

**Universidade de Lisboa**

**Faculdade de Farmácia**



# **Doença de Wilson: Abordagem terapêutica**

**Sílvia Inês Sustelo Arsénio**

**Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas**

**2020**



**Universidade de Lisboa**

**Faculdade de Farmácia**



# **Doença de Wilson: Abordagem terapêutica**

**Sílvia Inês Sustelo Arsénio**

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas  
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

**Orientador: Professora Auxiliar, Judite da Conceição Nunes Costa**

**2020**



## Resumo

O cobre é um oligoelemento essencial para o funcionamento do organismo humano. É um metal imprescindível para a atividade de várias enzimas envolvidas em diversos processos fisiológicos importantes, atuando como cofator catalítico.

A incorporação de cobre no organismo é feita maioritariamente por via oral, através da alimentação. No intestino, a absorção do cobre é realizada por uma ATPase, a ATP7A, localizada na membrana dos enterócitos. Após entrar na circulação portal, o cobre chega rapidamente ao fígado, que é o principal órgão responsável pela sua metabolização. Nos hepatócitos, a proteína ATP7B é responsável por incorporar o cobre na ceruloplasmina, e está envolvida no processo de excreção biliar de cobre. Assim, a inativação de ATP7B resulta num distúrbio grave da homeostase do cobre e na inativação de enzimas dependentes deste metal, manifestando-se clinicamente como a Doença de Wilson.

Esta doença caracteriza-se por uma mutação rara no cromossoma 13 que codifica para a proteína ATP7B, resultando numa acumulação de cobre em vários tecidos e órgãos, nomeadamente no fígado e no cérebro. Esta patologia apresenta uma ampla heterogeneidade de sintomas, pelo que as manifestações clínicas podem ser predominantemente hepáticas, neurológicas ou psiquiátricas. Uma das características, mais comuns, é o anel Kayser-Fleischer presente na maioria dos pacientes com sintomas neurológicos. O diagnóstico desta patologia é baseado numa ampla combinação de testes laboratoriais e características clínicas, como a análise da concentração hepática de cobre e da ceruloplasmina sérica. Antes do desenvolvimento de terapêuticas farmacológicas, a doença de Wilson era inevitavelmente uma doença fatal, contudo, atualmente o prognóstico dos pacientes é bastante favorável.

O tratamento farmacológico da Doença de Wilson fundamenta-se na remoção do excesso de cobre através da utilização de agentes quelantes, como a D-penicilamina e a trientina, e na diminuição da absorção de cobre com o auxílio de sais de zinco.

O tratamento farmacológico disponível geralmente é bastante eficaz, contudo as opções terapêuticas ainda são limitadas e possuem inúmeros efeitos secundários que não favorecem a sua adesão. Inúmeros avanços estão a ser feitos no sentido de desenvolver novos compostos e terapêuticas inovadoras. A terapia genética representa um futuro tratamento curativo para esta patologia.

**Palavras-chave:** Doença de Wilson; Cobre; ATP7B; Terapêutica

## Abstract

Copper is an essential trace element for the functioning of the human organism. It is an indispensable metal for the activity of several enzymes involved in many important physiological processes, acting as a catalytic cofactor.

The incorporation of copper in the body is mostly done orally, through feeding. In the intestine, the absorption of copper is performed by an ATPase, the ATP7A, located in the enterocyte membrane. After entering the portal circulation, copper quickly reaches the liver, which is the main organ responsible for copper metabolism. In the hepatocytes, the ATP7B protein is responsible for incorporating copper into the ceruloplasmin, and is involved in the process of bile excretion of copper. Therefore, the inactivation of ATP7B results in a severe disturbance of the homeostasis of copper and in the inactivation of enzymes dependent on this metal, manifesting itself clinically as Wilson's disease.

This pathology presents a wide clinical heterogeneity, so the clinical manifestations can be predominantly hepatic, neurological or psychiatric. One of the most common features is the Kayser-Fleischer ring present in most patients with neurological symptoms. The diagnosis of this pathology is based on a wide combination of laboratory tests and clinical characteristics, such as the analysis of the hepatic concentration of copper and serum ceruloplasmin. Before the development of pharmacological therapies, Wilson's disease was inevitably a fatal disease, however, currently the patients' prognosis is very positive.

The pharmacological treatment of Wilson's disease is based on the removal of excess copper using chelating agents such as D-penicillamine and trientine, and on reducing the absorption of copper with the use of zinc salts.

The available pharmacological treatment is generally quite effective, however the therapeutic options are still limited and have numerous side effects that do not promote their compliance. Numerous advances are being made towards the development of new compounds and innovative therapies. Gene therapy represents a future curative treatment for this pathology.

**Keywords:** Wilson's Disease; Copper; ATP7B; Therapy

## Agradecimentos

A elaboração desta monografia não teria sido possível sem o contributo de algumas pessoas.

Em primeiro lugar, gostaria de deixar o meu especial agradecimento à Professora Doutora Judite Costa pela sua disponibilidade, apoio constante e pelos conhecimentos transmitidos que tanto me ajudaram ao longo destes meses.

A todos os meus amigos, que são uma parte tão importante da minha vida e que são, sem dúvida, a família que escolhi. Obrigada por todo o apoio que sempre me deram e por estarem sempre tão presentes.

Aos meus amigos da FFUL, que me acompanharam durante 5 anos, um especial obrigada. Obrigada por me terem acompanhado neste percurso, por me ensinarem tanta coisa ao longo destes 5 anos e por terem partilhado comigo os melhores momentos. Sem vocês tenho a certeza que não tinha chegado até aqui, vocês vão ser os melhores farmacêuticos do mundo e já são os melhores amigos que podia ter.

À minha família, obrigada pelo apoio incondicional e por todo o carinho que sempre me deram. À minha mãe e à minha avó, um obrigada não chega. Fizeram de mim a pessoa que sou hoje, deram tudo o que conseguiam para que eu fosse feliz e graças a vocês nunca me faltou nada. Os ensinamentos, a educação e os valores que me transmitiram, foram fundamentais para ter chegado até aqui. Obrigada do fundo do coração.

Por fim, obrigada a todos por terem acreditado em mim.

# Índice geral

<b>Resumo</b> .....	3
<b>Abstract</b> .....	4
<b>Agradecimentos</b> .....	5
<b>Índice geral</b> .....	6
<b>Índice de figuras</b> .....	8
<b>Índice de Tabelas</b> .....	9
<b>Lista de abreviaturas</b> .....	10
<b>Introdução</b> .....	11
<b>Objetivos</b> .....	12
<b>Materiais e Métodos</b> .....	13
<b>1.Cobre</b> .....	14
1.1 Considerações gerais .....	14
1.2 Fontes de cobre, quantidade de cobre necessária ao organismo e biodisponibilidade	14
1.3 Funções biológicas e fisiológicas .....	16
1.4 Metabolismo e homeostase do cobre.....	16
1.5 Toxicidade associada ao cobre.....	18
1.5.1 Toxicidade aguda e crónica.....	18
1.5.2 Mecanismos de toxicidade .....	19
1.6 Patologias associadas ao cobre.....	19
<b>2. Doença de Wilson</b> .....	21
2.1 Considerações gerais e patogénese.....	21
2.2 Epidemiologia .....	22
<b>3. Manifestações Clínicas da Doença de Wilson</b> .....	23
3.1 Manifestações hepáticas.....	23
3.1.1 Insuficiência hepática aguda .....	24
3.1.2 Insuficiência hepática crónica e cirrose .....	24
3.2 Manifestações neurológicas.....	25
3.3 Manifestações psiquiátricas .....	26
3.4 Manifestações hematológicas .....	27
3.5 Manifestações oftalmológicas .....	27
3.6 Outras manifestações clínicas .....	28
<b>4.Prognóstico</b> .....	30
<b>5.Métodos de diagnóstico</b> .....	31

5.1 Ceruloplasmina sérica .....	31
5.2 Cobre sérico .....	32
5.3 Excreção urinária de cobre .....	32
5.4 Concentração hepática de cobre .....	32
5.5 Neuroimagiologia .....	32
5.6 Testes genéticos.....	33
5.7 Rastreamento familiar .....	33
<b>6.Terapêutica não farmacológica .....</b>	<b>34</b>
6.1 Transplante hepático .....	34
6.2 Alimentação .....	35
<b>7.Terapêutica farmacológica .....</b>	<b>36</b>
7.1 Agentes quelantes .....	37
7.1.1 D-Penicilamina .....	38
7.1.2 Trientina .....	40
7.2 Sais de zinco .....	41
7.3 Tetratiomolibdato de Amônio .....	43
<b>8.Terapêutica na gravidez.....</b>	<b>44</b>
<b>9.Outros tratamentos .....</b>	<b>45</b>
<b>10.Perspetivas futuras .....</b>	<b>46</b>
<b>11.Considerações finais .....</b>	<b>48</b>
<b>12. Referências bibliográficas .....</b>	<b>49</b>
<b>13. ANEXOS .....</b>	<b>53</b>

## Índice de figuras

Figura 1: Homeostase de cobre nos hepatócitos.....	17
Figura 2 : Histologia realizada em amostras de biópsia hepática de um paciente com a doença de Wilson onde é possível observar-se depósitos de cobre acumulados .....	24
Figura 3: Distonia, sintoma característico da Doença de Wilson. Na imagem a) observa-se distonia focal da mão e na imagem b) distonia grave, designada risus sardonicus. ....	26
Figura 4: (A) Anel de Kayser-Fleischer num paciente com a Doença de Wilson; (B) Depósitos de cobre vistos numa imagem de tomografia de coerência óptica do segmento anterior na membrana de Descemet, no mesmo paciente .....	28
Figura 5: Algoritmos de diagnóstico para a doença de Wilson com base na pontuação de Leipzig.....	31
Figura 6: Estrutura química dos compostos quelantes utilizados no tratamento da Doença de Wilson .....	36
Figura 7: Formação do complexo metal/ligando com ligandos mono, bi e polidentados. ....	37

## Índice de Tabelas

Tabela 1. Doses diárias recomendadas de cobre consoante a idade .....	15
Tabela A1. Exemplos de cuproenzimas e respetivas funções. ....	53
Tabela A2. Sistema de pontuação desenvolvido no 8º Encontro Internacional sobre a Doença de Wilson, Leipzig 2001. ....	54
Tabela A3. Índice de prognóstico da Doença de Wilson.....	55
Tabela A4. Resumo das características dos fármacos disponíveis .....	55

## Lista de abreviaturas

ADN: Ácido Desoxiribonucleico;

ALT: Alanina aminotransferase;

AST: Aspartato Aminotransferase;

ATOX1: *Chaperone* antioxidante do cobre 1;

ATP7A: ATPase transportadora de cobre;

ATP7B: ATPase transportadora de cobre;

Cox17: *Copper chaperone*;

Da: Dalton;

DW: Doença de Wilson;

ETIC: *Endemic Tyrolean infantile cirrhosis*;

HELLP: Síndrome de Baixa Contagem de Plaquetas;

OCT: Tomografia de Coerência Óptica;

OHS: *Occipital horn syndrome*;

OMS: Organização Mundial de Saúde;

RM: ressonância magnética;

SOD-1: Superóxido Dismutase;

TTM: Tetratiomolibdato de amónio;

XIAP: Ligando inibidor da apoptose;

## Introdução

O cobre é um oligoelemento essencial a nível fisiológico, sendo necessário como cofator em inúmeras reações enzimáticas essenciais. A homeostasia deste metal é fundamental para o normal funcionamento do organismo, pois o cobre em excesso conduz à formação de espécies reativas de oxigénio que vão originar lesões em vários tecidos e órgãos. Existem patologias que estão associadas a mutações genéticas que alteram o metabolismo do cobre, como no caso da Doença de Wilson.

A DW foi identificada pela primeira vez em 1912 e consiste num distúrbio autossómico recessivo do metabolismo do cobre causado por uma mutação no gene ATP7B. Esta mutação rara, está associada a uma acumulação anormal de cobre em diversos órgãos e tecidos, nomeadamente no fígado. O tratamento atual desta doença fundamenta-se na remoção do excesso de cobre através da utilização de agentes quelantes e na inibição da absorção de cobre por sais de zinco.

Assim a presente monografia irá abordar os aspetos fisiopatológicos da DW, bem como as terapêuticas existentes. Apesar de ser uma doença com terapêutica farmacológica disponível, a mesma é vitalícia e ainda possui algumas limitações que serão abordadas neste trabalho pelo que se considera imperativo o acompanhamento do progresso dos estudos de novas terapêuticas para esta patologia.

## **Objetivos**

Este trabalho tem como objetivo fazer uma revisão da literatura sobre a Doença de Wilson, de forma a aprofundar o conhecimento sobre esta patologia e em particular sobre as estratégias terapêuticas atualmente disponíveis. Para tal, a presente monografia irá abordar diferentes tópicos, primeiramente sobre o cobre, a sua importância para o organismo, o seu metabolismo no corpo humano e toxicidade. De seguida será abordada a Doença de Wilson, as suas diferentes apresentações clínicas, o seu diagnóstico, as terapêuticas existentes para o seu tratamento e, por fim, quais as perspetivas futuras no que diz respeito à terapêutica e quais os avanços mais recentes nesta área.

## **Materiais e Métodos**

Para a realização da presente monografia foi feita uma pesquisa bibliográfica na qual a recolha de informação de artigos científicos baseou-se no acesso a bases de dados online como ScienceDirect, PubMed e Google Scholar. A pesquisa de artigos científicos foi realizada em inglês, para a qual foram utilizados termos como: “copper metabolism”; “Wilson’s disease”; “advances in treatment of Wilson Disease”; “Wilson’s disease treatment”; “chelation therapy for Wilson’s disease”, entre outros. Efetuou-se a leitura do abstract e em diversos casos do artigo integral, para que fossem selecionados os artigos mais relevantes para a temática, sendo que foi dada prioridade às referências mais recentes para que a informação fosse mais atualizada. Adicionalmente, foram também consultadas referências dos próprios artigos. Para a organização de referências bibliográficas, foi utilizado o programa informático Mendeley.

# 1. Cobre

## 1.1 Considerações gerais

O cobre foi identificado pela primeira vez em plantas e animais no século XIX. No século XX, mais especificamente em 1921, identificou-se a presença de cobre no cérebro, considerando-se então a hipótese de que o cobre desempenharia funções catalisadoras em processos bioquímicos. Desta forma, o cobre passou a ser reconhecido como um catalisador biológico. Ao longo do tempo, novos estudos permitiram o reconhecimento da importância deste metal em muitas funções biológicas dos organismos vivos, nomeadamente do ser humano (1,2). Atualmente, sabe-se que o cobre é um elemento essencial para o desenvolvimento saudável da vida humana e animal, sendo considerado um oligoelemento (3).

O cobre é um elemento químico da tabela periódica, cujo símbolo químico é “Cu”, possui número atômico 29 e uma massa atômica de 63,546 unidades. É um metal de transição, que pertence ao grupo 11 e ao 4º período da tabela periódica (4,5). O cobre é um metal que tem baixa reatividade devido à sua elevada carga nuclear, tamanho pequeno e conseqüentemente de alto potencial de ionização (6).

Trata-se de um metal redox-ativo que permuta facilmente do estado de oxidação +1, cobre (I), e o estado de oxidação +2, cobre (II), tanto em reações químicas no meio ambiente como em condições fisiológicas, atuando como doador ou recetor de elétrons (4). A utilidade biológica do cobre deriva principalmente desta aptidão, que faz com que este metal de transição seja um elemento com propriedades redox que podem ser de natureza essencial ou prejudicial em sistemas biológicos (7,8). Tem um papel muito importante a nível fisiológico, sendo necessário como cofator catalítico em inúmeras reações enzimáticas essenciais, como um componente enzimático alostérico e como um antioxidante (8).

O cobre é um elemento químico que apresenta quatro estados de oxidação ( $\text{Cu}^0$ ,  $\text{Cu}^{+1}$ ,  $\text{Cu}^{+2}$  e  $\text{Cu}^{+3}$ ), contudo os estados de oxidação mais comuns são o cuproso,  $\text{Cu}^{+1}$ , e o cúprico,  $\text{Cu}^{+2}$ , sendo a química do cobre amplamente dominada por estes compostos (5). Nos sistemas biológicos predomina o ião cúprico, pois o ião cuproso é mais instável sendo facilmente oxidado a ião cúprico (9).

Desta forma, o cobre, devido a todas as suas propriedades, é essencial para a vida, sendo o terceiro oligoelemento mais abundante no corpo, depois do zinco e do ferro, porém o excesso deste metal pode induzir a produção de radicais livres e resultar em danos celulares. Assim, é necessária uma regulação rígida da sua homeostase, mantida por mecanismos que envolvem a captação, o transporte, o armazenamento e a excreção do mesmo, como irá ser abordado posteriormente (10,11).

## 1.2 Fontes de cobre, quantidade de cobre necessária ao organismo e biodisponibilidade

A incorporação de cobre no organismo é feita, maioritariamente, por via oral através da alimentação (1). Contudo, existem outras fontes de cobre, como as emissões de cobre provenientes de minas e fundições. Outras fontes presentes no dia-a-dia incluem os utensílios de cozinha, a água potável, as pílulas anticoncepcionais, os dispositivos intra-uterinos e os suplementos alimentares. A exposição ao Cu por meio de exposições ambientais ou ocupacionais também ocorre e geralmente inclui igualmente a exposição a outros metais (6). Nos alimentos, que são a principal fonte de obtenção de cobre, a concentração do mesmo varia consoante a região e o país, de acordo com o tipo de produto, condições de cultivo (solo, água, uso de fertilizantes e fungicidas que contenham cobre), pH e uso de embalagens ou utensílios de cobre (1). As fontes mais ricas de cobre na dieta incluem sementes, nozes, mariscos, órgãos de animais (fígado e rim), legumes (ervilhas e feijões) e chocolate negro (9,12).

Adquirir bons hábitos alimentares e uma dieta bem equilibrada, em princípio permite responder às necessidades diárias de cobre (13) . A água também pode ser uma fonte importante deste metal, as concentrações de cobre na mesma variam amplamente como resultado de variações na sua origem e nas suas próprias características, como o pH e a dureza, e da presença de cobre no sistema de distribuição (14).

A ingestão de cobre varia muito consoante os indivíduos, dependendo das escolhas alimentares e costumes alimentares, bem como dos fatores ambientais. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a ingestão média de cobre através da dieta varia, normalmente, entre os 0,9 e 2,7 mg por dia (6,14). Esta variação reflete os diferentes hábitos alimentares assim como os diferentes processamentos agrícolas em todo o mundo (1). A dose recomendada de ingestão de cobre para homens e mulheres adultos, a nível alimentar é de 0,9 mg por dia. O nível de ingestão superior tolerável na mesma faixa etária é de 10 mg por dia. A água potável contribui com cerca de 6% a 13% da ingestão média diária de cobre. O padrão atual da união europeia é de 2 mg / L para a concentração máxima de cobre na água potável (6,15). Esse valor baseia-se nos possíveis riscos para a saúde pública com a exposição a longo prazo, com uma margem de segurança adequada para evitar possíveis problemas de saúde (6). Encontram-se descritas na tabela 1, as doses diárias de cobre em função da idade.

A biodisponibilidade do cobre depende de três fatores principais: absorção pelo trato gastrointestinal, transporte no sangue e a sua excreção pelos hepatócitos. Vários fatores podem alterar a biodisponibilidade do cobre como o envelhecimento, que diminui a eficiência da homeostase do cobre, o que resulta em maiores concentrações séricas do mesmo na população idosa; o género, tendo o sexo feminino níveis médios séricos mais elevados deste metal; fatores hormonais, as mulheres que tomam pílulas contraceptivas apresentam um aumento dos níveis séricos de cobre (8). Suplementos de ácido ascórbico, consumos elevados de cálcio e / ou de fósforo, podem inibir a absorção de cobre em dietas que contêm grandes quantidades desses elementos. A interação entre o zinco e o cobre está bem documentada em humanos. Foi demonstrado que altos níveis de zinco na dieta influenciam adversamente a absorção e a biodisponibilidade do cobre (15). Este metal está disponível em suplementos alimentares que contêm apenas cobre e em muitos produtos multivitamínicos (12,16). Esses suplementos contêm muitas formas diferentes de cobre, incluindo óxido de cobre, sulfato de cobre e gluconato de cobre, entre outros.

Tabela 1. Doses diárias recomendadas de cobre consoante a idade; Adaptado da referência 12.

<b>Ingestão diária recomendada de cobre</b>		
	Sexo Masculino	Sexo Feminino
Do nascimento aos 6 meses	0,2 mg	0,2 mg
7-12 meses	0,2 mg	0,2 mg
1-3 anos	0,34 mg	0,34 mg
4-8 anos	0,44 mg	0,44 mg
9-13 anos	0,7 mg	0,7 mg
14- 18 anos	0,89 mg	0,89 mg
Adultos	0,9 mg	0,9 mg
Mulheres a amamentar	--	1,3 mg
Mulheres grávidas	--	1,3 mg

### 1.3 Funções biológicas e fisiológicas

O cobre é um oligoelemento essencial para os organismos vivos, devido à sua incorporação específica num grande número de proteínas enzimáticas e estruturais (1). No corpo humano, o cobre é encontrado em quantidades relativamente elevadas: um adulto saudável de 70 kg contém, em média, cerca de 110 mg de cobre, a maior parte 46 mg no esqueleto e na medula óssea, 26 mg nos músculos esqueléticos, 10 mg no fígado, 8,8 mg no cérebro e 6 mg no sangue (8).

A sua importância biológica, funcional e estrutural, nos animais e no ser humano, está relacionada com as funções metabólicas de enzimas dependentes deste metal, como por exemplo: citocromo c oxidase, superóxido dismutase citosólica (SOD1), lisil oxidase, tirosinase e ceruloplasmina, entre outras. Estas enzimas, catalisam reações fisiológicas fundamentais relacionadas com a fosforilação oxidativa, a inativação de radicais livres, a coagulação sanguínea, a síntese de melanina, o metabolismo do ferro e a biossíntese de colagénio e de elastina (17). Nestes casos, o cobre não pode ser substituído por elementos diferentes, já que apenas este, possui as propriedades redox necessárias para o funcionamento destas proteínas (1,17).

A enzima lisil oxidase, por exemplo, é essencial para a reticulação do colagénio e da elastina, ambos necessários para a formação de tecido conjuntivo (6). A ceruloplasmina, por sua vez, é uma oxidase, sintetizada no fígado, que possui 6 átomos de cobre por molécula e contém cerca de 60% a 90% do cobre sérico total encontrado nos vertebrados. Esta enzima está envolvida nas reações inflamatórias de fase aguda e na remoção de radicais livres, protegendo as células contra danos celulares oxidativos (1,18). Na tabela A1, em anexo, encontram-se vários exemplos de enzimas de ligação ao cobre (cuproenzimas) e respetivas funções. O cobre desempenha outras funções não enzimáticas adicionais como por exemplo na angiogénese, mielinização nervosa e na atividade da endorfina (8). Adicionalmente também possui um papel fundamental na reprodução, no crescimento e desenvolvimento normal do ser humano (10,18). Deficiências graves neste elemento, seja por defeitos genéticos devido a mutações ou a uma baixa ingestão de cobre no regime alimentar, embora relativamente raras em humanos, têm sido associadas a atrasos mentais, anemia, neutropenia, hipertrofia cardíaca, fragilidade óssea e função imunológica comprometida, entre outros (19).

### 1.4 Metabolismo e homeostase do cobre

A biodisponibilidade do cobre depende maioritariamente da sua absorção, que ocorre ao longo do trato gastrointestinal. O cobre ingerido na alimentação pode ser parcialmente absorvido no estômago, uma vez que o pH ácido permite a libertação dos íons cobre dos seus complexos presentes nos alimentos. A produção eficiente de ácido clorídrico facilita a digestão no estômago e permite a disponibilidade de cobre no intestino delgado, sendo o duodeno, o local onde se verifica uma maior absorção deste metal. (19). Dependendo de diversos fatores como as características fisiológicas e a composição da dieta alimentar de um determinado indivíduo, a absorção de cobre pode variar entre 12% e 60%. As metalotioneínas entéricas são determinantes na regulação da absorção do cobre ingerido, elas consistem num grupo de proteínas que atuam ao nível do intestino, que se ligam ao cobre e a outros metais, agindo como captadoras e quelantes destes elementos (20). Após a sua absorção a nível intestinal, o cobre é transportado pela enzima transportadora de cobre, a ATP7A, localizada na membrana dos enterócitos, para a circulação portal, onde se liga, maioritariamente, à albumina e à transcuprina. Grande parte do cobre alcança rapidamente os hepatócitos, sendo o fígado o principal órgão responsável pela sua metabolização e armazenamento. O cobre é, então, transportado para os hepatócitos através da proteína transportadora de cobre (CTR-1).

Uma vez no fígado, pode seguir três vias diferentes, pode ser armazenado através da ligação à metalotioneína, incorporado na ceruloplasmina ou excretado na bÍlis (16,21,22). Neste Órgão, a homeostase do cobre é, essencialmente, mantida por uma rede complexa de proteínas, que inclui proteínas transportadoras citosÓlicas, transportadores transmembranares e moléculas de armazenamento de cobre (metalotioneínas), que conduzem este metal a enzimas dependentes do mesmo, ao mesmo tempo que impedem que este atinja concentrações tÓxicas no organismo (6,23).

Dentro da célula, neste caso no hepatÓcito, o cobre liga-se a proteínas denominadas *copper chaperones* que o transportam para alvos intracelulares específicos. A CCS (*Copper chaperone for superoxide dismutase*) transporta o cobre para a superÓxido dismutase, SOD1. A Cox17, transporta o cobre para as mitocÓndrias, onde é incorporado nas enzimas da cadeia de transporte de elétrÓes, enquanto que o ATOX1 transfere o cobre para as ATPases, ATP7B, no caso do hepatÓcito (Figura 1) (23). A ATP7B, que estÁ localizada no complexo trans-Golgi, nos hepatÓcitos, incorpora o cobre na proteína transportadora ceruloplasmina. Este é o principal transportador do cobre na circulação sanguínea sistémica, contendo cerca de 75% do cobre plasmático. Em caso de excesso de cobre, o ATP7B desloca-se para a membrana do canalÍculo do ducto biliar e o cobre é transportado para a bÍlis, ocorrendo a sua excreção (16,22).

Desta forma os hepatÓcitos sÁo o local onde ocorrem dois processos fisiológicos fundamentais para o metabolismo do cobre, já que o ATP7B nÁo só fornece cobre para a incorporação na apoceruloplasmina para a síntese da ceruloplasmina, como também estÁ envolvido no processo de excreção biliar de cobre. A excreção biliar dependente de ATP7B é o principal mecanismo homeostático do metabolismo do cobre. Assim, a inativação de ATP7A ou de ATP7B resulta em distúrbios marcantes na sua homeostase e na inativação de enzimas dependentes de cobre, manifestando-se clinicamente como Doença de Menkes ou Doença de Wilson respetivamente (21,23).

A principal via de eliminação do cobre é através da bÍlis, contudo também pode ser excretado através das fezes, do suor e da urina, em muito menor proporção. Após ser libertado da bÍlis para o intestino, há uma pequena porção que é reabsorvida, e o restante é eliminado pelas fezes. A baixa taxa de excreção pela urina, menos de 3%, deve-se às pequenas quantidades de cobre livre no plasma sanguíneo. Quando existem problemas na metabolização do cobre e na excreção biliar, ocorre a acumulação deste metal principalmente no fÍgado, podendo originar toxicidade hepática (22).

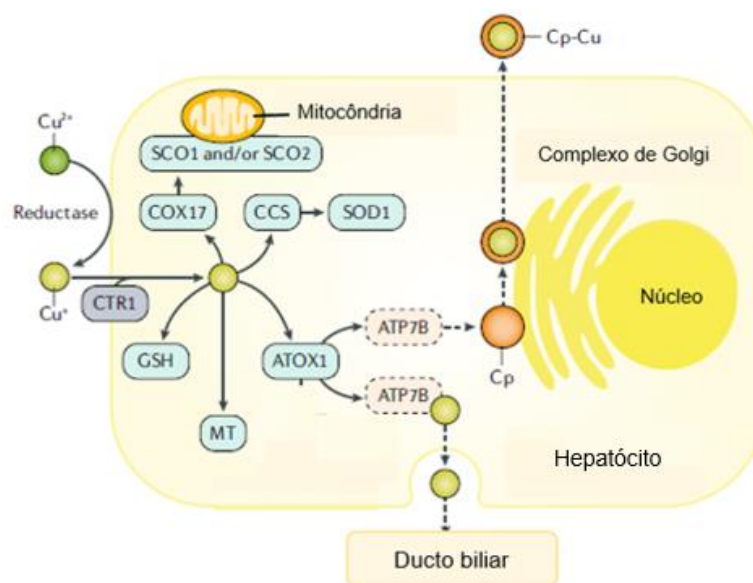


Figura 1: Homeostase de cobre nos hepatÓcitos; Adaptado da referênciA 23.

## 1.5 Toxicidade associada ao cobre

### 1.5.1 Toxicidade aguda e crónica

O controlo homeostático do cobre pelos diversos mecanismos referidos anteriormente, é normalmente bastante eficaz para regular seus níveis no organismo. No entanto, existem casos documentados de intoxicação aguda e crónica por cobre. A toxicidade aguda traduz-se por sintomas gastrointestinais e, em casos mais severos, em coma podendo resultar na morte do doente (15,24).

A toxicidade aguda é pouco frequente em humanos e geralmente é uma consequência da contaminação de alimentos ou bebidas que estão acondicionados em recipientes que têm cobre na sua constituição (24). Os sintomas agudos incluem diarreia, salivação, dor epigástrica, náuseas e vómitos (15).

A ingestão de uma quantidade excessiva de cobre é, relativamente, pouco tóxica para indivíduos adultos. As intoxicações provocadas podem ser identificadas como acidentais, ocupacionais (ligadas à situação profissional) ou ambientais. Algumas atividades profissionais, tais como, canalizadores e operários de fábricas que estão em contacto com este metal durante bastante tempo, apresentam um risco mais elevado de intoxicação (24).

Foram relatadas mortes por intoxicação aguda com sulfato de cobre, por vezes utilizado em tentativas de suicídio. Dos 48 casos de envenenamento por cobre analisados num estudo, 12 foram fatais. Dos 12 casos fatais, mais de metade aparentou ter falecido de choque e hipotensão ou de insuficiência renal. A OMS concluiu que a dose oral fatal de sais de cobre é de cerca de 200 mg / kg de peso corporal (15).

Relativamente à toxicidade crónica, em humanos foi estudada menos extensivamente e os sintomas são prolongados ao longo do tempo, provocando danos nos principais órgãos responsáveis pelo metabolismo deste metal, como o fígado. Existem evidências que associam a exposição prolongada de cobre ao desenvolvimento de tumores e carcinogénese. O cobre sérico, ceruloplasmina e outros componentes de ligação do cobre, como a transcupreína, encontram-se, frequentemente, aumentados em tecidos tumorais em pacientes com cancro (15).

Existem evidências de que o cobre desempenha um papel importante em processos inflamatórios e no desenvolvimento de tumores por meio de diversos processos, como a promoção da angiogénese. Estas descobertas recentes permitiram o desenvolvimento de diversas aplicações na prática clínica, na medida em que quelantes orgânicos de cobre podem reduzir o cobre celular e servir como inibidores da angiogénese em oncologia. O tetratiomolibdato, que é um agente complexante do cobre, está a ser avaliado no tratamento de pacientes com cancro (25).

Adicionalmente, o cobre foi descrito como tendo um papel crítico em doenças neurológicas e existe a especulação de que a produção de radicais livres induzida pelo cobre possa contribuir para a neurodegeneração na doença de Alzheimer (15).

### 1.5.2 Mecanismos de toxicidade

As alterações na homeostase do cobre estão associadas a danos nos tecidos e a diversas doenças. Além da interação direta com macromoléculas e minerais essenciais, vários mecanismos, nomeadamente o dano oxidativo induzido por radicais livres, têm sido propostos para explicar a toxicidade celular induzida por este metal (6).

Como já foi anteriormente referido, o cobre tem a capacidade de participar em reações redox, promovendo a formação de espécies reativas de oxigénio, as quais modificam funcional e estruturalmente biomoléculas fundamentais para o funcionamento normal do organismo. A potencial toxicidade deste metal pode ser uma consequência da propensão que os iões cobre têm em participar na formação destas espécies reativas (6,24).

Na presença de agentes redutores, como o ácido ascórbico, ou da superóxido dismutase (SOD-1) o ião cobre (II) é reduzido a cobre (I), o qual é capaz de catalisar a formação de radicais hidroxilo, uma das espécies de radicais livres mais reativas, que tem a capacidade de provocar danos oxidativos. Os alvos da ação dos radicais livres são principalmente as bases de ADN, o que resulta na rutura da sua cadeia dupla, e os ácidos gordos insaturados, que sofrem peroxidação originando radicais lipídicos. O produto da reação entre o superóxido e o óxido nítrico, o peroxinitrito, promove a libertação de iões cobre de alguns complexos de proteicos, nomeadamente da ceruloplasmina (6,24).

Foi demonstrado que este metal também está envolvido na modificação oxidativa da lipoproteína de baixa densidade (LDL), promovendo a aterogénese, que consiste na formação de ateromas nas paredes internas das artérias, o que origina um quadro clínico de aterosclerose. O excesso de cobre no organismo pode conduzir, também, a danos na membrana lipídica das células, causando por exemplo, peroxidação das membranas dos lisossomas dos hepatócitos (6).

Os elevados níveis de cobre podem conduzir a uma diminuição dos níveis de certos antioxidantes, como a glutathiona, que é um antioxidante essencial para os sistemas biológicos. Vários estudos apontam para o facto de a sobrecarga de cobre também reduzir a atividade da citocromo c oxidase o que prejudica a respiração mitocondrial nos hepatócitos.

Ao exceder a capacidade dos sistemas antioxidantes do organismo as espécies reativas de oxigénio podem levar ao desenvolvimento de inúmeras patologias como diabetes, distúrbios neurológicos, aterosclerose e doenças neurodegenerativas (24). Além da ação dos radicais livres, existem outros mecanismos que podem também atuar como mecanismos de toxicidade de cobre entre os quais as alterações na expressão de genes hepáticos, alterações ao nível do funcionamento de certas enzimas, como na ativação da esfingomielinase ácida, e alterações na distribuição hepática de cobre (6,24).

### 1.6 Patologias associadas ao cobre

Existem diversas patologias associadas ao cobre e ao seu metabolismo, umas caracterizadas por uma deficiência ao nível deste metal no organismo, como a Doença de Menkes e a "*Occipital horn syndrome*" (OHS) e outras caracterizadas pelo seu excesso, como a Doença de Wilson, Cirrose infantil Indiana, "*Endemic Tyrolean infantile cirrhosis*" (ETIC) e a toxicose idiopática por cobre. Estas últimas três patologias referidas estão todas associadas à ingestão de grandes quantidades de cobre por crianças, através de alimentos ou água que devido ao seu acondicionamento ou fervura em recipientes constituídos por cobre, apresentavam altos teores deste metal. Há também evidências científicas de que a Cirrose infantil Indiana e a ETIC possam ter algum componente genético associado, que com a ingestão excessiva de cobre resultem no desenvolvimento destas patologias (26,27).

A OHS e a Doença de Menkes consistem em doenças com carácter recessivo ligado ao cromossoma X, sendo muito mais comuns no sexo masculino do que no feminino, e que se caracterizam por uma deficiência geral de cobre no organismo. As manifestações clínicas e os diversos sintomas resultam da disfunção de diversas enzimas essenciais dependentes de cobre (28).

A doença de Menkes resulta de uma mutação na proteína transportadora ATP7A que origina uma falha em transportar iões cobre através da mucosa intestinal, levando à sua acumulação nos enterócitos e impedindo a entrada deste metal na circulação, o que resulta numa deficiência grave de cobre nos órgãos periféricos (26).

Existem duas formas descritas da doença de Menkes: a forma clássica, que é a mais severa, e a OHS, que se trata de uma forma mais leve ou moderada da doença. Os principais sintomas que surgem na Doença de Menkes são cabelo frágil e áspero, problemas de desenvolvimento, insuficiência renal, disfunção motora gradual e convulsões pelo que a esperança média de vida para indivíduos com esta patologia é de 3 a 5 anos. Pacientes que sofram de OHS apresentam manifestações neurológicas menos graves e uma esperança de vida mais longa (27,28).

A Doença de Wilson caracteriza-se por uma alteração do transporte transmembranar do cobre, provocando assim a sua acumulação em vários tecidos e órgãos, e irá ser abordada nos capítulos seguintes.

## 2. Doença de Wilson

### 2.1 Considerações gerais e patogénese

A doença de Wilson, é uma doença rara que resulta de uma alteração no metabolismo do cobre que conduz à sua acumulação no organismo. Trata-se de um distúrbio autossómico recessivo do transporte de cobre, caracterizado por sintomas de toxicidade deste metal, resultantes da sua acumulação em diversos tecidos e órgãos, nomeadamente no cérebro e no fígado (29,30).

Inicialmente foi descrita por Kinnier Wilson em 1912, como “degeneração lenticular progressiva”, uma definição que sublinhou o envolvimento predominante do sistema nervoso central, principalmente, dos corpos lenticulares (8,31) .

A doença de Wilson é uma condição clínica secundária a mutações no cromossoma 13, na região 13q14, que codifica para a proteína ATP7B, uma ATPase responsável pelo transporte intracelular do cobre, e que é expressa maioritariamente no fígado (31,32). A maioria destas mutações, aproximadamente 58% a 60%, são mutações pontuais na região de codificação que é fundamental para a função da proteína, e que induzem alterações extensas na homeostase do cobre (32) .

A proteína, ATP7B, localizada no fígado, é uma bomba de transporte de cobre envolvida no metabolismo deste metal, e que é expressa principalmente no aparelho de Golgi dos hepatócitos, onde incorpora átomos de cobre em diversas enzimas (8).

As mutações que ocorrem no gene que codifica para a ATP7B levam quer à deficiência na complexação do cobre na ceruloplasmina como à diminuição da capacidade de excreção do cobre pela biliar (27). A redução da funcionalidade da ATP7B, resulta, então, na incorporação defeituosa de cobre na apo-ceruloplasmina e à subsequente formação de holoceruloplasmina, diminuindo os níveis sanguíneos de ceruloplasmina, encontrados na maioria dos pacientes com a Doença de Wilson (8).

O comprometimento da excreção de cobre a nível biliar, favorece a sua acumulação hepática, sendo esta uma das características mais importantes da DW. Durante os estadios iniciais da doença, o cobre está fortemente coordenado a proteínas de transporte, como a ceruloplasmina e a superóxido dismutase, ou está complexado com a metalotioneína. À medida que a doença progride, a carga de cobre supera a capacidade de ligação à metalotioneína, e este acumula-se nos hepatócitos (33). No fígado, o cobre acumulado nos hepatócitos produz danos oxidativos nos mesmos, pela peroxidação de lípidos nas mitocôndrias e pela diminuição da concentração da vitamina E, provocando a sua necrose. Isto pode levar a um quadro clínico de hepatite aguda ou crónica, cirrose e insuficiência hepática (8).

O cobre livre e saturado nos hepatócitos é libertado no sangue causando uma elevação dos níveis séricos do mesmo e provocando danos nas membranas eritrocitárias, o que pode mesmo desencadear um quadro de anemia hemolítica (34). Com a elevação dos níveis séricos de cobre, verifica-se uma acumulação extra-hepática deste metal, afetando outros tecidos e órgãos, nomeadamente o cérebro, olhos e rins (8).

A sua acumulação a nível cerebral, nomeadamente nos núcleos da base, conduz a anomalias neurológicas e psiquiátricas, que serão posteriormente abordadas em pormenor. As principais áreas do cérebro afetadas na DW são os núcleos lenticulares, que macroscopicamente possuem uma coloração castanha devido à deposição do cobre.

No organismo humano, a acumulação de cobre, exerce a sua toxicidade através de dois mecanismos principais: por stresse oxidativo direto e induzindo a apoptose por alterações na proteína anti-apoptótica, XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis) (31) .

## **2.2 Epidemiologia**

A Doença de Wilson é uma doença rara a nível mundial. A sua prevalência corresponde em média a aproximadamente 30 casos por milhão de habitantes e possui uma incidência de cerca de 1 pessoa em cada 30.000 (10,35). Foram encontradas mais de 500 mutações no gene que codifica para a proteína ATP7B entre as quais as mais frequentes são a His1069Glu (H1069Q) na América do Norte e na Europa, e Met645Arg em Espanha (31). A prevalência da doença de Wilson na China e no Japão é mais elevada que na maioria dos países ocidentais, e a Arg778Leu é a mutação mais frequente no Oriente (30). A doença apresenta uma maior incidência na Alemanha (2,5 casos por 100000 habitantes), Japão (3,3 casos por 100000 habitantes) e Áustria (3,0 casos por 100000 habitantes). O país com a maior incidência desta doença a nível mundial, no entanto, é a Costa Rica com 4,9 por 100000 habitantes, possivelmente devido ao elevado grau de consanguinidade existente neste país (31).

Diversos estudos apontam para uma possível subestimação da prevalência de DW, que pode estar associada à variação da apresentação clínica da doença, levando ao subdiagnóstico e à baixa sensibilidade de certos testes relativos ao metabolismo do cobre. Os dados de mortalidade em pacientes pré-sintomáticos com DW aderentes ao tratamento são comparáveis à população em geral. No entanto, no caso de pacientes sintomáticos, estudos apontam para uma mortalidade entre 5% a 6% superior comparativamente ao resto da população. Para estes valores, a presença de doença hepática e neurológica avançada e a falta de adesão dos pacientes ao tratamento, são fatores que afetam o prognóstico e a taxa de sobrevida (23).

### **3. Manifestações Clínicas da Doença de Wilson**

A doença de Wilson apresenta uma ampla heterogeneidade clínica, com sintomas amplamente inespecíficos, dificultando o seu diagnóstico (29). Contudo, ainda não se conseguiu encontrar uma correlação significativa entre o tipo de mutação no gene, que codifica para a proteína ATP7B, e a manifestação clínica predominante (31).

Nesta doença os sintomas podem surgir em qualquer idade, embora ocorram na maior parte dos casos entre os 5 e os 35 anos (36). A DW pode ser caracterizada como predominantemente hepática, neurológica ou psiquiátrica. A maioria dos pacientes com DW apresenta sintomas predominantemente hepáticos ou perturbações no sistema nervoso. Os 20% restantes, no entanto, podem apresentar sintomas atribuíveis ao envolvimento de outros órgãos (37).

Uma das características clínicas, mais comuns, da doença de Wilson é o anel Kayser-Fleischer, presente em 95% dos pacientes com sintomas neurológicos e em mais de metade dos que não apresentam sintomas neurológicos (36).

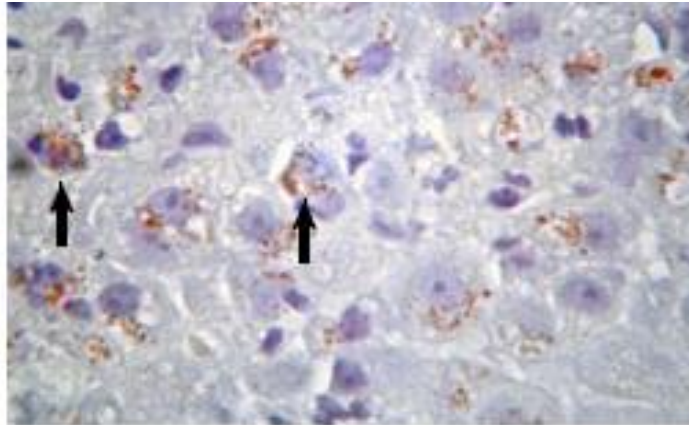
Foi demonstrado que crianças com DW geralmente não apresentam sintomas abaixo dos 3 anos de idade (43). As apresentações clínicas da doença de Wilson na infância podem ser doença hepática assintomática, cirrose e insuficiência hepática aguda, enquanto os sintomas neurológicos e psiquiátricos são raros (38).

#### **3.1 Manifestações hepáticas**

A manifestação clínica inicial, em 40% a 50% dos indivíduos com doença de Wilson é a disfunção hepática (23,35). Pacientes com DW hepática geralmente começam a manifestar sintomas no final da infância ou da adolescência, sendo os 11 anos a idade média do surgimento de sintomas hepáticos. Podem apresentar um quadro de hepatite aguda, insuficiência hepática fulminante ou doença hepática crônica progressiva (35,36). Qualquer forma de doença hepática pode ser encontrada em doentes com DW e o grau de envolvimento hepático é variável, podendo ir desde hepatoesplenomegalia assintomática com elevação das enzimas hepáticas até insuficiência hepática terminal (36). Os sintomas associados incluem sintomas gerais não específicos como ascite, icterícia, hematêmese e melena, estes dois últimos causados por quadros de hipertensão portal. Os sintomas hepáticos resultam da acumulação de cobre nos hepatócitos e da consequente necrose dos mesmos, levando ao mau funcionamento do fígado (Figura 2) (23).

Em geral, quanto menor a idade do paciente no início dos sintomas, maior é o grau de envolvimento hepático (37). Normalmente, o primeiro sintoma em crianças e adultos jovens com DW é a esteatose hepática leve a moderada, o que é evidente por ultrassonografia ou por biópsia hepática (23). O New Wilson Index permite avaliar a necessidade urgente de transplante de fígado, em pacientes com insuficiência hepática. Outro critério, de avaliação da progressão da doença hepática, muito utilizado é a classificação de Child-Pugh (23).

A maioria dos pacientes com sintomas neurológicos apresenta algum grau de doença hepática. Devido à heterogeneidade clínica da apresentação hepática, que a doença de Wilson pode assumir, qualquer indivíduo com menos de 50 anos de idade que apresente sintomas de doença hepática, sem causa conhecida, deve ser rastreado quanto à doença de Wilson (35).



*Figura 2 : Histologia realizada em amostras de biópsia hepática de um paciente com a doença de Wilson onde é possível observar-se depósitos de cobre acumulados; Adaptado da referência 23.*

### 3.1.1 Insuficiência hepática aguda

Na DW, a insuficiência hepática aguda ocorre em 5% dos doentes diagnosticados e predominantemente em mulheres jovens, com menos de 30 anos (39). A doença de Wilson é responsável por 6 a 12% de todos os pacientes com insuficiência hepática aguda que são encaminhados para transplante hepático de urgência. Embora a cirrose já esteja presente na maioria dos casos, a apresentação clínica é de hepatite aguda e pode progredir rapidamente para insuficiência hepática e renal e, quando não tratada, possui uma mortalidade de quase 95% (36).

Deve suspeitar-se de insuficiência hepática aguda, quando existe um quadro clínico caracterizado por um aumento das transaminases (AST, ALT) , insuficiência renal, icterícia, baixa hemoglobina, baixa colinesterase e fosfatase alcalina baixa (36). A identificação da DW como etiologia da insuficiência hepática aguda permite o início da terapia adequada que tem como objetivo diminuir os níveis séricos do cobre, preparar o paciente para um possível transplante hepático e informar da necessidade de um rastreio familiar (39).

Em pacientes com insuficiência hepática aguda avançada, pode-se desenvolver encefalopatia com edema cerebral, a qual apresenta uma taxa de mortalidade muito elevada. Uma apresentação de hepatite aguda com rápida deterioração também pode ocorrer em pacientes que foram tratados anteriormente, mas que interromperam a sua medicação (2,21).

### 3.1.2 Insuficiência hepática crónica e cirrose

Muitos pacientes apresentam sinais de doença hepática crónica e evidência de cirrose, manifestando-se de uma forma compensada ou descompensada. O desenvolvimento de cirrose progressiva pode originar uma hepatite crónica, que é o quadro clínico mais frequente de doença hepática devido à DW. Contudo existe, uma maior probabilidade de um quadro de cirrose hepática nos adultos do que nos pacientes pediátricos (23,36).

A apresentação clínica pode ser indistinta de outras formas de hepatite crónica ativa, com sintomas como icterícia, mal-estar e queixas abdominais vagas (36). As alterações laboratoriais mais frequentes são: a elevação dos níveis de bilirrubina e das enzimas hepáticas e a diminuição dos valores de albumina sérica, anemia e trombocitopenia (40). Em estadios mais avançados da cirrose, pode haver complicações como encefalopatia hepática e síndrome hepatorenal, ambas associadas a uma elevada taxa de mortalidade (23).

### 3.2 Manifestações neurológicas

Depois das manifestações hepáticas, os sintomas neurológicos são os sintomas clínicos mais frequentes da DW (23). Estima-se que 50% dos pacientes apresentam sintomas neurológicos ou psiquiátricos (41). Os sintomas neurológicos surgem como consequência da deposição de cobre nas células nervosas, provocando a sua degeneração (42).

A apresentação neurológica, como sintoma inicial, ocorre em 18% a 68% dos pacientes. A idade média de início dos sintomas neurológicos é 19 anos, sendo também muito comum o seu aparecimento na faixa etária dos 20 aos 30 anos (37).

A apresentação neurológica pode ser extremamente sutil e intermitente por um longo período, mas também pode ter um desenvolvimento muito rápido, conduzindo em poucos meses a uma total incapacidade. Em muitos casos, os sinais neurológicos são muito difíceis de classificar, pois o principal quadro clínico de sintomatologia neurológica inclui diferentes distúrbios do movimento, com uma grande variedade de movimentos involuntários, que frequentemente se sobrepõem (23,36).

Resumindo, nas características neurológicas mais comuns da DW, distinguem-se diferentes formas clínicas onde há predominância de tremor, distonia ou parkinsonismo, todos estes distúrbios do movimento estão frequentemente associados a disartria, distúrbios da marcha e postura, sialorreia e disfagia. Estes distúrbios podem afetar gravemente o quotidiano e a autonomia das pessoas nas atividades diárias. Os anéis de Kayser-Fleischer são observados em pelo menos 98% dos pacientes com Doença de Wilson neurológica que não receberam terapia de quelação (41).

Uma das características neurológicas de apresentação mais comum é o tremor, sendo apresentado por 55% dos pacientes, no diagnóstico desta patologia. O tremor, que pode ser em repouso, postural ou cinético, apresenta uma frequência e amplitude variáveis e pode começar inicialmente como um tremor unilateral ou bilateral (23,35).

A distonia é relatada como o primeiro sintoma de DW em 11% a 65% dos pacientes. Pode ser focal (envolvendo uma parte do corpo), segmentar (envolvendo um segmento do corpo), multissegmentar (envolvendo vários segmentos) ou até generalizada. A apresentação distónica mais característica é uma expressão facial anormal ou risus sardonicus, que se traduz por um sorriso fixo devido à distonia do músculo risório (Figura 3). Se a DW não for tratada, os sintomas geralmente progridem para distonia generalizada, contraturas e imobilização total (23).

O parkinsonismo ocorre em 19-62% dos pacientes e geralmente apresenta-se como bradicinesia simétrica, rigidez, hipomímia (grau reduzido de expressão facial), distúrbios da marcha e postura, além de disartria, disfagia e sialorreia (21).

A disartria é o sintoma neurológico mais frequente e é relatada em 97% dos pacientes com DW neurológica e que consiste numa perturbação neurológica caracterizada pela dificuldade em articular as palavras de maneira correta. Em alguns casos, a disartria pode ser tão grave e persistente que a comunicação verbal se torna impossível. A disfagia, dificuldade em deglutir, é relatada em 50% dos pacientes com sintomas neurológicos. A disfagia varia de leve a grave e pode levar a graves complicações de saúde geral, incluindo broncoaspiração, pneumonia e perda de peso (23).

Outros sintomas neurológicos foram descritos em paciente, incluindo disfunção olfativa, neuropatia, síndrome das pernas inquietas, distúrbio do sono, movimentos oculares rápidos e mioclonia (espasmos musculares involuntários) (2). Devido à ampla heterogeneidade dos sintomas e aos sintomas neurológicos combinados que ocorrem na DW, foram estabelecidas escalas clínicas como a *Global Assessment Scale for Wilson's Disease*, que avalia déficits neurológicos e o comprometimento funcional (23).

Atualmente, a ressonância magnética (RM) cerebral é o exame neurorradiológico mais importante para o diagnóstico de DW neurológica e pode ser útil na monitorização do tratamento. A alteração cerebral mais notória associada à DW é descrita como o sinal da 'face do panda gigante' no mesencéfalo (ocorrendo em até 20% dos casos de DW neurológica), enquanto que o sinal da 'face do panda em miniatura' ocorre com menos frequência na ponte (ou ponte de Varólio), que é uma estrutura pertencente ao tronco cerebral) (43).

Alterações características da ressonância magnética cerebral são encontradas em quase 100% dos pacientes com DW neurológica, em 40-75% dos pacientes com DW hepática e em 20-30% dos pacientes pré-sintomáticos. Não há correlações claras entre a localização e os sintomas da lesão, no entanto, alterações na RM localizadas no tálamo e na ponte estão associadas a um pior prognóstico (23).

Como a presença de alterações cerebrais na RM é observada em pacientes com DW pré-sintomática, neurológica ou hepática, a RM parece ser justificada em todos os pacientes antes do início da terapêutica (36).



Figura 3: Distonias, sintoma característico da Doença de Wilson. Na imagem a) observa-se distonia focal da mão e na imagem b) distonia grave, designada risus sardonicus; Adaptado da referência 23.

### 3.3 Manifestações psiquiátricas

Os sintomas psiquiátricos ocorrem com frequência na apresentação clínica da DW, principalmente secundária à patologia somática e cerebral da doença (23). Cerca de um terço dos pacientes apresenta inicialmente anomalias psiquiátricas (36).

As alterações de personalidade, como impulsividade, humor lábil, exibicionismo sexual e comportamento inapropriado, podem ser observados em crianças, enquanto que características psicóticas semelhantes à paranóia, esquizofrenia ou depressão podem ser observados em pacientes mais velhos (21). Os distúrbios de humor são a manifestação psiquiátrica mais comum da DW (23).

Entre 20% e 60% dos pacientes desenvolvem depressão, com uma elevada taxa de tentativas de suicídio (44). Cerca de 14% a 18% dos pacientes apresentam transtorno bipolar, uma taxa mais elevada do que a observada na população geral (23). A psicose é um sintoma pouco frequente na doença de Wilson, mas também pode ocorrer. Os pacientes com sintomas psiquiátricos geralmente têm um diagnóstico inicial de esquizofrenia, transtorno esquizoafetivo e delirante. Outras condições psiquiátricas como bulimia, catatonia, anorexia nervosa, transtorno obsessivo-compulsivo e déficit de atenção / hiperatividade também foram relatadas.

Algumas observações clínicas também sugerem que os sintomas psiquiátricos agudos se podem manifestar após o início da terapêutica ou nos primeiros meses de tratamento, mesmo quando o estado neurológico do paciente está a melhorar (23).

Em pessoas idosas, as mudanças comportamentais também são comuns. A deterioração cognitiva grave é observada em pacientes com doença neurológica avançada, mas, em geral, a função cognitiva não é acentuadamente prejudicada (36).

### **3.4 Manifestações hematológicas**

Os distúrbios hematológicos decorrentes da Doença de Wilson incluem anemia hemolítica aguda, leucopenia, anemia, trombocitopenia e disfunção dos fatores de coagulação, resultantes do mau funcionamento do fígado, entre outros fatores (45). A anemia hemolítica Coombs negativa de etiologia desconhecida, é também uma manifestação hematológica da DW, que se pode apresentar como um sintoma inicial da doença entre 10% a 15% dos casos. Hemólise severa, que pode ou não ser transitória, também pode ser detetada em casos de doença hepática grave devido à DW. Isto é uma consequência dos danos oxidativos provocados nos eritrócitos, pela rápida libertação de cobre na corrente sanguínea, proveniente da necrose de hepatócitos (46). A colelitíase pode ocorrer como consequência de crises recorrentes de hemólise (40).

Situações de insuficiência hepática com hemólise, que ocorrem em grávidas não diagnosticadas com a DW, podem ser confundidas com o síndrome de HELLP, que constitui uma complicação durante a gravidez caracterizada por trombocitopenia, por hemólise e por uma elevação nas enzimas hepáticas (36).

### **3.5 Manifestações oftalmológicas**

A acumulação patológica de cobre nos olhos pode causar manifestações oftalmológicas que são bastante comuns na doença de Wilson, e que incluem o anel de Kayser-Fleischer e a catarata de girassol (23). O anel de Kayser-Fleischer é causado pela acumulação de cobre na membrana de Descemet (a membrana basal do epitélio da córnea), apresentando uma cor dourada, castanha ou verde na periferia da córnea, conseqüentemente pode ser difícil de observar em indivíduos com íris de cor castanha (23,35). O excesso de cobre fica depositado em toda a córnea, mas é apenas na membrana de Descemet que se formam os complexos de enxofre e cobre, originando assim os depósitos visíveis de cobre (35). O anel de Kayser-Fleischer é quase sempre bilateral, aparecendo primeiro na região superior da córnea, depois inferiormente e tornando-se depois circunferencial (48).

Os anéis de Kayser-Fleischer ocorrem em quase 100% dos pacientes com DW com manifestações neurológicas ou psiquiátricas, em 40-50% dos pacientes com manifestações hepáticas e em 20 a 30% dos pacientes pré-sintomáticos com DW e, como tal, são uma característica importante no momento do diagnóstico (23,40). Os anéis de Kayser-Fleischer estão habitualmente ausentes no início da doença, após o seu aparecimento, a sua identificação correta requer um exame de lâmpada de fenda, por um médico experiente (40,49). Este teste é necessário que seja feito com rigor e cuidado, pois alterações falso-positivas, semelhantes aos anéis de Kayser-Fleischer, são igualmente observadas em diversos distúrbios como cirrose biliar primária, colestase, mieloma múltiplo e durante terapêuticas prolongadas com estrogénio (23).

A tomografia de coerência óptica do segmento anterior (OCT), um procedimento oftalmológico que fornece imagens e análises quantitativas do tecido ocular, pode ser um método alternativo para detetar a deposição de cobre na córnea (Figura 4) (23). Esta manifestação clínica desaparece, total ou parcialmente, após a terapia com agentes quelantes, como a D-penicilamina, ou após o transplante de fígado (49). Em crianças, não é comum a identificação de anéis de Kayser-Fleischer (40).

A manifestação óptica mais rara da DW (ocorrendo em 2 a 20% dos pacientes) é a catarata de girassol, descrita pela primeira vez por Siemerling e Oloff em 1922. (35) A catarata de girassol consiste na deposição de cobre na lente, que assume uma aparência de um disco central com folhas de pétalas radiantes localizadas.

Existem outras situações clínicas nas quais se verifica a presença da catarata de girassol, como na cirrose biliar primária (49). Os estudos oftalmológicos mais recentes, baseados na OCT e na eletrorretinografia, sugerem que a retina e o nervo óptico também são afetados nesta patologia. (23)

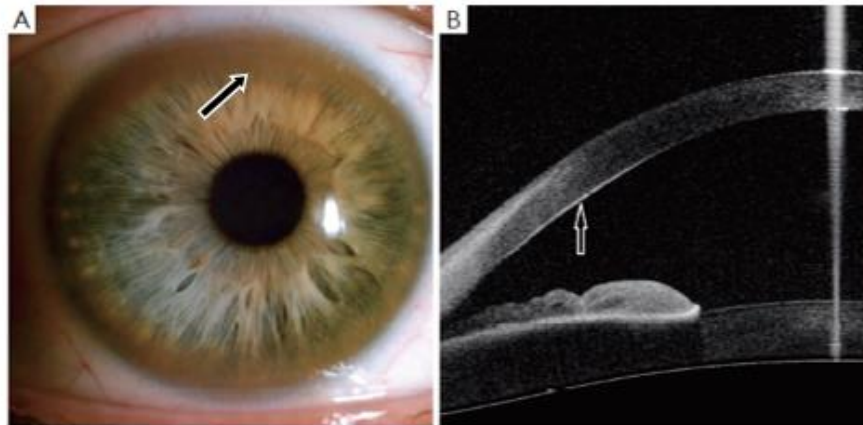


Figura 4: (A) Anel de Kayser-Fleischer num paciente com a Doença de Wilson; (B) Depósitos de cobre vistos numa imagem de tomografia de coerência óptica do segmento anterior na membrana de Descemet, no mesmo paciente; Adaptado da referência 45.

### 3.6 Outras manifestações clínicas

Outras manifestações sistêmicas da Doença de Wilson, incluindo aminoacidúria, nefrolitíase, artropatia, hipoparatiroidismo, osteoporose prematura e cardiomiopatia, são raras e muito difíceis de reconhecer como inerentes à patologia (31,50).

O envolvimento esquelético é uma característica comum na doença de Wilson, com mais de metade dos pacientes exibindo osteopenia no exame radiológico convencional (41). Os distúrbios osteoarticulares incluem, osteoporose, raquitismo, anomalias esqueléticas e artropatia. Num estudo, a osteoporose foi detetada em 43% dos pacientes com DW analisados, podendo mesmo ocorrer fraturas espontâneas (35,45). Outras possíveis manifestações são as artralguas e a rabdomiólise (40). A doença articular sintomática, que ocorre em 20% a 50% dos pacientes, geralmente surge tardiamente no curso da doença, frequentemente após os 20 anos de idade, afetando principalmente as articulações dos joelhos e pulsos, cuja etiologia é a deposição de cobre nas mesmas (45).

Anomalias cardíacas como arritmia e cardiomiopatia, também são observadas, porém são raras e normalmente com apresentações leves (40). Os distúrbios cardíacos podem ser consequência da deposição de cobre no miocárdio, bem como do stresse oxidativo nas células cardíacas, devido aos níveis elevados de cobre, não ligado à ceruplasmina, no sangue. As anomalias eletrocardiográficas apresentadas incluem ventrículo esquerdo atrofico, hipertrofia dos ventrículos esquerdo e direito, despolarização precoce, taquicardia sinusal e prolongamento da onda p (40).

O excesso de cobre não ligado à ceruloplasmina é excretado na urina, podendo ter efeitos de toxicidade sobre os rins. Os distúrbios renais, incluem o aumento da excreção urinária de fosfatos, aminoácidos, glicose e cálcio, contribuindo para o desenvolvimento de distúrbios osteoarticulares. Com a progressão da doença, embora seja uma ocorrência rara pode-se desenvolver a síndrome de Fanconi, devido aos depósitos de cobre que levam à degeneração vacuolar nas células tubulares renais proximais(2,37).

Os distúrbios endocrinológicos causados pela DW, resultam em abortos recorrentes, infertilidade, deficiência da hormona do crescimento (GH) e hipoparatiroidismo (41).

## 4. Prognóstico

Antes do desenvolvimento de terapêuticas farmacológicas, a doença de Wilson era inevitavelmente uma doença fatal, com a maioria dos pacientes a falecer de doença hepática e uma minoria por complicações da doença neurológica progressiva (36).

Em geral, o prognóstico de sobrevida depende da gravidade da doença hepática e neurológica e da adesão ao tratamento farmacológico. O diagnóstico precoce é fundamental, encontrando-se diretamente associado a uma redução não só da mortalidade, como também, da necessidade de transplante hepático (36,51).

Com um tratamento adequado, a esperança média de vida é muito semelhante à da população em geral. No entanto, a adesão à terapêutica é um fator muito importante para o prognóstico, já que, nos pacientes que interrompam a medicação pode ocorrer uma rápida deterioração do estado clínico, podendo culminar com a necessidade de um transplante hepático ou mesmo com a morte do indivíduo (51).

A maioria dos pacientes apresenta uma resposta favorável à terapêutica, ocorrendo uma melhoria significativa nos sintomas hepáticos e neurológicos permitindo que os mesmos possuam uma melhor qualidade de vida. No entanto, a terapêutica farmacológica raramente é eficaz nos doentes com insuficiência hepática aguda sendo necessária a realização de transplante. Os pacientes que apresentam sintomas neurológicos têm uma esperança média de vida superior, contudo este tipo de sintomatologia parece ser apenas parcialmente reversível com o tratamento (36).

O prognóstico estabelecido nos indivíduos com DW é bastante favorável, desde que o diagnóstico seja feito atempadamente e a terapêutica seja instituída numa fase precoce (52).

## 5. Métodos de diagnóstico

O diagnóstico da DW começa com o reconhecimento das características clínicas sugestivas da doença ou com a identificação de familiares com esta patologia. O diagnóstico é baseado numa ampla combinação de testes laboratoriais e de características clínicas, incluindo: excreção de cobre urinário de 24 horas, concentração hepática de cobre, análise da ceruloplasmina sérica, presença de mutação do gene ATP7B, anel de Kayser-Fleisher e sintomas hepáticos e neurológicos (53). Devido às diversas manifestações clínicas da DW e aos sintomas inespecíficos, a doença é comumente subdiagnosticada (36,37).

Um sistema de pontuação para o diagnóstico desta patologia baseado em parâmetros clínicos e bioquímicos foi proposto na 8ª Conferência Internacional sobre a doença de Wilson, em Leipzig 2001. Este sistema de pontuação está representado na tabela A2, em anexo. O algoritmo de diagnóstico com base nessa pontuação é mostrado na figura 5 (36).

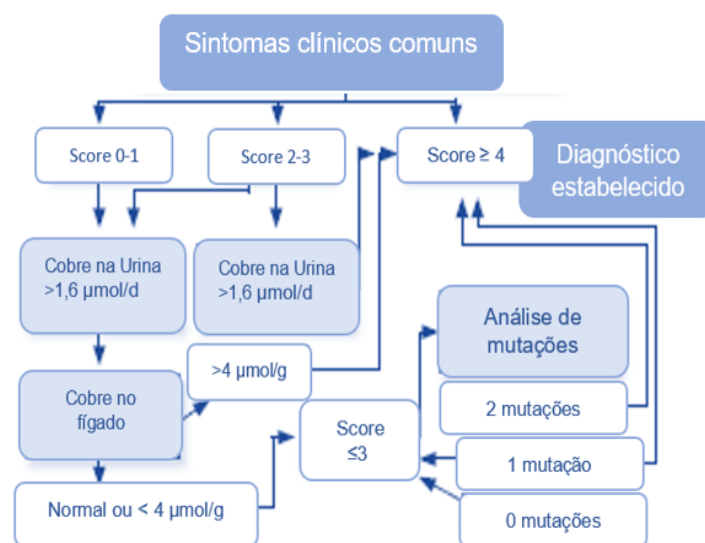


Figura 5: Algoritmos de diagnóstico para a doença de Wilson com base na pontuação de Leipzig; Adaptado da referência 36.

### 5.1 Ceruloplasmina sérica

A ceruloplasmina é o principal transportador de cobre no sangue (54). O nível sérico de ceruloplasmina é baixo na maioria dos pacientes com DW (51). Os níveis de ceruloplasmina podem ser medidos enzimaticamente pela sua atividade oxidase dependente de cobre, ou através de testes imunológicos (27). Uma concentração de ceruloplasmina inferior a 200 mg/L em associação com anéis Kayser-Fleischer, foi considerada consistente com a DW. É importante referir que valores de ceruloplasmina sérica que se encontrem dentro dos valores de referência não excluem o diagnóstico (27,36). Uma explicação para esse facto é que a ceruloplasmina é uma proteína de fase aguda e as concentrações podem ser aumentadas por quadros clínicos inflamatórios e em situações em que existe alterações hormonais. Por outro lado, a ceruloplasmina sérica pode estar baixa em outras situações clínicas como síndromes de má absorção ou na doença hepática grave. Assim, a ceruloplasmina sérica por si só não é suficiente para diagnosticar ou excluir a doença de Wilson (36,54).

## 5.2 Cobre sérico

O teor de cobre sérico é uma medida do cobre total no soro, independentemente de estar ligado a proteínas (ceruloplasmina ou albumina) ou não ligado (livre). Como o nível de ceruloplasmina é baixo na doença de Wilson e o cobre é principalmente transportado por esta proteína no soro, o nível de cobre sérico total é tipicamente baixo em pacientes com Doença de Wilson. O cobre sérico não é indicativo por si só, mas o cobre livre é um marcador da doença (51). O valor de cobre livre é superior a 10 µg / dL na DW. Este teste, revela-se mais útil na monitorização da eficácia da terapêutica do que no diagnóstico da DW (36,51).

## 5.3 Excreção urinária de cobre

A quantidade de cobre excretada na urina num período de 24 horas pode ser útil para diagnosticar a Doença de Wilson e monitorizar a eficácia do tratamento. Em pacientes não tratados, a excreção urinária de cobre de 24 horas reflete a quantidade de cobre não ligado à ceruloplasmina em circulação (36). Em caso de insuficiência renal, o teste não é aplicável. Na DW, o teor de cobre urinário de 24 horas é geralmente superior a 100 µg em 24 horas (1,6 µmol / 24 h) em adultos. (36,51).

Se o nível de cobre urinário estiver ligeiramente aumentado e houver uma suspeita de DW, o cobre urinário pode ser determinado antes e depois da administração de D-penicilamina para avaliar se o nível de cobre urinário aumenta, o que seria esperado se houvesse um excesso de cobre armazenado nos tecidos. Contudo este teste foi padronizado apenas na população pediátrica (54).

## 5.4 Concentração hepática de cobre

Dado que a biópsia ao fígado é um procedimento invasivo que possui alguns riscos, a sua utilização deve ser reservada a situações nas quais as abordagens mais simples não assegurem um diagnóstico conclusivo (27).

Os valores da concentração hepática em cobre, obtidos através de uma biópsia ao fígado, encontram-se elevados na maior parte dos indivíduos com DW (2). O conteúdo normal de cobre no fígado é inferior a 55 µg / g de tecido seco. Uma concentração hepática de cobre superior a 250 µg / g de tecido seco é considerada a melhor evidência bioquímica para a doença de Wilson. Nos estadios mais avançados da DW, pode haver uma distribuição heterogênea do cobre no fígado, o que pode subestimar o resultado (54).

## 5.5 Neuroimagemologia

A avaliação neurológica deve ser realizada nos pacientes com manifestações neuropsiquiátricas mas também pode ser efetuada em pacientes com doença de Wilson pré-sintomática e hepática (2). Devido à grande variabilidade dos sinais neurológicos, diferenças na sua gravidade e a presença concomitante de diferentes sinais, torna a descrição clínica muito difícil (36). A imagem por ressonância magnética ou tomografia computadorizada do cérebro podem detetar anomalias estruturais nos gânglios da base.

Uma observação característica na doença de Wilson, através da ressonância magnética, é o sinal da “face do panda gigante”, mas que é encontrado apenas numa minoria dos pacientes. Outras técnicas de neuroimagem, como a espectroscopia de ressonância magnética e a *Single Photon Emission Computed Tomography* (SPECT), podem ser úteis na deteção de danos cerebrais precoces na DW (36).

## **5.6 Testes genéticos**

O diagnóstico através de testes genéticos é outro método que verifica se existe ou não uma mutação no gene ATP7B, contudo existem mais de 500 variantes da mutação conhecidas em todo o mundo. A realização da análise molecular do gene ATP7B está indicada em qualquer paciente no qual o diagnóstico é difícil de estabelecer por avaliação clínica e bioquímica e no rastreio subsequente de membros da família pré-sintomáticos (36). Estes estudos genéticos têm tido uma importância cada vez maior na validação do diagnóstico da DW. Atualmente, os testes genéticos moleculares incluem a análise do haplótipo e a análise direta de mutações através da sequenciação (27). Como a relação entre o genótipo e o fenótipo da DW é multifactorial, o papel do teste genético no diagnóstico desta patologia ainda é limitado (2).

## **5.7 Rastreio familiar**

É essencial rastrear a família de pacientes que apresentam a doença de Wilson porque a probabilidade de um irmão ser homocigoto, e conseqüentemente desenvolver a doença clínica, é de 25%. Entre os descendentes, a probabilidade é de 0,5% (36). Aos familiares, em primeiro grau, de pacientes com a DW devem ser realizados testes de função hepática, cobre livre sérico, ceruloplasmina sérica e excreção urinária de cobre de 24 horas (54).

## 6. Terapêutica não farmacológica

### 6.1 Transplante hepático

Uma opção cirúrgica e mais complexa para o tratamento da Doença de Wilson é o transplante hepático, indicado em quadros clínicos de insuficiência hepática aguda grave desencadeada por esta patologia. Este procedimento clínico é realizado em cerca de 0,5% dos adultos que sofrem da DW (23,53).

Plasmaferese, hemofiltração, sistema de recirculação adsorvente molecular (MARS) ou diálise da albumina podem ser procedimentos realizados enquanto o transplante estiver a ser aguardado de modo a diminuir, o mais rapidamente possível, os níveis de cobre sérico (39).

Tendo em conta que a DW é caracterizada por defeitos no metabolismo do cobre nos hepatócitos, o transplante de fígado é efetuado com o objetivo de corrigir os defeitos metabólicos e restaurar o fenótipo no que diz respeito à homeostasia do cobre. Este procedimento poderá estar indicado nos pacientes com doença hepática descontrolada que não responde à terapêutica farmacológica instituída para a DW, essencialmente quando se verifica uma falta de evidência de melhoria da condição clínica e dos parâmetros bioquímicos; e em doentes que apresentem um quadro clínico de insuficiência hepática aguda, uma vez que nestes pacientes os quelantes de cobre raramente apresentam os efeitos desejados, num espaço de tempo útil (2,23,39).

Uma indicação de transplante no contexto de insuficiência hepática aguda é geralmente baseada numa escala clínica específica da DW, comumente o *Kings College Wilson disease prognostic index*, modificado por Dhawan et al, que se encontra representada e adaptada na tabela A3, em anexo. Uma pontuação maior ou igual a 11 pontos está associada a uma elevada probabilidade de morte sem o transplante hepático, sendo uma indicação para o mesmo (23).

O transplante de fígado é uma medida curativa para a DW pelo que os pacientes não precisam de tratamento após o transplante, já que o mesmo tem a capacidade de reverter as alterações metabólicas que estão na base da doença e consequentemente os seus sintomas hepáticos e neurológicos (2,39).

Após o transplante, o metabolismo do cobre retorna rapidamente ao normal. Em contraste, nos órgãos extra-hepáticos, a sobrecarga de cobre resolve-se lentamente. A normalização dos níveis séricos de ceruloplasmina geralmente é observada no primeiro mês após o transplante hepático e a maioria dos pacientes apresenta uma redução acentuada na excreção urinária de cobre. Adicionalmente, ocorre o desaparecimento dos anéis de Kayser-Fleischer em mais de 60% dos casos clínicos, verificando-se um desaparecimento parcial em todos os pacientes pós-transplante. Vários estudos revelam uma taxa de sobrevida muito elevada pós-transplante hepático, com algumas variações dependendo de vários fatores como a apresentação clínica e a idade do paciente aquando o transplante, entre outros (53).

Em certos pacientes com envolvimento neurológico severo e incapacitante, que não respondem à terapêutica medicamentosa, o transplante também se pode revelar benéfico, embora esta não seja uma indicação formal. Existe muita controvérsia no que diz respeito ao transplante de fígado como medida clínica indicada nestes pacientes com manifestações predominantemente neurológicas, o que se deve à imprevisibilidade da resolução das manifestações neurológicas pós-transplante e a dados que sugerem que a taxa de sobrevida pós-transplante é menor. A indicação para a realização de transplante em doentes com deterioração neurológica deve ser, por isso, rigorosamente avaliada (39).

## **6.2 Alimentação**

Seguir uma dieta com baixo teor de cobre é uma modificação do estilo de vida que é altamente recomendada nos doentes com DW, com o objetivo de reduzir a carga geral de cobre no organismo. É recomendado que os pacientes tentem ingerir menos de 1 mg por dia de cobre total. Para tal deve ser evitado o consumo de alimentos com elevado teor em cobre como mariscos, fígado, chocolate, feijão, nozes e cogumelos, principalmente durante o primeiro ano de tratamento farmacológico (51,54).

Recipientes e utensílios de cozinha feitos de cobre devem ser excluídos. Se possível, evitar a ingestão de água distribuída por sistemas de canalização mais antigos constituídos por cobre ou então pode ser aconselhável a utilização de um sistema de purificação de água, se o teor de cobre na água for elevado (36).

## 7. Terapêutica farmacológica

O tratamento farmacológico da Doença de Wilson consiste em fármacos que induzem um equilíbrio corporal de cobre negativo e incluem agentes quelantes de cobre, como a D-penicilamina e a trientina, e os sais de zinco. Os primeiros aumentam a excreção urinária de cobre, enquanto os segundos diminuem a absorção de cobre no trato gastrointestinal (23,36).

Com o tratamento farmacológico correto e atempado, os marcadores da função e lesão hepática melhoram em mais de 90% dos pacientes, após 2 a 6 meses de ser instituída a terapêutica. Melhorias nos sintomas neurológicos também são observadas em 55% dos pacientes, normalmente ao longo de um intervalo de tempo mais longo (de 1 a 3 anos). A adesão à terapêutica tem um papel extremamente importante para o sucesso do tratamento a longo prazo, tanto em pacientes sintomáticos como em pré-sintomáticos com DW (23).

Os pacientes submetidos à terapia farmacológica devem ser monitorizados pelo menos duas vezes por ano, de forma a determinar a eficácia do tratamento no que diz respeito à melhoria clínica e alterações bioquímicas. A monitorização da terapêutica também tem como objetivo, avaliar a adesão à mesma e detetar qualquer reação adversa induzida pelo tratamento. A recorrência ou agravamento dos sintomas neurológicos e/ou hepáticos, assim como valores elevados de cobre na urina são indicadores de uma terapêutica ineficaz ou da não adesão à mesma. Em oposição, níveis muito baixos de cobre urinário e a pancitopenia estão relacionados com doses terapêuticas excessivas (23,54).

Nos pacientes com a DW que interrompam a medicação pode ocorrer uma apresentação clínica aguda com deterioração rápida da função hepática e/ou neurológica, podendo mesmo levar à necessidade de um transplante hepático. (23).

Atualmente, diversos fármacos estão disponíveis para o tratamento da Doença de Wilson, incluindo os agentes quelantes de cobre, a D-penicilamina e a trientina, e os sais de zinco. Outro composto muito promissor para o tratamento da DW é o tetratiomolibdato que não se encontra ainda comercialmente disponível, no entanto a sua aprovação parece estar próxima. As estruturas químicas dos agentes quelantes utilizados podem ser observadas na figura 6. Doentes sintomáticos devem ser inicialmente tratados com agentes quelantes, em combinação ou não com sais de zinco. Uma vez realizado o diagnóstico, o tratamento deve durar toda a vida (36).

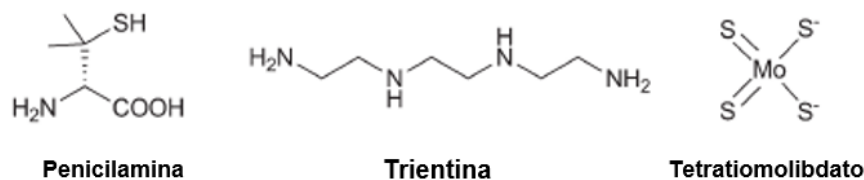


Figura 6: Estrutura química dos compostos quelantes utilizados no tratamento da Doença de Wilson; Adaptado da referência 55.

## 7.1 Agentes quelantes

Os agentes quelantes são compostos que possuem a capacidade de coordenar íons metálicos, originando complexos com uma estrutura em forma de anel que se designam por quelatos (54,56).

Para um composto ser considerado um agente quelante deve possuir pelo menos dois átomos doadores capazes de se ligar ao metal (57). Os agentes quelantes possuem átomos doadores, i.e, átomos com pares de elétrons disponíveis que formam duas ligações covalentes, ou uma covalente e uma coordenada, ou duas ligações coordenadas isto no caso dos ligandos bidentados. O número de ligações que estes compostos formam com o íon metálico depende de diversos fatores como a constituição do ligando, o tamanho do metal e das interações eletrônicas (56,58).

O número máximo de ligações que se podem estabelecer entre o íon metálico e os átomos doadores do agente quelante, designa-se número de coordenação do metal.

Os ligandos costumam ser classificados estruturalmente de acordo com o número de átomos doadores que possuem para formar ligações de coordenação. Deste modo, podem ser classificados como monodentados, bidentados ou polidentados, respetivamente, tal como está representado na figura 7 (58).

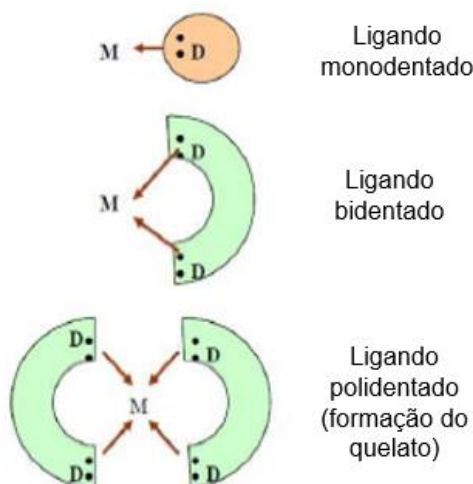


Figura 7: Formação do complexo metal/ligando com ligandos mono, bi e polidentados. "M" corresponde ao íon metálico; "D" corresponde aos átomos doadores do ligando; Adaptado da referência 58.

Átomos como o enxofre (S), o azoto (N) e o oxigénio (O) são exemplos de elementos que funcionam como átomos doadores integrando grupos químicos como carboxilos, aminas, tióis e fosfatos, entre outros (56,58).

A estabilidade termodinâmica de um complexo é tanto maior quanto maior for o número de ligações do ligando com o íon metálico, pelo que a estabilidade resultante da formação de um complexo com um ligando polidentado é, em geral, muito superior à que se verifica com os ligandos monodentados.

A eficácia *in vivo* de um agente quelante vai depender das características químicas e biológicas do íon metálico, do quelante e do organismo (59). Para que um agente quelante exerça o seu efeito farmacológico, ele deve ser capaz de atingir os locais-alvo numa concentração suficientemente elevada. Adicionalmente, é importante ter em conta os efeitos adversos e a toxicidade do próprio composto quelante, tal como do complexo resultante. Existem três fatores principais que condicionam a capacidade de um composto atravessar livremente uma membrana lipídica: o carácter lipofílico, o estado de ionização e o tamanho molecular (58,60).

Um agente quelante deve apresentar uma elevada solubilidade lipídica de modo a atingir uma percentagem de absorção elevada. Adicionalmente, o estado iónico é também fundamental, dado que moléculas neutras, i.e., sem carga, penetram mais facilmente as membranas celulares. Outro parâmetro de elevada importância é o tamanho molecular do composto, uma vez que constitui um fator relevante na absorção. Assim, a massa molecular do agente quelante deverá ser inferior a 300 Da, de modo a permitir uma elevada absorção a nível gastrointestinal (58,60).

Os agentes quelantes com características hidrofílicas promovem a excreção renal, mas têm dificuldade em aceder ao metal no meio intracelular. Um composto com carácter lipofílico tem o acesso facilitado à fração do metal no meio intracelular, conseguindo mobilizá-lo e ligar-se a ele, mas possui a desvantagem de conduzir a uma maior redistribuição do metal, incluindo a nível do sistema nervoso central, provocando efeitos adversos. Adicionalmente, a seletividade do agente quelante para um determinado ião metálico a remover é sem dúvida fundamental. É de extrema importância que a sua administração não conduza à depleção de outros metais que são biologicamente essenciais (61).

Em resumo, as características ideais de um agente quelante incluem uma elevada afinidade para o metal, resistência à biotransformação, uma boa solubilidade em água, capacidade para aceder aos locais onde está armazenado o metal que se pretende eliminar, capacidade para manter a sua capacidade quelante nos diferentes fluídos biológicos, resistindo a variações de pH fisiológico, e à capacidade para formar complexos menos tóxicos do que o ião metálico livre (56).

A Doença de Wilson era uma doença fatal até ao desenvolvimento de terapêuticas para diminuir o armazenamento de cobre. Em 1951, o 2,3-dimercaptopropanol, também conhecido como BAL (*British anti-Lewisite*), foi introduzido como o primeiro tratamento para a DW e tratase de um agente quelante que demonstrou aumentar a excreção de diversos metais, como o ouro, o mercúrio, a prata e o cobre. Uma vez que este fármaco apresentava muitos efeitos adversos, procurou-se agentes quelantes alternativos, tendo a D-penicilamina sido introduzida em 1956. Atualmente, dois agentes quelantes estão aprovados para o tratamento da DW: D-penicilamina e a trientina (8,27).

### 7.1.1 D-Penicilamina

A D-penicilamina é um fármaco utilizado desde 1956 e que atua como agente quelante, sendo considerado historicamente como o tratamento de eleição para a Doença de Wilson. Possui dois estereoisómeros, mas só a forma “D” apresenta atividade terapêutica, já que o isómero “L” é tóxico, inibe a ação da piridoxina. A nível da sua constituição é semelhante ao aminoácido cisteína, mas difere deste por apresentar dois grupos metilo ligados ao carbono, e possui um grupo sulfidrílico que atua como quelante de cobre (8,54). Para além do cobre a D-penicilamina pode quelatar outros metais como o chumbo e o mercúrio, formando um complexo solúvel que é excretado por via renal.

Após o início do tratamento, o cobre é rapidamente mobilizado dos tecidos e eliminado na urina, pelo que o principal efeito da D-penicilamina consiste no aumento da excreção urinária de cobre, através da formação do quelato (35). A D-penicilamina também pode induzir a ação de metalotioneínas que vão promover um aumento da eliminação de cobre através das fezes.

A D-penicilamina é recomendada em pacientes sintomáticos durante a fase inicial do tratamento e posteriormente como terapia de manutenção e por vezes, também, em pacientes pré-sintomáticos (62). A biodisponibilidade total da D-penicilamina, após a administração oral, é cerca de 40% a 70% e a dose recomendada em adultos é de 1000 a 1500 mg por dia, distribuídas por duas a quatro administrações (54).

Para diminuir os efeitos secundários e aumentar a adesão à terapêutica, no início do tratamento podem ser administradas doses mais baixas, de 250 a 500 mg por dia, com um aumento gradual da dose ao longo do tempo. Assim sendo, é recomendada a incrementação da dose em 250 mg por dia a cada 4 a 7 dias, até ao máximo de 1000 a 1500 mg por dia (63). A dosagem em crianças é de 20 mg / kg / dia e é administrada em duas a três tomas (36).

Quando se verifica uma recuperação clínica dos pacientes, indicando que o equilíbrio normal de cobre foi alcançado, a dose pode ser reduzida para 500 a 750 mg por dia. A terapia de manutenção deve ser continuada por toda a vida para evitar a acumulação de cobre no organismo e evitar um agravamento no estado clínico do doente (62). A D-penicilamina é rapidamente absorvida no trato gastrointestinal (64). O tratamento apresenta uma maior eficácia quando a D-penicilamina é administrada 1 hora antes ou 2 horas depois da refeição, pois a sua absorção diminui consideravelmente se for administrada em conjunto com alimentos, podendo atingir apenas os 50% de absorção no trato gastrointestinal (36,54).

É altamente recomendado a monitorização regular de parâmetros fisiológicos e bioquímicos recorrendo a um hemograma completo e analisando a existência, ou não, de proteínas na urina. Esta monitorização é fundamental devido aos possíveis efeitos adversos, que podem ser suficientemente graves para levar à interrupção do tratamento (54).

A D-penicilamina está associada a diversos efeitos secundários. Os efeitos colaterais graves que requerem a suspensão do medicamento ocorrem em aproximadamente 30% dos pacientes. Reações de sensibilidade comuns nas primeiras semanas de tratamento são marcadas pela ocorrência de febre, erupção cutânea, linfadenopatia, neutropenia, trombocitopenia e proteinúria. Nestes casos a terapêutica deve ser interrompida e deve-se optar por uma alternativa terapêutica (36,54). Os efeitos adversos mais tardios incluem nefrotoxicidade (identificada por proteinúria ou o aparecimento de outros elementos celulares na urina) e supressão da medula óssea (que inclui trombocitopenia grave ou aplasia total). Nessas condições, a D-penicilamina deve ser descontinuada de imediato. Adicionalmente, este fármaco pode afetar o metabolismo da piridoxina (vitamina B6), pelo que esta vitamina deve ser administrada, cerca de 50 mg por semana, a crianças, mulheres grávidas e pacientes com desnutrição (36,54).

O benefício clínico da D-penicilamina na doença de Wilson está bem documentado principalmente em casos clínicos de doença hepática grave, registando melhorias consideráveis no estado clínico, durante os primeiros 2 a 6 meses de tratamento. Em pacientes com doença neurológica, ocorre uma melhoria clínica gradual. No entanto, os efeitos colaterais e a deterioração neurológica inicial por vezes irreversível, relatados entre 20% a 50% dos pacientes com apresentação neurológica, levaram a que fossem considerados outros agentes terapêuticos no tratamento de primeira linha, como a trientina (54). O mecanismo de agravamento neurológico, pensa-se que poderá resultar da mobilização repentina de cobre do fígado para o sangue, com subsequente redistribuição para o cérebro. Com o aumento da concentração de cobre no cérebro pode então ocorrer uma lesão tecidual induzida por radicais livres e, conseqüentemente, o agravamento dos sintomas neurológicos (62).

A adequação e eficácia do tratamento pode ser monitorizada através da medição da excreção urinária de cobre de 24 horas durante o tratamento. A excreção urinária de cobre após 2 dias da cessação da D-penicilamina deve ser menor que 1,6  $\mu\text{mol} / 24 \text{ h}$  (36,54). Valores de excreção de cobre na urina  $> 1,6 \mu\text{mol} / 24 \text{ h}$  após dois dias de interrupção da D-penicilamina podem indicar a não adesão à terapêutica. Nestes doentes que não aderiram à terapêutica, o cobre não ligado à ceruloplasmina é também elevado ( $>15 \mu\text{g/L}$ ), enquanto que com tratamento excessivo, os valores são muito baixos (36,64).

### 7.1.2 Trientina

A trientina, ou trietilenotetramina, é um agente quelante utilizado no tratamento da Doença de Wilson, que foi introduzido em 1969 como alternativa terapêutica à D-penicilamina (36). A trientina forma um complexo estável em que o cobre se coordena aos quatro átomos de nitrogênio da molécula numa estrutura planar (54,63). A trientina é pouco absorvida no trato gastrointestinal e é um forte quelante do cobre (II), sendo igualmente um agente quelante do zinco(II) e do ferro(II) formando, no entanto, complexos de menor estabilidade do que os formados com o cobre (II) (8,27). Tal como a D-penicilamina, a trientina promove a excreção renal de cobre (63).

Este fármaco é metabolizado e origina dois metabolitos principais, N(1)-acetiltriethilenotetramina (MAT) e N(10)-diacetiltriethilenotetramina (DAT). Estes metabolitos também podem quelatar o cobre porém, a estabilidade dos complexos é baixa.

A trientina é administrada por via oral e pode ser utilizado em mulheres grávidas, contudo a amamentação é desaconselhada durante a terapêutica (62). A biodisponibilidade da trientina é de aproximadamente 6 a 18%. Este fármaco deve ser administrado com o estômago vazio para minimizar a probabilidade de ocorrer a sua inativação, já que, certos alimentos, medicamentos e suplementos minerais podem formar complexos com a trientina no trato gastrointestinal, o que pode afetar a sua absorção (65).

As doses recomendadas para o tratamento intensivo inicial com este quelante em pacientes adultos sintomáticos são de 900 mg a 2000 mg por dia, administradas em duas a três doses. A dose pode ser reduzida para 600 a 900 mg por dia para terapia de manutenção em pacientes sintomáticos, e uma dose semelhante pode também ser usada em pacientes adultos assintomáticos (62). Em crianças, a dose frequentemente recomendada é de 20 mg / kg / dia administrada em duas ou três doses. As doses em qualquer faixa etária devem ser aumentadas somente se a resposta clínica for inadequada ou se a concentração de cobre livre no soro for superior a 20 µg/dL. Tal como acontece com a D-penicilamina, a trientina deve ser administrada 1 hora antes ou 2 horas após as refeições. Deve-se ter atenção às condições de acondicionamento deste fármaco, pois os comprimidos de trientina não apresentam estabilidade quando sujeitos a altas temperaturas por longos períodos de tempo (36,63).

A trientina é um tratamento eficaz na DW e está indicada especialmente em pacientes que são intolerantes à D-penicilamina ou que apresentam características clínicas que indicam uma potencial intolerância, como história de doença renal, esplenomegalia e trombocitopenia grave. Este fármaco demonstrou ser uma terapêutica inicial eficaz para pacientes que apresentam doença hepática descompensada (62,63).

O agravamento neurológico após o início da terapêutica com a trientina foi relatado, mas parecia ocorrer com menos frequência e com uma menor progressão do que com a D-penicilamina. Recentemente casos de neurotoxicidade foram relatados, por exemplo, num ensaio clínico a administração de trientina levou à deterioração neurológica inicial em aproximadamente 26% dos pacientes tratados, uma percentagem semelhante à D-penicilamina (31).

As reações de hipersensibilidade no início do tratamento ocorrem com menos frequência com a trientina do que com a D-penicilamina (63). A trientina pode causar gastrite hemorrágica, perda do paladar e erupções cutâneas. As reações adversas podem desaparecer com a diminuição da dose do agente quelante, caso contrário, é aconselhável substituir a trientina por outra terapêutica alternativa (36,62).

Uma vez que a trientina também é um agente quelante do ferro, a co-administração de trientina e de ferro deverá ser evitada, uma vez que o complexo formado é tóxico (3).

A adequação do tratamento é monitorizada pela medição da excreção urinária de cobre de 24 horas (após 2 dias da interrupção da terapia) e pela determinação dos valores de cobre não ligado à ceruloplasmina. Quando não existe adesão à terapêutica, o cobre não ligado à ceruloplasmina é elevado (maior que 15 µg/L) (36,63).

## 7.2 Sais de zinco

O zinco foi usado pela primeira vez para tratar a doença de Wilson por Gerrit Schouwink, em 1961 (62). O seu mecanismo de ação é diferente dos fármacos D-penicilamina e trientina, uma vez que o zinco interfere na absorção de cobre no trato gastrointestinal (36).

O zinco administrado por via oral, na forma de sais de zinco, é absorvido pelas células intestinais conduzindo a um aumento da produção de metalotioneína nas células até 25 vezes, num período de 2 a 3 semanas após o início da terapêutica medicamentosa (62). Como já foi referido, as metalotioneínas são quelantes endógenos de metais, que se ligam ao cobre presente nos enterócitos, favorecendo o seu aprisionamento e impedindo a sua entrada na circulação portal (31,66). Uma vez formado este complexo, o cobre não é absorvido, sendo eliminado no lúmen intestinal por via fecal, à medida que os enterócitos são eliminados por renovação celular normal (54). O zinco também pode atuar através da indução dos níveis de metalotioneína hepatocelular, que se liga ao cobre em excesso e previne a lesão hepática.

Existem diversos sais de zinco que são utilizados, como o sulfato de zinco, o acetato de zinco e o gluconato de zinco, todos administrados por via oral. Estes sais não diferem em relação à eficácia, mas podem apresentar diferenças no que diz respeito à tolerabilidade gástrica. O acetato de zinco é o que apresenta melhor tolerância desencadeando menos efeitos secundários (31,67).

O zinco é indicado como terapia de manutenção em pacientes sintomáticos, após os sintomas regredirem com o tratamento com quelantes de cobre orais. Os sais de zinco também são administrados como terapêutica de primeira linha em pacientes assintomáticos ou pré-sintomáticos. Nestes casos o zinco parece ser tão eficaz como a D-penicilamina, mas melhor tolerado, apresentando menos efeitos secundários (36,62).

A dose recomendada é de 150 mg de zinco por dia. Em indivíduos com um peso inferior a 50 kg, como no caso de crianças, a dose indicada é de 75 mg (36,66). Em crianças e adultos, o zinco deve ser administrado em 3 tomas diárias, meia hora antes das refeições principais para aumentar a sua absorção (27).

O zinco e os quelantes orais (D-penicilamina e trientina) têm mecanismos de ação diferentes, o que sugere que pode haver um potencial benefício em usá-los em combinação. Quando é instituída uma terapêutica combinada, de modo a evitar a neutralização da eficácia do zinco pelos agentes quelantes, devem ser considerados diferentes períodos de toma (36,62). É recomendado pelo menos 1 hora de intervalo entre a toma dos dois fármacos. Desta forma, o quelante oral e o zinco devem ser administrados em múltiplas doses diárias, separados tanto dos horários das refeições quanto um do outro, o que na prática é difícil e reduz a adesão terapêutica (31,62).

O zinco apresenta poucos efeitos secundários. A gastrite é um efeito secundário comum, além disso, o zinco pode ter efeitos imunossupressores. Há relatos isolados de anemia, neutropenia e mielopatia que se desenvolveram após o uso a longo prazo de zinco, no tratamento da DW ou outras doenças (31,62). Podem ocorrer elevações na lipase e na amilase sérica, sem evidência clínica de pancreatite. Os pacientes descontinuam a terapêutica com os sais de zinco principalmente devido ao desconforto gastrointestinal. A tolerância ao medicamento pode ser melhorada com a administração de um sal de zinco alternativo; geralmente, os sais de acetato e gluconato de zinco são melhor tolerados do que o sulfato de zinco (62,66).

Dado que pode ocorrer um agravamento inicial dos sintomas neurológicos com a utilização de quelantes potentes, concluiu-se que a abordagem terapêutica ideal em pacientes com sintomatologia neurológica grave consiste em iniciar o tratamento com sais de zinco. Esta conclusão baseia-se no mecanismo de ação dos sais de zinco que não consiste na rápida mobilização do cobre, mas sim no bloqueio da absorção do mesmo, criando um balanço de cobre negativo consistente sem induzir uma redistribuição de cobre intensa e repentina (31).

Em pacientes com manifestações hepáticas, há uma menor resposta à terapêutica com sais de zinco comparativamente a pacientes com comprometimento neurológico. Quando os pacientes recebem monoterapia com zinco, as funções hepáticas devem ser monitorizadas regularmente e se o nível das enzimas hepáticas, AST e ALT, permanecer elevado após o início da terapêutica, isso geralmente sugere uma resposta insuficiente à terapêutica e uma mudança da mesma deve ser considerada o mais rapidamente possível (36,66).

Os resultados de um estudo a longo prazo de diferentes tratamentos em 288 pacientes alemães e austríacos com DW indicaram que, na maioria dos casos, o tratamento com agentes quelantes ou sais de zinco foi eficaz. No entanto, foi demonstrada uma vantagem na utilização de agentes quelantes em prevenir a deterioração hepática (36). As diretrizes atuais recomendam que todos os pacientes sintomáticos com DW devem iniciar a terapia farmacológica com um agente quelante. O zinco pode ser uma terapêutica de primeira linha em pacientes neurológicos. Relativamente à terapia de manutenção, esta pode ser realizada com doses reduzidas de agente quelante ou com zinco (31,36).

A adequação do tratamento com zinco é avaliada pela melhoria clínica, através dos parâmetros bioquímicos e pela medição da excreção urinária de cobre de 24 horas, que deve ser inferior a 1,6  $\mu\text{mol}$ . Adicionalmente, também deve ocorrer uma diminuição do teor de cobre não ligado à ceruloplasmina, quando o tratamento é eficaz (36). Em anexo, na tabela A4 apresenta-se um resumo das características dos fármacos disponíveis e que estão atualmente aprovados para o tratamento da DW.

### 7.3 Tetratiomolibdato de Amónio

O TTM foi desenvolvido para ser administrado em doentes com DW neurológica. Consiste numa terapia mais recente e promissora que tanto tem ação quelante como impede a absorção do cobre no intestino. O mecanismo de ação deste composto depende da interação com os alimentos.

O TTM pode ser administrado durante a refeição ou fora dela, reagindo de forma diferente nestas duas situações. Quando administrado com os alimentos, o TTM forma um complexo com o cobre e com proteínas no lúmen intestinal, impedindo a sua absorção no trato gastrointestinal. Se o TTM for administrado fora das refeições é bem absorvido, formando complexos com o cobre e a albumina em circulação, tornando assim o cobre indisponível para exercer a sua toxicidade a nível celular (27,68). Este complexo formado em circulação é lentamente eliminado através do metabolismo hepático (68). Este fármaco demonstrou ser mais eficaz do que o zinco na prevenção da absorção de cobre da dieta e, ao contrário deste, a sua ação é imediata. Estudos oncológicos sugerem que o TTM pode diminuir a angiogénese, a fibrose e a inflamação ao inibir várias enzimas dependentes de cobre (62).

Vários regimes posológicos têm sido propostos para o TTM, os quais requerem múltiplas doses diárias. Em virtude das suas características, é recomendada a administração de 20 mg, seis vezes por dia, três vezes durante as refeições e três vezes entre as refeições (36,62). Com base nos estudos já efetuados, a terapia com TTM não se destina a um tratamento a longo prazo, mas apenas por um período inicial de 8 semanas, a ser seguido por terapia de manutenção com sais de zinco (35).

Foi realizado um estudo, durante 8 semanas, em que se comparou os efeitos do TTM e da trientina, relativamente à frequência do agravamento neurológico, em pacientes com a apresentação neurológica da DW (69). Num grupo foi administrado 20 mg de TTM três vezes ao dia com alimentos e 20 mg de TTM três vezes ao dia fora das refeições. Noutro grupo, administrou-se 500 mg de Trientina duas vezes ao dia. Ambos os grupos receberam 50 mg de Zinco duas vezes ao dia (77).

Os investigadores observaram que com a administração de trientina, a deterioração neurológica ocorreu em 26% dos pacientes, enquanto que com a administração de TTM a mesma ocorreu em apenas 4% dos pacientes. Com este estudo concluiu-se que o TTM apresenta um perfil tóxico inferior em relação aos outros agentes quelantes, sendo uma melhor escolha para preservar a função neurológica (70). Contudo, relativamente à aplicação de TTM em pacientes com sintomatologia hepática ainda não há estudos experimentais (71).

Os efeitos adversos são pouco frequentes na terapêutica, incluem depressão reversível da medula óssea, aumento das transaminases, hepatite aguda, níveis acentuadamente elevados de triglicéridos e colesterol. Contudo, há uma certa incerteza sobre a segurança na utilização de TTM em crianças e adolescentes, pois o TTM demonstrou prejudicar o crescimento ósseo em estudos com animais (62). Alguns dos motivos que levaram à não aprovação do TTM foi a elevação das enzimas hepáticas e a sua posologia (6 vezes por dia), com horários dependentes das refeições que não favoreciam a adesão à terapêutica (82).

Nos últimos 35 anos, o TTM tem sido utilizado como um fármaco experimental em ambientes de pesquisa monitorizados. Tanto o TTM quanto o tetratiomolibdato de bis-colina desenvolvido mais recentemente são terapias promissoras para a Doença de Wilson que estão em fase 2 e fase 3 de ensaios clínicos multinacionais (36,62).

Embora ainda não tenha sido aprovado pela *American Food and Drug Association* (FDA), o TTM foi aprovado para uso em pacientes com DW na Europa em 2008. Apesar da reduzida experiência clínica disponível, parece que este agente é seguro e eficaz, especialmente em pacientes com manifestações neurológicas graves (31). Sendo uma terapia experimental, o TTM ainda não está disponível comercialmente (62).

## 8. Terapêutica na gravidez

Um tratamento eficaz significa que as mulheres com Doença de Wilson podem engravidar, contudo os níveis séricos de cobre da paciente devem estar normalizados antes da gravidez planeada. Apesar do risco aumentado de aborto espontâneo, a gravidez em pacientes com DW controlada é segura e a maioria terá uma gravidez bem-sucedida (23,36).

A terapêutica durante a gravidez deve privilegiar a prevenção do aborto espontâneo, o controlo da DW materna e a minimização da possível teratogenicidade induzida pela medicação. No início da gravidez, uma avaliação bioquímica e clínica inicial é obrigatória, incluindo a avaliação da hipertensão portal em pacientes com cirrose. Como a prevenção da deterioração sintomática é uma das principais preocupações, a terapêutica não deverá de ser descontinuada, pois caso contrário pode levar a uma severa exacerbação dos sintomas hepáticos ou neurológicos (23).

A D-penicilamina, a trientina e os sais de zinco têm sido usados com sucesso no tratamento de pacientes grávidas com DW, com resultados satisfatórios para a mãe e para o feto. No entanto, há relatos de teratogenicidade associada à D-penicilamina em animais, bem como em seres humanos (31). Embora haja alguma preocupação com a teratogenicidade da D-penicilamina, os riscos de interromper o tratamento superam os de continuá-lo. O maior risco de teratogenicidade fetal é no primeiro trimestre, pelo que, a redução da D-penicilamina durante este período é recomendada. Outros estudos recomendam também reduzir qualquer quelante a uma dose mínima, ou seja, 300 a 600 mg por dia no último trimestre, com o objetivo de evitar o fornecimento insuficiente de cobre para o feto e facilitar o processo de cicatrização em partos por cesariana (36). Assim, a dosagem de sais de zinco deve permanecer inalterada, mas no caso da utilização de quelantes de cobre, é aconselhável uma redução da dose, em 20% a 50%, como medida de precaução devido à falta de dados de segurança relativamente à teratogenicidade (31,72). Durante a gravidez, recomenda-se a monitorização dos testes da função hepática em cada trimestre.

Embora a contraceção em indivíduos com a Doença de Wilson seja um tema importante, ainda não foi realizado um estudo detalhado. Os estrogénios podem interferir na excreção biliar de cobre pelo que estão contraindicados e dado que muitos dispositivos intrauterinos contêm cobre apenas são prescritos com segurança: métodos contraceptivos de barreira, espermicidas e formulações à base de progesterona (36).

## 9. Outros tratamentos

Os antioxidantes, principalmente a vitamina E, podem ter um papel importante como tratamento adjuvante na terapêutica, tendo em conta que um dos principais mecanismos de toxicidade do cobre é o dano oxidativo induzido por radicais livres. Os níveis séricos de vitamina E encontram-se baixos na Doença de Wilson. A melhoria sintomática foi relatada ocasionalmente quando a vitamina E foi adicionada ao regime de tratamento, mas não existe nenhum estudo que o comprove (36,54).

In vitro, o tratamento com 4- fenilbutirato e a curcumina, restaurou parcialmente a expressão proteica de ATP7B e pode permitir novas estratégias promissoras no tratamento da DW. Adicionalmente, a curcumina é um antioxidante forte e pode também atuar como um agente quelante de cobre (36).

Existe um estudo que analisou a utilização de plantas medicinais chinesas como terapêutica adjuvante na DW com resultados muito positivos. As principais conclusões deste estudo revelaram que as plantas medicinais chinesas podem aumentar a excreção urinária de cobre em 24 horas e melhorar a função hepática, devido às propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (73).

Estudos em animais sugerem que a amitriptilina, que reduz a apoptose induzida por cobre nos hepatócitos, pode ter uma vantagem terapêutica na insuficiência hepática causada pela doença de Wilson. Nesse estudo, a utilização de amitriptilina aumentou a sobrevivência de ratos com deficiência em ATP7B (36).

Na DW terapêuticas adicionais para controlar a sintomatologia da doença podem ser necessárias para alguns pacientes, principalmente quando há sintomas neurológicos como o parkinsonismo, distonia e tremor. O parkinsonismo e a distonia podem ser tratados com L-dopa, agonistas da dopamina e anticolinérgicos. O tremor pode ser tratado com beta-bloqueadores, como o propranolol. As convulsões podem ser controladas com fármacos antiepiléticos (37,66).

## 10. Perspetivas futuras

As opções de tratamento atuais para a DW, baseadas em fármacos que levam ao equilíbrio, como os quelantes de cobre e os sais de zinco, geralmente são bastante eficazes na maioria dos casos, se administrados corretamente ao longo da vida. No entanto, especialmente em pacientes com sintomatologia neurológica, o tratamento pode levar à deterioração neurológica inicial, que muitas vezes é irreversível. Além disso, quase 50% destes pacientes apresentam déficits neurológicos persistentes, apesar da terapêutica. Finalmente, verifica-se a não adesão à terapêutica em quase 25% dos pacientes com DW, devido aos efeitos adversos relacionados com o tratamento e a regimes posológicos complexos. Estas limitações com os tratamentos atuais levaram à procura de outras possibilidades de tratamento para esta patologia (74).

Os avanços mais recentes no tratamento da Doença de Wilson incluem o desenvolvimento de regimes alternativos para a administração da terapêutica atual e ao desenvolvimento de terapêuticas completamente inovadoras destinadas à remoção do cobre dos tecidos (75). Entre estas, encontram-se a terapia genética e o transplante de hepatócitos que são estratégias promissoras e potencialmente curativas para a Doença de Wilson, embora ainda haja um longo caminho a percorrer até que possam ser utilizados com segurança em humanos (62).

As investigações em tratamentos futuros para a DW concentram-se em:

- Agentes farmacológicos atualmente em ensaios clínicos, como por exemplo, o tetratiomolibdato de bis-colina e um novo regime terapêutico de trientina;
- Novas modalidades de tratamento atualmente testadas em modelos animais, como por exemplo, metanobactina;
- Terapias de celulares e genéticas com potencial para restaurar a função de ATP7B, atualmente também estão a ser testadas em modelos animais (74);

Com o desenvolvimento de uma forma estabilizada de tetratiomolibdato, **tetratiomolibdato de bis-colina** em 2014, foi iniciado o primeiro estudo de fase II com uma dose diária de 15 a 60 mg por dia. No total, 28 pacientes com DW estiveram envolvidos, e com a administração de uma dose diária, a maioria atingiu a normalização ou a redução dos níveis de cobre não ligado à ceruloplasmina e, mais importante, não ocorreram casos de deterioração neurológica. Outro estudo de fase III com este composto foi iniciado com o objetivo de o comparar com os tratamentos atualmente utilizados. Este tratamento com tetratiomolibdato pode atender às necessidades dos pacientes em relação à prevenção da piora neurológica durante o tratamento da DW, com uma administração única diária (74,75).

Outra abordagem testada para melhorar a adesão à terapia quelante consiste em **reduzir a frequência de administração** do medicamento. A trientina é comumente administrada em 2 a 4 doses diárias divididas, Ala et al. realizaram um estudo piloto prospetivo de uma única dose diária de trientina. Oito pacientes com DW estável foram tratados com uma dose única diária de trientina (15 mg por kg) durante 12 meses. Durante esse tempo, todos os pacientes permaneceram clinicamente estáveis, sem deterioração da função hepática ou cirrose hepática (74). Mais estudos serão necessários para definir se este tratamento é eficaz a longo prazo, num período superior a um ano, e para determinar a dose ideal para a administração de uma única dose diária (75).

A **Metanobactina**, um peptídeo produzido por *Methylosinus trichosporium*, tem uma elevada afinidade para o cobre. Em vários estudos, este composto foi isolado e testado quanto à sua capacidade de quelar o cobre in vitro e em sistemas biológicos. Nestes estudos utilizou-se ratos com deficiência de ATP7B que serviram como modelo para a DW.

Realizou-se um tratamento de curto prazo com Metanobactina, observando-se que os animais tratados obtiveram uma redução do cobre mitocondrial nos hepatócitos, resultando numa melhoria no estado clínico dos mesmos. Os autores concluíram que a utilização deste composto poderia apresentar uma vantagem terapêutica, ao diminuir a necrose dos hepatócitos e subsequente insuficiência hepática nos animais. Estes resultados sugerem que a Metanobactina pode ser um agente com muito potencial na terapêutica da DW aguda (75).

A **terapia genética** introduzida em pacientes com DW assintomáticos deve prevenir o aparecimento das manifestações clínicas da doença. Além disso, em casos sintomáticos, este método pode normalizar o metabolismo do cobre e remover o cobre armazenado do fígado levando ao desaparecimento dos sintomas clínicos (74).

A terapia genética visa corrigir o defeito nos hepatócitos, através de vetores capazes de se integrar indefinidamente e persistir nas células. A mesma foi aplicada, recentemente com sucesso, em modelos animais usando um adenovírus associado, como vetor para introduzir o gene nos hepatócitos de roedores. Esses estudos comprovaram que era possível a produção de ATP7B funcional nos hepatócitos dos animais após a transdução do gene. Foi estabelecida a funcionalidade do gene após ter sido observado uma redução de cobre hepático e uma melhoria da histologia hepática (75). A terapia genética mediada pelo adenovírus deve permitir que o ATP7B seja permanentemente expresso no fígado do paciente com DW e, portanto, eliminar a necessidade da administração vitalícia de fármacos para reduzir os níveis de cobre (76). A utilização de técnicas inovadoras para evitar o reconhecimento imunológico e a eliminação dos hepatócitos modificados, pode ser necessária para manter a expressão do gene a longo prazo. Não houve, até ao momento, nenhum ensaio clínico realizado em humanos com terapia genética para a DW (75).

Os estudos em animais mostraram que o **transplante de hepatócitos** também pode ser viável como tratamento para a DW. A terapia celular nesta patologia parece viável porque os hepatócitos transplantados podem ser integrados no parênquima hepático e restaurar funções ligadas ao metabolismo do cobre, incluindo o seu transporte para a biliar (76). O grau de sucesso do tratamento é altamente dependente da obtenção de uma quantidade adequada de hepatócitos funcionais. Nestes estudos, verificou-se que precisavam de ser substituídos apenas 40% dos hepatócitos a fim de obter eficácia terapêutica (74,75).

## 11. Considerações finais

Apesar de ser uma doença rara, a Doença de Wilson deve ser considerada em qualquer indivíduo, que apresente sintomatologia hepática ou neurológica de causas desconhecidas (21).

Muitos progressos já foram feitos desde a descrição inicial da DW, tanto ao nível do conhecimento da doença como ao nível do seu diagnóstico e terapêutica. Os avanços nas áreas da farmacologia e do transplante têm permitido aumentar não só a esperança média de vida, como também, a qualidade de vida dos pacientes. Contudo, as terapêuticas disponíveis, apesar de bastante eficazes, ainda possuem inúmeros efeitos secundários, mecanismos de ação inespecíficos e submetem o paciente a um regime posológico que não favorece a adesão à terapêutica, por obrigar a várias tomas diárias da medicação ao longo da vida. Desta forma apesar de ser uma doença com terapêutica farmacológica disponível, os pacientes enfrentam uma necessidade vitalícia de medicamentos e a não adesão à terapêutica é um problema grave e frequente, que leva a um agravamento do quadro clínico dos pacientes.

Apesar de ainda existirem muitos obstáculos para serem superados na Doença de Wilson, a terapia genética e o transplante de hepatócitos representam futuros tratamentos curativos, juntamente com o transplante de fígado atualmente disponível (66).

Em suma, continua a existir uma necessidade imperativa de novas terapêuticas e de técnicas de diagnóstico mais sensíveis e específicas para a DW, com o objetivo de aumentar a qualidade de vida destes doentes através de uma abordagem terapêutica inovadora, atempada e eficaz.

## 12. Referências bibliográficas

1. Barcelos T. Cobre: Vital ou Prejudicial para a Saúde Humana. Univ da Beira Interior. 2008;1–64.
2. Fernandes V. Dificuldade do diagnóstico e tratamento da Doença de Wilson. Dissertação. [Mestrado Integrado em Medicina]. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar- Universidade do Porto.2016.
3. Oliveira R. Doença de Wilson; abordagem terapêutica. Monografia. [Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas]. Faculdade de Farmácia-Universidade de Lisboa. 2017.
4. Stern BR. Essentiality and toxicity in copper health risk assessment: Overview, update and regulatory considerations. *J Toxicol Environ Heal - Part A Curr Issues*. 2010;73(2–3):114–27.
5. Tisato, Francesco ; Marzano, Cristina; Porchia, Marina; Pellei; Santini C. Copper in Diseases and Treatments, and Copper-Based Anticancer Strategies. *Med Res Rev*. 2009;30(1):1–22.
6. Gaetke LM, Chow-Johnson HS, Chow CK. Copper: toxicological relevance and mechanisms. *Arch Toxicol*. 2014;88(11):1929–38.
7. World Health Organization. Environmental Health Criteria 230: [Internet]. Environmental Health Criteria. 2003 [citado 2 de Maio de 2020]. p. i–265. Disponível em:<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L40297890>.
8. Crisponi G, Nurchi VM, Fanni D, Gerosa C, Nemolato S, Faa G. Copper-related diseases: From chemistry to molecular pathology. *Coord Chem Rev*. 2010;254(7–8):876–89.
9. Linder C. Copper biochemistry and molecular biology. 1996.
10. Kodama H, Fujisawa C. Copper metabolism and inherited copper transport disorders : molecular mechanisms , screening , and treatment. 2009.
11. Mustafa SK, AlSharif MA. Copper (Cu) an Essential Redox-Active Transition Metal in Living System—A Review Article. *Am J Anal Chem*. 2018;09(01):15–26.
12. Copper - Health Professional Fact Sheet [Internet]. [citado 10 de Maio de 2020]. Disponível em: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Copper-HealthProfessional/>.
13. Copper Essential for Human Health [Internet]. [citado 10 de Maio de 2020]. Disponível em:<https://copperalliance.org.uk/knowledge-base/education/educationresources/copper-essential-human-health>.
14. World Health Organization. Copper in Drinking-water - Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. WHO; 2004.
15. European Commission, Health & Consumer protection directorate general. Scientific Committee on Food Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Vitamin E. *Heal Consum Prot Dir*. 2003;(Abril):1–24.
16. Bost M, Houdart S, Oberli M, Kalonji E, Huneau JF, Margaritis I. Dietary copper and human health: Current evidence and unresolved issues. *J Trace Elem Med Biol*. 2016;35:107–15.
17. Pedrosa L de FC, Cozzolino SMF. Alterações metabólicas e funcionais do cobre em diabetes mellitus. *Rev Nutr*. 1999;12(3):213–24.

18. Hefnawy A, khaiat H. The Importance of Copper and the Effects of Its Deficiency and Toxicity in Animal Health. *Int J Livest Res.* 2015;5(12):1.
19. National Research Council (US) Committee on Copper in Drinking Water. Health Effects of Excess Copper [Internet]. *Copper in Drinking Water.* 2000. 78–113 p. Disponível em: <http://www.nap.edu/catalog/9782.html><http://www.nap.edu/catalog/9782>.
20. Faia R, Lemos LM de, Mourão-Júnior CA, Andreazzi AE. Copper metabolism and Wilson's disease: a review. *Rev Médica Minas Gerais [Internet].* 2016 [citado 10 de Agosto de 2020];26(0). Disponível em: <http://rmmg.org/artigo/detalhes/2235>.
21. Patil M, Sheth KA, Krishnamurthy AC, Devarbhavi H. A review and current perspective on wilson disease. *J Clin Exp Hepatol.* 2013;3(4):321–36.
22. Delgadinho M. Distúrbios do metabolismo do cobre , ferro e zinco. Faculdade de Ciências da Saúde- Universidade Fernando Pessoa.2014.
23. Członkowska A, Litwin T, Dusek P, Ferenci P, Lutsenko S, Medici V, et al. Wilson disease. *Nat Rev Dis Prim.* 2018;4(1):1–20.
24. Salgueiro de Magalhães Gomes C. Cobre: Fisiologia e Fisiopatologia. Dissertação. [Mestrado em Ciências Farmacêuticas]. Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz. 2016.
25. Wang F, Jiao P, Qi M, Frezza M, Dou QP, Yan B. Turning Tumor-Promoting Copper into an Anti-Cancer Weapon via High-Throughput Chemistry. *Curr Med Chem.* 2010;17(25):2685–98.
26. Copper in Drinking Water. *Copper in Drinking Water.* National Academies Press; 2000.
27. Pires A. Doença de Wilson e o metabolismo do cobre. Dissertação. [Mestrado em Ciências Farmacêuticas]. Universidade do Algarve. 2012.
28. Lenartowicz M, Grzmil P, Shoukier M, Starzyński R, Marciniak M, Lipiński P. Mutation in the CPC motif-containing 6th transmembrane domain affects intracellular localization, trafficking and copper transport efficiency of ATP7A protein in mosaic mutant mice - An animal model of Menkes disease. *Metallomics [Internet].* 16 de Novembro de 2012 [citado 23 de Agosto de 2020];4(2):197–204. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/22089129>
29. Sarkar B. Treatment of Wilson and menkes diseases. *Chem Rev.* 1999;99(9):2535–44.
30. Horn N, Møller LB, Nurchi VM, Aaseth J. Chelating principles in Menkes and Wilson diseases: Choosing the right compounds in the right combinations at the right time. *J Inorg Biochem.* 1 de Janeiro de 2019;190(August 2018):98–112.
31. Rodriguez-Castro KI, Hevia-Urrutia FJ, Sturniolo GC. Wilson's disease: A review of what we have learned. *World J Hepatol.* 2015;7(29):2859–70.
32. Chanprasert S, Scaglia F. Adult liver disorders caused by inborn errors of metabolism: Review and update. *Mol Genet Metab.* 2015;114(1):1–10.
33. Menkes JH. Menkes disease and Wilson disease: Two sides of the same copper coin: Part I: Menkes disease. *Eur J Paediatr Neurol.* 1999;3(4):147–58.
34. Merle U, Schaefer M, Ferenci P, Stremmel W. Clinical presentation, diagnosis and long-term outcome of Wilson's disease: A cohort study. 2007;56(1):115–20.
35. Pfeiffer RF. Wilson ' s Disease. 2007;27(2):123–32.
36. Ferenci P, Czlonkowska A, Stremmel W, Houwen R, Rosenberg W, Schilsky M, et al. EASL Clinical Practice Guidelines: Wilson's disease. *J Hepatol.* 2012;56(3):671–85.
37. Das SK, Ray K. Wilson ' s disease : an update. 2006;2(9):482–93.

38. Socha P, Janczyk W, Dhawan A, Baumann U, D'Antiga L, Tanner S, et al. Wilson's Disease in Children: A Position Paper by the Hepatology Committee of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018;66(2):334–44.
39. Schilsky ML. Wilson Disease : Clinical Manifestations , Diagnosis , and Treatment. 2014;3(5):104–7.
40. Sócio SDA, Ferreira AR, Fagundes EDT, Roquete ML V., Pimenta JR, Campos LDF, et al. Doença de Wilson em crianças e adolescentes: Diagnóstico e tratamento. 2010;28(2):134–40.
41. Gilroy, Richard; Shah RP, Michael. Wilson Disease: Practice Essentials, Background, Etiology [Internet]. [citado 28 de Abril de 2020]. Disponível em: <https://emedicine.medscape.com/article/183456-overview>
42. Kant Kumar M, Kumar V, Kumar Singh P. Wilson's disease with neurological presentation, without hepatic involvement in two siblings. *J Clin Diagnostic Res.* 2013;7(7):1476–8.
43. Correia De Farias Brito J, Pereira Coutinho MDA, Falcone De Almeida HJ, Virgolino Da Nóbrega P. Doença de wilson: Diagnóstico clínico e sinais das «faces do panda» à ressonância magnética. Relato de caso. 2005;63(1):176–9.
44. Svetel M, Potřebić A, Pekmezović T, Tomić A, Kresojević N, Ješić R, et al. Neuropsychiatric aspects of treated Wilson's disease. *Park Relat Disord.* Dezembro de 2009;15(10):772–5.
45. Dzieżyc-Jaworska K, Litwin T, Członkowska A. Clinical manifestations of Wilson disease in organs other than the liver and brain. *Ann Transl Med.* 2019;7(S2):S62–S62.
46. Özer EA, Kasýrga E, Özer E, Atabay B, Yaprak I. Wilson ' s Disease Presenting with Severe Hemolytic Anemia. 2000;5(6):29–30.
47. Machado A. Manifestações neurológicas na doença de Wilson : estudo clínico e correlações genotípicas. Faculdade de Medicina- Universidade de São Paulo. 2008.
48. Goel S, Sahay P, Maharana PK, Titiyal JS. Ocular manifestations of Wilson's disease. *BMJ Case Rep.* 2019;12(3):1–2.
49. Amalnath DS, Subrahmanyam DKS. Ocular signs in Wilson disease. *Ann Indian Acad Neurol.* 2012;15(3):200–1.
50. Hedera P. Parkinsonism and Related Disorders Wilson ' s disease: A master of disguise. 2019.
51. Mulligan C, Bronstein JM. Wilson Disease: An Overview and Approach to Management. *Neurol Clin.* 2020;38(2):417–32.
52. Beinhardt S, Leiss W, Stättermayer AF, Graziadei I, Zoller H, Stauber R, et al. Long-term Outcomes of Patients With Wilson Disease in a Large Austrian Cohort. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2014;12(4):683–9.
53. Catana AM, Medici V. Liver transplantation for Wilson disease. *World J Hepatol.* 2012;4(1):5–10.
54. Aftab Ala, Ann P Walker, Keyoumars Ashkan, James S Dooley MLS. Wilson's Disease. *Int Encycl Public Heal.* 2016;424–33.
55. Editor G, Franz KJ, Biot C, Castro W, Botté CY, Navarro M, et al. Application of inorganic chemistry for non-cancer therapeutics mechanism of action unrealised. 2012;
56. Flora SJS, Pachauri V. Chelation in metal intoxication. *Int J Environ Res Public Health.* 2010;7(7):2745–88.

57. Raposo C. Agentes quelantes potencialmente biodegradáveis e / ou biocompatíveis a partir de fontes biorrenováveis. Dissertação. [ Mestrado em Bioorgânica ]. Faculdade de Ciências e Tecnologia- Universidade Nova de Lisboa. 2012.
58. Sá HJ de O. Agentes quelantes com utilização terapêutica. Vol. 58. Faculdade de Ciências da Saúde- Universidade Fernando Pessoa; 2013.
59. Andersen O. Chemical and Biological Considerations in the Treatment of Metal Intoxications by Chelating Agents. *Mini-Reviews Med Chem.* 2005;4(1):11–21.
60. Franz KJ. Application of inorganic chemistry for non-cancer therapeutics. *Dalt Trans.* 2012;41(21):6335–49.
61. Santos MFF dos. Aplicações terapêuticas de compostos com capacidade quelante: perspectivas futuras. 2016;
62. Aggarwal A, Bhatt M. Advances in treatment of Wilson disease. *Tremor and Other Hyperkinetic Movements.* 2018;8:1–13.
63. Roberts EA, Schilsky ML. Diagnosis and treatment of Wilson disease: An update. *Hepatology.* 2008;47(6):2089–111.
64. Roberts EA, Schilsky ML. AASLD practice guidelines. *Diagnosis and Treatment of Wilson Disease : An Update.* 2008;
65. Trientine Hydrochloride - Drug Summary [Internet]. [citado 27 de Setembro de 2020]. Disponível em: <https://www.pdr.net/drug-summary/Syprine-trientine-hydrochloride-1386>
66. Dong Q, Wu Z. Advance in the pathogenesis and treatment of Wilson disease. 2012;1–8.
67. Brewer GJ. Zinc acetate for the treatment of Wilson ' s disease. 2001;1473–7.
68. Brewer GJ. Metals in the causation and treatment of Wilson's disease and Alzheimer's disease, and copper lowering therapy in medicine. *Inorganica Chim Acta.* 2012;393:135–41.
69. Tankanow R, Dick RB, Sitterly J. Treatment of Wilson Disease With Ammonium Tetrathiomolybdate. 2006;63.
70. Askari F, Dick RB, Sitterly J, Fink JK. Treatment of Wilson Disease With Ammonium Tetrathiomolybdate. 2003;60.
71. Li W, Chen C, You Z, Yang R, Wang X. Current Drug Managements of Wilson ' s Disease : From West to East. 2016;322–5.
72. Pharmacology C. Wilson disease – currently used anticopper therapy. 2017;142.
73. Xu M, Rong P, Jin T, Zhang P, Liang H. Chinese Herbal Medicine for Wilson ' s Disease : A Systematic Review and. 2019;10.
74. Litwin T, Dzieżyc K, Członkowska A. Wilson disease—treatment perspectives. *Ann Transl Med.* 2019;7(S2):S68–S68.
75. Schilsky ML. New Treatment Modalities in Wilson Disease. *Clinical and Translational Perspectives on Wilson Disease.* Elsevier Inc.; 2019. 399–405,
76. Ranucci G, Polishchuck R, Iorio R. Wilson's disease: Prospective developments towards new therapies. *World J Gastroenterol.* 2017;23(30):5451–6.
77. Peña MMO, Lee J, Thiele DJ. A Delicate Balance: Homeostatic Control of Copper Uptake and Distribution. *J Nutr.* 1999;129(7):1251–60.

## 13. ANEXOS

Tabela A1. Exemplos de cuproenzimas e respectivas funções; Adaptado das referências 4 e 77.

<b>Enzimas</b>	<b>Funções</b>
Citocromo c oxidase	Enzima oxidase terminal da cadeia respiratória mitocondrial, envolvida no transporte de eletrões. Fosforilação oxidativa.
Ceruplasmina	Transporte do cobre e do ferro. Oxida o ferro(II) a ferro(III) no metabolismo do ferro.
Superóxido dismutase (Cu,Zn)	Enzima intracelular e extracelular envolvida na defesa contra espécies reativas de oxigénio, catalisando a dismutação do superóxido em oxigénio e peróxido de hidrogénio.
Metalotioneína	Armazena o cobre, protegendo a célula dos danos oxidativos provocados pela toxicidade deste metal.
Tirosinase	Produção de melanina
Hefaestina	Ferroxidase, envolvida no transporte de ferro através da mucosa intestinal para a circulação portal
Dopamina $\beta$ -hidroxilase	Transforma a dopamina em noradrenalina. Síntese de catecolaminas

Tabela A2. Sistema de pontuação desenvolvido no 8º Encontro Internacional Sobre a doença de Wilson, Leipzig 2001. A pontuação varia de 0 a 4, uma pontuação de 4 significa um diagnóstico de DW e uma pontuação menor ou igual 2 significa que o diagnóstico de DW é improvável; Adaptado da referência 36.

<b>Sinais e sintomas clínicos frequentes</b>	<b>Pontuação</b>
<b>Anéis de Kayser-Fleischer</b>	
Presentes	2
Ausentes	0
<b>Sintomas Neurológicos</b>	
Graves	2
Moderados	1
Ausentes	0
<b>Ceruloplasmina sérica</b>	
Normal (> 0,2 g/L)	0
0,1 -0,2 g/L	1
< 0,1 g/L	2
<b>Anemia Hemolítica de Coombs negativa</b>	
Presente	1
Ausente	0
<b>Outros Exames</b>	
<b>Cobre no fígado ( na ausência de colestase)</b>	
>5x o valor normal (> 4 µmol/g)	2
0,8 – 4 µmol/g	1
Normal (< 0,8 µmol/g)	-1
Grânulos Rodamina positivos (Se não estiver disponível a quantificação de cobre no fígado)	1
<b>Cobre na urina (na ausência de Hepatite aguda)</b>	
Normal	0
1-2x acima do valor normal	1
>2x acima do valor normal	2
Normal, mas >5x acima do valor normal depois de D-penicilamina	2
<b>Mutação</b>	
Detetada nos dois cromossomas	4
Detetada em um cromossoma	1
Não detetada	0
<b>Score Total</b>	
4 ou mais	Diagnóstico estabelecido
3	Diagnóstico possível, há a necessidade de mais testes
2 ou menos	Diagnóstico pouco provável

Tabela A3. Índice de prognóstico da Doença de Wilson; Adaptado da referência 23.

<b>Pontuação</b>	<b>0 pontos</b>	<b>1 ponto</b>	<b>2 pontos</b>	<b>3 pontos</b>	<b>4 pontos</b>
AST (U/L)	0-100	101-150	151-200	201-300	>301
Bilirrubina sérica (µmol/L)	0-100	101-150	151-300	301-400	>401
INR	0-1.29	1.3-1.6	1.7-1.9	2.0-2.4	>2.5
Leucócitos (10 <sup>9</sup> /L)	0-6.7	6.8-8.3	8.4-10.3	10.4-15.3	>15.4
Albumina (g/L)	>45	34-44	25-33	21-24	<20

\*Uma pontuação  $\geq 11$  está associada a uma probabilidade de morte elevada sem um transplante hepático, pelo que indica a necessidade do mesmo.

Tabela A4. Resumo das características dos fármacos disponíveis; Adaptado da referência 60.

<b>Fármaco</b>	<b>Mecanismo de ação</b>	<b>Aplicação terapêutica</b>	<b>Vantagens e desvantagens</b>
D-penicilamina	Quelante de cobre. Promove a excreção urinária de cobre.	Sintomas hepáticos	Muito eficaz, mas com muitos efeitos secundários.
Trientina	Quelante de cobre. Promove a excreção urinária de cobre.	Sintomas hepáticos e indivíduos intolerantes à D-penicilamina	Eficaz, menos efeitos secundários.
Sais de zinco	Limitam a absorção de cobre no trato gastrointestinal.	Pré-sintomáticos e pediatria. Essencialmente como terapêutica de manutenção	Muito poucos efeitos secundários. Resposta à terapêutica lenta.