove não só os metais não essenciais como os metais essenciais, pelo que novas opções terapêuticas são necessárias para substituir e/ou complementar as estratégias atuais.

Já a utilização de metais pesados em métodos de prognóstico e diagnóstico de doenças, como os métodos de medicina nuclear de emissão de radiação e os métodos de

ressonância magnética, tem sido uma área de grande interesse e de evolução em áreas como a neuroimagem.

Os agentes de contraste à base de gadolínio (III) são usados na ressonância magnética sendo um dos exemplos mais bem-sucedidos de fármacos inorgânicos. No cérebro, estes são considerados o “padrão de ouro” para a avaliação de metástases, bem como para as malignidades primárias do SNC. Contudo, a EMA recomendou a restrição do uso de alguns agentes lineares de gadolínio e a suspensão da autorização de outros, a fim de evitar quaisquer riscos que possam estar associados à deposição cerebral de gadolínio.

Já no caso dos métodos de medicina nuclear, o ^{99m}Tc é um dos radionuclídeos mais utilizados na imagiologia SPECT, sendo que alguns dos seus complexos podem ser utilizados como biomarcadores específicos para doenças neurodegenerativas, como o caso da doença de *Parkinson*. No entanto, a imagiologia SPECT é pouco utilizada dado que as imagiologias PET/CT e PET/MR, demonstram melhor resolução e sensibilidade nas imagens em comparação com as de SPECT.

Na imagiologia PET, ^{64}Cu permite a produção de imagens de alta qualidade comparável ao “padrão de ouro” de PET, o ^{18}F -FDG. O potencial da utilização de íons $^{64}\text{Cu}^{2+}$ diretamente como radiofármaco para imagens PET é extremamente promissor para o tratamento personalizado do cancro em humanos, apesar da maioria dos estudos ainda se encontrar em fase de desenvolvimento clínico.

Assim, esta dissertação de mestrado assumiu como objetivo compreender a importância e o risco associado aos metais pesados, bem como mostrar o grande potencial que esta área tem, tanto a nível terapêutico como a nível de diagnóstico.

V. BIBLIOGRAFIA

1. Srivastava NK, Majumder CB. Novel biofiltration methods for the treatment of heavy metals from industrial wastewater. *J Hazard Mater*. 2008;151(1):1–8.
2. Caito S, Aschner M. Neurotoxicity of metals. In: *Handbook of Clinical Series* Editors. 2013. p. 173–5.
3. Ijomone OM, Ijomone OK, Iroegbu JD, Ifenatuoha CW, Olung NF, Aschner M. Epigenetic influence of environmentally neurotoxic metals. *Neurotoxicology*. 2020;81(August):51–65.

4. Kothapalli CR. Differential impact of heavy metals on neurotoxicity during development and in aging central nervous system. *Curr Opin Toxicol.* 2021;26:33–8.
5. Gray JA, Nicoll RA. Fármacos que agem no sistema nervoso central. In: Trevor AJ, Masters SB, Katzung BG, editors. *Farmacologia Básica E Clínica.* 2014. p. 356–488.
6. Karri V, Schuhmacher M, Kumar V. Heavy metals (Pb, Cd, As and MeHg) as risk factors for cognitive dysfunction: A general review of metal mixture mechanism in brain. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2016;48:203–13.
7. Zheng W, Aschner M, Ghersi-Egea JF. Brain barrier systems: A new frontier in metal neurotoxicological research. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2003;192(1):1–11.
8. Yokel RA. Blood-brain barrier flux of aluminum , manganese , iron and other metals suspected to contribute to metal-induced neurodegeneration. 2006;10:223–53.
9. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Molecular, clinical and environmental toxicology Volume 3: Environmental Toxicology. *Mol Clin Environ Toxicol.* 2012;101:133–64.
10. Annangi B, Bonassi S, Marcos R, Hernández A. Biomonitoring of humans exposed to arsenic, chromium, nickel, vanadium, and complex mixtures of metals by using the micronucleus test in lymphocytes. *Mutat Res - Rev Mutat Res.* 2016;770:140–61.
11. Kim JJ, Kim YS, Kumar V. Heavy metal toxicity: An update of chelating therapeutic strategies. *J Trace Elem Med Biol.* 2019;54(March):226–31.
12. Rogers JT. Amyloid Precursor Protein and Ferritin Translation: Implications for Metals and Alzheimer’s Disease Therapeutics. In: Sessler JL, Doctrow SR, McMurry TJ, Lippard SJ, editors. *Medicinal Inorganic Chemistry.* 2005. p. 227–32.
13. Fernandes Azevedo B, Barros Furieri L, Peçanha FMI, Wiggers GA, Frizera Vassallo P, Ronacher Simões M, et al. Toxic Effects of Mercury on the Cardiovascular and Central Nervous Systems. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:11.
14. Gonzalez-Raymat H, Liu G, Liriano C, Li Y, Yin Y, Shi J, et al. Elemental mercury: Its unique properties affect its behavior and fate in the environment. *Environ Pollut.* 2017;229:69–86.

15. Carocci A, Rovito N, Sinicropi MS, Genchi G. Mercury toxicity and neurodegenerative effects. *Rev Environ Contam Toxicol.* 2014;229:1–18.
16. Rice KM, Walker EM, Wu M, Gillette C, Blough ER. Environmental mercury and its toxic effects. *J Prev Med Public Heal.* 2014;47(2):74–83.
17. Syversen T, Kaur P. The toxicology of mercury and its compounds. *J Trace Elem Med Biol.* 2012 Oct;26(4):215–26.
18. Cariccio VL, Samà A, Bramanti P, Mazzon E. Mercury Involvement in Neuronal Damage and in Neurodegenerative Diseases. *Biol Trace Elem Res.* 2019;187(2):341–56.
19. Novo JP, Martins B, Raposo RS, Pereira FC, Oriá RB, Malva JO, et al. Cellular and Molecular Mechanisms Mediating Methylmercury Neurotoxicity and Neuroinflammation. *Int J Mol Sci* 2021, Vol 22, Page 3101. 2021 Mar 18;22(6):3101.
20. Zahir F, Rizwi SJ, Haq SK, Khan RH. Low dose mercury toxicity and human health. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2005 Sep 1;20(2):351–60.
21. UN E. Global Mercury Assessment 2018 | UNEP - UN Environment Programme. 2018. p. 62.
22. WHO. Mercury and health [Internet]. [cited 2022 Mar 3]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mercury-and-health>
23. Clarkson TW, Magos L. The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit Rev Toxicol.* 2006 Sep 1;36(8):609–62.
24. WHO. Exposure to Mercury: a major public health concern, second edition [Internet]. Preventing disease through healthy environments. 2021 [cited 2022 Mar 12]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240023567>
25. Mercury (Elemental): Lung Damaging Agent | NIOSH | CDC [Internet]. [cited 2022 Mar 4]. Available from: https://www.cdc.gov/niosh/ershdb/emergencyresponsecard_29750021.html
26. Ajsuvakova OP, Tinkov AA, Aschner M, Rocha JBT, Michalke B, Skalnaya MG, et al. Sulfhydryl groups as targets of mercury toxicity. *Coord Chem Rev.* 2020 Aug 15;417.
27. Antunes dos Santos A, Appel Hort M, Culbreth M, López-Granero C, Farina M, Rocha JBT, et al. Methylmercury and brain development: A review of recent literature. *J Trace Elem Med Biol.* 2016 Dec 1;38:99.
28. Clarkson TW. The three modern faces of mercury. *Environ Health Perspect.*

- 2002;110(SUPPL. 1):11–23.
29. Nogara PA, Oliveira CS, Schmitz GL, Piquini PC, Farina M, Aschner M, et al. Methylmercury's chemistry: From the environment to the mammalian brain. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj*. 2019 Dec 1;1863(12):129284.
 30. Eto K. Pathology of Minamata disease. *Toxicol Pathol*. 1997;25(6):614–23.
 31. Flora SJS, Pachauri V. Chelation in Metal Intoxication. *Int J Environ Res Public Health*. 2010;7(7):2745.
 32. Dawn L, Whited L. Dimercaprol. *Crit Care Toxicol Diagnosis Manag Crit Poisoned Patient*. 2021 Aug 30;2791–4.
 33. Jones CJ, Thornback J. Medicinal applications of coordination chemistry. Royal Society of Chemistry; 2007. 353 p.
 34. Luz AL, Wu X, Tokar EJ. Toxicology of Inorganic Carcinogens. *Adv Mol Toxicol*. 2018;12:1–46.
 35. Lead (Pb) Toxicity: What is Lead? | Environmental Medicine | ATSDR [Internet]. [cited 2022 Jun 16]. Available from: https://www.atsdr.cdc.gov/csem/leadtoxicity/what_lead.html
 36. Inorganic and organic lead compounds. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 2006;87:1–471.
 37. Gilbert SG, Weiss B. A rationale for lowering the blood lead action level from 10 to 2 µg/dL. *Neurotoxicology*. 2006 Sep 1;27(5):693–701.
 38. Eisinger J. Lead and wine. Eberhard Gockel and the colica Pictonum. *Med Hist*. 1982;26(3):279.
 39. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services. Toxicological Profile for Lead. 2020.
 40. Guney M, Kismelyeva S, Akimzhanova Z, Beisova K. Potentially toxic elements in toys and children's jewelry: A critical review of recent advances in legislation and in scientific research. *Environ Pollut*. 2020 Sep 1;264:114627.
 41. UNEP - UN Environment Programme. Update on the Global Status of Legal Limits on Lead in Paint. 2020.
 42. Hayes CR, Skubala ND. Is there still a problem with lead in drinking water in the European Union? Vol. 7, *Journal of Water and Health*. 2009. p. 569–80.
 43. Decreto-Lei n.º 137/2017 | DRE [Internet]. [cited 2022 Jun 16]. Available from: <https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/137-2017-114163923>
 44. Prüss-Üstün A, Fewtrell L, Kaufmann R. Assessing the environmental burden of

- disease at national and local levels. *Environ Burd Dis Ser.* 2003;1(1):1–73.
45. Sanders T, Liu Y, Buchner V, Tchounwou PB. Neurotoxic Effects and Biomarkers of Lead Exposure: A Review. *Rev Environ Health.* 2009;24(1):15–45.
 46. Rădulescu A, Lundgren S. A pharmacokinetic model of lead absorption and calcium competitive dynamics. *Sci Rep.* 2019;9(1):1–27.
 47. Leggett RW. Research advances: An age-specific kinetic model of lead metabolism in humans. *Environ Health Perspect.* 1993;101(7):598–616.
 48. Ziegler EE, Edwards BB, Jensen RL, Mahaffey KR, Fomon SJ. Absorption and retention of lead by infants. *Pediatr Res.* 1978;12(1):29–34.
 49. Lidsky TI, Schneider JS. Lead neurotoxicity in children: basic mechanisms and clinical correlates. *Brain.* 2003;126(1):5–19.
 50. Johnson MA. High Calcium Intake Blunts Pregn; Blood Lead. *Nutr Rev.* 2001 May 1;59(5):152–6.
 51. Verity MA. Comparative Observations on Inorganic and Organic Lead Neurotoxicity. *Environ Health Perspect.* 1990;89:43–8.
 52. Singh Sankhla M, Sharma K, Kumar R. Heavy Metal Causing Neurotoxicity in Human Health. *Int J Innov Res Sci Eng Technol.* 2017;6:7721–6.
 53. Reuben A, Caspi A, Belsky DW, Broadbent J, Harrington H, Sugden K, et al. Association of childhood blood-lead levels with cognitive function and socioeconomic status at age 38 years and with IQ change and socioeconomic mobility between childhood and adulthood HHS Public Access Author manuscript. *JAMA.* 2017;317(12):1244–51.
 54. Cecil KM, Brubaker CJ, Adler CM, Dietrich KN, Altaye M, Egelhoff JC, et al. Decreased brain volume in adults with childhood lead exposure. *PLoS Med.* 2008 May 27;5(5):741–9.
 55. Needleman HL, Bellinger D. The Health Effects of Low Level Exposure to Lead. *Annu Rev Public Health.* 1991 May;12(1):111–40.
 56. Blood Lead Reference Value | Lead | CDC [Internet]. [cited 2022 Jun 10]. Available from: <https://www.cdc.gov/nceh/lead/data/blood-lead-reference-value.htm>
 57. Mason LH, Harp JP, Han DY. Pb Neurotoxicity: Neuropsychological Effects of Lead Toxicity. *Biomed Res Int.* 2014 Jan 2;1–8.
 58. Wani AL, Ara A, Usmani JA. Lead toxicity: A review. *Interdiscip Toxicol.* 2015;8(2):55–64.

59. Saxena G, Flora SJS. Lead-induced oxidative stress and hematological alterations and their response to combined administration of calcium disodium EDTA with a thiol chelator in rats. *J Biochem Mol Toxicol*. 2004 Jan 1;18(4):221–33.
60. Hambidge M. Human zinc deficiency. *J Nutr*. 2000;130(5S Suppl):1344S-9S.
61. Plum LM, Rink L, Hajo H. The Essential Toxin: Impact of Zinc on Human Health. *Int J Environ Res Public Health*. 2010;7(4):1342.
62. Prasad AS. Impact of the discovery of human zinc deficiency on health. *J Trace Elem Med Biol*. 2014 Oct 1;28(4):357–63.
63. Klopogge JT, Ponce CP, Loomis TA. Chapter 5: Period 4. In: *The Periodic Table: Nature's Building Blocks: An Introduction to the Naturally Occurring Elements, Their Origins, and Their Uses*. Elsevier; 2021. p. 253–476.
64. Choi S, Hong DK, Choi BY, Suh SW. Zinc in the Brain: Friend or Foe? *Int J Mol Sci*. 2020 Dec 1;21(23):1–24.
65. Trumbo P, Yates A, Schlicker S, Poor M. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. *J Am Diet Assoc*. 2001 Jun 19;101(3):294–301.
66. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Toxicological Profile For Zinc. 2005 Aug.
67. Emsley J. *Nature's Building: An A-Z Guide to the Elements*. 2003;538.
68. Bartzatt R. Neurological Impact of Zinc Excess and Deficiency In vivo. 2017;
69. Roohani N, Hurrell R, Kelishadi R, Schulin R. Zinc and its importance for human health: An integrative review. *J Res Med Sci*. 2013;18(2):144.
70. Qi Z, Jian Liu K. The Interaction of Zinc and the Blood-brain Barrier under Physiological and Ischemic Conditions HHS Public Access. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2019;364:114–9.
71. Mezzaroba L, Alfieri DF, Colado Simão AN, Vissoci Reiche EM. The role of zinc, copper, manganese and iron in neurodegenerative diseases. *Neurotoxicology*. 2019 Sep 1;74:230–41.
72. Konoha K, Sadakane Y, Kawahara M. Zinc Neurotoxicity and its Role in Neurodegenerative Diseases. *J Heal Sci*. 2006;52(1):1–8.
73. Wessells KR, Brown KH. Estimating the global prevalence of zinc deficiency: results based on zinc availability in national food supplies and the prevalence of

- stunting. *PLoS One*. 2012 Nov 29;7(11).
74. Lönnerdal B. Dietary factors influencing zinc absorption. *J Nutr*. 2000;130(5S Suppl).
 75. Prasad AS. Discovery of human zinc deficiency: its impact on human health and disease. *Adv Nutr*. 2013 Mar;4(2):176–90.
 76. Chen P, Miah MR, Aschner M, Perry G. Metals and Neurodegeneration. 2019;5:1–13.
 77. Adamo AM, Zago MP, Mackenzie GG, Aimo L, Keen CL, Keenan A, et al. The Role of Zinc in the Modulation of Neuronal Proliferation and Apoptosis. *Neurotox Res*. 2010 Jan;17(1):1.
 78. Fosmire GJ. Zinc toxicity. *Am J Clin Nutr*. 1990;51(2):225–7.
 79. Arts J, Bade S, Badrinan M, Ball N, Hindle S. Should DTPA, an Aminocarboxylic acid (ethylenediamine-based) chelating agent, be considered a developmental toxicant? *Regul Toxicol Pharmacol*. 2018 Aug 1;97:197–208.
 80. Agnew UM, Slesinger TL. Zinc Toxicity [Internet]. *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2022 [cited 2022 Sep 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554548/>
 81. Scheiber IF, Mercer JFB, Dringen R. Metabolism and functions of copper in brain. *Prog Neurobiol*. 2014 May 1;116:33–57.
 82. Hsu HW, Bondy SC, Kitazawa M. Environmental and Dietary Exposure to Copper and Its Cellular Mechanisms Linking to Alzheimer’s Disease. *Toxicol Sci*. 2018 Jun 1;163(2):338.
 83. Członkowska A, Litwin T, Dusek P, Ferenci P, Lutsenko S, Medici V, et al. Nature Reviews Disease Primers article: Wilson disease. *Nat Rev Dis Prim*. 2018 Sep 9;4(1):21.
 84. Gromadzka G, Tarnacka B, Flaga A, Adamczyk A. Copper Dyshomeostasis in Neurodegenerative Diseases-Therapeutic Implications. *Int J Mol Sci*. 2020 Dec 1;21(23):1–35.
 85. Purchase R. The link between copper and Wilson’s disease. *Sci Prog*. 2013;96(3):213–23.
 86. Dringen R, Scheiber IF, Mercer JFB, White AR. Copper metabolism of astrocytes. *Front Aging Neurosci*. 2013 Mar 14;5:9.
 87. Caudle WM. Occupational exposures and parkinsonism. *Handb Clin Neurol*. 2015 Jan 1;131:225–39.

88. Huster D. Wilson disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2010;24(5):531–9.
89. Kaler SG. Inborn errors of copper metabolism. *Handb Clin Neurol.* 2013;113:1745.
90. Tümer Z, Møller LB. Menkes disease. *Eur J Hum Genet.* 2010 May;18(5):511–8.
91. M. Amelia Santos. Iões Metálicos em Medicina: Do Diagnóstico à Terapia. *Bol da Soc Port Química.* 2014 Mar 1;23.
92. Xiao YD, Paudel R, Liu J, Ma C, Zhang ZS, Zhou SK. MRI contrast agents: Classification and application (Review). *Int J Mol Med.* 2016 Nov 1;38(5):1319–26.
93. Khan R. MRI Contrast Agents: Evolution of Clinical Practice and Dose Optimization. *Top Magn Reson Imaging.* 2016 Aug 1;25(4):157–61.
94. Wahsner J, Gale EM, Rodríguez-Rodríguez A, Caravan P. Chemistry of MRI Contrast Agents: Current Challenges and New Frontiers. *Chem Rev.* 2019 Jan 1;119(2):957.
95. Guo BJ, Yang ZL, Zhang LJ. Gadolinium Deposition in Brain: Current Scientific Evidence and Future Perspectives. *Front Mol Neurosci.* 2018 Sep 20;11.
96. Kanda T, Oba H, Toyoda K, Kitajima K, Furui S. Brain gadolinium deposition after administration of gadolinium-based contrast agents. *Jpn J Radiol.* 2016 Jan 1;34(1):3–9.
97. Ramalho J, Semelka RC, Ramalho M, Nunes RH, AlObaidy M, Castillo M. Gadolinium-Based Contrast Agent Accumulation and Toxicity: An Update. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2016 Jul 1;37(7):1192–8.
98. Malikova H, Holesta M. Gadolinium contrast agents – are they really safe? *J Vasc Access.* 2017 Mar 21;18(Suppl. 2):1–7.
99. European Medicines Agency. PRAC confirms restrictions on the use of linear gadolinium agents. 2017.
100. Branch S, Rogosnitzky M. Gadolinium-based contrast agent toxicity: a review of known and proposed mechanisms. *Biometals an Int J role Met ions Biol Biochem Med.* 2016;29(3):365–76.
101. Costelloe CM, Amini B, Madewell JE. Risks and Benefits of Gadolinium-Based Contrast-Enhanced MRI. *Semin Ultrasound, CT MRI.* 2020 Apr 1;41(2):170–82.
102. Dekkers IA, Roos R, van der Molen AJ. Gadolinium retention after administration of contrast agents based on linear chelators and the recommendations of the European Medicines Agency. *Eur Radiol.* 2018 Apr 1;28(4):1579–84.

103. Sieber MA, Lengsfeld P, Frenzel T, Golfier S, Schmitt-Willich H, Siegmund F, et al. Preclinical investigation to compare different gadolinium-based contrast agents regarding their propensity to release gadolinium in vivo and to trigger nephrogenic systemic fibrosis-like lesions. *Eur Radiol*. 2008;18(10):2164–73.
104. Marckmann P, Skov L, Rossen K, Dupont A, Brimnes Damholt M, Goya Heaf J, et al. Nephrogenic Systemic Fibrosis: Suspected Causative Role of Gadodiamide Used for Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17:2359–62.
105. Murata N, Gonzalez-Cuyar LF, Murata K, Fligner C, Dills R, Hippe D, et al. Macrocyclic and other non-group 1 gadolinium contrast agents deposit low levels of gadolinium in brain and bone tissue: Preliminary results from 9 patients with normal renal function. *Invest Radiol*. 2016 Jul 1;51(7):447–53.
106. McDonald RJ, McDonald JS, Kallmes DF, Jentoft ME, Paolini MA, Murray DL, et al. Gadolinium Deposition in Human Brain Tissues after Contrast-enhanced MR Imaging in Adult Patients without Intracranial Abnormalities. *Radiology*. 2017 Nov 1;285(2):546–54.
107. McDonald RJ, McDonald JS, Kallmes DF, Jentoft ME, Murray DL, Thielen KR, et al. Intracranial Gadolinium Deposition after Contrast-enhanced MR Imaging. *Radiology*. 2015 Jun 1;275(3):772–82.
108. Abbott NJ, Chugani DC, Zaharchuk G, Rosen BR, Lo EH. Delivery of imaging agents into brain. *Adv Drug Deliv Rev*. 1999 Apr 5;37(1–3):253–77.
109. Sureshkumar A, Hansen B, Ersahin D. Role of Nuclear Medicine in Imaging. *Semin Ultrasound, CT MRI*. 2020 Feb 1;41(1):10–9.
110. Davis KM, Ryan JL, Aaron VD, Sims JB. PET and SPECT Imaging of the Brain: History, Technical Considerations, Applications, and Radiotracers. *Semin Ultrasound, CT MRI*. 2020 Dec 1;41(6):521–9.
111. Zhang J, Traylor KS, Mountz JM. PET and SPECT Imaging of Brain Tumors. *Semin Ultrasound CT MR*. 2020 Dec 1;41(6):530–40.
112. Warwick JM. Imaging of Brain Function Using SPECT. *Metab Brain Dis*. 2004 Jun;19(1/2):113–23.
113. Holly TA, Abbott BG, Al-Mallah M, Calnon DA, Cohen MC, DiFilippo FP, et al. Single photon-emission computed tomography. *J Nucl Cardiol*. 2010 Oct 15;17(5):941–73.
114. Ritt P. Recent Developments in SPECT/CT. *Semin Nucl Med*. 2022 May

- 1;52(3):276–85.
115. Celler A. Single Photon Imaging and Instrumentation. *Encycl Spectrosc Spectrom.* 2010 Jan 1;2531–8.
 116. Ljungberg M, Erlandsson K. Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) and SPECT/ CT Hybrid Imaging. In: *Handbook of nuclear medicine and molecular imaging for physicists.* 1st ed. CRC Press; 2020. p. 297–314.
 117. Papagiannopoulou D. ^{99m}Tc Radiopharmaceutical Chemistry. In: Scott P, Kilbourn M, editors. *Handbook of Radiopharmaceuticals.* Wiley; 2020. p. 375–433.
 118. Crişan G, Moldovean-cioroianu NS, Timaru DG, Andrieş G, Căinap C, Chiş V. Radiopharmaceuticals for PET and SPECT Imaging: A Literature Review over the Last Decade. *Int J Mol Sci.* 2022 May 1;23(9):5023.
 119. Sedgwick AC, Brewster JT, Harvey P, Iovan DA, Smith G, He XP, et al. Metal-based imaging agents: progress towards interrogating neurodegenerative disease. *Chem Soc Rev.* 2020 May 26;49(10):2886–915.
 120. Sasannezhad P, Juibary AG, Sadri K, Sadeghi R, Sabour M, Kakhki VRD, et al. ^{99m}Tc-TRODAT-1 SPECT Imaging in Early and Late Onset Parkinson’s Disease. *Asia Ocean J Nucl Med Biol.* 2017;5(2):114.
 121. Roberson ED. Treatment of Central Nervous System Degenerative Disorders. In: Hilal-Dandan R, Knollmann BC, Brunton LL, editors. *Goodman and Gilman’s The Pharmacological Basis of Therapeutics.* 13th ed. McGraw Hill Education; 2018. p. 328–30.
 122. Khalil MM, Tremoleda JL, Bayomy TB, Gsell W. Molecular SPECT Imaging: An Overview. *Int J Mol Imaging.* 2011 Apr 5;2011:1–15.
 123. Bybel B, Brunken RC, DiFilippo FP, Neumann DR, Wu G, Cerqueira MD. SPECT/CT imaging: Clinical utility of an emerging technology. *Radiographics.* 2008 Mar;28(4):1097–113.
 124. Chakraborty D, Bhattacharya A, Gupta AK, Panda NK, Das A, Mittal BR. Skull base osteomyelitis in otitis externa: The utility of triphasic and single photon emission computed tomography/computed tomography bone scintigraphy. *Indian J Nucl Med.* 2013 Apr;28(2):65–9.
 125. Dittrich RP, Chowdhury YS. Nuclear Medicine Artifacts [Internet]. StatPearls. StatPearls Publishing; 2022 [cited 2022 Sep 15]. p. 1–12. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK568802/>

126. Bouziotis P, Fiorini C. SPECT/MRI: dreams or reality? *Clin Transl Imaging* 2014 26. 2014 Dec 4;2(6):571–3.
127. Lamb J, Holland JP. Advanced Methods for Radiolabeling Multimodality Nanomedicines for SPECT/MRI and PET/MRI. *J Nucl Med* •. 2018;59(3):382–9.
128. Hutton BF, Occhipinti M, Kuehne A, Máthé D, Kovács N, Waiczies H, et al. Development of clinical simultaneous SPECT/MRI. *Br J Radiol*. 2017 Jan;91(1081):20160690.
129. Barrow M, Taylor A, Fuentes-Caparrós AM, Sharkey J, Daniels LM, Mandal P, et al. SPIONs for cell labelling and tracking using MRI: magnetite or maghemite? *Biomater Sci*. 2018 Jan 1;6(1):101.
130. Berger A. How Does It Work?: Positron emission tomography. *BMJ Br Med J*. 2003 Jun 6;326(7404):1449.
131. Hu Z, Yang W, Liu H, Wang K, Bao C, Song T, et al. From PET/CT to PET/MRI: Advances in Instrumentation and Clinical Applications. 2014;
132. Townsend DW. Positron Emission Tomography/Computed Tomography. *Semin Nucl Med*. 2008 May;38(3):152–66.
133. Gutfilen B, Souza SAL, Valentini G. Copper-64: a real theranostic agent. *Drug Des Devel Ther*. 2018 Oct 2;12:3235–45.
134. Bartnicka JJ, Blower PJ. Insights into Trace Metal Metabolism in Health and Disease from PET: ““PET Metallomics.”” *J Nucl Med*. 2018;59:1355–9.
135. Chakravarty R, Chakraborty S, Dash A. $^{64}\text{Cu}^{2+}$ Ions as PET Probe: An Emerging Paradigm in Molecular Imaging of Cancer. *Mol Pharm*. 2016 Nov 7;13(11):3601–12.
136. Ikawa M, Okazawa H, Kudo T, Kuriyama M, Fujibayashi Y, Yoneda M. Evaluation of striatal oxidative stress in patients with Parkinson’s disease using [^{62}Cu]ATSM PET. *Nucl Med Biol*. 2011 Oct;38(7):945–51.
137. Pike VW. PET Radiotracers: crossing the blood-brain barrier and surviving metabolism. *Trends Pharmacol Sci*. 2009 Aug;30(8):431.
138. Wasif Saif M, Tzannou I, Makrilia N, Syrigos K. Role and Cost Effectiveness of PET/CT in Management of Patients with Cancer. *YALE J Biol Med*. 2010;83:53–65.
139. Hermena S, Young M. CT-scan Image Production Procedures. *StatPearls [Internet]*. 2021 Aug 17 [cited 2022 Sep 15]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK574548/>

140. Abouzied MM, Crawford ES, Nabi HA. 8 F-FDG Imaging: Pitfalls and Artifacts. *J Nucl Med Technol.* 2005;33:145–55.
141. Basu S, Alavi A. Unparalleled contribution of 18F-FDG PET to medicine over 3 decades. *J Nucl Med.* 2008 Oct;49(10):17N-21N, 37N.
142. Jadvar H, Colletti PM. Competitive advantage of PET/MRI. *Eur J Radiol.* 2014 Jan 1;83(1):84–94.
143. Ehman EC, Johnson GB, Villanueva-Meyer JE, Cha S, Leynes AP, Larson PEZ, et al. PET/MRI: Where Might It Replace PET/CT? *J Magn Reson Imaging.* 2017 Nov 1;46(5):1247.