



Observações

Boletim Epidemiológico

editorial

Observar as Doenças Não Transmissíveis

Há muito que as doenças não transmissíveis (DNT) têm vindo a assumir preponderância como problema de saúde em Portugal. Já no início do séc. XX a frequência crescente de cancro motivava um importante relatório pela comissão dirigida por Azevedo Neves que fundamentou a criação dos Institutos de Oncologia. Ainda nas primeiras décadas do século passado se estruturou a Assistência aos Diabéticos tendo Ernesto Roma como a figura principal. Nos anos 40, João Porto desdobrou-se em esforços para criar um Instituto para cardíacos no âmbito da cardiologia social.

De então para cá as DNT aumentaram incessantemente como resultado dos novos estilos de vida, da evolução demográfica e, indiretamente, pelo controlo das doenças transmissíveis. A este desafio têm o Ministério da Saúde e diversas instituições procurado responder implementando programas de intervenção, desenvolvendo serviços direccionados e até promovendo legislação com impacte preventivo.

Recentemente, as DNT tornaram-se um problema político a nível global. Reconheceu-se que atingiam significativamente os países em desenvolvimento, e não só os desenvolvidos, com os consequentes ónus para os indivíduos, para os sistemas de saúde e para a sociedade em geral. Assim, em 2011 foi aprovada uma resolução na Assembleia Geral das Nações Unidas, cometendo à OMS o desenvolvimento de uma estratégia mundial, hoje já em vigor.

Neste contexto alargado, e considerando ainda a própria estratégia europeia sobre as DNT, já então existente, acentuou-se a necessidade de uma concertação sobre os indicadores de saúde mais apropriados ao diagnóstico de situação, monitorização e avaliação das DNT, a todos os níveis.

Assim sendo, pode dizer-se que este número do "Observações" tem uma grande oportunidade: alerta para um problema premente à escala nacional mas, que o é também, a nível da Europa e do Mundo. Entre outras questões cabe perguntar se estamos ou quando viremos a estar apetrechados com os indicadores relevantes e a informação necessária para melhor orientarmos as intervenções (leia-se, os próprios programas nacionais) e não temermos o confronto internacional que a partir de agora será cada vez mais patente.

Acrescentáramos, ainda, que "observar saúde" se não deve restringir aos indicadores de morbilidade e mortalidade habituais. Novos desafios se colocam com a necessidade, imperiosa em Portugal, da medição rigorosa e monitorização sustentada de fatores de risco (consumo de sal, tabaco e álcool, por ex.), fatores protetores (atividade física e alimentação saudável).

A caracterização e análise das distribuições daqueles fatores deverá ser feita tendo em consideração e explicitando os seus determinantes sociais, de modo a identificar as desigualdades inaceitáveis, e permitir a advocacia da sua mitigação.

Creio serem estes alguns dos grandes desafios que temos pela frente, carecendo do envolvimento de toda a sociedade e todas as políticas.

Bibliografia:

World Health Organization. 2008-2013 action plan for the global strategy for the prevention and control of noncommunicable diseases: prevent and control cardiovascular diseases, cancers, chronic respiratory diseases and diabetes [Em linha]. Geneva: WHO, 2008. [consult. 13-11-2013]. Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241597418_eng.pdf

World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2010 [Em linha]. Geneva: WHO, 2010. [consult. 13-11-2013]. Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789240686458_eng.pdf

World Health Organization. Noncommunicable diseases country profiles 2011 [Em linha]. Geneva: WHO, 2011. [consult. 13-11-2013]. Disponível em: http://www.who.int/nmh/publications/ncd_profiles_report.pdf

José Pereira Miguel
(Presidente do INSA, I.P. e Professor de Medicina Preventiva e Saúde Pública
da Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa)



Instituto Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge

neste número_

Editorial

Observar as Doenças Não Transmissíveis

José Pereira Miguel

p 01

Artigos Breves

Doenças Cardiovasculares e Cérebrovasculares

- 1_ Tendências na taxa de letalidade intra-hospitalar por enfarte agudo do miocárdio em Portugal no período 2000-2011**

Mariana Neto, Carlos Matias Dias, Baltazar Nunes, José Calheiros

p 03

- 2_ Evolução e tendências das estimativas de prevalência de hipertensão arterial autodeclarada em Portugal entre 2002 e 2010**

Mafalda de Sousa Uva, Carlos Matias Dias

p 06

- 3_ As principais fontes de sal na alimentação: análise do panorama nacional**

Tânia Gonçalves Albuquerque, M Beatriz Oliveira, Ana Sanches Silva, Helena Soares Costa

p 08

- 4_ Exposição ocupacional ao fumo de tabaco: alterações subclínicas em proteínas de inflamação aguda**

Solange Pacheco, Tânia Simões, Deborah Penque

p 10

- 5_ Interação entre fatores genéticos e não genéticos na recuperação após um Acidente Vascular Cerebral**

Helena Manso, Astrid Moura Vicente

p 11

- 6_ Dislipidemia e risco cardiovascular em crianças: identificação de biomarcadores para uma melhor diferenciação entre uma dislipidemia monogénica e uma dislipidemia poligénica/externa**

Ana Margarida Medeiros, Ana Catarina Alves, Pedro Aguiar, Mafalda Bourbon

p 15

Cancro

- 7_ Cancro colo-retal hereditário:**

pesquisa de mutações em famílias portuguesas

Glória Isidro, Patrícia Theisen, Iris Pereira, João Gonçalves

p 18

- 8_ Estudos da toxicidade de misturas de aflatoxina M₁ e ocratoxina A numa linha celular humana**

Ana Maria Tavares, Paula Alvito, Susana Loureiro, Henriqueta Louro, Maria João Silva

p 20

- 9_ Agentes infecciosos e cancro**

Mónica Oleastro, Nuno Verdasca

p 22

- 10_ Formação de subprodutos de desinfecção da água e avaliação do seu potencial genotóxico: o caso dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos**

Miguel Pinto, Marlene Rebola, Henriqueta Louro, Alexandra MM Antunes, Sílvia S José, M Raquel Rocha, M João Silva, Ana Sofia Cardoso

p 25

Diabetes

- 11_ Evolução da Taxa de incidência anual de diabetes entre 1992 e 2012 na população sob observação pela Rede "Médicos-Sentinela"**

Mafalda Sousa Uva, Liliana Antunes, Baltazar Nunes, Ana Rodrigues, Carlos Matias Dias

p 27

- 12_ Diagnóstico genético da diabetes tipo MODY na população portuguesa**

Gisela Gaspar, Filomena Seuanes, João S Duarte, Dircea Rodrigues, Carolina Moreno, Sofia Gouveia, Goreti Lobarinhas, Paula Bogalho, Ana Agapito, Mafalda Bourbon

p 30

Alergias e Intolerâncias

- 13_ Alergenicidade de soja e milho geneticamente modificados é equivalente à das variedades controlo**

Cátia Fonseca, Maria Margarida Oliveira, Rita Batista

p 33

- 14_ Doença celíaca: contributo da análise laboratorial para uma dieta isenta de glúten**

Filipa Nunes Matias, Mariana Santos, Maria Antónia Calhau

p 36

Anomalias Congénitas

- 15_ Relação entre a doença crónica materna e o nascimento de crianças com anomalias congénitas**

Paula Braz, Ausenda Machado, Carlos Matias Dias

p 38

Inquéritos de base populacional

- 16_ Inquérito de Saúde com Exame Físico: resultados comparativos entre a doença autorreportada e o exame físico**

Ausenda Machado, Ana Paula Gil, Marta Barreto Silva, Eleonora Paixão, Filomena Orta Correia, Francisco Mendonça, Aida Fernandes, Álvaro Beleza, Carlos Matias Dias

p 41

- 17_ Comparação da prevalência de doenças não transmissíveis em populações expostas e não expostas a um ambiente estuarino contaminado – Projeto HERA**

Ausenda Machado, Eleonora Paixão, Susana Pereira Silva, Sandra Caeiro, Carlos Matias Dias

p 44

Tendências na taxa de letalidade intra-hospitalar por enfarte agudo do miocárdio em Portugal no período 2000-2011

Mariana Neto ¹, Carlos Matias Dias ¹, Baltazar Nunes ¹,
José Calheiros ²

mariana.neto@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Epidemiologia, INSA.

(2) Conselho Diretivo, INSA.

Introdução

As doenças do aparelho circulatório constituem a principal causa de morte em Portugal ⁽¹⁾, sendo o acidente vascular cerebral e a doença isquémica cardíaca (DIC) as suas manifestações mais frequentes.

O enfarte agudo do miocárdio (EAM) é uma forma clínica de DIC que tem vindo a beneficiar do desenvolvimento e aplicação de medidas terapêuticas cada vez mais eficazes que permitem uma sobrevivência aumentada e com qualidade de vida.

Por outro lado, dispomos hoje em dia de conhecimentos que permitem desenvolver medidas de prevenção secundária dirigidas ao diagnóstico precoce, medidas de prevenção primária dirigidas a fatores de risco, como a hipertensão arterial e o colesterol elevados, e a adoção de estilos de vida favoráveis à saúde (promoção da atividade física, abstenção de fumar, consumo moderado de álcool e outros).

Em Portugal, foram implementadas medidas específicas destinadas a limitar a exposição a dois destes fatores de risco - a entrada em vigor da lei de prevenção e controlo do consumo do tabaco e suas consequências ⁽²⁾, em 2007, e a limitação do teor de sal no pão em 2010 ⁽³⁾.

Por outro lado, desde 2007, através do programa da "Via Verde Coronária" (VVC), que se pretende "promover a melhoria da acessibilidade ao atendimento de situações críticas, o mais atempadamente possível, no local mais adequado, com recursos e tecnologia especializada para o melhor tratamento".

Este estudo tem por objetivo analisar a letalidade por EAM ocorrida em contexto hospitalar em Portugal Continental no período 2000 a 2011, e interpretar o possível impacto das medidas anteriormente mencionadas, num contexto de diminuição mantida das taxas de mortalidade por esta causa ⁽⁴⁾.

Materiais e métodos

Estudo ecológico de séries temporais com base nos dados extraídos da base de dados anonimizada dos Grupos de Diagnóstico Homogêneos (GDH) relativos a todos os casos de internamento registados no período 2000-2011 com: 1) enfarte agudo do miocárdio (EAM) como diagnóstico principal de alta (Código CID-9 – 41xxx); 2) a partir dos quais foram identificados os casos de óbito por EAM e 3) os casos de EAM com, pelo menos, um internamento hospitalar ⁽⁵⁾.

Procedeu-se ao cálculo das taxas brutas de letalidade intra-hospitalar e à respetiva padronização para a idade nos óbitos com 25 e mais anos de idade (método direto, população padrão europeia). Calcularam-se as respetivas tendências lineares e projeções para o período 2008-2011.

Resultados

Entre 2000 e 2011 foram registados nos hospitais públicos de Portugal continental que utilizam a classificação GDH 141 615 internamentos por EAM, correspondentes a 120 605 doentes.

A proporção de homens internados era de 65% (n=78747) e a de mulheres internadas de 34,7% (n=41857). A idade média à data do internamento era de 67,8 anos (64,7 nos homens e 73,7 nas mulheres).

Nesta população ocorreram 16 013 óbitos por EAM em ambiente hospitalar durante o período considerado, sendo 52,6% (n=8429) em homens e 47,4 (n=7584) em mulheres, com idade média à data do óbito de 74 anos (mediana 76 anos) e 79 anos (mediana 80 anos), respetivamente.

A taxa bruta de letalidade intra-hospitalar evidencia uma diminuição acentuada das taxas, sendo mais evidente nas mulheres, que revelam valores iniciais também mais elevados que os homens (Gráfico 1).

Após padronização das taxas pelo método direto, verifica-se que a diminuição da letalidade é semelhante em ambos sexos, mantendo-se, de forma consistente, os valores mais elevados no sexo feminino (Tabela 1).

O cálculo da tendência e projeção para o período 2008-2011, permite observar uma inversão da tendência durante este período, verificada sobretudo no sexo feminino.

Estratificando por idade, verificou-se que a diferença entre as taxas padronizadas projetadas e observadas era mais acentuada nos grupos de mulheres mais jovens (25-54 anos) e de meia-idade (55-74), não se registando alterações das taxas do grupo com idade igual ou superior a 75 anos (Gráfico 2).

artigos breves_ n. 1

Gráfico 1: Taxa bruta de letalidade intra-hospitalar por enfarte agudo do miocárdio no período 2000-2011.

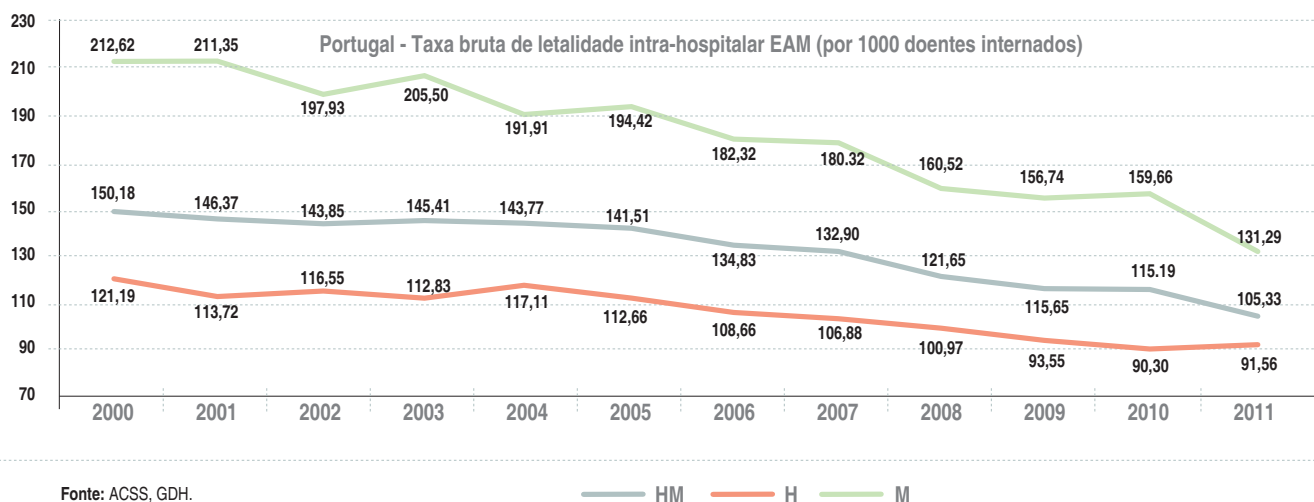
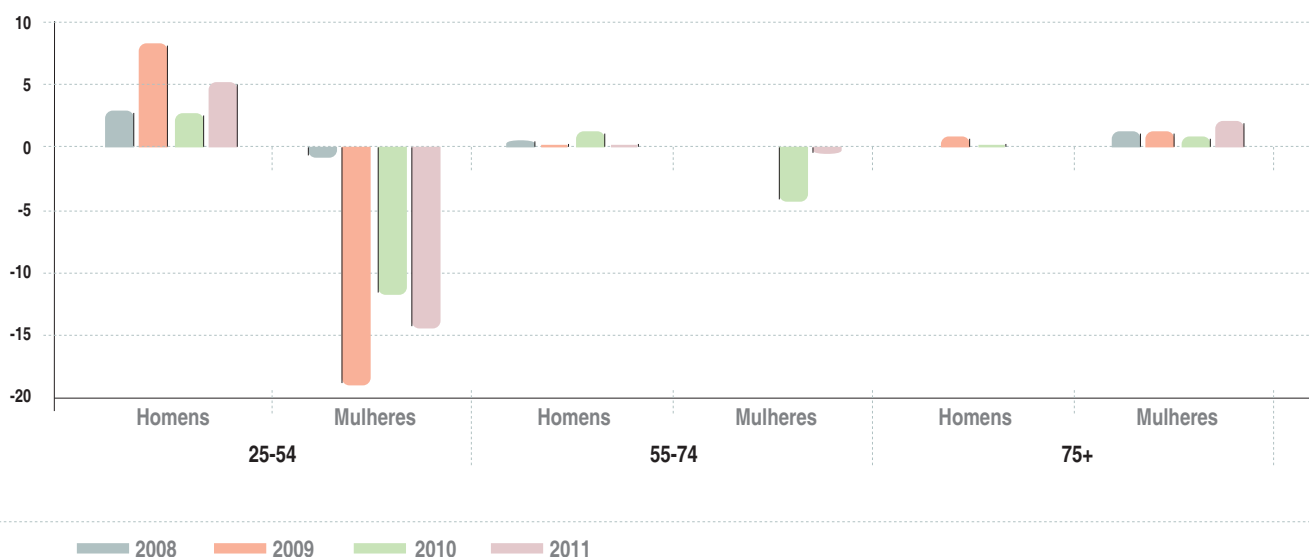


Tabela 1: Portugal-Taxa padronizada de letalidade intra-hospitalar por EAM e projeções para 2008-2011 (25 e mais anos) por 1000 doentes internados.

| | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|
| Total | 47,13 | 41,55 | 46,36 | 42,96 | 38,55 | 46,00 | 32,90 | 30,83 | 32,11 | 28,79 | 34,90 | 28,76 |
| Projeção | | | | | | | | | 32,06 | 30,12 | 28,18 | 26,25 |
| Diferença | | | | | | | | | -0,05 | 1,33 | -6,71 | -2,52 |
| Homens | 44,91 | 35,67 | 43,99 | 37,74 | 36,56 | 43,30 | 32,01 | 35,61 | 30,99 | 24,20 | 27,87 | 25,49 |
| Projeção | | | | | | | | | 34,08 | 33,05 | 32,02 | 30,99 |
| Diferença | | | | | | | | | 3,09 | 8,85 | 4,16 | 5,50 |
| Mulheres | 55,30 | 66,55 | 55,75 | 54,72 | 44,34 | 53,19 | 34,57 | 37,16 | 33,79 | 47,88 | 41,48 | 35,74 |
| Projeção | | | | | | | | | 33,86 | 30,23 | 26,60 | 22,97 |
| Diferença | | | | | | | | | 0,07 | -17,65 | -14,88 | -12,77 |

Gráfico 1: Taxa bruta de letalidade intra-hospitalar por enfarte agudo do miocárdio no período 2000-2011.



artigos breves_ n. 1

Discussão e conclusões

Da análise dos dados podemos concluir que ocorreu uma diminuição importante na letalidade intra-hospitalar por EAM no período considerado.

Esta diminuição poderá indiciar uma melhoria substancial na qualidade dos cuidados prestados em meio hospitalar, bem como da eficácia ou otimização dos meios terapêuticos disponíveis, mas também poderá estar associada a um melhor controlo dos fatores de risco a montante, à melhoria da assistência pré-hospitalar ou à ação conjunta destes mecanismos.

De forma semelhante ao observado por Silva e Gouveia (6) para a Via Verde AVC, não verificámos alterações que possam ser atribuídas, de forma inequívoca, ao impacto de medidas tais como a VVC ou a lei de controlo do consumo do tabaco, mas admitimos que o tempo decorrido para efeitos de estudo pode não ter sido suficiente para evidenciar esse efeito. Para tal, alargar o tempo de observação e conjugar com outros tipos de análise, tais como o comportamento da letalidade hospitalar nas primeiras 24 horas de internamento ou proceder a uma análise conjunta com a mortalidade por EAM durante o período considerado, poderão ser estratégias a seguir (4).

A observação de uma taxa de letalidade intra-hospitalar consistentemente mais elevada nas mulheres foi também detetada em outros estudos (7), sendo referido que tal se poderá dever ao facto de o diagnóstico ser mais difícil nestes casos por se tratarem, em geral, de doentes de idade mais avançada. Com efeito, observou-se que a idade média foi mais elevada nas mulheres e admite-se que os sintomas sejam menos evidentes nestes casos, dificultando ou atrasando o diagnóstico e transporte para o hospital, ou condicionando a aplicação de medidas terapêuticas mais agressivas.

Mas a inversão da tendência verificada nos últimos anos do período em análise, induzida por alterações da mortalidade intra-hospitalar causada por óbitos em mulheres jovens (25-54 anos) e de meia-idade (55-74) sugere outros mecanismos envolvidos, para além da idade, que podem estar relacionados com os hábitos tabágicos, outros comportamentos aditivos ou a toma de medicação contraceptiva. Esta situação deverá ser melhor esclarecida mediante monitorização e investigação adicional.

A fonte de informação (GDH) tem sido usada em estudos nacionais e internacionais semelhantes (8,9). Esta fonte foi desenvolvida para finalidades administrativas e baseia-se nos registos do processo hospitalar e inter-hospitalar de prestação de cuidados, o que dificulta a sua utilização, além de eventuais erros de registo e transcrição de informação. A consideração do número de doentes internados ao invés do número de internamentos por EAM é uma outra limitação do presente estudo.

Referências bibliográficas:

- (1) Direção-Geral da Saúde. Elementos Estatísticos: Informação Geral: Saúde 2008. [Em linha]. Lisboa, DGS, 2010. [consult. 7-11-2013]. Disponível em: <http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i013685.pdf>
- (2) Lei n.º 37/2007, de 14 de agosto. Normas para a proteção dos cidadãos da exposição involuntária ao fumo do tabaco e medidas de redução da procura relacionadas com a dependência e a cessação do seu consumo. [Em linha]. DR 1.ª série, n.º 156: 5277-85. [consult. 7-11-2013]. Disponível em: <http://www.dre.pt/pdf1s/2007/08/15600/0527705285.pdf>
- (3) Lei n.º 75/2009, de 12 de agosto. Normas com vista à redução do teor de sal no pão bem como informação na rotulagem de alimentos embalados destinados ao consumo humano. [Em linha]. DR 1.ª série, n.º 155: 5225-26. [consult. 7-11-2013]. Disponível em: <http://dre.pt/pdf1s/2009/08/15500/0522505226.pdf>
- (4) Programa Nacional para as Doenças Cérebro-Cardiovasculares, Direção de Serviços de Informação e Análise. Portugal – Doenças Cérebro-Cardiovasculares em números – 2013. [Em linha]. Lisboa: Direção-Geral da Saúde, 2013. [consult. 7-11-2013]. Disponível em: <http://www.dgs.pt/estatisticas-de-saude/estatisticas-de-saude/publicacoes/portugal-doencas-cerebro-cardiovasculares-em-numeros-2013.aspx>
- (5) Administração Central do Sistema de Saúde. Sistema de Classificação de Doentes em Grupos de Diagnósticos Homogêneos (GDH) : Informação de Retorno - Nacional - Ano 2006 [Em linha]. Lisboa: ACSS, 2007. [consult. 7-11-2013]. Disponível em: http://portalcodgdh.min-saude.pt/images/4/46/Nacional_RR2006.pdf
- (6) Silva S, Gouveia M. Program "Via Verde" do AVC: analysis of the impact on stroke mortality. Rev Port Sau Pub. 2012;30(2):172-79.
- (7) Nazzari C, Alonso FT. Incidence and case fatality due to acute myocardial infarction in Chile in the period 2001-2007. [Em linha]. Rev Med Chil. 2011;139(10):1253-60. [consult. 7-11-2013]. Disponível em: <http://www.scielo.cl/pdf/rmc/v139n10/art02.pdf>
- (8) Insam C, Paccaud F, Marques-Vidal P. Trends in hospital discharges, management and in-hospital mortality from acute myocardial infarction in Switzerland between 1998 and 2008. [Em linha]. BMC Public Health. 2013;13:270. [consult. 7-7-2013]. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2458/13/270>
- (9) Jensen PH, Webster E, Witt J. Hospital type and patient outcomes: an empirical examination using AMI readmissions and mortality records. Health Econ. 2009;18(12):1440-60.

Evolução e tendências das estimativas de prevalência de hipertensão arterial autodeclarada em Portugal entre 2002 e 2010

Mafalda de Sousa Uva, Carlos Matias Dias
mafalda.uva@insa.min-saude.pt

Departamento de Epidemiologia, INSA.

Introdução

A hipertensão arterial (HTA) é o fator de risco mais relevante para as doenças cardiovasculares e cerebrovasculares, as mais importantes causas de morbilidade e mortalidade em todo o mundo ⁽¹⁾.

Durante os últimos 30 anos, a população portuguesa tem sido descrita como tendo elevados níveis de pressão arterial média ⁽²⁾. Uma recente revisão sistemática da literatura, sobre tendências de prevalência de HTA em Portugal, concluiu que a prevalência de HTA autodeclarada aumentou, no total, 0,7% ao ano entre 1990-2005, sendo mais elevada nas mulheres do que nos homens ⁽³⁾.

A informação sobre a evolução e tendências da prevalência de hipertensão arterial em Portugal assume elevada importância em Saúde Pública ao contribuir para aumentar o conhecimento acerca do seu peso na população, e melhorar o planeamento e avaliação dos programas de intervenção nesta área ^(4,5).

O objetivo do presente trabalho é descrever a evolução e as tendências das estimativas de prevalência de HTA autodeclarada em Portugal, através da análise de dados dos estudos ECOS (Em Casa Observamos Saúde) realizados nos anos 2002, 2007 e 2010.

Métodos

Estudo ecológico de séries temporais utilizando dados gerados pela amostra de unidades de alojamento ECOS, desenvolvida e mantida desde 1998 pelo Departamento de Epidemiologia do INSA. Até 2010 a amostra ECOS teve como população-alvo as Unidades de Alojamento de Portugal continental com telefone fixo, e integrou, a partir daquele ano unidades de alojamento do Continente contactáveis através de telefone móvel.

Nos anos 2002, 2007 e 2010, no decurso da renovação da amostra de famílias ECOS, os inquiridos responderam à pergunta "...sofre de hipertensão arterial?". A prevalência de inquiridos que responderam "sim" à pergunta anterior, foram ponderadas para a estrutura da população portuguesa, de acordo com os dados oficiais do Instituto Nacional de Estatística ⁽⁶⁾. O efeito das diferentes estruturas de idade da população durante a série temporal em análise foi eliminado através da estratificação das estimativas por grupo etário (*Tabela 1*) e, num segundo momento, através da padronização para a idade através do método direto, utilizando a população padrão europeia (*Gráfico 1*) ⁽⁷⁾.

Resultados e Discussão

Em todas as amostras ECOS em análise, a prevalência de HTA autodeclarada aumenta em ambos os sexos com a idade, até aos 75 anos (*Tabela 1*), tal como descrito na literatura ^(8,9).

Nas amostras ECOS 2002 e 2007 observa-se uma prevalência mais elevada de HTA autodeclarada no sexo feminino, em todos os grupos etários em análise (*Tabela 1*), em concordância com outros estudos similares ^(3,8). Na amostra ECOS 2010, apenas se verifica essa prevalência mais elevada no sexo feminino nos grupos etários 35-44; 65-75; e +75 anos, observando-se nos restantes grupos etários prevalências superiores no sexo masculino. Tal facto não se encontrou descrito na literatura nacional.

Após remoção do efeito da idade, observa-se uma ligeira variação na prevalência de HTA autodeclarada, entre 2002 e 2007, em ambos os sexos (*Gráfico 1*), com valores mais elevados no sexo feminino (15,9%; 16,1%). De 2007 a 2010 observa-se, contudo, uma inversão dessa tendência, com a diminuição da prevalência de HTA autodeclarada no sexo feminino (de 16,1% para 13,2%) e o aumento no sexo masculino (12,5%; 14,3%). Em 2010 a prevalência de HTA padronizada para a idade torna-se mais elevada no sexo masculino.

Como hipóteses explicativas do aumento da prevalência no sexo masculino incluem-se, por um lado, o aumento do número de casos novos de HTA, e por outro, o aumento nos últimos anos do número de casos diagnosticados, e uma eventual classificação e notificação mais eficientes dos casos, levando a maior conhecimento e reporte da doença por parte dos doentes, em especial do sexo masculino, tradicionalmente com menor utilização de cuidados de saúde. De facto, a literatura indica que a prevalência de hipertensão diagnosticada (> ou = 140/90 mmHg) é mais elevada nos homens do que nas mulheres, o que pode apoiar esta hipótese ^(3,10).

Por outro lado, a prevalência mais elevada de HTA entre os homens, poderá dever-se a um real aumento da hipertensão arterial diagnosticada nos homens. Porém, a literatura indica que entre 1980-2008 terá ocorrido uma diminuição da mesma em ambos os sexos ⁽¹⁰⁾ e não se obteve informação nacional sobre essa tendência em anos posteriores a 2008.

O estudo mais recente neste contexto descreve a ocorrência de um aumento da prevalência total de HTA autodeclarada de 0,7% ao ano entre 1990-2005, o que apoia os resultados agora observados ⁽³⁾.

Conclusões

A análise das amostras populacionais ECOS permitiu concluir que a prevalência de HTA autoreportada sofreu uma ligeira alteração de 2002 a 2007. Entre 2007 e 2010 observa-se uma diminuição da prevalência de HTA autoreportada pelas mulheres e um aumento nos homens, fazendo com que em 2010 os homens passassem a ter uma prevalência superior de HTA autodeclarada do que as mulheres.

artigos breves_ n. 2

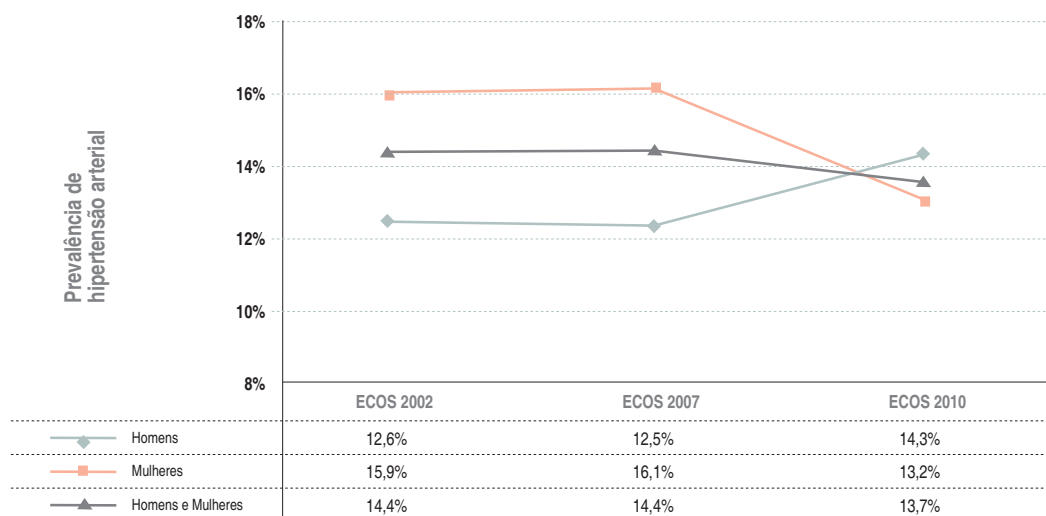
Tabela 1: ↓ Estimativas ponderadas da prevalência de hipertensão arterial autodeclarada pela amostra de famílias ECOS, representativa da população de Portugal continental, estratificadas por sexo e idade.

| Homens | | | | | | | | |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 15-24 | 25-34 | 35-44 | 45-54 | 55-64 | 65-74 | +75 | Total |
| Ecos 2002 | 0,3% | 2,8% | 7,6% | 18,0% | 36,3% | 41,4% | 41,3% | 13,9% |
| Ecos 2007 | 1,8% | 2,5% | 7,6% | 21,5% | 32,2% | 42,8% | 30,2% | 14,5% |
| Ecos 2010 | 1,2% | 2,9% | 8,3% | 22,3% | 35,3% | 52,3% | 45,4% | 17,0% |

| Mulheres | | | | | | | | |
|-----------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Ecos 2002 | 2,1% | 4,4% | 16,1% | 25,8% | 34,0% | 50,8% | 38,9% | 19,1% |
| Ecos 2007 | 3,7% | 4,2% | 10,2% | 27,3% | 38,3% | 53,0% | 42,3% | 20,8% |
| Ecos 2010 | 0,2% | 2,8% | 9,9% | 15,1% | 31,1% | 54,6% | 47,9% | 18,4% |

| Total (Homens e Mulheres) | | | | | | | | |
|---------------------------|--|--|--|--|--|--|--|-------|
| Ecos 2002 | | | | | | | | 16,6% |
| Ecos 2007 | | | | | | | | 17,8% |
| Ecos 2010 | | | | | | | | 17,7% |

Gráfico 1: ↓ Estimativas da prevalência de hipertensão arterial autodeclarada pela amostra ECOS, representativa da população de Portugal continental, estratificada por sexo e padronizada para a idade.



Referências bibliográficas:

- (1) World Health Organization. Causes of death 2008 [Em linha]: data sources and methods. Geneva : WHO, 2011. [consult. 27-05-2013]. Disponível em: http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/cod_2008_sources_methods.pdf
- (2) Instituto Nacional de Estatística. The demographic changes in Portugal. Lisboa : INE, 2008.
- (3) Pereira M, Carreira H, Vales C, et al. Trends in hypertension prevalence (1990-2005) and mean blood pressure (1975-2005) in Portugal: a systematic review. Blood Press. 2012;21(4):220-6.
- (4) Wallace R B (ed.). Maxcy-Rosenau-Last public health & preventive medicine, 14th ed. Stamford, Conn. : Appleton & Lange, c1998.
- (5) Danaei G, Finucane MM, Lin JK, et al; Global Burden of Metabolic Risk Factors of Chronic Diseases Collaborating Group (Blood Pressure). National, regional, and global trends in systolic blood pressure since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 786 country-years and 5.4 million participants. Lancet. 2011;377(9765):568-77.
- (6) Instituto Nacional de Estatística. Dados estatísticos [Em linha]. [consult. 03-09-13]. Disponível em: http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_base_dados
- (7) European Commission. Revision of the European Standard Population — Report of Eurostat's task force [Em linha]. Luxembourg : Publications Office of the European Union, 2013. [consult. 20-09-2013]. Disponível em: http://epp.eurostat.ec.europa.eu/cache/ITY_OFFPUB/KS-RA-13-028/EN/KS-RA-13-028-EN.PDF
- (8) Perdigão C, Evangelista R, Duarte JS, et al. Prevalência, caracterização e distribuição dos principais factores de risco cardiovascular em Portugal. Uma análise do Estudo Amália. Rev Port Cardiol. 2011;30(4):393-432.
- (9) Macedo ME, Lima MJ, Silva AO, et al. Prevalência, conhecimento, tratamento e controlo da hipertensão em Portugal. Estudo PAP. Rev Port Cardiol. 2007;26(1):21-39.
- (10) European Heart Network, European Society of Cardiology. European Cardiovascular Disease Statistics 2012 [Em linha]. Brussels, Sophia Antipolis : European Heart Network AISBL / European Society of Cardiology, The European Heart House, 2012. [consult. 21-05-2013]. Disponível em: <http://www.escardio.org/about/Documents/EU-cardiovascular-disease-statistics-2012.pdf>

As principais fontes de sal na alimentação: análise do panorama nacional

Tânia Gonçalves Albuquerque^{1,2}, M Beatriz Oliveira²,
Ana Sanches Silva¹, Helena Soares Costa^{1,2}
tania.albuquerque@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Investigação e Desenvolvimento. Departamento de Alimentação e Nutrição, INSA.

(2) REQUIMTE / Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.

O sal é simultaneamente um ingrediente, um condimento e um alimento. Desempenha um papel elementar na alimentação humana, sobretudo pela sua ação a nível da textura e sabor que confere aos alimentos. No entanto, o seu uso está associado a um problema de saúde pública, a Hipertensão Arterial. Estima-se que esta patologia esteja na origem de 7,5 milhões de mortes por ano⁽¹⁾. A ingestão excessiva de sal está intimamente relacionada com esta patologia, sendo os alimentos processados os que mais contribuem para esta ingestão. Assim, a Organização Mundial de Saúde recomenda que a ingestão de sal seja inferior a 5 g por dia⁽¹⁾.

Relativamente à identificação das principais fontes de sal na alimentação, os meios disponíveis atualmente para obter esta informação, em Portugal, são: a Tabela da Composição de Alimentos, os rótulos dos alimentos, os dados fornecidos pela indústria alimentar e por último, os trabalhos científicos publicados.

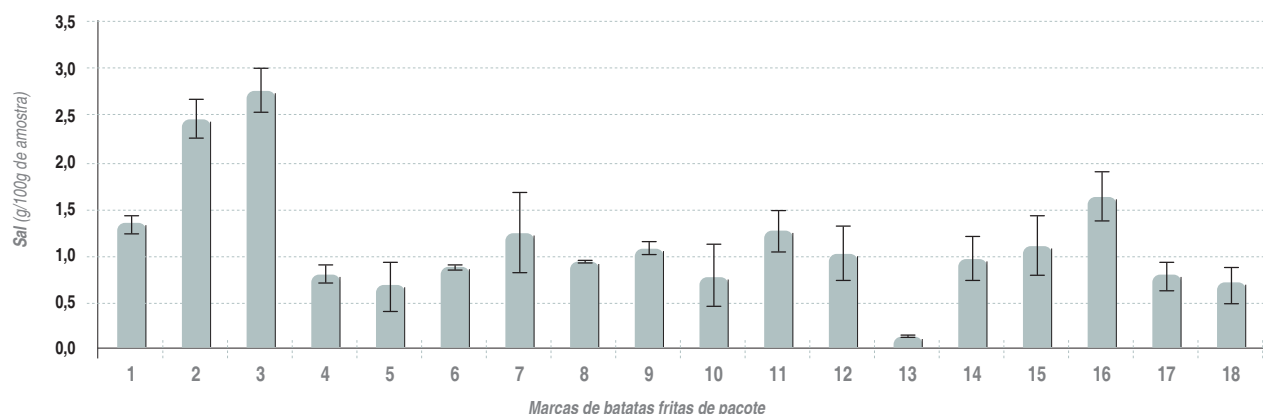
A Tabela da Composição de Alimentos é um documento de referência nacional para a composição dos alimentos consumidos em Portugal, que reúne informação sobre o teor de 42 componentes/nutrientes em 962 alimentos. Neste documento é possível obter informação fundamental que permite comparar o teor de sódio individual dos alimentos, comparar entre os grupos dos alimentos, bem como avaliar a influência do método de processamento culinário.

No que diz respeito aos rótulos dos alimentos, o Regulamento (UE) n.º 1169/2011⁽²⁾ vem trazer novas exigências relativamente aos termos sal e sódio. O que acontece muitas vezes é que no rótulo do alimento aparece a denominação sódio em vez de sal. Por este motivo, este regulamento refere que se deve usar o termo sal e que o teor de sal passa a fazer parte da declaração nutricional obrigatória. Devido às discrepâncias que existem na forma como a informação é apresentada ao consumidor e devido à falta de informação nos rótulos de alguns alimentos, nomeadamente os alimentos processados, é fundamental que sejam realizados estudos no âmbito da determinação do teor de sal dos géneros alimentícios. O Departamento de Alimentação e Nutrição (DAN) do INSA tem realizado alguns trabalhos nesta temática.

Em 2008 - 2009, Albuquerque *et al.* (2012)⁽³⁾, analisaram 18 marcas de batatas fritas de pacote (em rodelas) com vista à determinação dos teores de gordura total, sal e perfil em ácidos gordos. Para além destes aspetos, compararam-se os valores obtidos analiticamente com os valores referidos no rótulo. Relativamente ao teor de sódio determinado e referido no rótulo, só foi possível comparar 11 marcas, verificando-se que a maioria das marcas apresentava valores no rótulo inferiores aos determinados, mas também houve dois casos em que aconteceu o contrário. O teor de sal nas amostras analisadas variou entre 0,13 e 2,77 g/100 g de amostra (Gráfico 1).

O estudo de Paiva *et al.* (2011)⁽⁴⁾, diz respeito ao baixo valor calórico e elevado teor de sal das refeições servidas em cantinas escolares. O objetivo deste trabalho foi determinar a composição nutricional das refeições servidas em cantinas escolares do 1º ciclo do ensino público. Foram colhidas 32 refeições em 8 escolas da região do Porto. O que se verificou foi que, de forma geral, as refeições forneciam um aporte energético baixo, mas em relação ao teor de sal, o valor era elevado (3,40 g/100 g de amostra).

Gráfico 1: Teor de sal (g/100g de amostra) em 18 marcas de batatas fritas de pacote.



artigos breves_ n. 3

_Entre 2006 e 2007, Reis *et al.* (2008) ⁽⁵⁾ apresentaram os seus resultados no que diz respeito à determinação do teor de sal de 119 amostras de sopa provenientes de diversos hospitais, estabelecimentos de ensino, empresas e restaurantes da zona norte do país. Verificou-se que, em média, as sopas servidas em hospitais tinham menores teores de sal (0,54 g/100 g de amostra) quando comparadas com os restantes locais (0,66 a 0,78 g/100 g de amostra). Os dados obtidos neste trabalho permitem considerar que só através da ingestão de sopa são consumidas diariamente quantidades muito significativas de sal.

_No trabalho de investigação apresentado por Castanheira *et al.* (2009) ⁽⁶⁾ foram selecionadas 10 marcas de pão diferentes e recolhidas em vários supermercados da região de Lisboa, no período compreendido entre maio de 2006 e maio de 2007. A amostra que apresentou o maior teor de sal foi o pão branco, e a amostra com menor teor foi o pão de centeio. Portugal tem efetuado esforços para diminuir a quantidade de sal no pão, tendo entrado em vigor em 2010 a Lei n.º 75/2009 de 12 de agosto ⁽⁷⁾, que define o valor máximo de sal admissível no pão como 1,4 g/100 g de pão.

_Em relação a perspetivas futuras, o DAN iniciou em janeiro do presente ano um trabalho de investigação intitulado “Avaliação de ácidos gordos *trans*, gordura saturada e sal em alimentos processados (PTRANSALT)”, que pretende contribuir com dados fundamentais para o Programa Nacional para a Promoção da Alimentação Saudável.

Referências bibliográficas:

- (1) World Health Organization. Mapping salt reduction initiatives in the WHO European Region [Em linha]. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2013. [consult. 20-09-2013]. Disponível em: http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0009/186462/Mapping-salt-reduction-initiatives-in-the-WHO-European-Region-final.pdf
- (2) União Europeia. Regulamento (UE) N.º 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho de 25 de Outubro de 2011 relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios [Em linha]. Jornal Oficial da União Europeia. 22.11.2011: L 304/18-63. [consult. 20-09-2013]. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:304:0018:0063:PT:PDF>
- (3) Albuquerque TG, Sanches-Silva A, Santos L, et al. An update on potato crisps contents of moisture, fat, salt and fatty acids (including *trans*-fatty acids) with special emphasis on new oils/fats used for frying. *Int J Food Sci Nutr.* 2012; 63(6): 713-717.
- (4) Paiva I, Pinto C, Queirós L, et al. Baixo valor calórico e elevado teor de sal nas refeições servidas em cantinas escolares. *Act Med Port.* 2011; 24(2): 215-222.
- (5) Reis AT, Toscano MM, Meister MC. Sal em sopas. *Segurança e Qualidade Alimentar.* 2008; 4:54-55.
- (6) Castanheira I, Figueiredo C, André C, et al. Sampling of bread for added sodium as determined by flame photometry. *Food Chemistry.* 2009; 113: 621-628.
- (7) Lei n.º 75/2009 de 12 de agosto - Estabelece normas com vista à redução do teor de sal no pão bem como informação na rotulagem de alimentos embalados destinados ao consumo humano [Em linha]. Diário da República, 1.ª série - N.º 155 - 12 de agosto de 2009. [consult. 20-09-2013]. Disponível em: <http://dre.pt/pdf1s/2009/08/15500/0522505226.pdf>

artigos breves_ n. 4

Doenças Cardiovasculares e Cérebrovasculares

Exposição ocupacional ao fumo de tabaco: alterações subclínicas em proteínas de inflamação aguda

Solange Pacheco, Tânia Simões, Deborah Penque
deborah.penque@insa.min-saude.pt

Laboratório de Proteómica. Departamento de Genética Humana, INSA.

_De acordo com os dados recentemente publicados no relatório da Organização Mundial da Saúde ⁽¹⁾, o tabaco é responsável pela morte de 50% dos seus consumidores, correspondendo a mais de 5 milhões de mortes anuais. A este valor acrescem as mais de 600 mil mortes anuais de não fumadores expostos ao fumo passivo (FP). Em 2004, 28% destas mortes corresponderam a crianças expostas ao FP. De acordo com as previsões, o número de mortes pode superar os 8 milhões em 2030, se não forem tomadas medidas urgentes de prevenção e controlo.

_O FP é uma mistura de mais de 4000 compostos, que é libertada quando se queima qualquer produto do tabaco. A sua composição inclui 250 substâncias perigosas para a saúde e mais de 50 são reconhecidas como cancerígenas ⁽²⁾. Em espaços fechados, como bares e restaurantes, estes compostos contaminam o ar interior e podem persistir nos seus materiais.

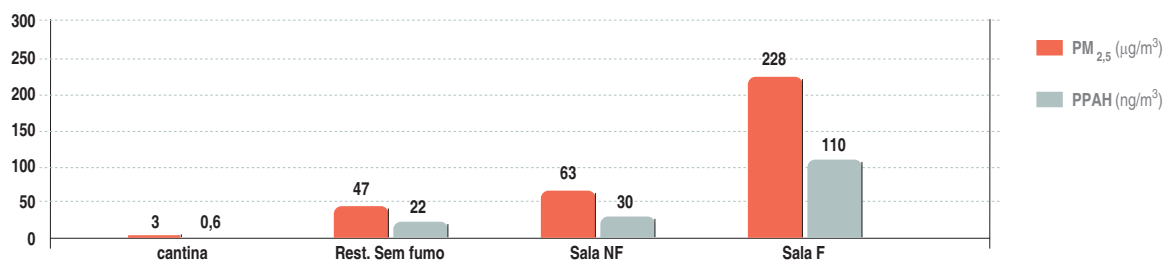
_Em 2009, o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge iniciou um estudo que visava, numa primeira fase, a avaliação simultânea da qualidade do ar em espaços de restauração e da exposição dos seus

trabalhadores ao FP ⁽³⁾. Os resultados revelaram que as medidas de proibição parcial de fumar, inscritas na atual lei do tabaco, não garantem a total proteção dos trabalhadores da restauração ⁽⁴⁾. Um dos parâmetros estudados, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos associados às partículas do FP, apresentava níveis estimados nas áreas com fumo (Sala F; 110 ng/m³) significativamente superiores às áreas sem fumo (Sala NF; 30 ng/m³) desses mesmos espaços (Gráfico 1).

_Numa segunda fase do estudo, procedeu-se à pesquisa de eventuais alterações induzidas pela exposição ao FP, designadamente marcadores bioquímicos de stress oxidativo e alterações ao nível molecular (ADN e proteínas), no sangue destes trabalhadores ⁽⁵⁾. Através da metodologia de proteómica, que investiga em larga escala as proteínas expressas pelas células ou tecidos, observaram-se alterações na estrutura e abundância de proteínas de resposta inflamatória aguda nos trabalhadores que estão expostos ao FP ⁽⁶⁾. Destas, destaca-se a Ceruloplasmina, também conhecida por Ferroxidase, uma enzima transportadora de cobre. A sua função fisiológica não está completamente esclarecida, embora seja referenciada como tendo um papel na proteção contra o stress oxidativo ⁽⁷⁾.

_Uma vez que estes trabalhadores apresentavam parâmetros bioquímicos e função respiratória normal, estas alterações moleculares subclínicas podem indicar o início de alterações patológicas, induzidos pela exposição ao FP. Um estudo mais aprofundado pode constituir uma importante ferramenta, na monitorização dos efeitos desta exposição ou mesmo na sua prevenção, uma vez que uma deteção precoce pode evitar o desenvolvimento de doenças daí decorrentes, como a DPOC e o cancro do pulmão.

Gráfico 1: Mediana das concentrações de partículas finas (PM_{2,5}) e dos valores estimados de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos associados às partículas finas (PPAH), no ar interior dos espaços em estudo: cantinas, restaurantes sem fumo (Rest. Sem fumo) e restaurantes mistos com áreas para não-fumadores (Sala NF) e para fumadores (sala F).



Referências bibliográficas:

- (1) WHO report on the global tobacco epidemic, 2013: enforcing bans on tobacco advertising, promotion and sponsorship [Em linha]. Geneva : WHO, 2013. [consult. 8-8-2013]. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85380/1/9789241505871_eng.pdf
- (2) WHO/FCCT. World Health Organization Framework Convention on Tobacco Control [Em linha]. Geneva : WHO, 2009. [consult. 7-8-2013]. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2003/9241591013.pdf>
- (3) Pacheco S, Aguiar F, Ruivo P, et al. Occupational exposure to environmental tobacco smoke: a study in Lisbon restaurants. J. Toxicol Environ Health. 2012;75(13-15):857-66.

- (4) Pacheco S, Aguiar F, Proença C, et al. Exposição ocupacional ao fumo de tabaco ambiental: um estudo em restaurantes na cidade de Lisboa [Em linha]. Boletim Epidemiológico Observações. 2012;1(2):2-3. [consult. 7-8-2013]. Disponível em: <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/1401>
- (5) Louro H, Antunes S, Vital N, et al. Exposure to second-hand smoke in occupational settings: biomarkers of DNA damage and susceptibility. Mutagenesis. 2011; 26(5):701-702.
- (6) Pacheco S, Torres V, Louro H, et al. Effects of occupational exposure to tobacco smoke: is there a link between environmental exposure and disease? J Toxicol Environ Health A. 2013;76(4-5):311-27
- (7) Banha J, Marques L, Oliveira R, et al. Ceruloplasmin expression by human peripheral blood lymphocytes: a new link between immunity and iron metabolism. Free Radic Biol Med. 2008;44(3):483-92.

Interação entre fatores genéticos e não genéticos na recuperação após um Acidente Vascular Cerebral

Helena Manso, Astrid Moura Vicente

astrid.vicente@insa.min-saude.pt

Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção
de Doenças Não Transmissíveis, INSA.

A elevada morbilidade devida a Acidentes Vasculares Cerebrais (AVC) é um problema grave de saúde pública dado que 15 a 30% dos pacientes ficam permanentemente incapacitados, e cerca de 20% permanecem internados três meses após o evento ⁽¹⁾. A resolução deste problema requer a identificação e caracterização dos fatores que determinam a variabilidade inter-individual na recuperação após um AVC. Uma boa ou má recuperação é provavelmente determinada por múltiplas condicionantes, incluindo a gravidade do evento, fatores clínicos, género, idade e condição física do doente e ainda por fatores genéticos. Estudos em modelos animais de AVCs têm implicado genes que regulam a angiogénese, regeneração e proliferação neuronal e neuroinflamação na recuperação de isquémia ou hemorragia cerebral ^(2,3). Os mecanismos genéticos envolvidos na recuperação de pacientes após um AVC são, no entanto, ainda mal conhecidos.

Genes envolvidos nos processos neuroinflamatórios que se desencadeiam em resposta a danos cerebrais ou isquémia são exemplos de candidatos funcionais plausíveis com impacto na recuperação de um AVC. A sua expressão excessiva leva a morte neuronal, mas tem também efeitos benéficos paradoxais, dependendo da janela temporal em observação ⁽⁴⁾. Por exemplo, as metaloproteinases da matriz (*matrix metaloproteinases*, MMPs) contribuem para os danos cerebrais imediatamente após um AVC, mas são mais tarde importantes para a reparação e proliferação neuronal mediada por fatores de crescimento tais como o *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), *heparin-binding growth factor 2* (HBGF-2), codificado pelo gene *fibroblast growth factor 2* (FGF-2) e ainda o *vascular endothelial growth factor A* (VEGF) ⁽⁴⁾.

No presente trabalho analisámos o papel de alguns destes genes candidatos, nomeadamente dos genes *MMP2*, *MMP9*, *BDNF*, *FGF2* e *VEGFA*, na recuperação após um AVC avaliada 3 e 12 meses após o evento ^(5,6). O estudo incidiu sobre uma população de 568 pacientes que sofreram um AVC com idade inferior a 65 anos. Os doentes foram recrutados no âmbito de um trabalho prévio sobre a prevalência do AVC e fatores de risco associados em Portugal, realizado por um consórcio de clínicos portugueses em colaboração com o INSA, sob a coordenação do Professor José Ferro (Hospital de Santa Maria e Faculdade de Medicina de Lisboa) e do Dr. Marinho Falcão (INSA) ⁽⁷⁾.

Neste âmbito, foi estabelecida uma base de dados contendo informação demográfica, de estilo de vida e clínica, e incluindo a avaliação do grau de incapacidade 1, 3 e 12 meses após o AVC. Como parte do projeto foram ainda determinados, no INSA, múltiplos parâmetros bioquímicos (por exemplo perfil lipídico) e foi mais tarde feito o isolamento de material genético (DNA). As características demográficas e clínicas da população incluída no presente estudo são apresentadas na **Tabela 1**.

Para o estudo de associação aqui descrito foram genotipadas variantes nucleotídicas nos genes selecionados, nomeadamente *Haplotype-tagging Single Nucleotide Polymorphisms* (tag SNPs), distribuídas de forma a cobrir a variabilidade genética de cada um dos genes. A recuperação dos doentes foi avaliada 3 meses após o AVC utilizando a escala de incapacidade de Rankin (*Modified Rankin Scale*, mRS), que classifica o grau de incapacidade de cada doente numa escala de 0 (sem incapacidade) a 6 (morte) ⁽⁸⁾. De acordo com o nível de incapacidade determinado por esta escala, é estabelecido um limite para a boa recuperação (mRS ≤ 1) ou má recuperação (mRS > 1).

O impacto de parâmetros não genéticos na recuperação (tipo de AVC, idade, género, fatores de risco para AVC e variáveis clínicas durante hospitalização) foi estimado por análise univariada. Foi encontrada uma associação do tipo de AVC e de cinco parâmetros clínicos indicativos da gravidade do AVC (história de hipertensão, afasia, paresis, perturbação de consciência e complicações médicas durante hospitalização) com uma má recuperação, enquanto a idade, género e fatores de risco para AVC tinham proporções semelhantes nos grupos de boa e má recuperação (**Tabela 1**) ^(5,6).

O efeito de cada variante genética nos genes *MMP-2* e *MMP-9* na recuperação após um AVC foi determinado por regressão logística, ajustando para as variáveis não genéticas significativas (**Tabela 2**) ⁽⁵⁾. Seis SNPs no gene *MMP-2* apresentaram uma associação significativa na população total; dois destes SNPs, rs2241145 e rs1992116, mantiveram a significância após correção para testes múltiplos utilizando o método SNPSpD (que testa o efeito de testes múltiplos corrigindo para desequilíbrio de *linkage* entre os SNPs testados), sendo o alelo menos frequente um preditor significativo de uma má recuperação. Os mesmos dois SNPs mantêm uma associação significativa no *subset* de doentes com AVC isquémico após correção para testes múltiplos. Ambos os SNPs são intrónicos e não fazem parte de sequências regulatórias (análise *in silico* não mostrada), pelo que se consideram como marcadores em desequilíbrio de *linkage* com uma variante funcional localizada na proximidade, a qual poderá ser identificada através de sequenciação genética. O gene *MMP-9* não apresentou resultados significativos de associação ⁽⁴⁾.

artigos breves_ n. 5

Sabe-se que uma desregulação das *MMPs* ocorre após um AVC, levando a degradação da matriz neurovascular, enfraquecendo a barreira hemato-encefálica e contribuindo para morte celular, neurotoxicidade, edema e hemorragia; estas observações sugerem que inibidores das *MMPs* poderão constituir a base de um tratamento para o AVC (9). No entanto, as *MMPs* têm um efeito benéfico paradoxal nos processos de recuperação que ocorrem mais tardiamente, contribuindo para a angiogénese, remielinização, migração neuronal e recuperação geral da unidade neurovascular (4,9). Estudos funcionais serão necessários

para distinguir se as variantes do gene *MMP-2* associadas à recuperação contribuem principalmente para os danos cerebrais que ocorrem logo após um AVC, para os efeitos benéficos da resposta tardia ou para ambos. Os resultados deste estudo contestam eventualmente a utilidade de inibidores da *MMP-2* para o tratamento de AVCs, não só porque seriam benéficos apenas numa estreita janela temporal, mas também porque a sua eficácia seria dependente do genótipo *MMP-2* de cada indivíduo.

Tabela 1: Características clínicas e demográficas dos pacientes com AVC.

| Característica | Boa recuperação (mRS<ou=1) | Má recuperação (mRS>1) | p * |
|--------------------------------------|-------------------------------|---------------------------|------------------------|
| Idade e género | | | |
| Idade, média±SD (anos) | 50.8±9 | 52.5±8.5 | 0,028 |
| Género (masculino), n/N (%) | 174/276 (63.0) | 174/270 (64.4) | 0,734 |
| História clínica, n/N (%) | | | |
| Hipertensão | 159/241 (66.0) | 143/240 (59.6) | 0,147 |
| Diabetes | 36/259 (13.9) | 47/246 (19.1) | 0,115 |
| Doença cardíaca | 37/264 (14.0) | 43/257 (16.7) | 0,390 |
| Tipo de AVC, n/N (%) | | | |
| Isquémico | 238/276 (86.2) | 193/270 (71.5) | 7.05x10 ⁻⁵ |
| Hemorragico | 33/276 (12.0) | 72/270 (26.7) | – |
| Desconhecido | 5/276 (1.8) | 5/270 (1.9) | – |
| Apresentação clínica, n/N (%) | | | |
| Afasia | 53/258 (20.5) | 98/250 (39.2) | 4.23x10 ⁻⁶ |
| Neglect | 11/266 (4.1) | 19/240 (7.9) | 0,072 |
| Disfasia | 15/270 (5.6) | 25/251 (10.0) | 0,059 |
| Incontinência urinária | 5/272 (1.8) | 15/251 (6.0) | 0,014 |
| Paresis | 203/273 (74.4) | 244/269 (90.7) | 5.59x10 ⁻⁷ |
| Perturbação da consciência | 21/275 (7.6) | 59/265 (22.3) | 1.72x10 ⁻⁶ |
| Complicações médicas | 18/265 (6.8) | 82/254 (32.3) | 1.83x10 ⁻¹³ |
| Complicações neurológicas | 14/274 (5.1) | 39/267 (14.6) | 2.03x10 ⁻⁴ |

(*) Mann-Whitney test ou χ^2 test. SD – standard deviation.

artigos breves_ n. 5

Tabela 2: Distribuição das frequências genotípicas e associação com a recuperação após um AVC dos SNPs testados no gene MMP-2.

| SNP | Genótipo | Amostra total * | | | | Subset de pacientes com AVC isquémico † | | | |
|------------|----------|------------------------|-----------------------|------------------|---------|---|-----------------------|------------------|--------|
| | | Frequência Genotípica | | OR[95%CI] | P | Frequência Genotípica | | OR[95%CI] | P |
| | | Boa recuperação, n (%) | Má recuperação, n (%) | | | Boa recuperação, n (%) | Má recuperação, n (%) | | |
| rs243866 | G/G | 142 (67.6) | 117 (57.9) | 1.67 [1.10-2.52] | 0,0143 | 125 (67.6) | 83 (56.8) | 1.78 [1.13-2.80] | 0,0128 |
| | A/G | 66 (31.4) | 76 (37.6) | | | 59 (31.9) | 55 (37.7) | | |
| | A/A | 2 (1.0) | 9 (4.5) | | | 1 (0.5) | 8 (5.5) | | |
| rs243865 | C/C | 141 (67.8) | 117 (57.9) | 1.65 [1.09-2.50] | 0,0162 | 124 (67.8) | 83 (56.8) | 1.76 [1.12-2.78] | 0,0143 |
| | C/T | 65 (31.2) | 76 (37.6) | | | 58 (31.7) | 55 (37.7) | | |
| | T/T | 2 (1.0) | 9 (4.5) | | | 1 (0.5) | 8 (5.5) | | |
| rs857403 | A/A | 124 (59.3) | 138 (68.3) | 0.71 [0.48-1.06] | 0,0909 | 105 (57.1) | 103 (70.5) | 0.62 [0.40-0.97] | 0,0349 |
| | T/A | 75 (35.9) | 56 (27.7) | | | 70 (38) | 37 (25.3) | | |
| | T/T | 10 (4.8) | 8 (4.0) | | | 9 (4.9) | 6 (4.1) | | |
| rs1477017 | A/A | 100 (47.6) | 81 (40.1) | 1.42 [1.01-2.00] | 0,0415 | 86 (46.5) | 55 (37.7) | 1.51 [1.04-2.20] | 0,0306 |
| | G/A | 91 (43.3) | 98 (48.5) | | | 82 (44.3) | 72 (49.3) | | |
| | G/G | 19 (9.0) | 23 (11.4) | | | 17 (9.2) | 19 (13) | | |
| rs17301608 | C/C | 94 (45.0) | 75 (37.3) | 1.40 [1.00-1.95] | 0,0510 | 80 (43.5) | 50 (34.5) | 1.47 [1.01-2.12] | 0,0412 |
| | C/T | 94 (45.0) | 100 (49.8) | | | 85 (46.2) | 73 (50.3) | | |
| | T/T | 21 (10.0) | 26 (12.9) | | | 19 (10.3) | 22 (15.2) | | |
| rs1053605 | C/C | 188 (89.5) | 170 (84.2) | 2.02 [1.09-3.75] | 0,0227 | 166 (89.7) | 127 (87.0) | 1.82 [0.93-3.58] | 0,0817 |
| | C/T | 22 (10.5) | 28 (13.9) | | | 19 (10.3) | 16 (11.0) | | |
| | T/T | 0 (0.0) | 4 (2.0) | | | 0 (0.0) | 3 (2.0) | | |
| rs2241145 | G/G | 79 (37.8) | 56 (27.9) | 1.66 [1.20-2.30] | 0,0021‡ | 68 (37.0) | 39 (26.9) | 1.67 [1.17-2.40] | 0,0044 |
| | G/C | 100 (47.8) | 101 (50.2) | | | 88 (47.8) | 72 (49.7) | | |
| | C/C | 30 (14.4) | 44 (21.9) | | | 28 (15.2) | 34 (23.4) | | |
| rs243849 | C/C | 131 (62.7) | 143 (71.5) | 0.70 [0.46-1.07] | 0,0948 | 112 (60.9) | 108 (75) | 0.59 [0.36-0.96] | 0,0314 |
| | T/C | 70 (33.5) | 52 (26.0) | | | 65 (35.3) | 33 (22.9) | | |
| | T/T | 8 (3.8) | 5 (2.5) | | | 7 (3.8) | 3 (2.1) | | |
| rs183112 | G/G | 134 (64.1) | 145 (72.9) | 0.66 [0.43-1.03] | 0,0669 | 115 (62.5) | 110 (76.9) | 0.54 [0.32-0.90] | 0,0162 |
| | A/G | 70 (33.5) | 51 (25.6) | | | 65 (35.3) | 32 (22.4) | | |
| | A/A | 5 (2.4) | 3 (1.5) | | | 4 (2.2) | 1 (0.7) | | |
| rs1992116 | G/G | 87 (41.6) | 65 (32.3) | 1.67 [1.20-2.31] | 0,0018‡ | 76 (41.3) | 48 (33.1) | 1.68 [1.17-2.42] | 0,0042 |
| | A/G | 97 (46.4) | 94 (46.8) | | | 86 (46.7) | 67 (46.2) | | |
| | A/A | 25 (12.0) | 42 (20.9) | | | 22 (12.0) | 30 (20.7) | | |

95% CI – 95% Intervalo de confiança. * OR [95% CI] e P para modelo genético log-aditivo ajustado para co-variáveis significativas

† OR [95% CI] e P para modelo genético log-aditivo ajustado para co-variáveis significativas ‡ Resultado significativo após correção para testes múltiplos

Os resultados apresentados foram ajustados para co-variáveis significativas; OR>1 indica probabilidade aumentada de uma má recuperação para os portadores do do alelo de menor frequência; apenas SNPs associados a P<0,05 antes de correção para testes múltiplos são mostrados.

artigos breves_ n. 5

A análise de associação entre SNPs nos genes *BDNF*, *FGF-2* e *VEGFA* e a boa ou má recuperação não forneceu nenhuma evidência para um papel individual de cada um destes genes na recuperação após um AVC (6). No entanto, a análise de interações epistáticas (não aditivas) entre estes genes, utilizando o *Multifactor-dimensionality Reduction Method* (MDR), identificaram dois modelos preditivos da recuperação (Tabela 3) (6). Um modelo de interação entre um SNP no gene *BDNF* e três SNPs no gene *FGF2* classificou corretamente 59,2% dos indivíduos deste dataset como pertencentes ao grupo de boa ou má recuperação (*Testing Balanced Accuracy*, TBA=0,592, $P=0,026$ com 1000 permutações) sendo este modelo selecionado 6 vezes de 10 *cross-validation subsets* (*Cross-validation Consistency* CVC=6/10), OR=4,14 (CI=2,86-6,04). O segundo modelo, incorporando a interação entre um SNP no gene *FGF2* e dois SNPs no gene *VEGFA*, tem um maior poder preditivo da boa ou má recuperação (TBA=0,61, $P=0,002$ após 1000 permutações, CVC=3/10), com OR=2,54 (CI=1,76-3,67).

Estes resultados sugerem que a recuperação após um AVC pode ser modulada por interações epistáticas entre os genes *BDNF*, *FGF2* e *VEGFA* (6). A interpretação dos resultados necessita agora de estudos

funcionais em linhas celulares e modelos animais, dado que as variantes genéticas testadas se localizam em intrões e não parecem ter por si só um significado funcional. No entanto, é interessante que as interações entre variantes genéticas descritas venham corroborar observações anteriores de interações funcionais entre estes mesmos genes. Por exemplo, sabe-se que HBGF-2 (proteína codificada pelo gene *FGF2*) regula a angiogénese induzida por VEGF-A, e que efeitos funcionais sinérgicos entre HBGF-2 e BDNF melhoram a sobrevivência neuronal e promovem a regeneração do axónio (10). Adicionalmente, a administração de fatores de crescimento em modelos animais de AVC em murganho leva a uma melhoria da função neurológica e à indução de mecanismos neuroprotetores e de recuperação neuronal (11).

Múltiplas vias fisiológicas são ativadas após um AVC, resultando numa série de alterações bioquímicas, hemodinâmicas e neurofisiológicas cuja orquestração temporal precisa determina as consequências do AVC e o grau de recuperação do doente. As observações aqui descritas reforçam a importância de genes que codificam moléculas mediadoras da neurogénese, angiogénese e de mecanismos de neuroproteção e, em particular, das interações entre estes genes, para a recuperação após um AVC.

Tabela 3: Modelos de interação gene-gene gerados pelo método MDR.

| Genes | Best Model * | | | | N (poor good recovery) OR[95%CI]* | Global OR [95%CI] | CVC | TBA | P ^b |
|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------------------|-------------------|------|-------|----------------|
| | SNP1 | SNP2 | SNP3 | SNP4 | | | | | |
| <i>BDNF_FGF2</i> | <i>rs10835210_BDNF</i> | <i>rs167428_FGF2</i> | <i>rs308379_FGF2</i> | <i>rs3804158_FGF2</i> | 238:262 | 4.15 [2.86-6.04] | 6/10 | 0.592 | 0.026 |
| | CA | TT | AT | GA | 0.39 [0.24-0.97] | | | | |
| | CA | CT | TT | GA | 0.48 [0.32-0.99] | | | | |
| | CC | TT | AT | GA | 3.58 [1.34-10.82] | | | | |
| | CA | CT | AT | GA | 3.67 [1.18-13.18] | | | | |
| <i>BDNF_FGF2_FGF2</i> | AA | TT | AT | GA | 7.71 [1.09-62.18] | | | | |
| | <i>rs833069_VEGFA</i> | <i>rs3025035_VEGFA</i> | <i>rs6905288_VEGFA</i> | - | 246:258 | 2.15 [1.50-3.07] | 4/10 | 0.559 | 0.143 |
| <i>FGF2_VEGFA</i> | <i>rs167428_FGF2</i> | <i>rs3025000_VEGFA</i> | <i>rs6900017_VEGFA</i> | - | 232:251 | 2.54 [1.76-3.67] | 3/10 | 0.611 | 0.002 |
| | CT | TT | CC | | 0.20 [0.11-0.88] | | | | |
| | CC | CT | CC | | 6.49 [1.62-28.70] | | | | |
| <i>BDNF_FGF2_VEGFA</i> | <i>rs10835210_BDNF</i> | <i>rs308441_FGF2</i> | <i>rs308379_FGF2</i> | <i>rs833069_VEGFA</i> | 223:239 | 4.07 [2.76-5.99] | 2/10 | 0.553 | 0.236 |

* Apenas combinações genotípicas significativas são apresentadas. ^b P para TBA (baseado em 1000 permutações)

O parâmetro CVC (numero de vezes que um modelo é selecionado de 10 subsets de cross-validation) é utilizado para selecionar o melhor modelo, mas não como teste estatístico primário; o parâmetro TBA estima a exatidão do método na classificação dos indivíduos nas categorias corretas (boa ou má recuperação); um valor de P significativo para a TBA com 1000 permutações é indicativo de um modelo de interação verdadeiro.

Referências bibliográficas:

- Asplund K, Stegmayr B, Peltonen M. From the twentieth to the twenty-first century: a public health perspective on stroke. In: Ginsberg MD, Bogousslavsky J, eds. *Cerebrovascular Disease Pathophysiology, Diagnosis, and Management*. Vol. 2. Malden (MA): Blackwell Science; 1998: 901-918. Chapter 64.
- Nygren J, Kokaia M, Wieloch T. Decreased expression of brain-derived neurotrophic factor in BDNF(+/-) mice is associated with enhanced recovery of motor performance and increased neuroblast number following experimental stroke. *J Neurosci Res*. 2006;84(3):626-631.
- Sun Y, Jin K, Xie L, et al. VEGF-induced neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis after focal cerebral ischemia. *J Clin Invest*. 2003;111(12):1843-1851.
- Rosell A, Lo EH. Multiphasic roles for matrix metalloproteinases after stroke. *Curr Opin Pharmacol*. 2008;8(1):82-89.
- Manso H, Krug T, Sobral J, et al. Variants of the Metalloproteinase-2 (MMP-2) but not the Metalloproteinase-9 (MMP-9) genes influence functional outcome after stroke. *BMC Med Genet*. 2010;11(1):40.
- Manso H, Krug T, Sobral J, et al. Evidence for epistatic gene interactions among growth factor genes in stroke outcome. *Eur J Neurol*. 2012;19(8):1151-3.
- Falcão JM, Ferro J, Gonçalves AF, et al., on behalf of the "Stroke before age 65" Study Group. Stroke before age 65 in Portugal: baseline results. 1999. Scientific report PECS/T/SAU/179/95.
- Weisscher N, Vermeulen M, Roos YB, et al. What should be defined as good outcome in stroke trials; a modified Rankin score of 0-1 or 0-2? *J Neurol*. 2008;255(6):867-74.
- Horstmann S, Kalb P, Koziol J, et al. Profiles of matrix metalloproteinases, their inhibitors, and laminin in stroke patients: influence of different therapies. *Stroke* 2003;34(9):2165-2170.
- Mandriota SJ, Pepper MS. Vascular endothelial growth factor-induced in vitro angiogenesis and plasminogen activator expression are dependent on endogenous basic fibroblast growth factor. *J Cell Sci*. 1997;110 (Pt 18):2293-302.
- Logan A, Ahmed Z, Baird A, et al. Neurotrophic factor synergy is required for neuronal survival and disinhibited axon regeneration after CNS injury. *Brain*. 2006;129(Pt 2):490-502.

Dislipidemia e risco cardiovascular em crianças: identificação de biomarcadores para uma melhor diferenciação entre uma dislipidemia monogénica e uma dislipidemia poligénica/externa

Ana Margarida **Medeiros**^{1,2}, Ana Catarina **Alves**^{1,2},
Pedro **Aguiar**³, Mafalda **Bourbon**^{1,2}, em nome dos investigadores
do Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar
mafalda.bourbon@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Investigação & Desenvolvimento. Grupo de Investigação Cardiovascular. Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis, INSA.

(2) Center for Biodiversity, Functional & Integrative Genomics (BioFIG). Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa.

(3) Grupo de Epidemiologia e Estatística. Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade Nova de Lisboa.

Introdução

A dislipidemia é um dos fatores de risco cardiovascular com maior prevalência na nossa população. A sua origem pode ser primária (frequentemente monogénica), secundária a outras condições patológicas, como a obesidade, diabetes *mellitus* ou hipotireoidismo ⁽¹⁾, ou até ter uma causa poligénica/ambiental ⁽²⁾. Sabendo que a dislipidemia, e outros fatores de risco, persistem até à vida adulta ^(3,4), e que a combinação de múltiplos fatores de risco está associada a um maior risco cardiovascular, é importante a identificação e estratificação do risco cardiovascular em crianças, para que a implementação de medidas terapêuticas e/ou de estilos de vida saudáveis contribuam para uma diminuição do seu risco cardiovascular ^(1,5).

A Hipercolesterolemia Familiar (FH) é a doença genética do metabolismo lipídico mais frequentemente diagnosticada em crianças e adolescentes e possui uma frequência de 1:400/500 na maioria das populações europeias ⁽⁶⁾. A FH é uma doença autossómica dominante, que resulta de mutações nos genes LDLR, APOB e PCSK9, e clinicamente caracteriza-se por concentrações muito elevadas de colesterol LDL (LDL-C) no plasma desde o nascimento ⁽⁷⁾. Os doentes com FH possuem um risco elevado de desenvolverem aterosclerose e uma doença cardiovascular prematura, no entanto a identificação precoce de crianças com FH, associado a um aconselhamento de estilos de vida saudáveis e tratamento adequado, contribuem para a redução do risco cardiovascular, justificando assim um diagnóstico precoce desta doença ^(6,8,9).

Neste sentido, a distinção entre dislipidemia monogénica e dislipidemia de causa poligénica/ambiental revela-se fundamental para a avaliação do risco cardiovascular, aconselhamento e tratamento de doentes com

dislipidemia; a dislipidemia monogénica está associada a um maior risco cardiovascular e requer a implementação precoce de terapêutica farmacológica adequada para reduzir o elevado risco cardiovascular, enquanto numa dislipidemia de causa externa, na maioria dos casos, o risco é diminuído apenas através da implementação de estilos de vida saudáveis ^(5,6,10).

Objetivo

O presente trabalho tem como objetivo avaliar e estratificar o risco cardiovascular num grupo de crianças com dislipidemia, identificar biomarcadores que permitam uma melhor distinção entre uma dislipidemia monogénica e poligénica, e com base nos resultados obtidos determinar novos critérios clínicos para a identificação de crianças com FH.

Métodos e resultados

Os principais fatores de risco cardiovascular foram analisados numa coorte de 237 crianças com diagnóstico clínico de FH (critérios de admissão adaptados de Simon Broome). Cerca de 40.0% possuíam pelo menos dois fatores de risco cardiovascular e em 37.6% foi identificada uma mutação nos genes LDLR e APOB, possuindo deste modo um diagnóstico genético de FH. As crianças com FH apresentaram marcadores aterogénicos significativamente mais elevados, como colesterol total (CT), LDL-C, razão colesterol não HDL/colesterol HDL (razão n-HDL - C-HDL-C) apoB, razão apoB/apoA1, *small dense* LDL (sdLDL) e menor concentração de partículas antiaterogénicas como colesterol HDL (HDL-C), apoA1, apoA2. O grupo de crianças com mutações de alelo nulo no gene LDLR revelou um fenótipo mais severo, apresentando níveis mais elevados de CT e LDL-C quando comparado com o grupo de crianças com mutações de alelo defeituoso. Embora não sendo estatisticamente significativo, o grupo de crianças com mutações no gene APOB apresenta níveis mais baixos de CT e LDL-C quando comparado com o grupo de crianças com mutações de alelo defeituoso. O grupo de crianças referenciadas ao estudo como *caso-index* possui um fenótipo mais severo que o grupo de crianças identificadas através do método de *cascade screening*, apresentando níveis significativamente mais elevados de CT, LDL-C e sdLDL.

As crianças nas quais não foi encontrada uma alteração causadora de doença, ou seja, sem diagnóstico genético de FH (62.4%) apresentavam uma dislipidemia menos severa e uma maior prevalência de excesso de peso/obesidade, níveis ligeiramente mais elevados de triglicéridos (TG) (estatisticamente não significativo) e níveis significativamente mais elevados de lipoproteínas associadas aos TG (apoC2, apoC3) sugerindo que os fatores externos (estilos de vida menos saudáveis, tais como maus hábitos alimentares e/ou inatividade física) poderão ser a causa subjacente da sua hipercolesterolemia.

artigos breves_ n. 6

Após a análise do perfil lipídico das crianças de acordo com o diagnóstico molecular de FH, foram selecionados parâmetros bioquímicos com diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos de modo a identificar os melhores biomarcadores que permitissem distinguir crianças com FH de crianças com outro tipo de dislipidemia não monogénica. Os valores de corte que melhor otimizam a discriminação entre estes dois grupos foram obtidos através de curvas ROC para os biomarcadores TC, LDL-C, razão apoB/apoA1, razão n-HDL-C/HDL-C, apoA1, apoB e encontram-se no **Quadro 1**. O **Gráfico 1** ilustra as curvas ROC obtidas para os 3 melhores biomarcadores; a razão apoB/apoA1, com um valor de corte ≥ 0.68 , foi identificado como sendo o melhor biomarcador ($AUC = 0.835$) para diferenciar a FH de outras dislipidemias.

Os critérios atualmente utilizados para o diagnóstico clínico de crianças com FH (*Simon Broome*) consistem em valores de corte de CT ≥ 260 mg/dL ou LDL-C ≥ 155 mg/dL, em conjunto com

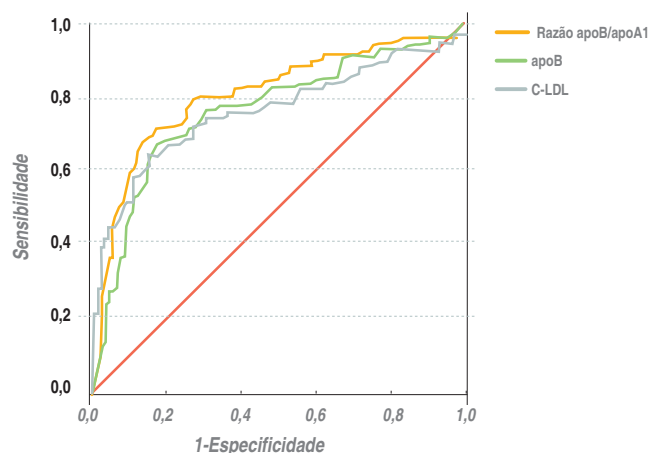
uma história familiar de hipercolesterolemia e/ou doença cardiovascular prematura. Com base nos resultados obtidos anteriormente, foram testadas 4 alterações a estes critérios que incluem a introdução de um novo biomarcador (razão apoB/apoA1 ≥ 0.68) e de um novo valor de corte para o LDL-C (≥ 190 mg/dL). Os diferentes critérios foram avaliados e comparados com o critério de *Simon Broome* atualmente utilizado, com determinação da sensibilidade e especificidade para cada um dos critérios. A utilização de CT ≥ 260 mg/dL ou LDL-C ≥ 190 mg/dL como valores de corte, em simultâneo com uma história familiar de hipercolesterolemia ou doença cardiovascular prematura, e incluindo também as crianças que não cumpram estes critérios, ou para os quais a ausência de dados como valores pré-tratamento ou história familiar, mas que possuam uma razão apoB/apoA1 ≥ 0.68 , conduziu a um aumento da sensibilidade (56% para 85%) apenas com uma ligeira diminuição na especificidade (80% para 71%).

Quadro 1: Valores de corte estabelecidos para os seis biomarcadores que melhor otimizam a discriminação entre crianças com FH e crianças sem FH; comparação da capacidade discriminativa (sensibilidade e especificidade) entre os novos valores de corte e os valores de corte de *Simon Broome*.

| Biomarcador | AUC | Valores de corte | Simon Broome |
|---------------------|-------|------------------|---|
| CT | 0.743 | 257.48 mg/dL | Sensibilidade 72,6% Especificidade 68,5% |
| LDL-C | 0.743 | 189.93 mg/dL | Sensibilidade 72,5% Especificidade 70,3% |
| Razão apoB/apoA1 | 0.835 | 0.6848 | Sensibilidade 80,0% Especificidade 76,9% |
| Razão n-HDL-C/HDL-C | 0.736 | 3.708 | Sensibilidade 71,7% Especificidade 67,4% |
| apoA1 | 0.750 | 137.5 mg/dL | Sensibilidade 73,1% Especificidade 67,4% |
| apoB | 0.820 | 96.95 mg/dL | Sensibilidade 77,9% Especificidade 76,0% |

AUC: area under the curve; CT: colesterol total; LDL-C: colesterol LDL; HDL-C: colesterol HDL; n-HDL-C: colesterol não-HDL; apoB: apolipoproteína B; apoA1: apolipoproteína A1

Gráfico 1: Curvas ROC para os três biomarcadores que melhor discriminam entre crianças com FH e crianças sem FH: razão apoB/apoA1 ($AUC=0.835$); apoB ($AUC=0.820$); LDL-C ($AUC=0.743$).



→ continua

artigos breves_ n. 6

Conclusões

Os resultados obtidos no presente trabalho comprovam que a determinação dos parâmetros apoB e apoA1, e consequentemente a determinação da razão apoB/apoA1, podem contribuir para uma melhor identificação de doentes em risco, como sugerido nas guidelines europeias ESC/EAS, para casos de dislipidemia severa ⁽⁹⁾.

A identificação precoce de crianças em risco e a estratificação do seu risco cardiovascular, em conjunto com um aumento de iniciativas de educação para a saúde, implementação de estilos de vida saudáveis e/ou tratamento farmacológico adequado em crianças com FH, terão como consequência, a longo prazo, uma redução da mortalidade por doença cardiovascular.

Referências bibliográficas:

- (1) Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. *Pediatrics*. 2011 Dec;128(Suppl 5):S213-56.
- (2) Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004 ;364(9438):937-52.
- (3) Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, et al. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med*. 1998 338(23):1650-6.
- (4) Strong JP, Malcom GT, McMahan CA, et al. Prevalence and extent of atherosclerosis in adolescents and young adults: implications for prevention from the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth Study. *JAMA*. 1999 ;281(8):727-35.
- (5) Daniels SR, Greer FR. Lipid screening and cardiovascular health in childhood. *Pediatrics*. 2008 ;122(1):198-208.
- (6) Daniels SR, Gidding SS, de Ferranti SD. Pediatric aspects of familial hypercholesterolemias: recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2011 ;5(Suppl 3):S30-7.
- (7) Goldstein JL, Hobbs H, Brown MS (eds.). *Familial Hypercholesterolaemia*. 7th ed. New York: McGraw-Hill, 1995.
- (8) DeMott K NL, Shaw EJ, Minhas R, et al. *Clinical Guidelines and Evidence Review for Familial hypercholesterolaemia: the identification and management of adults and children with familial hypercholesterolaemia*. London: National Collaborating Centre for Primary Care and Royal College of General Practitioners, 2008.
- (9) Catapano AL, Reiner Z, De Backer G, et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Atherosclerosis*. 2011 ;217(1):3-46.
- (10) Hopkins PN, Toth PP, Ballantyne CM, et al. Familial hypercholesterolemias: prevalence, genetics, diagnosis and screening recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2011 ;5(Suppl 3):S9-17.

artigos breves_ n. 7

Câncer

Câncer colo-retal hereditário: pesquisa de mutações em famílias portuguesas

Glória Isidro, Patrícia Theisen, Iris Pereira, João Gonçalves
joao.goncalves@insa.min-saude.pt

Unidade de Genética Molecular. Departamento de Genética Humana, INSA.

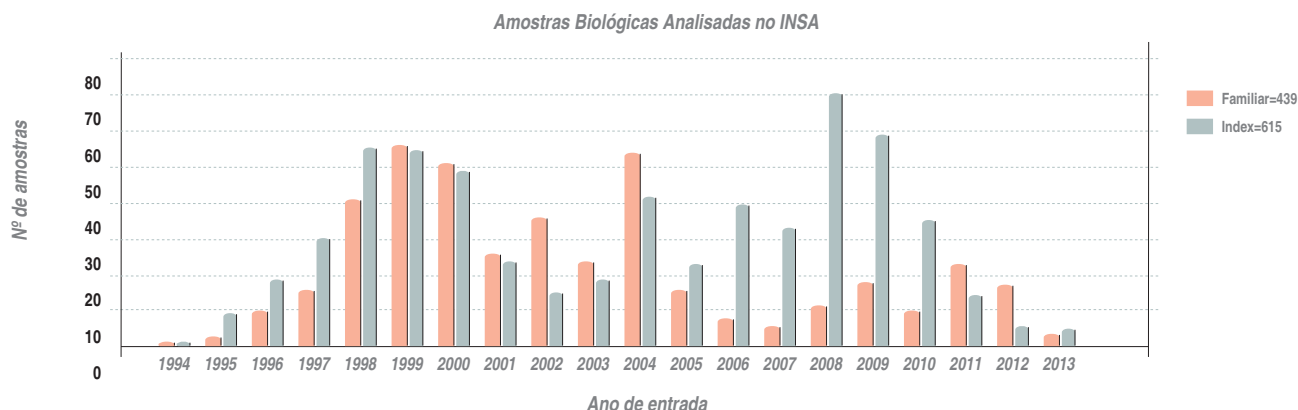
O cancro colo-retal é a segunda causa de morte por tumores malignos em Portugal, sendo que 10 a 15% dos casos estão relacionados com formas hereditárias da doença, associadas a alterações patogénicas (mutações) em vários genes de predisposição para cancro colo-retal. De entre as várias síndromes de predisposição para este tipo de cancro distinguem-se: a polipose adenomatosa familiar do cólon clássica (FAP) e atenuada (AFAP), associada a mutações germinais no gene *APC*; a polipose adenomatosa com mutações no gene *MUTYH* (MAP); o cancro colo-retal hereditário sem polipose (HNPCC), ou síndrome de Lynch, devido a mutações germinais nos genes de reparação de erros de emparelhamento do DNA, nomeadamente *MSH2* e *MLH1*; e a síndrome de Peutz-Jeghers, na qual mutações germinais no gene *STK11* podem levar também ao desenvolvimento de cancro colo-retal (1,2).

Do ponto de vista clínico, o cancro do cólon pode ser tratado com sucesso desde que detetado numa fase precoce. Assim, a implementação de programas de prevenção visando a redução da mortalidade associada a esta patologia tem como principal objetivo a deteção de lesões precursoras benignas – adenomas –, ou malignas precoces, facilmente tratáveis. A identificação da mutação causadora da doença num indivíduo afetado com cancro colo-retal hereditário (caso índice) permite aumentar a eficácia dos rastreios clínicos ao possibilitar a identificação dos familiares, portadores da mutação, que possuem assim um risco acrescido para o desenvolvimento de tumores colo-retais.

Desde 1994 que o Departamento de Genética Humana (DGH) do INSA tem estado envolvido na pesquisa de mutações no âmbito de síndromes de cancro colo-retal hereditário. Este estudo foi reforçado em 1997 com o início de um projeto em famílias portuguesas afetadas com cancro colo-retal que visava a pesquisa de mutações germinais nos genes *APC*, *MSH2* e *MLH1*. Inicialmente, este projeto consistiu numa cooperação entre vários hospitais de Lisboa, Almada, Porto, Coimbra e Madeira, o DGH e o laboratório de Genética do Instituto Português de Oncologia do Porto, tendo como financiamento externo um projeto do PRAXIS (1997-2000; PRAXIS XXI e FEDER 2/2.1/SAU/1397/95). Um dos objetivos foi identificar famílias portuguesas com FAP e HNPCC com base em critérios clínicos para posterior pesquisa de mutações nos genes implicados. Assim, no DGH foram efetuados desde 1994 até à presente data, 1054 estudos genéticos nos vários genes envolvidos em cancro colo-retal hereditário (casos índice e familiares) (Gráfico 1).

Após aconselhamento genético e consentimento informado, procedeu-se à colheita de sangue para pesquisa de mutações germinais em 273 doentes registados com suspeita de FAP (gene *APC*) e em 332 com suspeita de HNPCC sendo que destes foram pesquisados 201 casos para os genes *MSH2* e *MLH1*. Na sequência da identificação em 2003 do gene *MUTYH*, foram reavaliados, para mutações germinais neste gene, 220 doentes registados com suspeita clínica de FAP, FAP atenuada ou com adenomas múltiplos, nos quais não tinham sido encontradas mutações germinais no gene *APC*. Mais tarde, e com o objetivo de estabelecer a pesquisa de mutações no gene *STK11*, foram estudados 9 doentes caracterizados clinicamente com a síndrome de Peutz-Jeghers. No total, foram identificadas mutações germinais em 185 doentes (Gráfico 2) com a seguinte distribuição: 82 no gene *APC* (30%), 43 com mutações bialélicas em *MYH* (20%), 34 no gene *MSH2* (15%), 23 no gene *MLH1* (11%) e 3 no gene *STK11* (33%).

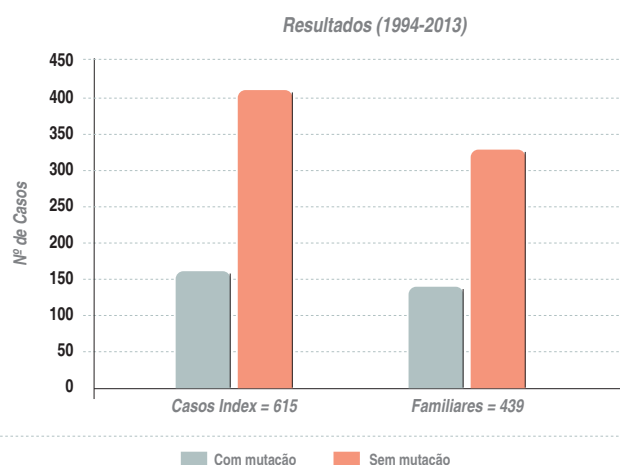
Gráfico 1 : Distribuição de amostras analisadas no Departamento de Genética Humana ao longo dos anos, com flutuações que refletem apoios financeiros e a entrada no mercado de laboratórios privados.



artigos breves_ n. 7

A possibilidade de identificar mutações em doentes com cancro colo-retal permite facultar o teste pré-sintomático aos membros da família que assim o desejem, após aconselhamento genético, bem como oferecer uma vigilância clínica mais apertada aos familiares portadores da mutação. Até à data foram já efetuados 436 testes pré-sintomáticos em familiares de doentes com mutação identificada, tendo sido detetada a presença da respetiva mutação familiar em 149 indivíduos (32%; **Gráfico 2**), nomeadamente 63/190 em *APC* (33%), 59/160 em *MSH2* (37%), 11/32 em *MLH1* (34%), 1/2 em *STK11* (50%) e 15/55 (27%) portadores de mutações bialélicas e 25/55 (45%) portadores de mutações monoalélicas para o gene *MUTYH*.

Gráfico 2 :  *Resumo dos resultados da pesquisa de mutações em 615 doentes e 439 familiares laboratórios privados.*



Estes resultados revelam a importância dos programas de rastreio genético com vista à prevenção do cancro colo-retal familiar. Por outro lado, este estudo ajudou a confirmar a existência de uma nova forma de polipose adenomatosa do cólon, devida a mutações bialélicas no gene *MUTYH* (MAP) na população portuguesa, uma vez que o DGH no INSA foi o primeiro laboratório português a efetuar a pesquisa de mutações neste gene tendo, assim, contribuído para um melhor conhecimento desta patologia a nível internacional (3,4).

A identificação e caracterização de mutações nos genes *APC*, *MUTYH*, *MSH2*, *MLH1* e *STK11* envolvidos respetivamente na polipose adenomatosa (FAP, AFAP e MAP), na HNPCC e na PJS em famílias portuguesas teve implicações a nível científico, clínico, económico e social, melhorando o conhecimento da epidemiologia das mutações e sua natureza, proporcionando um melhor entendimento do padrão de mutações presentes nos vários genes. Apesar do sucesso na implementação destes testes genéticos, o número de famílias portuguesas afetadas pelos referidos síndromes de cancro colo-retal hereditário ainda permanece desconhecido, sobretudo fora dos centros urbanos, sendo desejável um levantamento mais sistemático nos serviços clínicos e registos oncológicos.

Agradecimentos

Agradecemos a todos os que colaboraram ao longo dos anos: MG Boavida ¹, Marshall B ¹, R Carvalhas ¹, P Matos ¹, S Almeida ¹, S Claudino ¹, F Laranjeira ¹, O Antunes ¹, P Jordan ¹, JS Ramos ², F Regateiro ³, J Leite ³, F Castro e Sousa ³, J Soares ⁴, C Castro ⁵, J Giria ⁵, MJ Brito ⁵, A Medeira ⁶, R Teixeira ⁷, H Morna ⁷, C Marinho ⁸, I Veiga ⁹, S Castedo ⁹

- (1) Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Departamento de Genética Humana, Lisboa
- (2) Hospital de Stº António dos Capuchos, Lisboa
- (3) Hospital Universitário de Coimbra, Coimbra
- (4) Hospital de Stº António do Porto, Porto
- (5) Hospital Garcia D'Orta, Almada
- (6) Hospital de Stª Maria, Lisboa
- (7) Hospital Distrital do Funchal, Funchal
- (8) Hospital D Pedro, Aveiro
- (9) IPO Porto

Referências bibliográficas:

- (1) Jaspersion KW, Tuohy TM, Neklason DW, et al. Hereditary and familial colon cancer [Em linha]. *Gastroenterology*. 2010 ;138(6):2044-58. [consult. 11-11-2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3057468/>
- (2) vanWezel T, Middeldorp A, Wijnen JT, et al. A review of the genetic background and tumour profiling in familial colorectal cancer. *Mutagenesis*. 2012;27(2):239-45.
- (3) Isidro G, Laranjeira F, Pires A, et al. Germline *MUTYH* (MYH) mutations in Portuguese individuals with multiple colorectal adenomas. *Hum Mutat*. 2004;24(4):353-4.
- (4) Leite JS, Isidro G, Martins M, et al. Is prophylactic colectomy indicated in patients with MYH-associated polyposis? *Colorectal Dis*. 2005;7(4):327-31.

Estudos da toxicidade de misturas de aflatoxina M₁ e ocratoxina A numa linha celular humana

Ana Maria Tavares^{1,2}, Paula Alvito^{2,3}, Susana Loureiro⁴,
Henriqueta Louro¹, Maria João Silva¹
m.joao.silva@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Investigação e Desenvolvimento. Departamento de Genética Humana, INSA.

(2) Unidade de Investigação e Desenvolvimento. Departamento de Alimentação e Nutrição, INSA.

(3) Centro de Estudos Ambientais e Marinhos (CESAM), Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa.

(4) Departamento de Biologia (DB), CESAM, Universidade de Aveiro.

Introdução

As micotoxinas são metabolitos secundários produzidos por fungos, abrangendo mais de 500 compostos diferentes, de entre os quais se salientam as aflatoxinas (AF), a ocratoxina A (OTA), os tricotecenos, a zearalenona, as fumonisinas e a patulina⁽¹⁾. De entre as AF, a aflatoxina B₁ (AFB₁) é a mais abundante em alimentos à base de cereais e também a mais tóxica, sendo cancerígena para o homem^(2,3); o seu metabolito hidroxilado, a AFM₁, tem sido detetado em leites e derivados e a sua toxicidade e mecanismo de ação estão ainda pouco estudados^(4,5,6). A OTA contamina principalmente cereais e derivados, possuindo propriedades nefrotóxicas, hepatotóxicas, imunotóxicas, genotóxicas e possivelmente carcinogénicas para o homem^(7,8). A exposição humana a micotoxinas ocorre, principalmente, através da ingestão de alimentos contaminados e pode dar origem a patologias graves⁽⁸⁾. Em particular, a contaminação de alimentos para crianças com micotoxinas, tais como AF e OTA, tem sido motivo de grande preocupação para a saúde pública⁽⁹⁾, especialmente considerando o seu potencial para induzir efeitos genotóxicos e potencialmente

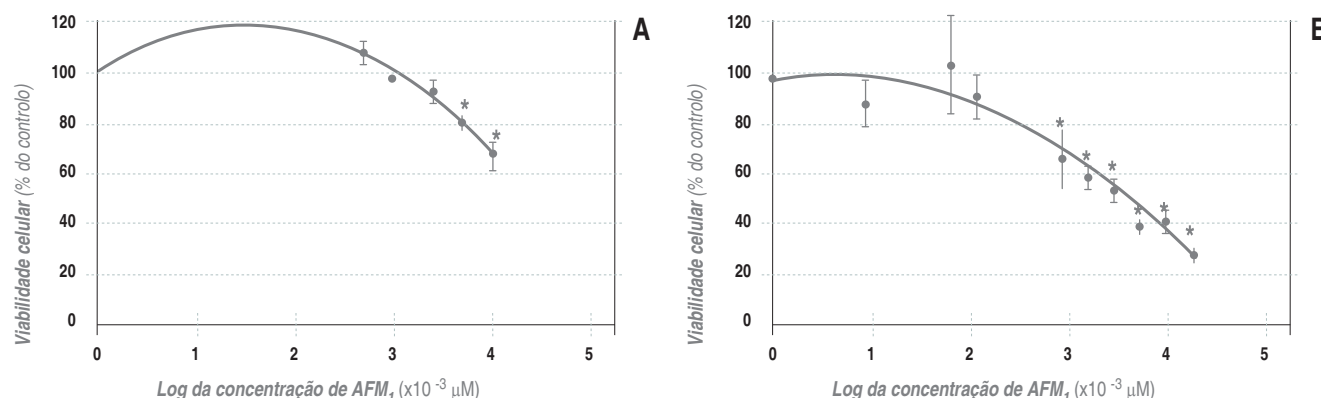
carcinogénicos. Estudos recentes têm demonstrado a possibilidade de co-ocorrência de baixas concentrações de AF e OTA em alimentos para crianças^(10,11), um grupo especialmente vulnerável, pelo que urge avaliar o efeito tóxico combinado de misturas destas toxinas e o seu potencial impacto na saúde. No entanto, são ainda escassos os estudos que abordam os efeitos de misturas e os resultados têm sido discrepantes^(12,13,14). O presente estudo teve como objetivo caracterizar os efeitos citotóxicos de misturas de AFM₁ e OTA, comparativamente aos seus efeitos individuais, utilizando como modelo experimental uma linha celular (Caco-2) derivada do epitélio intestinal humano que representa o primeiro local de contacto de ambas as toxinas no organismo, após a sua absorção por via oral.

Resultados e Discussão

A exposição de culturas de células Caco-2 a várias concentrações de AFM₁ e de OTA causou um decréscimo da viabilidade celular dependente da dose (ensaio de incorporação do vermelho neutro⁽¹²⁾, sendo que os valores das concentrações de AFM₁ e OTA necessários para causar a morte de 50% das células (IC₅₀), foram de, respetivamente, 25,7 µM e 16,98 µM (Gráfico 1).

No Gráfico 2 apresentam-se dois exemplos da citotoxicidade combinada das duas micotoxinas, relativamente ao seu efeito individual. Comparou-se o efeito observado para cada mistura com o efeito esperado, calculado a partir da toxicidade de cada micotoxina, por forma a investigar a existência de eventuais interações entre ambas, nomeadamente sinergismo, antagonismo, ou efeitos dependentes da dose. Assim, os dados experimentais foram modelados recorrendo-se a dois modelos de referência, o da Adição da Concentração (AC) e o da Ação Independente (AI). O primeiro assume que a ação combinada dos compostos com modo de ação (MoA) idêntica é a soma das suas toxicidades individuais⁽¹⁶⁾. Sabendo-se que a toxicidade da OTA pode ser mediada por uma ação lesiva direta ao nível da molécula de DNA

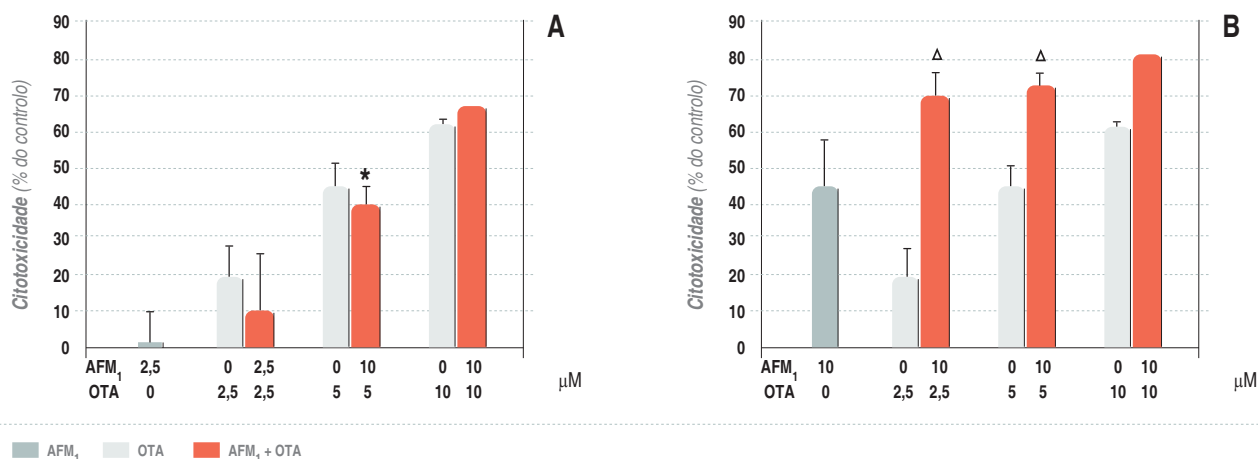
Gráfico 1: Viabilidade das células Caco-2 após exposição a (A) AFM₁ e (B) OTA durante 48h.



Cada ponto representa a média (±DP) de 3 experiências.

artigos breves_ n. 8

Gráfico 2: Efeito citotóxico combinado de diferentes doses de AFM₁ e OTA, comparativamente ao seu efeito individual em células Caco-2.



(*) citotoxicidade da mistura significativamente diferente do efeito da AFM₁; () citotoxicidade da mistura significativamente diferente do efeito da OTA.

e por uma ação indireta, através de uma interferência com o sistema redox da célula (14) e inferindo-se que a AFM₁ poderá induzir stress oxidativo na célula (5), poderia preconizar-se alguma sobreposição nos seus MoA. Contudo, considerando as incertezas ainda existentes neste domínio, assumiu-se a possibilidade de qualquer um dos dois modelos poder explicar o seu efeito tóxico combinado. Considerando o modelo mais conservador, o da AC, os resultados sugeriram que a AFM₁ e OTA, quando em mistura, produzem um efeito tóxico antagonístico. O modelo da AI - baseado na hipótese de um MoA diferente em que a probabilidade de toxicidade associada a um dado composto é independente da do outro composto - indicou um efeito dependente da dose, sugerindo que as micotoxinas em doses mais baixas são antagonistas enquanto em doses mais elevadas se poderão tornar sinérgicas. Dado que num cenário de contaminação por via alimentar o homem estará exposto a doses baixas de cada micotoxina, o efeito antagonístico será, possivelmente, o mais realista.

Conclusão

Em conclusão, o presente estudo evidenciou a existência de efeitos interativos entre as micotoxinas AFM₁ e OTA em células do epitélio intestinal humano, revelando a predominância de um padrão de antagonismo. Assim, não se espera que a mistura destas micotoxinas possa constituir um perigo para a saúde, superior ao exercido individualmente. Os estudos prosseguirão no sentido de compreender o modo de ação dessas micotoxinas quando em mistura, com vista a explicar o efeito observado. Será também relevante, em termos de saúde humana, abordar os efeitos genotóxicos combinados destas e de outras micotoxinas que podem co-ocorrer num mesmo alimento.

Agradecimentos

Este estudo foi parcialmente financiado pela FCT, através do financiamento plurianual PEST-OE/SAU/UI0009/2011 e do projeto PTDC/DTP-FTO/0417/2012.

Artigo baseado em: Tavares AM, Alvito P, Loureiro S, et al. Multi-mycotoxin determination and in vitro combined cytotoxic effects of aflatoxin M1 and ochratoxin. World Mycotoxin Journal. 2013;6(4): 375-388. doi: 10.3920/WMJ2013.1554

Referências bibliográficas:

- Koppen R, Koch M, Siegel D, et al. Determination of mycotoxins in foods: current state of analytical methods and limitations. Appl Microbiol Biotechnol. 2010;86:1595-1612.
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. Lyon: WHO/IARC, 2002:171-248. (IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans ; 82)
- Caloni F, Cortinovis C, Pizzo F, De Angelis I. Transport of Aflatoxin M(1) in Human Intestinal Caco-2/TC7 Cells. Front Pharmacol. 2012 Jun 11;3:111.
- Caloni F, Stammati A, Frigge G, et al. Aflatoxin M*1 absorption and cytotoxicity on human intestinal in vitro model. Toxicol. 2006 mar; 47(4): 409-415.
- Neal GE, Eaton DL, Judah DJ, et al. Metabolism and toxicity of aflatoxins Mj and B, in human-derived in vitro systems. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1998;151:152-158.
- Shibahara T, Ogawa HI, Ryo H, et al. DNA-damaging potency and genotoxicity of aflatoxin M1 in somatic cells in vivo of Drosophila melanogaster. Mutagenesis. 1995 may;10(3):161-4.
- Pfohl-Leschkowicz A, Manderville RA. An update on direct genotoxicity as a molecular mechanism of ochratoxin A carcinogenicity. Chem Res Toxicol. 2012 Feb 20;25(2):252-62
- Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. Clin Microbiol Rev. 2003 Jul;16(3):497-516.
- Etzel RA. What the primary care pediatrician should know about syndromes associated with exposures to mycotoxins. Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care. 2006 Sep;36(8):282-305.
- Alvito, PC, Sizoo EA., Almeida CMM, et al. Occurrence of Aflatoxins and Ochratoxin A in Baby Foods in Portugal. Food Analytical Methods. 2010;3(1): 22-30.
- Baydar T, Erkekoglu P, Sipahi H, et al. Aflatoxin B1, M1 and ochratoxin A levels in infant formulae and baby foods marketed in Ankara, Turkey. Journal of Food and Drug Analysis. 2007;15(1):89-92.
- Corcuera LA, Arbilla L, Vettorazzi A, et al. Ochratoxin A reduces aflatoxin B1 induced DNA damage detected by the comet assay in Hep G2 cells. Food Chem Toxicol. 2011 Nov;49(11):2883-9.
- Ruiz MJ, Macáková P, Juan-García A, et al. Cytotoxic effects of mycotoxin combinations in mammalian kidney cells. Food Chem Toxicol. 2011 Oct;49(10):2718-24
- Manderville RA, Pfohl-Leschkowicz A. Bioactivation and DNA adduction as a rationale for ochratoxin A carcinogenesis. World Mycotoxin J. 2008;1:357-367.
- Repetto G, Peso AD, Zurita JL. Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/ cytotoxicity. Nature Protocols. 2008;3:1125-1131.
- Jonker MJ, Svendsen C, Bedaux JJ, et al. Significance testing of synergistic/ antagonistic, dose level-dependent, or dose ratio-dependent effects in mixture-dose-response analysis. Environ Toxicol Chem. 2005 Oct;24(10):2701-13.

artigos breves_ n. 9

Cancro

Agentes infecciosos e cancro

Mónica Oleastro¹, Nuno Verdasca²

monica.oleastro@insa.min-saude.pt

(1) Laboratório Nacional de Referência das Infecções Gastrointestinais.
Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

(2) Laboratório Nacional de Referência das Infecções Sexualmente Transmissíveis.
Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

Introdução

O cancro é atualmente um problema de saúde pública major em todo o mundo, estimando-se que seja a causa de morte em cada 1 de 4 casos de óbito. Certas infeções por vírus, bactérias ou parasitas têm sido identificadas como fatores de risco para alguns tipos de cancro, sendo os agentes implicados classificados como carcinogénicos para o homem pela IARC (*The International Agency for Research on Cancer*). Estima-se que cerca de 10% dos casos de cancro nos países desenvolvidos e perto de 30% nos países em desenvolvimento tem uma etiologia infecciosa (1). Entre os agentes etiológicos mais importantes estão o vírus do papiloma humano (HPV), ao qual se atribuem 30% dos novos casos de cancro associados a agentes infecciosos, estando implicado em 10 a 15% de todos os casos de cancro que afetam as mulheres, e *Helicobacter pylori* com uma fração de 32,5% nos novos casos de cancro de etiologia infecciosa (Gráfico 1) (1,2).

Gráfico 1: Número de novos casos de cancro em 2008 atribuídos aos principais agentes infecciosos carcinogénicos para o homem segundo a IARC (*The International Agency for Research on Cancer*).

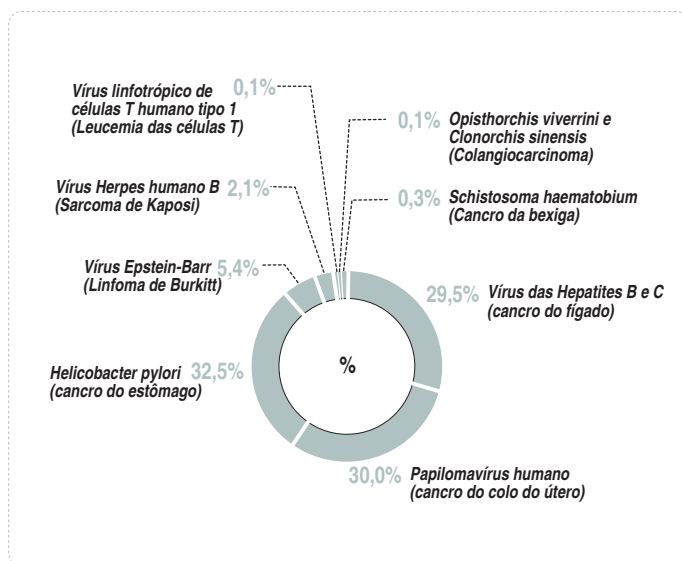


Gráfico construído com dados publicados em (1).

As infeções com microrganismos patogénicos podem aumentar o risco de cancro por diferentes vias: promoção de um processo inflamatório crónico, supressão do sistema imunitário; efeito direto no DNA das células humanas.

Neste artigo são abordados de forma sucinta aspetos epidemiológicos e mecanismos moleculares relativamente a agentes infecciosos e cancro, nomeadamente *H. pylori* e HPV, sendo dos tipos de cancro mais comuns em Portugal (Gráfico 2).

Helicobacter pylori e cancro do estômago

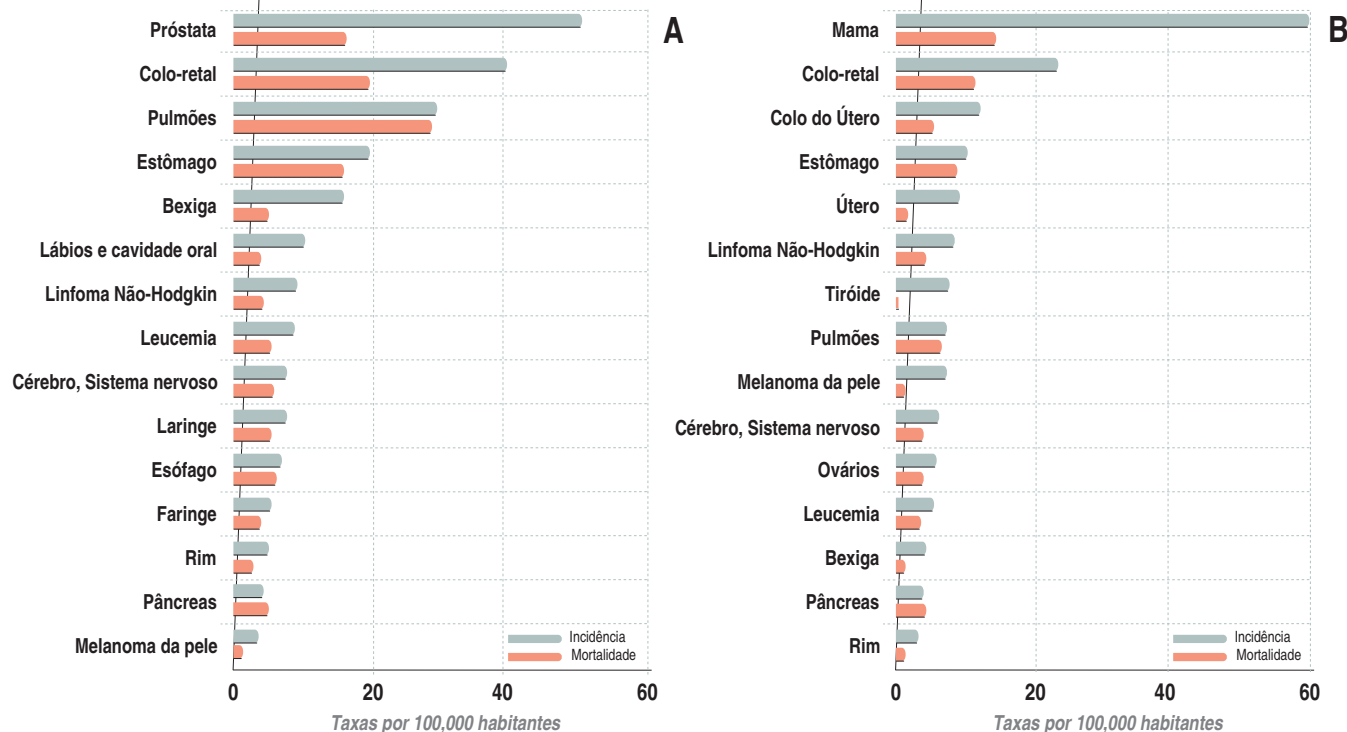
Existe uma evidência epidemiológica muito forte que mostra claramente a associação entre a condição de inflamação crónica e a subsequente transformação do tecido inflamado para uma condição maligna. O carcinoma gástrico associado à infeção por *H. pylori* é um exemplo clássico deste paradigma. *H. pylori* infecta a mucosa gástrica de mais de 50% da população mundial, sendo que Portugal apresenta uma das taxas de infeção mais elevadas da Europa, com prevalências de 80% na população adulto e 32% na população pediátrica (3,4). A infeção por *H. pylori* causa sempre uma inflamação crónica, na forma de gastrite crónica superficial, que na maioria dos casos é assintomática. Nos casos mais severos, esta inflamação pode originar quadros clínicos divergentes que incluem a úlcera péptica e o cancro gástrico, o que é determinado pela severidade e distribuição da gastrite induzida pela bactéria. O carcinoma gástrico vai ocorrer num ambiente gástrico caracterizado por inflamação severa, hipocloridria e atrofia, condições estas que precedem por décadas as transformações malignas. Um dos mecanismos que contribuem para transformação maligna são os efeitos mutagénicos dos mediadores e dos produtos resultantes do processo inflamatório. Por outro lado, a exposição crónica à bactéria e a sua capacidade para induzir uma transição de tecido epitelial para tecido mesenquimal, através da injeção nas células gástricas epiteliais de fatores bacterianos, poderá ser o evento que despoleta o processo de carcinogénese (5). Durante a adesão da bactéria às células epiteliais gástricas, através das suas múltiplas adesinas, a oncoproteína bacteriana CagA (cytotoxin-associated gene A) é translocada para o interior das células. Uma vez no interior da célula gástrica, CagA interfere com inúmeras vias de sinalização do hospedeiro, promovendo alterações a nível de mobilidade celular e invasão (aumento da proliferação celular), disrupção da polaridade celular e também alterações morfológicas profundas (6). Este mecanismo de carcinogénese promovido pela bactéria e seus fatores não está ainda totalmente esclarecido, nem estão identificadas quais as células que irão sofrer o processo de transformação maligna (7).

A progressão para o carcinoma gástrico é sempre multifactorial, dependendo para além da virulência da estirpe infetante, da suscetibilidade genética do hospedeiro e de fatores ambientais. De facto, os indivíduos infetados com estirpes mais virulentas (CagA+) e portadores de polimorfismos nos genes implicados na resposta inflamatória (p.e. as interleucinas (IL) IL1B, IL1RN, IL8, IL10), têm um risco aumentado de desenvolverem gastrite severa, gastrite atrófica progressiva, hipocloridria e finalmente cancro gástrico (8,9).

→ continua

artigos breves_ n. 9

Gráfico 2: Incidência estimada estandardizada por idade, e taxa de mortalidade para vários tipos de cancros em Portugal.



A) para o género masculino; B) para o género feminino. Adaptado de (2).

_Vírus do Papiloma Humano e o cancro do colo do útero

O cancro do colo do útero é o exemplo mais forte da associação entre um agente infeccioso e o cancro, sendo o HPV responsável por 99,7% dos casos deste tipo de cancro (10). Estima-se que, anualmente, existam 500.000 novos casos de cancro, sendo o terceiro cancro mais comum nas mulheres a nível mundial. Em alguns países menos desenvolvidos o cancro do colo do útero é mesmo a segunda causa de morte por cancro nas mulheres. Portugal possui uma elevada taxa de incidência, com cerca de 12,2 novos casos por 100.000 pessoas por ano (2) (Gráfico 2).

_Os HPV's estão classificados de acordo com o seu potencial oncogénico em HPV's de alto e de baixo risco; somente os HPV's de alto risco estão associados com os casos de cancro. Dos mais de 200 tipos identificados, 40 infetam a região anogenital, incluindo 15 HPV's de alto risco. Os HPV's de alto risco mais comuns são os genótipos 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58, sendo responsáveis por 90% dos casos de cancro do colo do útero; dentro destes, os que possuem um potencial oncogénico mais elevado são o HPV 16 e 18, estando associados a cerca de 70% dos casos (11). Na população feminina portuguesa estes dois genótipos têm uma prevalência de 1,7% e 0,4%, respectivamente (12). A infeção por HPV é a infeção de transmissão sexual mais comum. Estima-se que cerca de 70% da população seja infetada por HPV num determinado período da sua vida. A maioria dessas infeções serão subclínicas e benignas e só uma pequena parte é que irá dar origem a lesões de alto grau, podendo evoluir para cancro. 90% das infeções por HPV são

eliminadas pelo sistema imunitário num período de 3 anos após a infeção, 5% das infeções por HPV de alto risco (aproximadamente 23% das infeções por HPV são por genótipos de alto risco) persiste para além dos 3 anos e progride para uma lesão de alto grau - neoplasia intraepitelial de grau 2 e 3 (CIN 2/3) - reconhecida como lesão precursora de cancro (13). A evolução de CIN 3 para cancro invasivo é um processo lento: em 20% dos casos esta evolução ocorre após 5 anos e, em 40% dos casos, após 30 anos (14). Desde a infeção inicial até ao cancro existem vários aspetos moleculares indicativos da possibilidade da lesão evoluir para um caso de cancro do colo do útero, nomeadamente a persistência da infeção por um HPV de alto risco, sobre-expressão dos oncogenes E6/E7 e integração do DNA do HPV no genoma da célula hospedeira. A integração do DNA é considerado um ponto sem retorno no processo de carcinogénese. Com a introdução da vacina contra a infeção por HPV 16 e 18 é espetável a redução dos casos de cancro associados a estes dois tipos de HPV, que se estima ser na ordem dos 70% no caso cancro do colo do útero. O efeito da vacina na redução dos casos de cancro só se vai verificar daqui a algumas décadas, não se devendo no entanto, descurar a importância do rastreio.

_No Departamento de Doenças Infecciosas do INSA estão sediados os Laboratórios nacionais de Referência para o estudo das infeções por *H. pylori* e HPV, cujo trabalho desenvolvido tem contribuído para o melhor conhecimento destas infeções, nos seus aspetos epidemiológicos e moleculares.

→ continua

artigos breves_ n. 9

Referências bibliográficas:

- (1) de Martel C, Ferlay J, Franceschi S, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *Lancet Oncol.* 2012;13(6):607-15.
- (2) Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. (eds). Globocan 2008 v2.0, Cancer incidence and mortality worldwide : IARC CancerBase No. 10 [Em linha]. Lyon : International Agency for Research on Cancer, 2010. [consult. 14-11-2013]. Disponível em: <http://globocan.iarc.fr>
- (3) Quina MG. *Helicobacter pylori*: the Portuguese scene. Grupo de Estudo Português do *Helicobacter pylori* (GEPHP). *Eur J Cancer Prev.* 1994;3 Suppl 2:65-7.
- (4) Oleastro M, Pelerito A, Nogueira P, et al. Prevalence and incidence of *Helicobacter pylori* infection in a healthy pediatric population in the Lisbon area. *Helicobacter.* 2011;16(5):363-72.
- (5) Bessède E, Staedel C, Acuña Amador LA, et al. *Helicobacter pylori* generates cells with cancer stem cell properties via epithelial-mesenchymal transition-like changes. *Oncogene.* 2013. doi: 10.1038/nc.2013.380
- (6) Hatakeyama M. Oncogenic mechanisms of the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Nat Rev Cancer.* 2004;4(9):688-94.
- (7) Stein M, Ruggiero P, Rappuoli R, et al. *Helicobacter pylori* CagA: From Pathogenic Mechanisms to Its Use as an Anti-Cancer Vaccine. *Front Immunol.* 2013;4:328.
- (8) Oleastro M, Gerhard M, Lopes AI, et al. *Helicobacter pylori* virulence genotypes in Portuguese children and adults with gastroduodenal pathology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003;22(2):85-91.
- (9) Persson C, Canedo P, Machado JC, et al. Polymorphisms in inflammatory response genes and their association with gastric cancer: A HuGE systematic review and meta-analyses. *Am J Epidemiol.* 2011;173(3):259-70.
- (10) Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12–19.
- (11) de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, et al, on behalf of the Retrospective International Survey and HPV Time Trends Study Group. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol.* 2010;11:1048–56.
- (12) Pista A, de Oliveira CF, Cunha MJ, et al. Epidemiological study on the prevalence of HPV infection of women in Portugal. A CLEOPATRE Study. *Int J Gynecol Cancer.* 2011;21:1150-58.
- (13) Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, et al. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97:1072-79.
- (14) McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol.* 2008;9:425-434.

Formação de subprodutos de desinfecção da água e avaliação do seu potencial genotóxico: o caso dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

Miguel Pinto¹, Marlene Rebola^{1,3}, Henriqueta Louro¹, Alexandra MM Antunes², Sílvia S José³, M Raquel Rocha³, Maria João Silva¹, Ana Sofia Cardoso³
ana.s.cardoso@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Genética Humana, INSA.

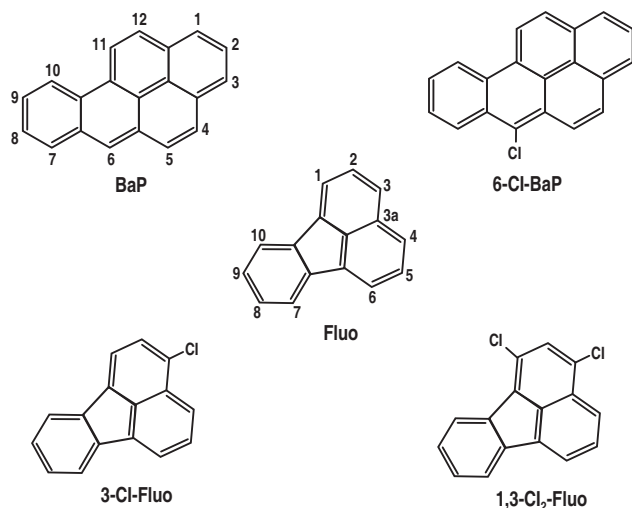
(2) Centro de Química Estrutural, Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa.

(3) Departamento de Saúde Ambiental, INSA.

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) são compostos que apresentam um elevado potencial mutagénico e carcinogénico e têm sido também classificados como desreguladores endócrinos.

As águas superficiais podem ser contaminadas com HAPs através de descargas de efluentes industriais não tratados e de águas residuais municipais. Os fogos florestais libertam, para a atmosfera, este tipo de compostos que se podem depositar nas águas, podendo também ocorrer a contaminação de águas devido à solubilização da matéria orgânica proveniente de solos poluídos. Consequentemente, a formação de HAPs clorados (Cl-HAPs) durante o processo de cloração da água é possível, permanecendo os compostos mais estáveis dissolvidos nas águas tratadas. Esta assunção é também consubstanciada pela deteção de Cl-HAPs em amostras ambientais como o ar de zonas urbanas, gases de exaustão de automóveis, resíduos de incineração industriais e, mais importante ainda, em águas tratadas para consumo humano (1,2).

Figura 1: Estruturas do BaP, 6-Cl-BaP, Fluo, 3-Cl-Fluo e 1,3-Cl₂-Fluo.



Os objetivos deste trabalho foram sintetizar e caracterizar os principais derivados clorados do benzo[a]pireno (BaP) e do fluoranteno (Fluo), desenvolver metodologias analíticas para a sua quantificação em amostras de água e analisar os seus efeitos genotóxicos em células humanas.

Os derivados clorados foram preparados utilizando um método inovador que se baseou na utilização de um sistema bifásico de água/n-hexano na presença de hipoclorito de sódio. O derivado 6-cloro-benzo[a]pireno (6-Cl-BaP) foi seletivamente obtido a partir do seu precursor BaP, enquanto que a partir do Fluo se obtiveram dois derivados clorados: 3-cloro-fluoranteno (3-Cl-Fluo) e 1,3-dicloro-fluoranteno (1,3-Cl₂-Fluo) (Figura 1). A formação dos derivados clorados do BaP e Fluo foi confirmada em soluções aquosas tratadas com o agente da cloração hipoclorito de sódio, utilizando uma metodologia cromatográfica otimizada.

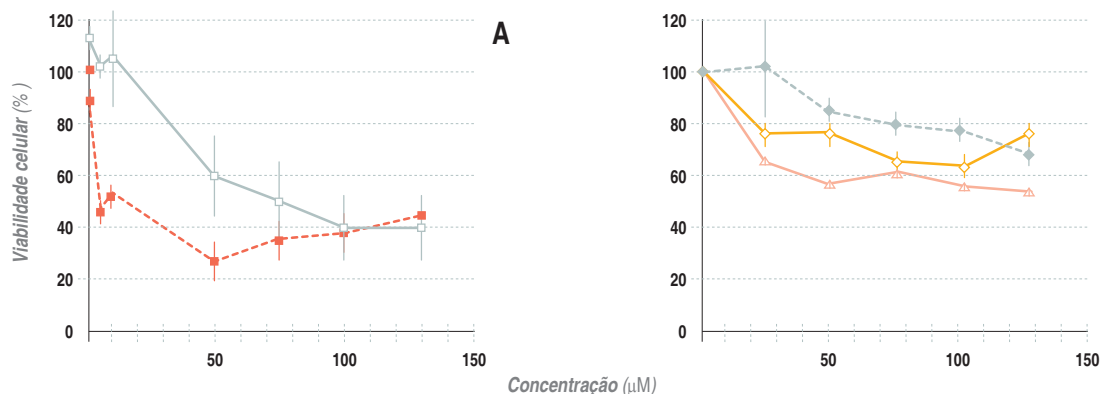
Os efeitos citotóxicos e genotóxicos dos três derivados clorados foram estudados, em comparação com os efeitos dos seus precursores BaP e Fluo, na linha celular humana HepG2, utilizando os ensaios do vermelho neutro e do cometa, respetivamente.

Por comparação dos dados de viabilidade celular, obtidos para as concentrações mais baixas testadas (10 e 50 µM), verificou-se que o BaP é cerca de duas vezes mais citotóxico do que o 6-Cl-BaP. No entanto, a exposição das células a concentrações mais elevadas (100 and 125 µM), resultou numa redução da viabilidade celular (app. 40%) semelhante para os dois compostos (e.g., p = 0,044 e 0,048, para 125 µM de BaP e 6-Cl-BaP, respetivamente). Por outro lado, não se observou qualquer efeito citotóxico do Fluo e dos seus derivados clorados nas condições testadas (Gráfico 1).

Os efeitos genotóxicos dos mesmos compostos e derivados foram analisados através do ensaio do cometa que permite, de uma forma rápida e sensível, quantificar as lesões induzidas na molécula de DNA (Gráfico 2). O 6-Cl-BaP induziu um aumento significativo da percentagem de DNA na cauda, para as concentrações de 100 µM e 125 µM (p = 0,012 e 0,017, respetivamente), por comparação com o controlo do solvente (Gráfico 2A). Os resultados obtidos demonstraram também que, para concentrações equimolares de 100 e 125 µM, o composto 6-Cl-BaP induz um nível significativamente superior de danos no DNA em relação ao BaP (p = 0,041 e 0,038, respetivamente), sugerindo um potencial genotóxico superior. Em contraste, o Fluo e os seus derivados clorados não mostraram atividade genotóxica na mesma linha celular.

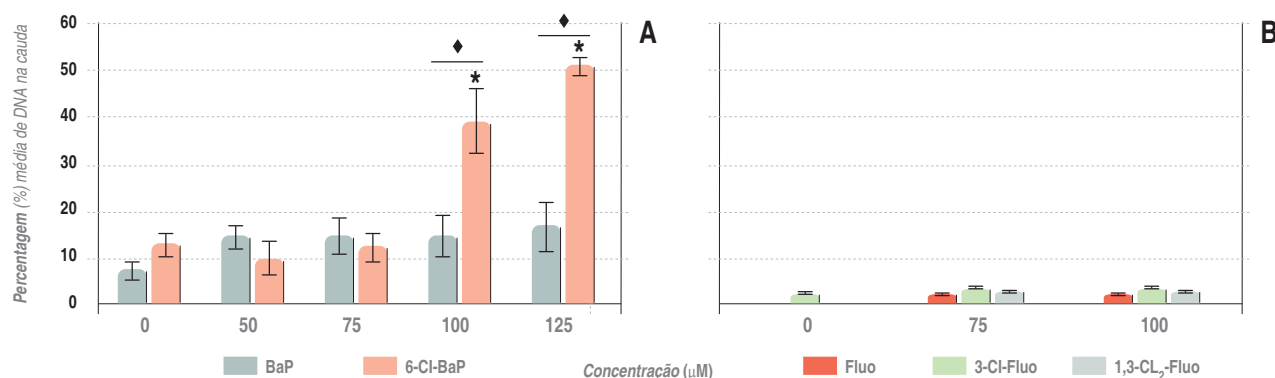
artigos breves_ n. 10

Gráfico 1: Viabilidade das células HepG2, após 24h de exposição a varias concentrações de:
(A) BaP (■) e 6-Cl-BaP (□); (B) Fluo (◆), 3-Cl-Fluo (◇) e 1,3-Cl₂-Fluo (△).



Resultados expressos como percentagem média da viabilidade celular (\pm erro padrão) de 3 experiências independentes.

Gráfico 2: Danos no DNA após exposição das células HepG2 a:
(A) BaP, 6-Cl-BaP, (B) Fluo, 3-Cl-Fluo e 1,3-Cl₂-Fluo e avaliados pelo ensaio do cometa.



0 M corresponde ao controlo do solvente. Os resultados são expressos como a percentagem média de DNA na cauda (\pm erro padrão) de 3 experiências independentes.

(*) Diferenças estatisticamente significativas quando comparadas com o controlo do solvente;

♦ Diferenças estatisticamente significativas entre concentrações equimolares de BaP e de 6-Cl-BaP.

Em conclusão:

1) Os resultados obtidos suportam a possível ocorrência de derivados clorados do BaP e do Fluo em águas, após o seu tratamento com desinfetantes clorados;

2) Os derivados 1,3-Cl₂-Fluo e 3-Cl-Fluo não se mostraram genotóxicos em células HepG2, nas condições testadas. No entanto, verificou-se que o 6-Cl-BaP, em concentrações elevadas, induziu um maior nível de danos no DNA do que o seu precursor BaP, em condições de equitoxicidade. Estes resultados sugerem que o 6-Cl-BaP pode ser um composto ainda mais perigoso que o seu precursor BaP, já classificado, pela IARC, como cancerígeno (3).

A identificação de subprodutos de desinfecção da água formados a partir de HAPs evidencia a necessidade de desenvolvimento e implementação de novos métodos de tratamento de águas mais eficazes e seguros por forma a proteger a saúde humana.

Referências bibliográficas:

- (1) Shiraiishi H, Pilkington NH, Otsuki A, et al. Occurrence of chlorinated polynuclear aromatic-hydrocarbons in tap water. Environ Sci Technol. 1985;19(7):585-90.
- (2) Ohura T, Sawada K, Amagai T, et al. Discovery of Novel Halogenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Urban Particulate Matters: Occurrence, Photostability, and AhR Activity. Environ Sci Technol. 2009 Apr 1;43(7):2269-75.
- (3) Spink DC, Wu SJ, Spink BC, et al. Induction of CYP1A1 and CYP1B1 by benzo(k)fluoranthene and benzo(a)pyrene in T-47D human breast cancer cells [Em linha]: roles of PAH interactions and PAH metabolites. Toxicol Appl Pharmacol. 2008;226(3):213-24. [consult. 14-11-2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2423327/>

artigos breves_ n. 11

Diabetes

Evolução da Taxa de incidência anual de diabetes entre 1992 e 2012 na população sob observação pela Rede “Médicos-Sentinela”

Mafalda Sousa Uva, Liliana Antunes, Baltazar Nunes,
Ana Rodrigues, Carlos Matias Dias
mafalda.uva@insa.min-saude.pt

Departamento de Epidemiologia, INSA.

Introdução

A Diabetes Mellitus é uma das mais frequentes causas de morbilidade e mortalidade a nível global (1), incluindo a retinopatia diabética, insuficiência renal e a amputação (2). As complicações cardiovasculares estão, aliás, associadas a 50 a 80% das mortes nos diabéticos (3). Em Portugal, estima-se que a prevalência de Diabetes Mellitus seja de 12,4%, (10,2% nas mulheres e 14,7% nos homens) (4) sendo o país da União Europeia com prevalência mais elevada desta doença (5).

Objetivo

Este estudo teve como objetivo analisar a evolução das estimativas da taxa de incidência de Diabetes Mellitus entre 1992 e 2012, na população sob observação pela Rede Médicos-Sentinela.

Métodos

Desenvolveu-se um estudo ecológico de séries temporais. Entre 1992 e 2012, com exceção de 2001 e 2002, os médicos de família da rede Médicos-Sentinela notificaram de forma voluntária todos os novos casos de Diabetes Mellitus nas suas listas de utentes. De 1992 a 1995

apenas os Médicos de Família do continente participaram no estudo. A Região Autónoma da Madeira e a Região Autónoma dos Açores iniciaram a participação na Rede em 1996 e 1997, respetivamente. Para cálculo das estimativas de incidência de Diabetes Mellitus foram utilizadas como denominador as populações sob observação efetiva pela rede Médicos-Sentinela nos períodos temporais em estudo. As taxas de incidência foram ajustadas à distribuição etária da população Portuguesa, segundo as estimativas do Instituto Nacional de Estatística (6). As estimativas da incidência são apresentadas por 100.000 habitantes, por triénio, e desagregados por sexo e grupo etário.

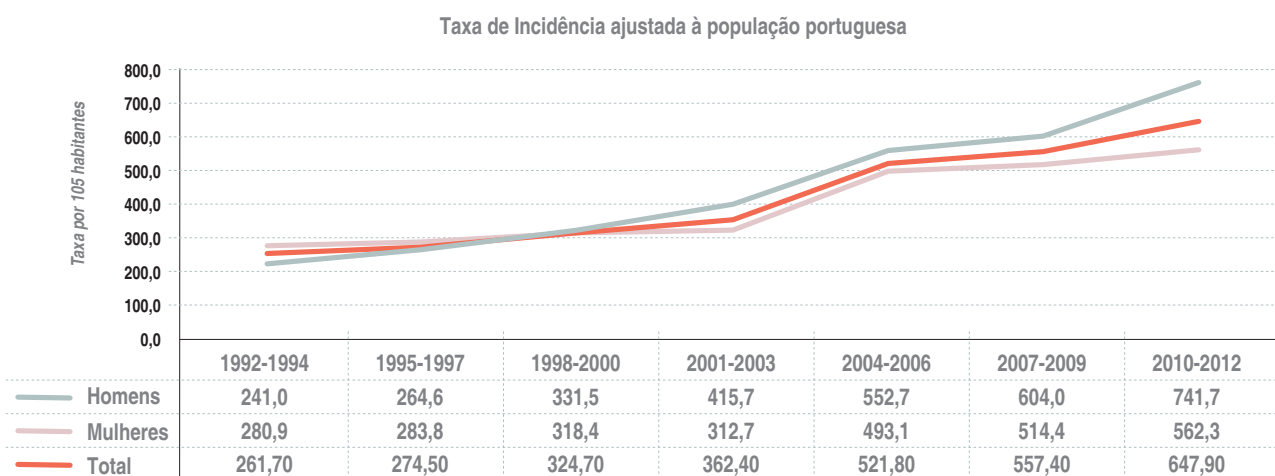
Resultados

Verificou-se um aumento da taxa de incidência anual de 261,7/10⁵ habitantes [IC95% 248,1 – 275,8] em 1992-1994 para 647,9/10⁵ habitantes [IC95% 599,7 – 699,1] em 2010-2012. Até 1998-2000, a taxa de incidência foi superior nas mulheres, porém, após 1998-2000 e até 2010-12, passou a ser mais elevada nos homens (Gráfico 1).

Os valores mais elevados das taxas de incidência de Diabetes Mellitus verificaram-se nos grupos etários mais avançados, designadamente 55-64 anos e 65-74 anos, em ambos os sexos (Gráficos 2 e 3). A incidência mais elevada de doença no sexo feminino, verificou-se no grupo etário 65-74 anos, (Gráfico 3), enquanto nos homens foi o grupo etário 55-64 anos o mais atingido (Gráfico 2).

A incidência da Diabetes Mellitus aumentou mais pronunciadamente a partir do período 2001-2003 nos grupos etários 45-54, 55-64, 65-74, +75 anos. Neste período, o maior aumento da taxa de incidência em todos os períodos estudados foi observado nos homens, no grupo etário dos 55-64 anos.

Gráfico 1: Evolução das taxas de incidência de Diabetes Mellitus na rede Médicos Sentinela, por sexo.



artigos breves_ n. 11

Gráfico 2: Evolução das taxas de incidência de Diabetes Mellitus nos homens por grupo etário.

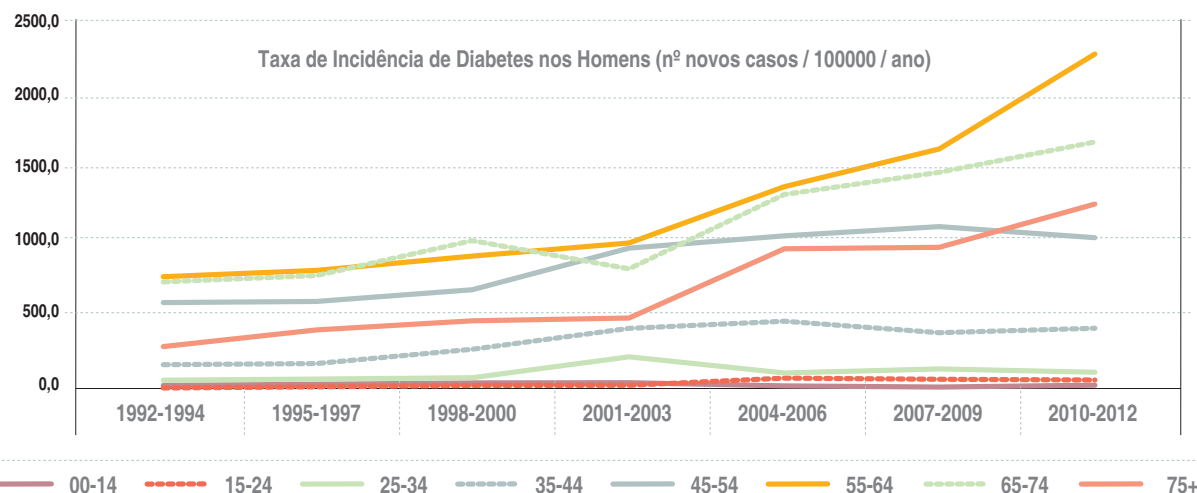
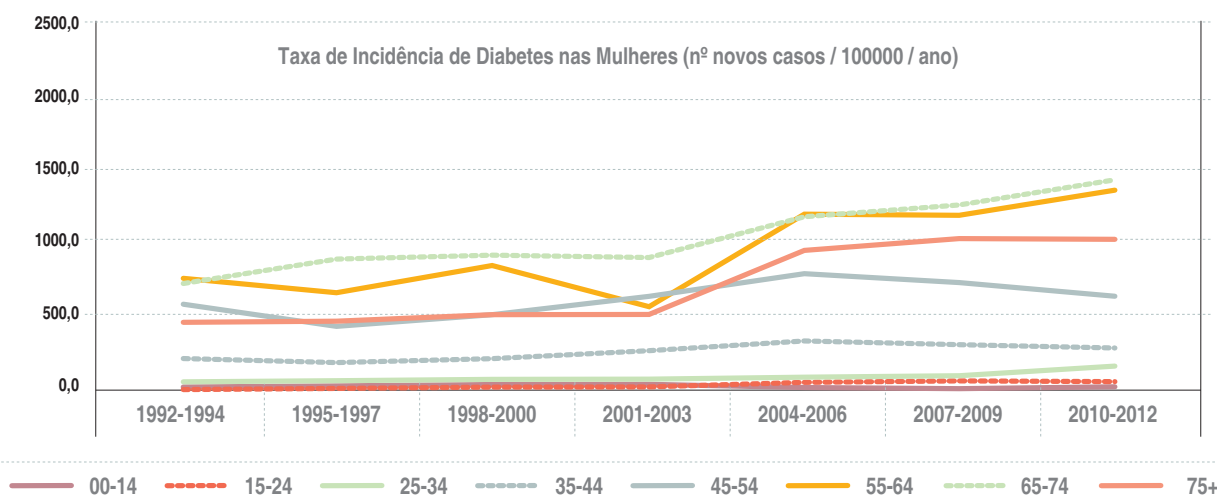


Gráfico 3: Evolução das taxas de incidência de Diabetes Mellitus nas mulheres por grupo etário.



_Discussão

A tendência crescente da taxa de incidência de Diabetes Mellitus observada entre 1992 e 2012 encontra-se em concordância com outros estudos realizados com dados da Rede MS, que estimaram a prevalência desta doença em 2% em 1993, e em 5,5% em 2005 (7). A tendência crescente observada poderá estar relacionada, por um lado, com um acréscimo da frequência de obesidade em Portugal (8), uma vez que a obesidade é conhecida como um dos principais fatores de risco da Diabetes Mellitus do adulto (2) e, por outro lado, com o envelhecimento populacional cada vez mais acentuado nos últimos anos, uma vez que as estimativas de incidência de Diabetes Mellitus neste estudo são superiores em idades mais avançadas e existe evidência global de que a frequência desta doença aumenta com a idade (9).

A inversão das estimativas de incidência de Diabetes Mellitus entre os sexos, que até 1998-2000 são superiores no sexo feminino, e a partir desse período são superiores no sexo masculino, poderá estar relacionada com um aumento do número de casos diagnosticados nos homens, relacionado com a maior procura de cuidados de saúde em anos mais recentes, ou, por outro lado, devido a eventuais alterações positivas nos hábitos alimentares nos últimos anos, mais acentuadas nas mulheres (5,10) ou, ainda, a uma maior frequência de obesidade nos homens (5).

A não diferenciação entre os diferentes tipos de Diabetes Mellitus utilizada na definição de caso nesta análise impede a estimativa da incidência e tendências das diferentes apresentações da doença. No entanto, a observação de aumentos apreciáveis na incidência a partir dos 55-64 anos indicia que o maior contributo de casos notificados seja devido a diabetes de tipo II.

→ continua

artigos breves_ n. 11

Referências bibliográficas:

- (1) World Health Organization. Causes of death 2008: data sources and methods [em linha]. Geneva: WHO 2011. [consult. 27.05.2013]. Disponível em: http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/cod_2008_sources_methods.pdf
- (2) Deshpande AD, Harris-Hayes M, Schootman M. Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. *Phys Ther.* 2008;88(11):1254-64.
- (3) Gakidou E, Mallinger L, Abbott-Klafter J, et al. Management of diabetes and associated cardiovascular risk factors in seven countries [Em linha]: a comparison of data from national health examination surveys. *Bull World Health Organ.* 2011;89(3):172-83. [consult. 04-11-2013]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3044248/>
- (4) Gardete Correia L, Boavida, JM, Fragoso de Almeida, JP, et al. Diabetes: Factos e Números 2012 - relatório anual do Observatório Nacional da Diabetes [Em linha]. Lisboa: Sociedade Portuguesa de Diabetologia, 2012. [consult. 04-11-2013]. Disponível em: <http://www.ulsm.min-saude.pt/ResourcesUser/Documentos/i018361.pdf>
- (5) Organisation for Economic Co-operation and Development. Health at a Glance: Europe 2012 [Em linha]. Paris : OECD , 2012. [consult. 04-11-2013]. Disponível em: <http://www.oecd.org/health/healthataglanceeurope.htm>
- (6) Instituto Nacional de Estatística. Dados estatísticos [Em linha]. Disponível em: http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_base_dados&contexto=bd&selTab=tab2 [consult. 04.11.2013]
- (7) Falcão IM, Pinto C, Santos J, et al. Estudo da prevalência da diabetes e das suas complicações numa coorte de diabéticos portugueses: um estudo na rede Médicos-Sentinelas. *Rev Port Clin Geral.* 2008; 24:679-92.
- (8) Marques-Vidal P, Paccaud F, Ravasco P. Ten-year trends in overweight and obesity in the adult Portuguese population, 1995 to 2005. *BMC Public Health.* 2011; 11:772.
- (9) Harbers MM, Achterberg PW (eds). Europeans of retirement age: chronic diseases and economic activity [Em linha]. National Institute for Public Health and the Environment : BA Bilthoven, 2012. [consult. 04-11-2013]. Disponível em: http://ec.europa.eu/health/major_chronic_diseases/docs/rivm_report_retirement_en.pdf
- (10) Direção-Geral da Saúde. Portugal - Alimentação Saudável em números - 2013 [Em linha]. Lisboa : DGS, 2013. [consult. 04-11-2013]. Disponível em: <http://www.dgs.pt/estatisticas-de-saude/publicacoes/portugal-alimentacao-saudavel-em-numeros-2013.aspx>

Diagnóstico genético da diabetes tipo MODY na população portuguesa

Gisela Gaspar¹, Filomena Seuanes¹, João S Duarte²,
Dircea Rodrigues³, Carolina Moreno³, Sofia Gouveia³,
Goreti Lobarinhas⁴, Paula Bogalho⁵, Ana Agapito⁵,
Mafalda Bourbon¹

gisela.gaspar@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças
Não Transmissíveis, INSA.

(2) Serviço de Endocrinologia, Hospital Egas Moniz.
(Centro Hospitalar Lisboa Ocidental, EPE).

(3) Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Hospitais da
Universidade de Coimbra, EPE.

(4) Serviço de Pediatria, Hospital Santa Maria Maior, EPE- Barcelos.

(5) Serviço de Endocrinologia, Hospital Curry Cabral
(Centro Hospitalar Lisboa Central, EPE).

Introdução

A diabetes tipo MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young) é um tipo de diabetes *mellitus* autossómica dominante, monogénica e geneticamente heterogénica. É caracterizada por uma manifestação precoce (na infância, adolescência ou em adultos jovens até aos 25 anos), por uma transmissão autossómica dominante (com pelo menos 3 gerações afetadas pela diabetes), por uma apresentação não insulino-dependente durante um período de pelo menos 2 anos e corresponde a uma alteração na função da célula β pancreática (1). Estima-se que, na Europa, cerca de 2% dos diabéticos sejam do tipo MODY (2). Admitindo que em Portugal existem mais de 600.000 doentes diabéticos, pelo menos cerca de 12.000 destes terão MODY, embora podendo estar classificados como diabéticos do tipo 1 ou do tipo 2.

Estão identificadas alterações em seis genes diferentes, dando origem aos subtipos MODY1-6. Cinco destes genes codificam para fatores de transcrição (MODY1, 3, 4, 5, e 6), expressos na célula β pancreática e um deles codifica para a enzima glucoquinase (GCK) (MODY2) (3). Doentes com mutações no gene da glucoquinase (MODY2) são geralmente assintomáticos, apresentam uma hiperglicemia ligeira e estável desde o nascimento, necessitando raramente de intervenção terapêutica e apresentam um baixo risco de complicações. Por outro lado, os doentes portadores de mutações nos genes que codificam para os fatores de transcrição HNF1A (MODY3) e HNF4A (MODY1) apresentam um défice progressivo na secreção de insulina que resulta frequentemente numa hiperglicémia progressiva e grave na idade adulta (4). MODY2 e

MODY3 constituem os subtipos mais comuns na Europa. Os diferentes subtipos de MODY apenas podem ser determinados através do diagnóstico molecular. O diagnóstico genético pode alterar o tratamento, pois os portadores de mutações no gene GCK raramente necessitam de medicação, enquanto os portadores de mutações nos genes HNF1A e HNF4A são sensíveis à sulfonilureia. Assim, os doentes MODY2 e MODY3 diferem, não só na alteração genética, mas também no facto de necessitarem de diferentes abordagens terapêuticas (5). Devido ao número de genes envolvidos, existe uma grande heterogeneidade clínica entre os doentes MODY e a cada gene está associado um fenótipo

Metodologia

Foram recrutados para este estudo 19 casos índice com diagnóstico clínico de diabetes tipo MODY (idades de diagnóstico entre 4 e 44 anos) e 10 familiares, provenientes de várias consultas de pediatria, endocrinologia e nefrologia de vários centros a nível nacional.

Para identificação dos diferentes subtipos MODY foram estudados os genes HNF4A (MODY1), GCK (MODY2), HNF1A (MODY3) e HNF1B (MODY5). Conforme a informação clínica o estudo foi dirigido inicialmente para os genes GCK ou HNF1A. Quando não foi encontrada nenhuma alteração, foram estudados os restantes genes. Fragmentos contendo cada exão e regiões de *splicing* foram amplificados por PCR e sequenciados diretamente, para identificação de pequenas alterações. A técnica de MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*), para deteção de grandes deleções/duplicações nos genes envolvidos, está a ser otimizada. A metodologia utilizada foi desenvolvida de acordo com o consenso do Grupo MODY (6). O controlo de qualidade externo da EMQN (*European Molecular Genetics Quality Network*) é também realizado no nosso laboratório pelas mesmas metodologias.

Resultados

Dos 19 doentes recebidos, em 17 o estudo molecular para pesquisa de pequenas alterações já foi realizado e em 12 foi encontrada uma possível mutação causadora de doença. Todas as alterações identificadas são únicas e só foram encontradas num caso índice: 10 foram anteriormente descritas e 2 são novas (Tabela 1). Das 12 alterações, 7 encontram-se no gene GCK (Figura 1), 4 no gene HNF1A e 1 no gene HNF1B (Tabela 1). O doente com alteração no gene HNF1B, assim como a sua irmã, sofreram um transplante renal em idade jovem, o que orientou o estudo molecular logo para este gene. O estudo de grandes rearranjos nos 5 casos índice, em que não foi encontrada uma alteração pontual, está em curso. Adicionalmente foram identificados 6 familiares provenientes de 6 famílias diferentes, com as alterações encontradas; das restantes famílias ainda não foi possível estudar os seus familiares.

Os estudos familiares são de elevada importância, pois permitem identificar o mais precocemente possível outros familiares afetados e confirmar a co-segregação de uma alteração funcional com o fenótipo na família.

Conclusão

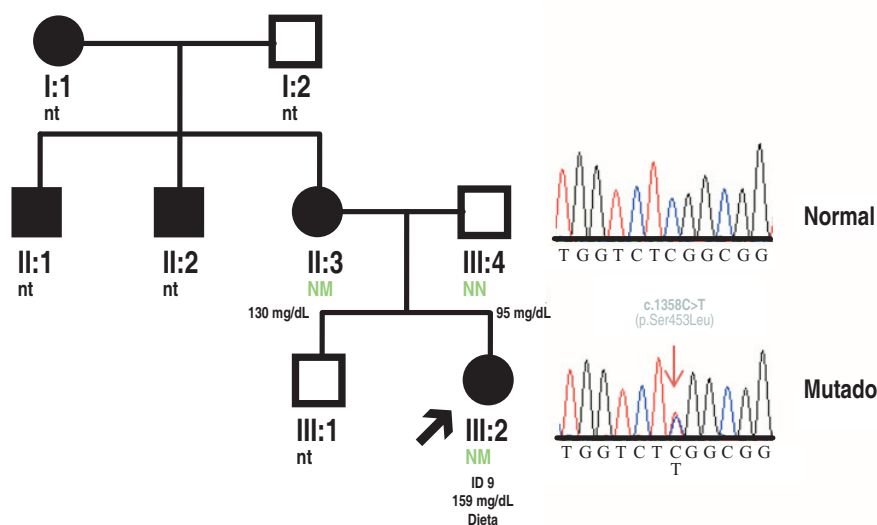
É importante efetuar o diagnóstico genético dos doentes com diagnóstico clínico de MODY, já que este permite a confirmação do diagnóstico da diabetes monogénica, a definição do subtipo, adiciona informação relativamente ao prognóstico, fundamenta a utilização da terapêutica adequada de modo a minimizar os efeitos da diabetes e ainda permite a determinação do risco para os familiares dos indivíduos afetados.

artigos breves_ n. 12

Tabela 1: Mutações detetadas em 12 casos índice das 19 famílias estudadas.

| Gene | Tipo | Localização | Alteração | Referência |
|-------|----------|-------------|------------------------|--------------|
| GCK | Missense | Exão 3 | c.214G>A (Gly72Arg) | (7) |
| GCK | Missense | Exão 4 | c.372C>A (Asp124Glu) | Não descrita |
| GCK | Missense | Exão 5 | c.544G>A (Val182Met) | (8) |
| GCK | Missense | Exão 7 | c.757G>C (Val253Leu) | Não descrita |
| GCK | Missense | Exão 10 | c.1358C>T (Ser453Leu) | (9) |
| GCK | Deleção | Intrão 5 | c.579+1del33 | (10) |
| GCK | splicing | Intrão 2 | c.209-8G>A | (11) |
| HNF1A | Missense | Exão 1 | c.92G>A (Gly31Asp) | (12) |
| HNF1A | Missense | Exão 2 | c.391C>T (Arg131Trp) | (13) |
| HNF1A | Sinónima | Exão 4 | c.864G>C (Gly288Gly) | (14) |
| HNF1A | Deleção | Exão 4 | c.872delC (p.Pro291fs) | (15) |
| HNF1B | Missense | Exão 4 | c.827G>A (Arg276Gln) | (16) |
| HNF1B | Inserção | Intrão 8 | IVS8+48insC | (17) |

Figura 1: Árvore genealógica de uma família com diabetes tipo MODY, subtipo MODY2.



A seta indica o caso índice. Os símbolos pretos representam os indivíduos com diagnóstico clínico de diabetes. N e M representam o alelo normal e o alelo mutado, respetivamente.

Por baixo dos símbolos estão representados a idade de diagnóstico (ID) em anos e os valores da glicémia em jejum em mg/dL. No caso índice, está indicado o tratamento com dieta.

À direita da árvore genealógica encontra-se a sequência de parte do exão 10 do gene GCK de um indivíduo normal e do caso índice onde se observa a alteração C>T na posição c.1358 que resulta na alteração de aminoácido p.Ser453Leu. Foi detetada a presença desta alteração, em heterozigotia, no caso índice (III:2) e no familiar diabético estudado (II:3). No familiar não diabético (II:4) foi verificada a sua ausência confirmando a co-segregação da alteração com o fenótipo.

artigos breves_ n. 12

Referências bibliográficas:

- (1) Fajans SS, Bell GI, Polonsky KS. Molecular Mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *N Engl J Med*. 2001;345(13):971-980.
- (2) Hattersley AT. Heterogeneity in type 2 diabetes: lessons from maturity-onset diabetes of the young. *Diabetic Rev Intern*. 1998;15:15-24.
- (3) McKinney J, Cao H, Behme MT. Maturity-onset diabetes of the young (MODY) mutation in type 2 diabetes and latent autoimmune diabetes of the adult. *Diabetes Care*. 2003;26(12):3358-3359.
- (4) Owen KR, Hattersley AT. Maturity-onset diabetes of the young: from clinical description to molecular genetic characterization. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2001;15(3):309-323.
- (5) Owen KR, Shepherd M, Stride A, et al. Heterogeneity in young adult onset diabetes: aetiology alters clinical characteristics. *Diabet Med*. 2002;19(9):758-761.
- (6) Ellard S, Bellanné-Chantelot C, Hattersley AT, et al. Best Practice guidelines for the molecular genetic diagnosis of maturity-onset diabetes of the young. *Diabetologia*. 2008;51(4):546-553.
- (7) Lehto M, Wipemo C, Ivarsson SA, et al. High frequency of mutations in MODY and mitochondrial genes in Scandinavian patients with familial early-onset diabetes. *Diabetologia*. 1999; 42(9):1131-1137.
- (8) Froguel P, Zouali H, Vionnet N, et al. Familial hyperglycemia due to mutations in glucokinase. Definition of a subtype of diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993;328(10):697-702.
- (9) Thomson KL, Gloyn AL, Colclough K, et al. Identification of 21 novel glucokinase (GCK) mutations in UK and European caucasians with maturity-onset diabetes of the young (MODY). *Hum Mutat*. 2003;22(5):417.
- (10) Hager J, Blanché H, Sun F, et al. Six mutations in the glucokinase gene identified in MODY by using a nonradioactive sensitive screening technique. *Diabetes*. 1994;43(5):730-733.
- (11) Cao H, Shorey S, Robinson J, et al. GCK and HNF1A mutations in Canadian families with maturity onset diabetes of the young (MODY). *Hum Mutat*. 2002;20(6):478-9.
- (12) Chèvre JC, Hani EH, Boutin P et al. Mutation screening in 18 caucasian families suggest the existence of other MODY families. *Diabetologia*. 1998;41(9):1017-1023.
- (13) Glucksmann MA, Lehto M, Tayber O, et al. Novel mutations and a mutational hotspot in the MODY3 gene. *Diabetes*. 1997;46(6):1081-1086.
- (14) Yang Z, Wu SH, Zheng TS, et al. Identification of four novel mutations in the HNF-1A gene in Chinese early-onset and/or multiplex diabetes pedigrees. *Chin Med J (Engl)*. 2006;119(13):1072-1078.
- (15) Vaxillaire M, Rouard M, Yamagata K, et al. Identification of nine novel mutations in the hepatocyte nuclear factor 1 alpha gene associated with diabetes in patients with maturity-onset diabetes of the young (MODY3). *Hum Mol Genet*. 1997;6(4):583-586.
- (16) Edghill EL, Bingham C, Ellard S, et al. Mutations in hepatocyte nuclear factor-1 beta and their related phenotypes. *J Med Genet*. 2006; 43(1):84-90.
- (17) Wang C, Fang Q, Zhang R, et al. Scanning for MODY5 gene mutations in chinese early onset or multiple affected diabetes pedigrees. *Acta Diabetol*. 2004;41(4):137-145.

Alergenicidade de soja e milho geneticamente modificados é equivalente à das variedades controlo

Cátia **Fonseca**, Maria Margarida **Oliveira**, Rita **Batista**
catia.fonseca@insa.min-saude.pt

Departamento de Alimentação e Nutrição, INSA.

Introdução

A engenharia genética (também denominada tecnologia de DNA recombinante) permite a transferência de genes entre organismos não relacionados, um feito impossível de obter através do melhoramento convencional. Como resultado um organismo geneticamente modificado (OGM) conterá uma ou mais características modificadas ou adicionais, codificadas pelos genes introduzidos/ alterados. Até à presente data, na União Europeia, são apenas 5 as culturas geneticamente modificadas (GM) aprovadas para consumo humano - a soja, o milho, a colza, o algodão e a beterraba - e basicamente duas as características que se têm introduzido neste tipo de alimentos - a tolerância a herbicidas e a resistência a insetos (<http://www.gmo-compass.org>). Para a tolerância a herbicidas são essencialmente utilizados dois genes, o gene CP4EPSPS e o gene PAT que conferem, respetivamente, tolerância aos herbicidas glifosato (também conhecido por Roundup) e L-fosfinitricina (também denominado PPT, glufosinato de amónio, BASTA ou Bialaphos) ⁽¹⁾. Relativamente à resistência a insetos a nível comercial têm sido basicamente utilizados genes Cry provenientes de *Bacillus thuringiensis* (muitas vezes também designados de genes Bt) ⁽²⁾.

Os benefícios desta nova tecnologia são potencialmente ilimitados e têm vindo a ser comprovados através da criação de espécies vegetais mais produtivas, mais nutritivas, mais resistentes a pragas etc. Apesar dos comprovados potenciais benefícios, a utilização da tecnologia de DNA recombinante, na produção de alimentos, tem levantado enorme preocupação por parte dos consumidores ⁽³⁾.

As alergias alimentares são um problema nutricional severo em adultos e crianças, podendo ser causadas por qualquer proteína contida num alimento. A potencial alergenidade dos alimentos GM é uma das principais preocupações dos consumidores. É, assim, de extrema importância, avaliar os possíveis efeitos pleiotrópicos da expressão das novas proteínas, introduzidas nos alimentos GM, em termos de potencial alérgico.

Objetivo

Foi objetivo deste trabalho, comparar o potencial alérgico de amostras diferentes de soja e milho GM, aprovadas para consumo humano na União Europeia, com o dos seus controlos não geneticamente modificados. Pretendemos ainda contribuir para a identificação de novos potenciais alérgenos nas amostras em estudo.

Métodos

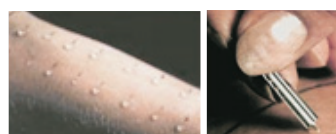
Neste trabalho foram utilizadas diferentes técnicas e abordagens:

Real Time RT-PCR

Quantificámos a expressão de alérgenos já conhecidos em amostras de milho MON810 geneticamente modificado vs controlo, ao longo do desenvolvimento da semente (10, 16 e 23 dias após polinização).

Teste de "prick"

Avaliámos a reação de indivíduos com alergia alimentar a extratos proteicos de amostras de milho (Bt11, Bt176, T25 e MON810) e soja (RoundUpReady) GM, em comparação com os controlos, não modificados.



Ensaio de Western com plasmas humanos e identificação por Espectrometria de massa

Comparámos a reação das IgE de indivíduos alérgicos ao milho e soja, às amostras em teste (milho MON810 e soja Roundup Ready) com a reação aos respetivos controlos. Esta abordagem compreendeu 3 fases:

1ª Fase: Separação das proteínas por electroforese bidimensional em gel de poliácridamida e subsequente transferência para membrana de Nitrocelulose.

2ª Fase: Ensaio de Western blot utilizando plasmas de pacientes alérgicos ao milho e soja (IgE immunoblot). Esta fase teve como objetivo comparar a ligação entre as IgE presentes nos plasmas testados e as proteínas dos alimentos GM vs. controlos não geneticamente modificados.

3ª Fase: Identificação, por espectrometria de massa, das proteínas reativas (Parceria com o Centre de Recherche Public - Gabriel Lippmann). Nesta fase pretendeu-se não só identificar as potenciais diferenças identificadas na fase anterior, mas também contribuir para a identificação de novos potenciais alérgenos da soja e milho.

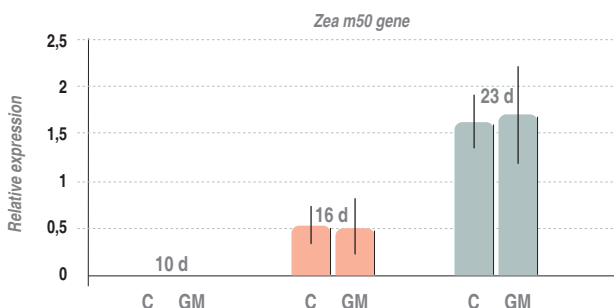
Resultados:

Real Time RT-PCR

No **Gráfico 1** estão apresentados os resultados referentes à quantificação do alérgeno de milho Zea m50, ao longo do desenvolvimento da semente. Não foram encontradas diferenças significativas de expressão deste alérgeno entre a amostra Controlo (C) e a amostra GM (milho MON810), em nenhum dos 3 estádios de desenvolvimento analisados. Este mesmo resultado foi observado para todos os outros alérgenos de milho testados (Zea m14, Zea m25, Zea m27, Zea m50, Trypsin Inhibitor) ⁽⁴⁾.

artigos breves_ n. 13

Gráfico 1: ↓ Resultados da expressão relativa obtida por “Quantitative real time RT-PCR” do alergénio Zea m50 ao longo do desenvolvimento da semente.



10d- 10 dias após polinização; 16d- 16 dias após polinização;
23d- 23 dias após polinização; C- Controlo; GM- Milho MON810 geneticamente modificado.

Teste de “prick”

Apenas os indivíduos com alergia ao milho e/ou soja apresentaram reatividade aos extratos proteicos em teste, no entanto, nenhum dos indivíduos reagiu diferentemente às amostras GM vs controlos. Todos os voluntários apresentaram halos superiores a 3mm para o controlo positivo, histamina, e nenhum reagiu ao controlo negativo. Na **Tabela 1** estão sumarizados os resultados obtidos (5).

Tabela 1: ↓ Resultados dos testes de “prick”.

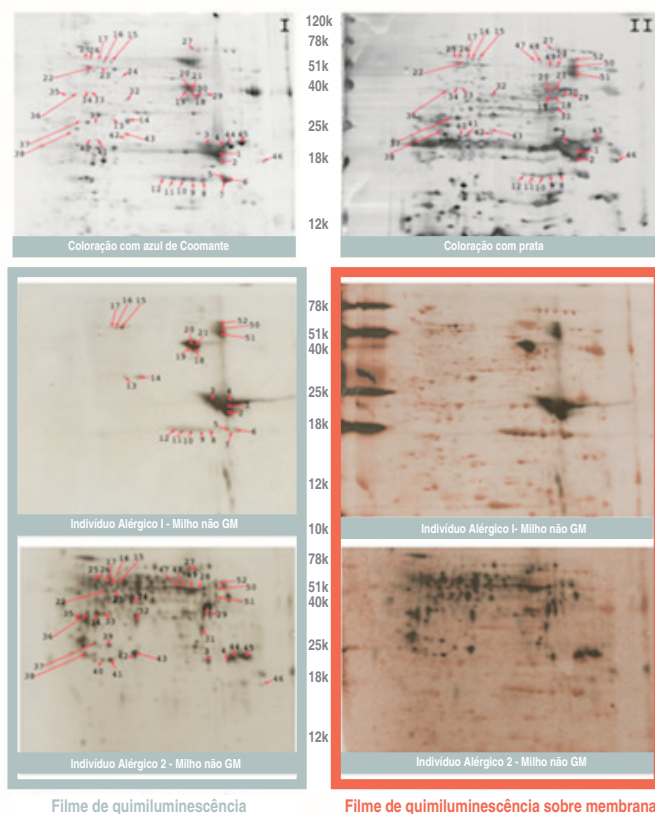
| Proteína introduzida: | Teste de Prick | |
|-----------------------|----------------------|-------------------------|
| | Número de Indivíduos | Respostas Diferenciadas |
| PAT | 77 | 0 |
| Cry1A(b) | 77 | 0 |
| CP4EPSPS | 27 | 0 |

PAT- Phosphotricine acetyl transferase;
CP4EPSPS- CP4-5-Enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase.

Ensaio de Western com plasmas humanos e identificação por Espectrometria de massa

Os indivíduos envolvidos apresentaram reações diversas contra o proteoma das amostras testadas (4,6). Um exemplo disso está patente nos resultados presentes na **Figura 1**, onde se constatam reações dispare dos dois indivíduos representados contra uma mesma amostra de milho. Este resultado veio comprovar a enorme diversidade de proteínas alergénicas presentes nas amostras testadas (soja e milho). Apesar desta diversidade de reação entre indivíduos, constatou-se a ausência de diferenças significativas entre a reação dos indivíduos em teste contra as amostras geneticamente modificadas quando comparadas com a reação aos respetivos controlos.

Figura 1: ↓ Exemplo de um ensaio de reactividade das IgE de dois indivíduos alérgicos ao milho, contra uma amostra de milho não GM.



I e II-Electroforese bidimensional em gel de poliácridamida de um extrato proteico total de milho.
Setas vermelhas- “spots” imunoreactivos, k = kDa.

Nota: Geis de poliácridamida de 12,5%. Tiras de 13cm com gama de gradiente não linear de 3 a 11. Geis corridos com 400µg de proteína.

_O uso da técnica de espectrometria de massa (MS/MS) permitiu-nos proceder à identificação de alguns dos “spots” imunoreactivos selecionados. Na **Tabela 2** é apresentada uma compilação de todos os potenciais alergénios da soja e milho identificados até à presente data, bem como dos potenciais alergénios identificados no decurso deste trabalho.

_Consideramos, assim, que embora seja necessário avaliar caso a caso a potencial alergenidade dos alimentos geneticamente modificados, com base nos estudos efetuados até à data, pensamos não existirem razões para afirmar que existem alterações significativas do potencial alérgico destes alimentos comparativamente aos seus controlos não modificados.

artigos breves_ n. 13

Tabela 2: Novos alergénios de milho identificados neste estudo (a rosa) e alergénios já reportados por outros autores (a verde).

| Milho | | | Soja | | |
|------------|-----------------|--|------------|-----------------------|---|
| Alergénico | | Descrição | Alergénico | | Descrição |
| | Zea m11 | Trypsin inhibitor /2S albumin family | | Gly m 1A and Gly m 1B | Soybean hydrophobic protein |
| | Zea m14 | Lipid Transfer protein/ Prolamin superfamily | | Gly m2 | Defensin |
| | Zea m22 | Enolase/ Glycolytic enzymes family | | Gly m2S albumin | 2S Albumin |
| | Zea m25 | Thioredoxin | | Gly m3 | Profilin |
| | Zea m27kD Zein | Glutelin/ Prolamin superfamily | | Gly m4 | Bet v 1-like |
| | Zea m 50kD zein | Glutelin/ Prolamin superfamily | | Gly m5 | α -subunit of β -conglycinin |
| | Zea m chitinase | Chitinase | | Gly m6 | 11S Globulin |
| | Zea mG1 | Vicilin-like embryo storage protein | | Gly m7 | Seed-specific Biotinylated Protein |
| | Zea mG2 | Globulin-2 precursor/ Cupin superfamily | | Gly m Agglutinin | Agglutinin, lectin precursor |
| | | Prolamin PPROL 17 precursor | | Gly mTI | Kunitz trypsin inhibitor |
| | | LEA protein, group 3 | | Gly mBd 30 K | Cysteine Protease |
| | | Ethylene-responsive protein | | Gly mBd 28 K | 7S Vicilin-like Globulins |
| | | Dehydrin | | Gly mCPI | Cysteine Protease Inhibitors |
| | | Ketol-acid reductoisomerase | | Gly m EAP | Embryonic Abundant Protein |
| | | UDP-glucose pyrophosphorylase | | | |
| | | Chaperonin CPN60-1, mitochondrial precursor | | | |
| | | Fructose-bisphosphate aldolase | | | |
| | | Malate dehydrogenase | | | |
| | | Triacylglycerol lipase | | | |
| | | Adenosine kinase (ADK) | | | |
| | | Maize desiccation-related protein | | | |
| | | Triosephosphate isomerase | | | |
| | | Cysteine proteinase 1 precursor | | | |
| | | Granule-bound starch synthase I | | | |
| | | Alanine aminotransferase | | | |
| | | Homogentisate 1,2-dioxygenase | | | |
| | | rab GDP dissociation inhibitor alpha-like | | | |
| | | Glutamine synthetase root isozyme 4 | | | |
| | | Alpha-1,4-glucan-protein synthase | | | |
| | | Protein Z | | | |
| | | Lipoprotein | | | |
| | | hydroxyacylglutathione hydrolase | | | |
| | | Proteasome subunit alpha type 2 | | | |
| | | General stress protein 39 | | | |

Referências bibliográficas:

- (1) Tan S, Evans R, Singh B. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. *Amino Acids*. 2006;30:195–204.
- (2) Hofte H, Whiteley HR. Insecticidal Crystal Proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiology Reviews*. 1989;53:242–55.
- (3) Batista R, Oliveira MM. Facts and fiction of genetically engineered food. *Trends in Biotechnology*. 2009;27:277–86.
- (4) Fonseca C, Planchon S, Renaut J, et al. Characterization of maize allergens - MON810 vs. its non-transgenic counterpart. *Journal of Proteomics*. 2012;75:2027–37.
- (5) Batista R, Nunes B, Carmo M, et al. Lack of detectable allergenicity of transgenic maize and soya samples. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2005;116:403-10.
- (6) Batista R, Martins I, Jenö P, et al. A Proteomic Study to Identify Soya Allergens – The Human Response to Transgenic versus Non-Transgenic Soya Samples. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007;144:29–38.

artigos breves_ n. 14

Alergias e Intolerâncias

Doença celíaca: contributo da análise laboratorial para uma dieta isenta de glúten

Filipa Nunes Matias, Mariana Santos, Maria Antónia Calhau
filipa.matias@insa.min-saude.pt

Departamento de Alimentação e Nutrição, INSA.

Introdução

A segurança dos alimentos continua a mobilizar todos os intervenientes da cadeia alimentar, desde os operadores económicos aos consumidores. Desta forma, a rotulagem tem-se revelado uma importante ferramenta na decisão de compra: o rótulo constitui o primeiro elo de ligação entre o produto e os consumidores. Fornecendo-lhes informação relevante acerca do produto, permite-lhes fazer escolhas conscientes, saudáveis e seguras, em especial àqueles que sofrem de alergias ou intolerâncias alimentares.

A doença celíaca, ou intolerância permanente ao glúten, é caracterizada por uma reacção inflamatória crónica, de natureza auto-imune, que altera a mucosa do intestino delgado, dificultando a absorção de macro e micronutrientes. Ainda não foi possível estabelecer uma dose diária admissível, pelo que o tratamento desta doença deve consistir numa dieta isenta de glúten ao longo de toda a vida.

O Codex Alimentarius define Glúten como sendo a “fracção proteica do trigo, centeio, cevada e aveia ou suas variedades cruzadas e respetivos derivados, a que algumas pessoas são intolerantes, e que é insolúvel em água e numa solução de cloreto de sódio a 0,5 M” (1).

O Glúten consiste numa mistura de proteínas presentes no endosperma de alguns tipos de grãos de cereais. Estas proteínas são classificadas em dois grupos: as prolaminas e as gluteninas. As prolaminas apresentam uma maior evidência de toxicidade, em relação às gluteninas, sendo responsáveis pelo desenvolvimento de lesões na mucosa intestinal dos doentes celíacos. As suas designações diferem conforme o cereal de onde provêm: gliadinas (trigo), aveninas (aveia), hordeínas (cevada) e secalinas (centeio).

Hoje em dia, o número de pessoas com intolerância ao glúten tem vindo a aumentar e, neste sentido, a indústria alimentar tem demonstrado uma maior preocupação em produzir alimentos que possam ser consumidos em segurança por este grupo de pessoas.

De acordo com o regulamento nº 1169/2011 (2), já em vigor, é obrigatório incluir no rótulo as substâncias ou produtos que provocam alergia ou intolerância alimentar. A nível europeu, os alimentos destinados a uma alimentação especial têm um regulamento próprio, o nº 41/2009, aplicável desde Janeiro de 2012, relativo à composição e rotulagem de géneros alimentícios adequados a pessoas com intolerância ao glúten (3). De acordo com este regulamento, podem ser colocadas duas

menções nos rótulos dos alimentos comercializados para responder às necessidades alimentares das pessoas com intolerância ao glúten:

– “Isento de glúten” – rótulo colocado em alimentos com teor de glúten inferior a 20 mg/Kg.

– “Teor muito baixo de glúten” – rótulo colocado em alimentos com teor de glúten entre 20 e 100 mg/Kg.

De forma a cumprirem este regulamento, e a inserirem informação fidedigna nos rótulos dos alimentos, as empresas da indústria alimentar recorrem ao Laboratório de Química do Departamento de Alimentação e Nutrição do INSA, IP para serem realizadas análises de detecção e quantificação de glúten em novos alimentos a colocar no mercado.

O Laboratório também tem colaborado com a Entidade de Controlo Oficial e com uma Associação de Apoio ao Doente Celíaco, num programa de monitorização de alimentos destinados a uma alimentação especial, com o objectivo de avaliar alimentos rotulados como “isento de glúten”.

Materiais e Métodos

Neste âmbito, o Laboratório de Química analisou, no último triénio, 44 amostras usando o método imunoenzimático ELISA-R5 “sandwich” (RIDASCREEN®Gliadin) (4,5) (Tabela 1).

O método ELISA-R5, é proposto pela Comissão do Codex Alimentarius para a análise de glúten em alimentos, permitindo a detecção de α -, β -, γ - e ω -prolaminas. Encontra-se disponível em kits comerciais, sendo ainda o método oficial proposto pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC). O Laboratório efetuou uma validação “in house” do método, incluindo a confirmação dos limites de detecção e quantificação, para determinação de glúten em diversos tipos de alimentos (5) (Tabela 2).

Tabela 1: Limites analíticos do Método Imunoenzimático ELISA-R5.

| Limites Analíticos | |
|------------------------------|---------|
| Limite de Detecção (LD) | 3 mg/Kg |
| Limite de Quantificação (LQ) | 5 mg/Kg |

Tabela 2: Amostras analisadas por grupos de alimentos.

| Grupos de alimentos | Amostras analisadas (n) |
|------------------------------|-------------------------|
| Fórmulas infantis | 3 |
| Cereais e derivados | 11 |
| Carne e derivados | 18 |
| Açúcares e derivados | 5 |
| Matérias-primas | 2 |
| Refeições prontas a consumir | 5 |

→ continua

artigos breves_ n. 14

Resultados e conclusão

Nas amostras provenientes da Indústria Alimentar, os resultados obtidos, inferiores ao limite de deteção, permitem que a menção “isento de glúten” possa ser inserida nos rótulos dos alimentos analisados. Relativamente ao programa de monitorização, os resultados confirmaram a menção “isento de glúten” apresentada nos rótulos, ou seja, todos cumpriam o limite de 20 mg/Kg (*Tabela 3*).

Tabela 3:  *Resultados obtidos laboratorialmente.*

| Grupos de alimentos | Glúten (mg/kg) |
|------------------------------|----------------|
| Fórmulas infantis | < LD |
| Cereais e derivados | < 20 |
| Carne e derivados | < LD |
| Açúcares e derivados | < LD |
| Matérias-primas | < LD |
| Refeições prontas a consumir | < LD |

O Laboratório de Química tem dado e continua a dar um forte contributo para que os doentes celíacos possam consumir, com confiança, os alimentos disponíveis no mercado adequados a uma dieta isenta de glúten, permitindo a prática de uma alimentação mais segura.

Referências bibliográficas:

- (1) Codex Alimentarius Commission. Codex Alimentarius Standard for Foods for Special Dietary Use for Persons Intolerant to Gluten (Codex Stan 118-1979). Adopted in 1979; amended 1983; revised 2008.
- (2) União Europeia. Regulamento (UE) N.º 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho de 25 de Outubro de 2011 relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios. Jornal Oficial da União Europeia. 22.11.2011: L 304/18-63.
- (3) Comissão das Comunidades Europeias. Regulamento (CE) N.º 41/2009 da Comissão de 20 de Janeiro de 2009 relativo à composição e rotulagem dos géneros alimentícios adequados a pessoas com intolerância ao glúten. Jornal Oficial da União Europeia. 21.1.2009: L 16/3-5.
- (4) R-Biopharm Ridascreen Gliadin R7001. Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of gliadins and corresponding prolamines.
- (5) Pité MR. Validação de um método alternativo de análise de glúten em géneros alimentícios, o ELISA-R5: comparação com o actual método oficial de análise. Dissertação de mestrado em Controlo da Qualidade e Toxicologia dos Alimentos, apresentada à Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, 2007.

artigos breves_ n. 15

Anomalias Congénitas

Relação entre a doença crónica materna e o nascimento de crianças com anomalias congénitas

Paula Braz, Ausenda Machado, Carlos Matias Dias
paula.braz@insa.min-saude.pt

Registo Nacional de Anomalias Congénitas (RENAC).
Departamento de Epidemiologia, INSA.

Introdução

As anomalias congénitas (AC) afetam 1 em cada 33 nascimentos por ano, segundo dados da Organização Mundial de Saúde, e têm forte impacto na mortalidade neonatal. A etiologia das AC pode ser genética, infecciosa ou ambiental, sendo em muitos casos difícil identificar a sua origem ⁽¹⁾.

Diversos estudos sugerem que as doenças crónicas maternas, como a diabetes, as doenças da tiroide, ou a epilepsia, aumentam o risco de malformações fetais, relação que pode estar associada a alterações no metabolismo materno, com implicações na embriogénese, como é o caso das doenças da tiroide, ou secundária ao efeito teratogénico de medicamentos, como no caso da epilepsia ^(2,3,4,5,6).

O presente estudo tem por objetivo descrever a ocorrência de AC fetais nas grávidas com doença crónica, utilizando os dados do Registo Nacional de Anomalias Congénitas (RENAC), entre os anos 2000 a 2010.

Material e métodos

Analisaram-se os dados do Registo Nacional de Anomalias Congénitas (RENAC), registo de base populacional que tem como missão a vigilância epidemiológica e a investigação das AC em Portugal criado em 1995 pelo INSA, gerido desde 2000 pelo extinto Observatório Nacional de Saúde (ONSA) e, atualmente, pelo Departamento de Epidemiologia do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (DEP/INSA).

Calcularam-se as taxas de prevalência de AC utilizando como numerador o número de casos notificados por médicos especialistas que registam AC diagnosticadas em recém-nascidos (até ao final do período neonatal), fetos mortos e interrupções médicas de gravidez ⁽⁷⁾. As AC foram posteriormente codificadas no DEP/INSA, de acordo com o capítulo Q da 10ª versão da Classificação Internacional de Doenças e causas de morte ⁽⁸⁾.

A recolha de informação foi realizada com o apoio de um questionário recebido periodicamente pelo Registo Central por via informática, através da internet, ou em suporte em papel.

A significância estatística das associações foi estudada utilizando o teste de Qui-quadrado ou Qui-Quadrado para a tendência ⁽⁹⁾, com um nível de significância de 5%.

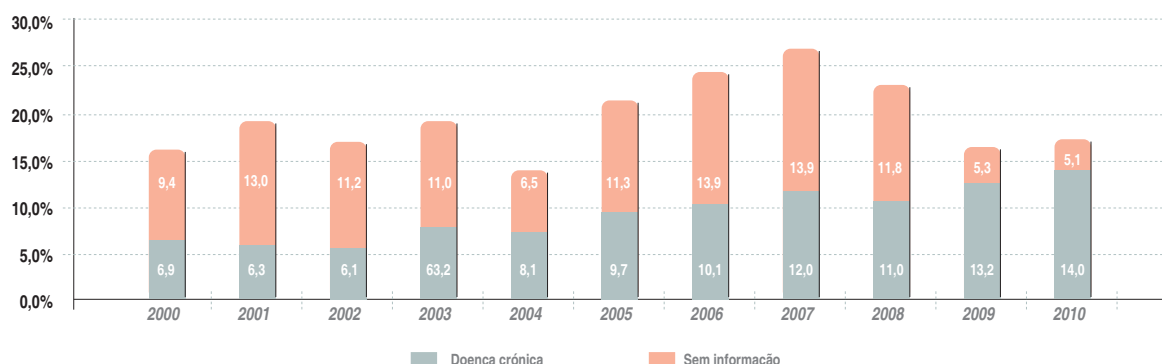
Resultados

No período de 2000 a 2010, a prevalência de doença crónica materna no RENAC era de 9,1%, tendo aumentado de 6,9% em 2000 para 14,0% em 2010. Em 10,3% dos registos enviados ao RENAC, não existia referência à presença, ou não, de qualquer doença crónica materna. De referir que esta sub-notificação de item sofreu uma redução para cerca de 5% em 2009 e 2010 (Gráfico 1).

Nas grávidas com doença crónica, 8,9% abortou espontaneamente, 9,2% teve feto morto ou optou por interrupção médica da gravidez devido a anomalia fetal e 10,3% teve um recém-nascido vivo. A relação entre a existência de doença crónica materna e o tipo de nascimento não se revelou estatisticamente significativa ($p=0,478$).

A análise dos dados revelou, no entanto, uma relação estatisticamente significativa ($p<0,001$) entre a existência de doença crónica materna e a idade da grávida, com 14,7% das grávidas com idade igual ou superior a 40 anos a referirem a presença de pelo menos uma doença crónica. Estes resultados são comparáveis aos de outros estudos em que se observa uma maior presença de doença crónica em grupos populacionais com idade mais avançada ⁽¹⁰⁾.

Gráfico 1: Prevalência de grávidas registadas no Registo Nacional de Anomalias Congénitas com pelo menos uma doença crónica materna entre 2000 a 2010.



→ continua

artigos breves_ n. 15

_As doenças crónicas maternas mais registadas foram a asma (22,5%), as patologias da tiróide (12,6%), a epilepsia (8,2%) e a diabetes mellitus (5,9%). Em 44,2% das grávidas foram referidas outras doenças crónicas, nomeadamente patologia renal, psiquiátrica, diversas doenças metabólicas, entre outras (Gráfico 2).

_Nas grávidas com doença crónica, a distribuição de nascimentos com pelo menos uma AC, verificou-se maioritariamente em quatro grandes grupos de anomalias, nomeadamente anomalias cardíacas (29,5%), anomalias do sistema musculoesquelético (18,6%), anomalias do sistema urinário (13,3%) e anomalias do sistema nervoso central (6,3%) (Gráfico 3).

_Analisada individualmente a relação entre cada um dos tipos de doença crónica materna e cada um dos grandes grupos de AC referidos anteriormente, observou-se uma relação estatisticamente significativa entre a ocorrência de epilepsia materna e o nascimento de uma criança com AC do sistema nervoso central ($p=0,002$). Também se verificou uma relação entre a diabetes mellitus NOS materna e a presença de anomalias cardíacas nos fetos/recém-nascidos, apesar de não se observar um resultado estatisticamente significativo ($p=0,09$). Nas AC do sistema musculoesquelético e do sistema urinário, verificou-se que a asma e as doenças da tiroide são as doenças crónicas maternas mais vezes referidas, não se observando uma associação estatisticamente significativa, sem prejuízo da sua relevância clínica para a prevenção das AC.

Gráfico 2: Distribuição percentual de doenças crónicas maternas registadas no Registo Nacional de Anomalias Congénitas entre 2000 e 2010.

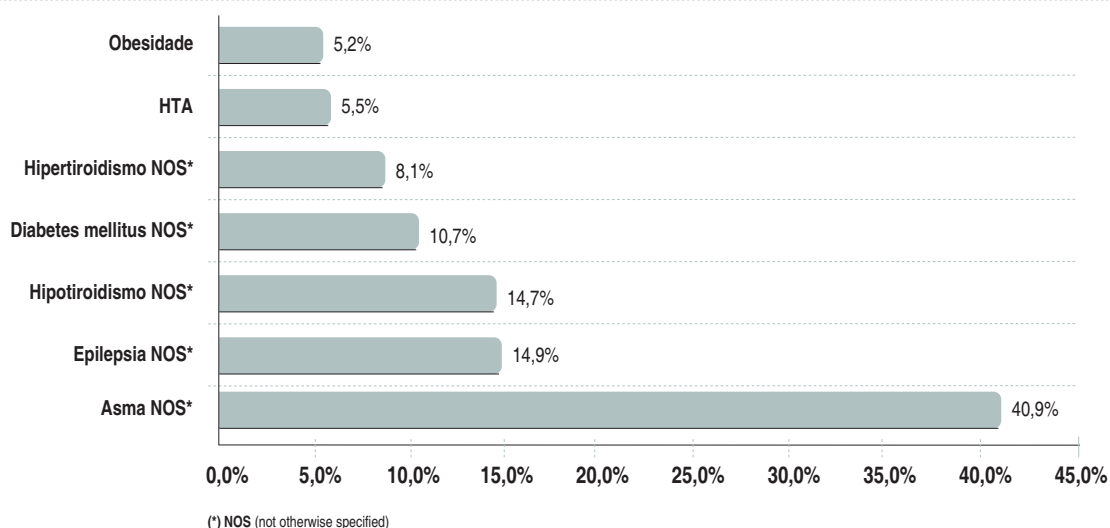
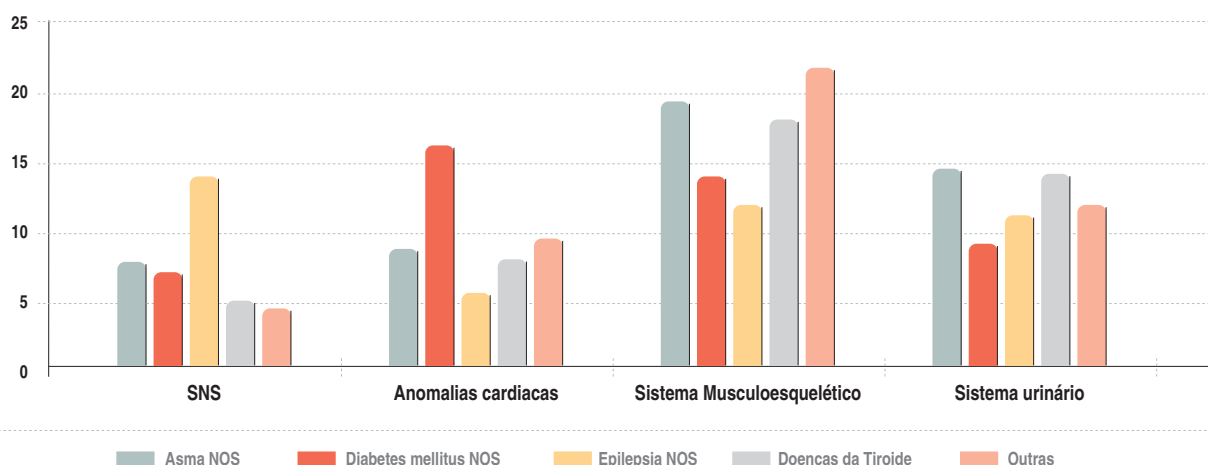


Gráfico 3: Distribuição da doença crónica materna por grandes grupos de Anomalias Congénitas registadas no Registo Nacional de Anomalias Congénitas entre 2000 e 2010.



artigos breves_ n. 15

_Discussão

Os resultados principais deste estudo são coincidentes com os de diversos estudos internacionais que sugerem uma relação entre a presença de diferentes doenças crónicas maternas e o nascimento de uma criança com AC ⁽³⁾.

_Não obstante, estes resultados deverão ser lidos com alguma precaução, sobretudo porque a percentagem de mulheres portadoras de doença crónica notificadas ao RENAC, não é muito elevada.

_Outra limitação prende-se com o facto de neste estudo não ter sido avaliada a medicação utilizada pelas grávidas e o seu potencial efeito teratogénico, o que pode influenciar alguns dos resultados obtidos, conhecendo-se o papel de alguns medicamentos utilizados no tratamento de doenças crónicas, na génese de algumas AC ⁽¹⁰⁾.

_Conclusões

Nos casos de AC registados no RENAC entre 2000 e 2010 observou-se um aumento de referência à existência de doença crónica materna de 6,9% em 2000 para 14% em 2010, valor estatisticamente significativo ($p < 0,001$). Observou-se uma associação estatisticamente significativa entre a presença de AC no feto/recém-nascido e a epilepsia materna. Também se verificou uma associação entre a presença de doença crónica materna e a idade da grávida. Pretende-se que os resultados deste estudo promovam a investigação nesta área, em Portugal, permitindo um impacto nas atividades de prevenção das AC.

Referências bibliográficas:

- (1) World Health Organization. Congenital anomalies. Fact sheet N°370. October 2012.
- (2) Su PY, Huang K, Hao JH, et al. Maternal thyroid function in the first twenty weeks of pregnancy and subsequent fetal and infant development: a prospective population-based cohort study in China. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96(10):3234-41.
- (3) Ordóñez MP, Nazer J, Aguila A, et al. Congenital malformations and chronic diseases of the mother. Latin American Collaborative Study of Congenital Malformations (ECLAMC) 1971-1999. Rev Med Chil. 2003;131(4):404-11.
- (4) Martínez-Frías ML, Frías JP, Bermejo E, et al. Pre-gestational maternal body mass index predicts an increased risk of congenital malformations in infants of mothers with gestational diabetes. Diabet Med. 2005 ;22(6):775-81.
- (5) Banhidý F, Acs N, Puho HE, et al. Congenital abnormalities in the offspring of pregnant women with type 1, type 2 and gestational diabetes mellitus: a population-based case- control study. Congenit Anom (Kyoto). 2010;50(2):115-21.
- (6) Lin S, Munsie JP, Herdt-Losavio ML, et al; National Birth Defects Prevention Study. Maternal Asthma Medication Use and the Risk of Selected Birth Defects. Pediatrics. 2012 Feb;129(2):e317-24.
- (7) Instituto Nacional de Saude Doutor Ricardo Jorge. Registo Nacional de Anomalias Congénitas : relatório 2008-2010. Lisboa: INSA IP, 2011.
- (8) World Health Organization. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems. 10th revision, 2nd edition. Geneva: WHO, 2004.
- (9) Armitage P, Berry G, Matthews JNS. Statistical Methods in Medical Research 4th ed. Malden, MA : Blackwell Science, 2001.
- (10) U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, Center for Biologics Evaluation and Research. Reviewer Guidance: Evaluating the Risks of Drug Exposure in Human Pregnancies. Rockville, MD: Center for Drug Evaluation and Research Food and Drug Administration, April 2005.

artigos breves_ n. 16

Inquéritos de base populacional

Inquérito de Saúde com Exame Físico: resultados comparativos entre a doença autorreportada e o exame físico

Ausenda **Machado**¹, Ana Paula **Gil**¹, Marta **Barreto Silva**¹,
Eleonora **Paixão**², Filomena **Orta Correia**³,
Francisco **Mendonça**³, Aida **Fernandes**⁴, Álvaro **Beleza**⁴,
Carlos **Matias Dias**¹

ausenda.machado@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Epidemiologia, INSA.

(2) Administração Regional de Saúde do Alentejo.

(3) Administração Regional de Saúde do Algarve.

(4) Laboratório de Saúde Pública Dra. Laura Ayres, Faro.

Introdução

O Inquérito de Saúde com Exame Físico (INSEF) - *Componente nacional do Inquérito Europeu de Saúde com Exame Físico (European Health Examination Survey - EHES)* tem como objetivo elaborar um diagnóstico epidemiológico da situação de saúde da população residente em Portugal, através da descrição do seu estado de saúde, determinantes (utilizando dados clínicos e bioquímicos) e utilização de cuidados de saúde, contribuindo para o planeamento da saúde e a investigação em Portugal.

De modo a avaliar a capacidade dos vários países participantes em construir uma infraestrutura nacional capaz de implementar um Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico foi desenvolvido um estudo piloto entre 2010-2011, que culminou com a realização de um inquérito de saúde com exame físico a uma amostra da população de S. Brás de Alportel, no Algarve.

O presente artigo tem como objetivo apresentar alguns dos principais resultados obtidos na fase piloto relativos às doenças crónicas, uma componente importante no diagnóstico de saúde das populações.

Material e métodos

Foi realizado um estudo epidemiológico observacional, transversal, descritivo com recolha de dados através de questionário, exame físico e análises bioquímicas e hematológicas.

A população-alvo foi constituída por residentes na Região do Algarve, nomeadamente os utentes do Serviço Nacional de Saúde (SNS) do Centro de Saúde (CS) de São Brás de Alportel com idade superior a 25 anos. A seleção dos participantes foi feita a partir das listas de utentes do SNS do CS de São Brás de Alportel e foi calculada uma amostra aleatória de 600 pessoas, três vezes superior ao número pretendido (200 pessoas). O método de amostragem baseou-se numa amostragem estratificada pela variável sexo.

As diferentes fases de execução do exame físico e inquirição encontram-se descritos na **Figura 1**.

As medições antropométricas (peso e altura), a medição da pressão arterial e a colheita de sangue foram efetuadas de acordo com os procedimentos específicos adotados no EHES, os quais seguem as *guidelines* internacionais ⁽¹⁾, e adaptados para o efeito pela equipa coordenadora no INSA. Foram considerados os seguintes valores de corte para se considerar os parâmetros medidos como anómalos: pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica ≥ 90 mmHg, glucose ≥ 110 mg/dl, colesterol total ≥ 240 mg/dl e IMC ≥ 30 .

Figura 1: Esquema representativo do processo de execução do exame físico e inquirição.



artigos breves_ n. 16

_Relativamente ao questionário, a área relativa ao estado de saúde, onde se incluíam as questões sobre doenças crónicas, foi aplicada por um profissional de saúde, sendo considerado como doenças crónicas aquelas autorreportadas pelo próprio “com duração superior, ou que se espere que venha a durar, mais de 6 meses” e tenham sido confirmadas pelo médico assistente.

_O protocolo científico do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge e pela Comissão Nacional de Proteção de Dados. Todos os participantes foram incluídos no estudo após a obtenção do consentimento informado escrito.

_Resultados

Foram realizadas, com sucesso, 221 entrevistas (taxa de resposta de 36,8%). Os respondentes eram maioritariamente mulheres (57,9%), 38,5% tinham 65 e mais anos, com uma escolaridade básica (58,3%), essencialmente trabalhadores não ativos (59,2%) e com um estado civil casado/união de facto (72,3%).

_A referência a pelo menos uma doença crónica (confirmada por um médico) foi feita por 63,3% dos inquiridos, sendo as mais prevalentes a hipertensão (45,7%), hipercolesterolemia (21,7%) e as cáries dentárias (16,7%) (Gráfico 2).

_Considerando os resultados obtidos através do exame físico, verifica-se que 17,7% dos respondentes tinham valores de glicémia iguais ou superiores a 110 mg/dl e 29,5% tinham o IMC igual ou superior a 30 kg/m² (Gráfico 3).

_Comparativamente à informação autorreportada (Gráfico 3), verifica-se uma proporção mais elevada de indivíduos com valores de glucose não controlada e obesidade (nenhum respondente declarou ter obesidade). Relativamente à hipercolesterolemia, embora 21,7% dos indivíduos inquiridos reportasse o diagnóstico de hipercolesterolemia, 9,1% ainda desconhecia o seu estado ou não tinha os valores controlados. O mesmo aconteceu em relação à hipertensão em que 45,7% dos inquiridos declarou o diagnóstico de hipertensão, observando-se 13,1% de indivíduos com valores de tensão arterial medida acima dos valores máximos recomendados.

Gráfico 2: ⬇ Doenças crónicas autorreportadas mais frequentes (confirmadas pelo médico).

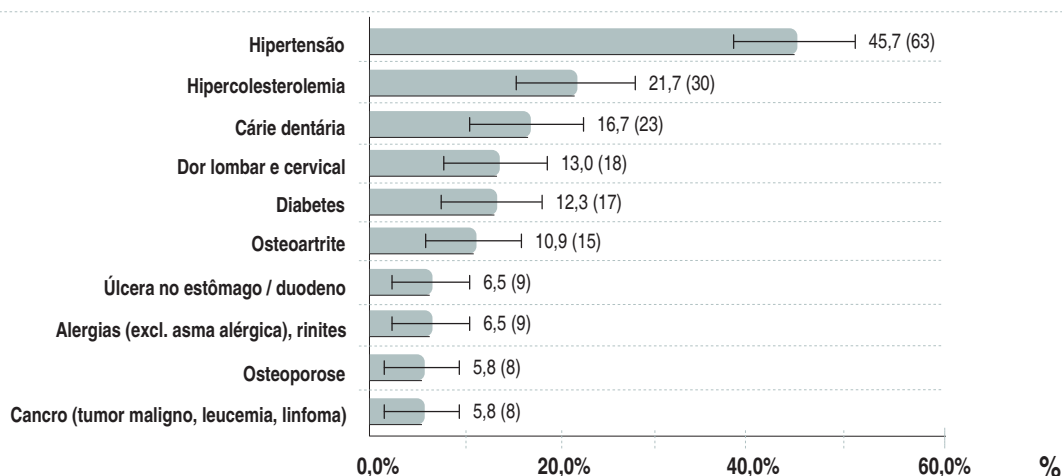
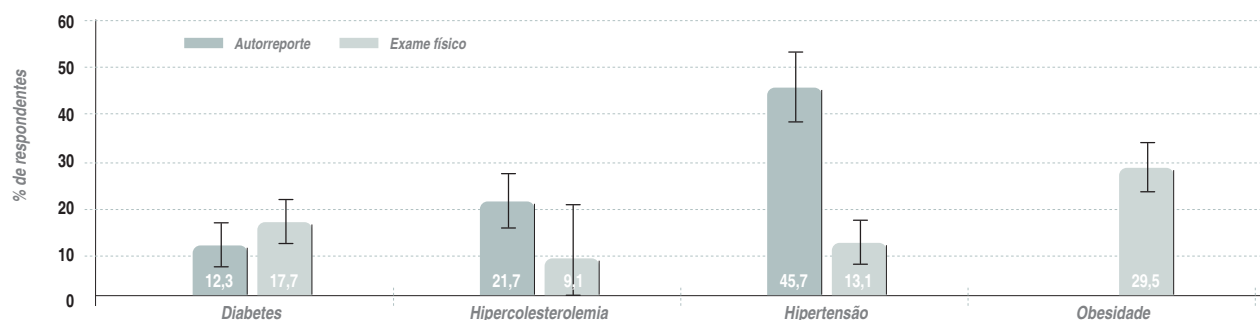


Gráfico 3: ⬇ Frequência de respondentes com diabetes, hipercolesterolemia, hipertensão e obesidade autorreportada e comparação com frequência de respondentes com valores de glucose, hipercolesterolemia, hipertensão e obesidade, respetivamente alterados medidos pelo exame físico.



artigos breves_ n. 16

Conclusões

De acordo com os resultados obtidos no INSEF, a doença crónica mais frequente foi a hipertensão, tendo sido referido por 45,7% dos participantes. Resultado que vai ao encontro das estimativas de prevalência de doença crónica referidas com maior frequência pela população portuguesa, através do Inquérito Nacional de Saúde (2005/2006) ⁽²⁾, com uma prevalência de 19,8%. O resultado obtido neste estudo está igualmente enquadrado na prevalência de hipertensão medida no estudo de Espiga e Macedo (2007) que concluiu que 42,1% da população adulta portuguesa com idade entre 18 e 90 anos sofria de hipertensão arterial ⁽³⁾ e no estudo PHYSA de 2012, onde se estimou uma prevalência total de 42,2% ⁽⁴⁾.

_Neste piloto do INSEF, a diabetes constituiu a quinta doença crónica referida com maior frequência pela população em análise (12,3%). No entanto, uma parte da população afetada por esta doença desconhecia a sua situação, visto que ao medir os níveis de glucose aos indivíduos participantes 17,7% apresenta níveis de glucose no sangue superiores ao considerado normal. O mesmo aconteceu em relação à hipercolesterolemia, uma vez que 9,1% dos respondentes tinham valores de colesterol total no sangue iguais ou superiores a 240 mg/dl. Da mesma forma, embora nenhum inquirido tenha referido ser obeso, verificou-se que 29,5% dos participantes eram obesos, com IMC igual ou superior a 30 Kg/m².

_Uma parte significativa dos indivíduos que declarou sofrer de hipertensão, diabetes, ou hipercolesterolemia, tomava medicação específica para a sua doença (respetivamente 96,8%, 88,2% e 93,3% dos respondentes), mas ainda assim não revelava valores de glucose, pressão arterial e colesterol controlados.

_Em Portugal, já foram realizados estudos que incluíram uma componente de exame físico, nomeadamente estudos de prevalência da obesidade ⁽⁵⁾, da diabetes ⁽⁶⁾, da hipertensão arterial ⁽³⁾ e da obesidade juvenil ^(7,8). Ainda que importantes do ponto de vista científico e da saúde pública, muitos destes estudos são específicos de determinada doença, ou característica, além de não terem, por vezes, representatividade nacional.

_A recolha num mesmo momento e para cada pessoa de dados válidos que permitam a análise rigorosa do estado de saúde geral da população portuguesa, designadamente doenças crónicas, seus determinantes e utilização de cuidados de saúde constitui-se assim como uma abordagem essencial à identificação de necessidades em saúde, apoiando a definição de prioridades de intervenção, a monitorização e avaliação de impactes das intervenções.

Referências bibliográficas:

- (1) National Public Health Institute. European Health Examination Survey-EHES Manual. Helsinki : KTL, 2011.
- (2) Instituto Nacional de Saúde, Instituto Nacional de Estatística. Inquérito Nacional de Saúde 2005/2006. Lisboa: INSA/INE, 2008.
- (3) Macedo ME, Lima MJ, Silva AO, et al. Prevalência, conhecimento, tratamento e controlo da hipertensão em Portugal. Estudo PAP. Rev Port Cardiol. 2007;26(1):21-39.
- (4) Sociedade Portuguesa de Hipertensão. Portuguese hypertension and salt study [Em linha]. Lisboa: SPHTA, 2013. [consult. 24-09-2013]. Disponível em: http://www.sphta.org.pt/pdf/PHYSA_study_Slides_SPH-v2.pdf.
- (5) do Carmo I, dos Santos O, Camolas J, et al. Prevalence of obesity in Portugal. Obes Rev. 2006;7(3):233-7.
- (6) Correia LG (coord). Estudo de prevalência da diabetes em Portugal [Em linha]. Lisboa: Direção-Geral da Saúde, 2009. [consult. 11-11-2013]. Disponível em: <http://www.min-saude.pt/portal/conteudos/a-saude-em-portugal/noticias/arquivo/2009/3/diabetes.htm>
- (7) Amaral O, Pereira C, Escoval A. Prevalência de obesidade em adolescentes do distrito de Viseu. Rev Port Sau Pub. 2007;24(1): p. 47-58.
- (8) Rito AI, Paixão E, Carvalho MA, et al. Childhood Obesity Surveillance Initiative : COSI Portugal 2008 [Em linha]. Lisboa : Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2008. [consult. 11-11-2013]. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.18/142>

Comparação da prevalência de doenças não transmissíveis em populações expostas e não expostas a um ambiente estuarino contaminado – Projeto HERA

Ausenda **Machado**, Eleonora **Paixão**, Susana **Pereira Silva**,
Sandra **Caeiro**, Carlos **Matias Dias**
ausenda.machado@insa.min-saude.pt

Departamento de Epidemiologia, INSA.

Introdução

A associação entre a exposição a metais pesados e a ocorrência de doenças não transmissíveis, em especial renais e neurológicas, encontra-se estabelecida, sendo que a maioria dos metais pesados são classificados como carcinogénicos e teratogénicos ⁽¹⁾.

Estudos ambientais, realizados anteriormente, identificaram várias fontes de contaminação (industrial, antropogénicas não-pontuais e contaminação proveniente do rio), no estuário do rio Sado, contribuindo para a acumulação de sedimentos contaminados com reconhecidos impactos sobre o sistema ecológico ⁽²⁾. No entanto, não havia sido realizada investigação sobre a associação entre a contaminação ambiental e potenciais efeitos na saúde da população residente no estuário do Sado, a qual se justifica dada a exposição contínua e prolongada ^(1,3). O projeto HERA (Avaliação de risco ambiental de um ambiente estuarino contaminado: um estudo de caso), financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT- PTDC/SAU-ESA/100107/2008) consiste num estudo integrado e multidisciplinar para avaliar o risco ambiental, incluindo ecológico e na saúde humana.

Neste projeto está incluído um estudo epidemiológico que pretende caracterizar as vias de exposição aos produtos do estuário e potenciais efeitos na saúde ⁽⁴⁾.

Materiais e Métodos

Estudo epidemiológico transversal com comparação de duas populações: residentes na Carrasqueira (pequena vila no canal sul do estuário do Sado - população alvo), e em Vila Nova de Mil Fontes (VNMF), que dista 200 km da primeira e que foi considerada como população não exposta. VNMF localiza-se nas proximidades de outro estuário (rio Mira) do qual não há conhecimento de poluição industrial/ outros contaminantes.

A amostra de residentes em cada localidade foi selecionada de forma aleatória simples, a partir da lista de utentes do Serviço Nacional de Saúde. Foi realizado um inquérito com aplicação de um questionário via CAPI (*Computer Assisted Personal Interview*) para a caracterização de

informação referida pelo próprio sobre **1) efeitos na saúde**: que incluía morbilidade (doença diagnosticada por um profissional de saúde, medicação), efeitos sobre a reprodução; **2) vias de exposição**: informação sociodemográfica, ocupacional, hábitos de lazer, comportamentos e estilos de vida; **3) potenciais vias de contaminação do estuário** (inclui utilização de água para a vida diária, pesca e agricultura de subsistência). O trabalho de campo decorreu entre junho e julho de 2011.

Considerando apenas as doenças cuja plausibilidade etiológica possa estar relacionada com a exposição a metais pesados e outros contaminantes, nomeadamente doença renal (incluindo insuficiência renal), hepática, neurológica, cutânea, e neoplásica, foi calculada a frequência de pessoas que referiram a existência de pelo menos uma das doenças referidas. Foi avaliada a existência de co-morbilidade (presença de duas ou mais das doenças consideradas relevantes).

Todos os participantes foram incluídos no estudo após a obtenção do consentimento informado escrito, tendo o estudo sido aprovado pela Comissão de Ética do INSA e pela Comissão Nacional de Proteção de Dados.

A análise estatística centrou-se na análise descritiva e das possíveis associações, testadas através do teste de Qui-Quadrado, tendo-se considerado um nível de significância de 5% para rejeição da hipótese nula. Os intervalos de confiança para 95% foram calculados.

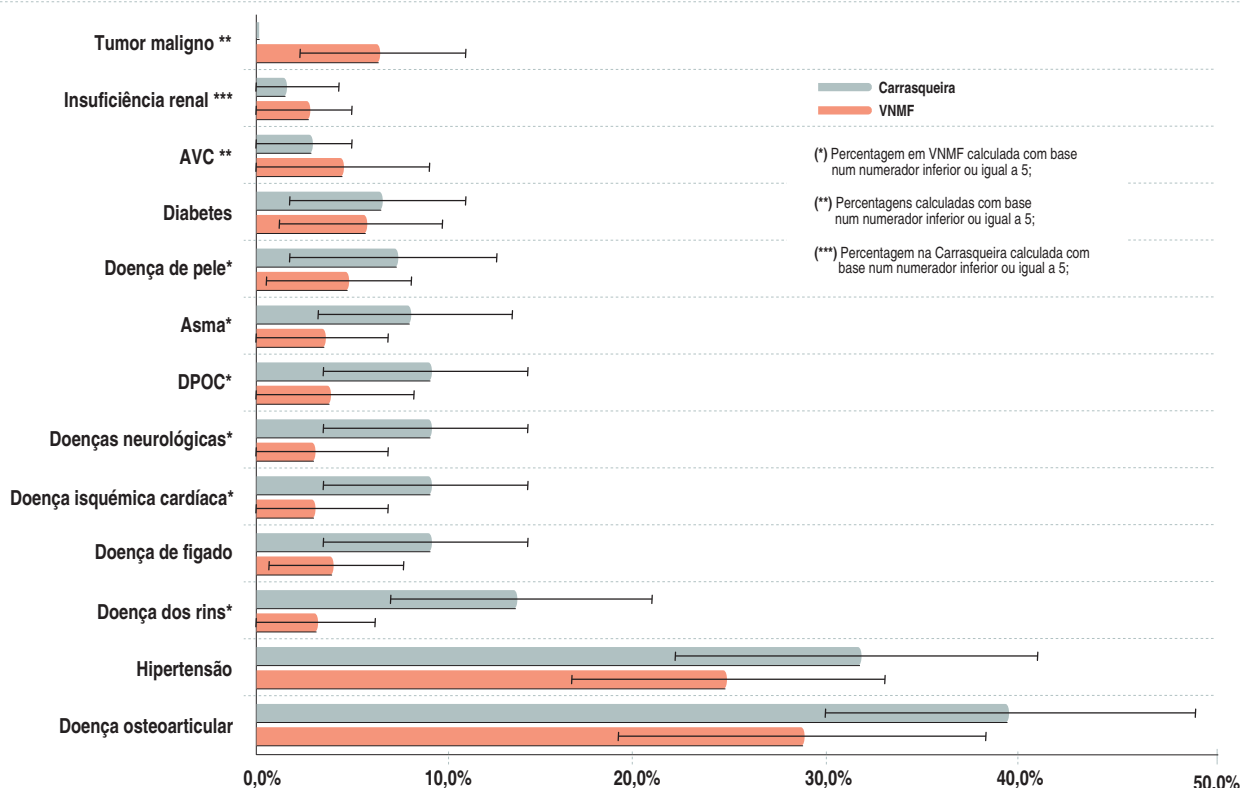
Resultados

Foram recolhidos dados de 202 participantes de todas as idades. Embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas na prevalência de muitas das doenças estudadas, os participantes da Carrasqueira revelaram um padrão de morbilidade globalmente mais desfavorável (*Gráfico 1*). As exceções ao anterior são o AVC, a insuficiência renal e os tumores malignos que foram referidos com maior frequência pelos participantes de VNMF. Apenas no caso da doença renal a população da Carrasqueira revelou uma prevalência significativamente mais elevada do que a população de VNMF.

Contrariamente ao verificado na análise da frequência específica por doença, os participantes da Carrasqueira revelam uma maior proporção com presença conjunta de doenças potencialmente relacionadas com a exposição em estudo (*Quadro 1*). Considerando esta co-morbilidade, os participantes da Carrasqueira revelam uma maior proporção de doença comparativamente aos residentes em VNMF.

artigos breves_ n. 17

Gráfico 1: ▾ Prevalência de doenças auto-reportadas pelos residentes na Carrasqueira e VNMF.



Quadro 1: ▾ Prevalência de doença nos participantes da Carrasqueira e VNMF.

| Doença | Local da entrevista | | | | p |
|--------------|---------------------|------------------|------|------------------|-------|
| | Carrasqueira | | VNMF | | |
| | n | % | n | % | |
| Pelo menos 1 | 102 | 32,4 | 100 | 20,0 | 0,046 |
| 1 | 102 | 16,7 | 100 | 14,0 | |
| 2 | 102 | 11,8 | 100 | 6,0 [#] | 0,069 |
| 3 ou mais | 102 | 3,9 [#] | 100 | 0,0 [#] | |

n_número de registos válidos; p_refere-se à comparação da proporção entre as classes da variável teste Qui-Quadrado de Pearson; #_ percentagem calculada com base num numerador inferior ou igual a 5.

Discussão

A população residente na aldeia da Carrasqueira revelou indicadores de morbilidade crónica mais desfavoráveis comparativamente à população não-exposta de VNMF. No entanto, apenas no caso das doenças renais se observou uma diferença estatisticamente significativa. Os indicadores de saúde em estudo incluíam a morbilidade crónica, por causas específicas. Tendo em conta a dimensão da amostra, condicionada pela dimensão da população residente (aproximadamente 400 indivíduos), e a prevalência reduzida de algumas das doenças em estudo, a sua medição resultou em frequências reduzidas, o que dificultou a comparação estatística robusta das duas populações.

Este problema foi abordado agregando a informação sobre as doenças crónicas, ganhando-se em potência de análise mas perdendo a especificidade do efeito em estudo.

Um possível viés de informação poderá ter ocorrido dado que a informação relativa aos efeitos na saúde foi obtida por auto-reporte dos selecionados, ou por proxy em menores de 14 anos. A qualidade da informação assim obtida pode estar enviesada, uma vez que os expostos poderão ter maior probabilidade em descrever piores estados de saúde comparativamente a uma população não exposta.

Referências bibliográficas:

- (1) Fauci, AS, Braunwald E, Kasper DL, et al (eds). Harrison's Principles of Internal Medicine. 17th Ed. New York: McGraw-Hill, 2008.
- (2) Caeiro S, Costa MH, DelValls A, et al. Ecological risk assessment of sediment management areas: application to Sado Estuary, Portugal. Ecotoxicology. 2009;18(8):1165-75.
- (3) Rahman M, Vahter M, Sohel N, et al. Arsenic Exposure and Age- and Sex-Specific Risk for Skin Lesions: A Population-Based Case-Referent Study in Bangladesh. Environ Health Perspect. 2006;114(12):1847-52.
- (4) Dias CM, Machado A, Paixão E, et al. Design and Implementation of an Epidemiological Study for the Characterization of Potential Pathway Human Exposure in a Contaminated River Estuary Environment. International Conference on Occupational and Environmental Health 2011 (ICOEH 2011). Porto, Portugal, 2011. Paper

ficha técnica

Título: Boletim Epidemiológico Observações

Periodicidade: Trimestral

ISSN: 2182-8873 (em linha)

ISSN: 0874-2928

Numeração: 2ª série,
Volume 2, número especial 2
Novembro 2013

Diretor

José Pereira Miguel, Presidente do INSA

Editores

Carlos Matias Dias, Departamento de Epidemiologia
Elvira Silvestre, Biblioteca da Saúde

Conselho Editorial Científico

Carlos Matias Dias, Departamento de Epidemiologia
Manuela Cano, Departamento de Saúde Ambiental
Jorge Machado, Departamento de Doenças Infecciosas
Manuela Caniça, Conselho Científico do INSA
Peter Jordan, Departamento de Genética Humana
Sílvia Viegas, Departamento de Alimentação e Nutrição
Sofia Guiomar, Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção
de Doenças Não Transmissíveis

© Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP 2013.

Reprodução autorizada desde que a fonte seja citada, exceto para fins comerciais.

Isento de Registo na ERC ao abrigo do Decreto-Regulamentar 8/99 de 9 de Junho artº 12º nº1 a).

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
Av. Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal

Tel.: (+351) 217 519 200

Fax: (+351) 217 529 400

E-mail: info@insa.min-saude.pt

www.insa.pt