

# Editorial

Estamos a iniciar o ano de 2012, ano que se prevê difícil face à conjuntura política e às consequentes mudanças estruturantes já publicadas e a publicar a nível nacional, nomeadamente na área da saúde.

Para a SPEDM será igualmente um ano de mudança. Novo processo eleitoral terá lugar, realizando-se na Assembleia eleitoral calendarizada para o **XIII Congresso Português de Endocrinologia e 63ª Reunião Anual de Endocrinologia**.

Este período de transição é sem dúvida um período de balanço e de reflexão, sobre o trabalho realizado nos últimos três anos e de entusiasmo para as ações futuras a desenvolver pelos novos Corpos Diretivos que vierem a ser eleitos.

Quanto ao balanço, e perdoem-me a imodéstia, parece-me poder afirmar enquanto Presidente nestes últimos três anos, que é de uma forma geral positivo. A SPEDM, tem crescido em sócios, tem reforçado os seus laços com outras Sociedades Médicas Portuguesas e com a Ordem dos Médicos e tem colaborado com as autoridades de saúde na área da sua diferenciação. A nível Internacional tem reforçado a sua posição a nível Europeu como Sociedade afiliada da Sociedade Europeia de Endocrinologia (ESE). Nestes anos colaborou com as atividades da ESE, quer a nível organizativo, de que foi exemplo o Curso pós-graduado realizado no Porto em 2010, quer integrando palestrantes da ESE nos eventos científicos em Portugal, ou vice-versa, palestrantes portugueses foram integrados nos Congressos da ESE. Com os colegas Espanhóis da SEEN, as relações têm sido frutuosas, não só na partilha de espaços nos Congressos de ambas as Sociedades, como abrindo portas para estágios de Internos de Endocrinologia em alguns Centros Espanhóis de Excelência.

E a Revista? Graças ao trabalho desenvolvido pela sua Editora (parabéns pelo desempenho e entusiasmo) e com a colaboração de todos os colegas, a publicação da revista tem cumprido em periodicidade e excedendo-se na qualidade. De todos os sócios a Direção da SPEDM tem tido grande colaboração, no número e qualidade dos trabalhos originais publicados e para publicação e no interesse partilhado pelos colegas convidados como revisores. O que a Revista é agora deve-se ao trabalho de todos, a quem a presente Direção deseja agradecer.

O "sonho" da indexação irá rapidamente tornar-se uma realidade.

O futuro será mais uma vez tarefa de todos, da Direção que iremos eleger para o próximo triénio e de nós enquanto sócios.

Acreditamos veementemente que será promissor!



Manuela Carvalheiro

# Paragangliomas, caracterização clínica e funcional de 40 casos

## *Extra Adrenal Paragangliomas, Clinical features in a Portuguese cohort of 40 cases*

RJ Santos MD<sup>1</sup>, R Domingues BSc<sup>2</sup>, P Montalvão MD<sup>3</sup>, M Magalhães MD<sup>3</sup>, MJ Bugalho MD, PhD<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup> Serviço de Endocrinologia, Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil, Lisboa 1099-023, Portugal.

<sup>2</sup> Centro de Investigação de Patobiologia Molecular, Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil, Lisboa.

<sup>3</sup> Serviço de ORL, Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil, Lisboa.

<sup>4</sup> Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa, Campo Mártires da Pátria, Lisboa.

**Correspondência:** Rita J Santos › Serviço de Endocrinologia › Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil › Rua Professor Lima Basto › 1099-023 LISBOA, Portugal › rjsantos@ipolisboa.min-saude.pt

### RESUMO

**Introdução:** Os paragangliomas (PGLs) são tumores raros que derivam do tecido simpático, quer da supra-renal quer extra supra-renal, ou do tecido parassimpático. Os PGLs que derivam do tecido cromafim das supra-renais são também designados por feocromocitomas. Desde que se conhece a relação entre os genes que codificam as subunidades da enzima Succinato Desidrogenase (SDH) e a etiologia dos PGLs que o diagnóstico genético assumiu relevância na avaliação dos doentes com estes tumores.

**Métodos:** Revisão e caracterização clínica dos casos de PGLs com topografia extra supra-renal, seguidos no Instituto Português de Oncologia de Lisboa, com caracterização molecular prévia dos genes *SDHB*, *SDHC*, *SDHD* e *VHL*.

**Resultados:** Foram identificados 40 doentes. Destes, 33 tinham PGLs de cabeça e pescoço e 7 PGLs abdominais e pélvicos. No último grupo todos eram funcionantes enquanto no primeiro apenas 12%. Foram encontradas mutações germinais em 32.5% dos doentes (n=13). A média de idades foi de 35.2 ± 14 anos no grupo com mutação e de 52.5 ± 17 anos no grupo sem mutação. No grupo com mutação, os tumores são mais frequentemente múltiplos ( $p=0.013$ ) e ocorrem em idades mais jovens ( $P= 0.003$ ). Só em 6/13 doentes com mutação havia história familiar. Todos os 4 doentes com doença maligna tinham mutação no gene da *SDHB*.

**Conclusões:** A ausência de história familiar não permite concluir que se trata de forma esporádica. A identificação de uma mutação germinal permitirá definir quais os doentes que devem manter um controlo mais apertado atendendo ao risco aumentado de desenvolverem PGLs múltiplos e ao maior potencial maligno. Adicionalmente, permite seleccionar as famílias com indicação para rastreio genético, com vista a um diagnóstico precoce de novos casos.

### PALAVRAS-CHAVE

Paragangliomas; mutação germinal; SDH.

### ABSTRACT

**Introduction:** *Paragangliomas (PGLs) are rare tumors that arise from extraadrenal chromaffin cells that can occur as sporadic or familial entities, the latter mostly in association with germline mutations in the Succinate Dehydrogenase genes (SDH).*

**Materials and Methods:** We examined the clinical characteristics of all PGLs evaluated at the Instituto Português de Oncologia de Lisboa to whom genetic screening for germinal mutations in the SDHB, SDHC, SDHD and VHL had been previously done.

**Results:** We retrieved 40 patients, 33 with Head and Neck PGLs and 7 with abdominal PGLs. In the last group all tumors were secreting contrasting with only 12% in the former group. Germinal mutations in the SDH genes were found in 32.5% of the patients (n=13). The mean age at diagnosis for patients with and without mutation was  $35.2 \pm 14$  years versus  $52.5 \pm 17$  years. Mutation carriers were younger ( $p=0.003$ ) and had multiple PGLs more frequently ( $p=0.013$ ). Only 6/13 patients had family history suggestive of hereditary PGLs. All 4 malignant PGLs were associated with mutation in the SDHB gene.

**Conclusions:** Absence of familial antecedents does not preclude the existence of a germline mutation. Genetic diagnosis improves follow-up, since the rate of new or recurrent tumours is higher in familial than sporadic cases. Screening of at risk families allows the identification of presymptomatic members.

#### KEYWORDS

Paraganglioma; germline mutations; SDH.

## INTRODUÇÃO

Os paragangliomas (PGLs) são tumores raros que derivam do tecido simpático, quer da supra-renal quer extra supra-renal, ou do tecido parassimpático. Os PGLs que derivam do tecido cromafim das supra-renais representam um subtipo específico de PGLs também designados por feocromocitomas. No presente trabalho, como na literatura anglo-saxónica em geral, a designação de PGLs refere-se aos tumores com localização extra supra-renal: cabeça e pescoço, toráx e região abdomino-pélvica. Os tumores da cabeça e pescoço correspondem à maioria dos tumores encontrados (cerca de 70%), seguidos da localização abdomino-pélvica (20%) e torácica (10%)<sup>1</sup>. O potencial destes tumores secretarem catecolaminas permite, ainda, distingui-los entre funcionantes e não funcionantes. Os PGLs parassimpáticos geralmente localizam-se na cabeça e pescoço e não secretam catecolaminas manifestando-se inicialmente por efeito de massa, como tumefacção cervical, paralisia de pares craneanos ou acufenos nos PGLs jugulo-timpânicos. Os PGLs simpáticos encon-

tram-se na região abdomino-pélvica e são habitualmente secretores, podendo originar sintomatologia variada como hipertensão, cefaleias, palpitações e perda de peso. Cerca de 80-90% dos tumores abdominais são secretores, enquanto apenas 5-10% dos de cabeça e pescoço<sup>1,2</sup>.

O diagnóstico dos PGLs é feito essencialmente por imagiologia convencional, como tomografia computadorizada (TC), em que se apresentam como massas homogéneas com hipercaptação de contraste, sendo também a TC essencial para avaliação do compromisso ósseo nos PGLs de cabeça e pescoço. Em Ressonância Magnética (RM) estes tumores aparecem também hiperintensos em T2. Os PGLs, como tumores neuro-endócrinos, exprimem receptores de somatostatina (tipo 2), pelo que podem também ser identificados por cintigrafia com octreótido, com uma sensibilidade até 90% nos PGLs de cabeça e pescoço. A cintigrafia com octreótido permite também detectar outros focos não esperados de doença (em caso de PGLs múltiplos). Os tumores simpáticos, como os PGLs abdominais, são também habitualmente visíveis em cintigrafia com MIBG

com uma sensibilidade de cerca de 80%<sup>3,4,5</sup>.

Como a maioria dos tumores abdominais são secretores o diagnóstico passa pela demonstração de hiperfunção. Este diagnóstico pode ser feito pela medição das metanefrinas e catecolaminas urinárias nas 24 horas, com uma sensibilidade de cerca 90%. A medição de metanefrinas plasmáticas tem também uma alta sensibilidade, embora com maior número de falsos positivos<sup>6,7</sup>.

Desde que é conhecida a relação entre os genes que codificam as subunidades da enzima Succinato Desidrogenase (SDH) e a etiologia dos PGLs que o diagnóstico genético nos doentes com estes tumores assumiu particular importância na abordagem e seguimento dos mesmos<sup>8,9,10</sup>. A presença de formas familiares de PGLs é variável nas diversas séries (10-30%), podendo mesmo atingir prevalências superiores a 50%, mesmo na ausência de história familiar sugestiva de doença adquirida<sup>11,12,13,14</sup>. No presente trabalho, correlacionam-se os dados do estudo genético, efectuado no nosso hospital sistematicamente desde 2007, com dados de apresentação clínica.

## MÉTODOS

Foram revistos os processos clínicos de todos os doentes com PGLs de localização extra supra-renal, acompanhados no Instituto Português de Oncologia de Lisboa, a quem previamente tinha sido efectuado pesquisa de mutações germinais nos genes da *SDHB*, *SDHC*, *SDHD* e *VHL*. Só foram considerados os casos com diagnóstico histológico de PGLs. Para todos os doentes foram consideradas as variáveis: localização do tumor; presença de tumores únicos ou múltiplos; hipersecreção de catecolaminas; história familiar sugestiva de PGLs/feocromocitomas hereditários ou de *VHL*; e idade aquando do diagnóstico. Foram considerados secretores os tumores com doseamento de metanefrinas totais e ácido vanil-mandélico (AVM), em

urina de 24h superior a 1 mg (valor de referência < 1 mg/24 horas) e 14 mg (valor de referência < 14 mg/24 horas) respectivamente, no mínimo em duas ocasiões, com ou sem sinais ou sintomas sugestivos de hipersecreção adrenérgica. Na avaliação de todos os Paragangliomas, independentemente da localização, foi realizada uma cintigrafia com MIBG (Metaiodobenzilguanidina, utilizando Iodo<sup>131</sup>) para excluir presença de feocromocitoma concomitante ou tumores múltiplos. No entanto, uma vez que a sensibilidade da cintigrafia com MIBG não é de 100%, alguns tumores poderão não ter sido detectados.

Para os PGLs de cabeça e pescoço a sequência do diagnóstico genético foi de *SDHD-SDHB-SDHC-VHL*; para os abdominopélvicos *SDHB-SDHD-SDHC-VHL*; para os tumores malignos (independente da localização) foi efectuada pesquisa de mutação no gene da *SDHB* primariamente.

Para a análise estatística foi utilizado o software SPSS 13.0. Para efeitos de comparação de médias foi utilizado o teste T de Student para amostras independentes. Para comparação de frequências foi utilizado o teste exacto de Fisher. Um valor de  $p < 0.05$  com considerado estatisticamente significativo. Para o doseamento de catecolaminas e AVM urinário foi utilizado o método cromatográfico – espectrofotométrico (espectrofotómetro de UV – Vis: ATI Unicam UV2).

## RESULTADOS

Foram identificados 40 doentes (16 sexo masculino; 24 sexo feminino) com uma média de idades de  $47 \pm 18$  anos. A maioria dos tumores encontrados foram de cabeça e pescoço 82.5% (n=33) vs. 17.5% de abdominopélvicos (n=7). Todos os tumores abdominopélvicos se associaram a hipersecreção de catecolaminas versus 12% (n=4) no grupo de PGLs de cabeça e pescoço.

Nos tumores de cabeça e pescoço as prin-

cipais manifestações clínicas foram pelo efeito de massa da localização do tumor, tais como: massa cervical (29%); acufenos (23%), hipoacusia (21%) e disfonia (15%). Nos tumores funcionantes de cabeça e pescoço, em nenhum paciente o diagnóstico foi efectuado primariamente por síndrome de hipersecreção de catecolaminas.

Nos tumores abdomino-pélvicos o diagnóstico foi primariamente feito na sequência de investigação de uma Hipertensão Arterial, presente em 71% dos doentes (n=5). Nos restantes 2 doentes o diagnóstico foi efectuado por hematúria (PGL vesical) em um doente e presença de metastização óssea em outro doente.

O rastreio de mutações germinais foi positivo em 32.5% dos doentes (n=13): 6 com mutação germinal no gene da *SDHB*, 6 no gene da *SDHD* e 1 doente no gene da *SDHC*. Não foram encontradas mutações germinais no gene *VHL*.

Para efeitos de análise comparativa, os doentes foram subdivididos em 2 grupos (com e sem mutação germinal) e os dados apresentam-se, de forma sumária, nas Tabela I e II.

Nos doentes com mutação germinal, comparativamente com os doentes sem mutação germinal, a doença manifestou-se em idades mais jovens e a multiplicidade dos tumores foi mais frequente (Tabela II).

TABELA I: Características clínicas dos doentes com mutação germinal nos genes da SHD

Doente	Sexo/Idade (anos)	Diagnóstico	Múltiplos	Malignidade	Secretor	História Familiar	<i>SDHD</i>	<i>SDHC</i>	<i>SDHB</i>	Tipo de alteração
1	M/38	PGL timpânico direito + PGL carotídeo bilateral	sim	-	-	sim	c. 341_342delAT p.Tyr114CysfsX76			Frameshift
2	F/37	PGL jugulo-timpânico e vagal bilateral	sim	-	-	sim	c.315-2A>C p.?			Splicesite
3	F/32	PGL jugulo-timpânico esquerdo	-	-	-	-	c.411delT p.Leu139PhefsX29			Frameshift
4	M/46	PGLs carotídeos bilaterais	sim	-	-	sim	c.411delT p.Leu139PhefsX29			Frameshift
5	F/25	PGL jugulo-timpânico direito + carotídeo esquerdo	sim	-	-	sim	c.371_390del20in sGG p.Ala124_Ala130d elinsGly			Del/Insert
6	M/37	PGL vagal esquerdo	-	-	-	-	c.411delT p.Leu139PhefsX29			Frameshift
7	M/62	PGL vagal direito	-	-	sim	-		c.2T>A p.Met1?		Nonsense
8	M/35	Feocromocitoma esquerdo + PGL retroperitoneal	sim	sim	sim	sim			c.725G>A p.Arg242His	Missense
9	F/27	PGL carotídeo	-	sim	-	-			c.49A>G p.Thr17Ala	Missense
10	F/46	PGL jugulo-timpânico direito	-	-	-	-			Deleção exão 1	Large deletion
11	M/49	PGL timpânico direito	-	sim	sim	-			Deleção exão 1	Large deletion
12	M/15	PGL latero-aórtico direito	-	-	sim	-			Deleção exão 1	Large deletion
13	M/9	Feocromocitoma e PGL renal esquerdo	sim	sim	sim	sim			c.127G>C p.Ala43Pro	Missense

A designação das mutações foi baseada nas guidelines da Human Genome Variation Society (<http://www.hgvs.org/mutnomen/>).

? Nos casos assinalados o efeito da alteração a nível da proteína não é conhecido.

TABELA II: Características clínicas dos doentes sem mutação germinal nos genes SDH

Doente	Sexo/ Idade (anos)	Diagnóstico	Múltiplos	Malignidade	Secretor	História Familiar
14	F/53	PGL laríngeo	-	-	-	-
15	F/69	PGL jugulo-timpânico direito	-	-	-	-
16	F/57	PGL jugulo-timpânico esquerdo	-	-	-	-
17	F/61	PGL jugulo-timpânico direito	-	-	-	-
18	F/64	PGL jugulo-timpânico direito	-	-	-	-
19	F/73	Glomus jugulo-timpânico direito	-	-	-	-
20	F/73	PGL timpânico direito	-	-	-	-
21	M/56	PGL corpo carotídeo direito	-	-	-	-
22	M/35	PGL jugulo timpânico esquerdo	-	-	-	-
23	F/58	PGL jugulo-timpânico esquerdo	-	-	-	-
24	F/48	PGL jugulo-timpânico direito	-	-	-	-
25	F/70	PGL jugulo-timpânico esquerdo	-	-	-	-
26	F/76	PGL carotídeo direito.	-	-	-	-
27	F/70	PGL jugulo-timpânico esquerdo	-	-	-	-
28	M/28	PGL jugulo-timpânico direito	-	-	-	-
29	F/47	PGL jugulo-timpânico direito	-	-	-	-
30	M/41	PGL vagal esquerdo	-	-	-	-
31	F/41	PGL jugulo-timpânico esquerdo	-	-	-	-
32	F/51	PGL tireoideia	-	-	-	-
33	M/74	PGL timpânico direito	-	-	-	-
34	F/61	PGL timpânico direito	-	-	-	-
35	F/47	PGL timpânico esquerdo	-	-	-	-
36	F/35	PGL carotídeo bilateral+PGL jugulo-timpânico direito	sim	-	sim	-
37	F/65	PGL jugulo timpânico esquerdo	sim	-	sim	-
38	M/28	PGL vesical	-	-	sim	-
39	F/20	PGL abdominal	sim	-	sim	sim
40	M/17	PGL abdominal	-	sim	sim	-

TABELA III: Diferenças entre doentes com e sem mutação SDH

	Com Mutação SDH	Sem Mutação SDH	
Idade (anos)	35.2 ± 14 (9-62)	52.5 ± 17 (17-76)	P=0.003
Ocorrência tumores múltiplos	6/13	3/27	p=0.013
Presença de história familiar	6/13	1/27	p=0.003

## DISCUSSÃO

Apresentam-se os dados relativos a uma série de 40 PGLs seguidos no Centro de Oncologia de Lisboa. A prevalência de mutações germinais encontrada foi alta (32.5%) e semelhante à já encontrada noutros estudos<sup>13,14,15</sup>. Na maioria dos casos em que foram identificadas mutações, os doentes eram jovens (<35 anos), apresentavam tumores

múltiplos e/ou história familiar. No entanto, em três casos os doentes tinham mais de 45 anos, PGL único e ausência de história familiar. A propósito da história familiar, destaca-se que nos casos com mutação germinal, só era conhecida em menos de 50% dos doentes (6/13). Por um outro lado, salienta-se a não identificação de mutação germinal em três doentes com tumores múltiplos, dois deles em idades muito jovens (20 e 35 anos de idade). Nestes casos não se pode excluir o envolvimento de outros genes devendo estes doentes, do ponto de vista prático, ser sujeitos à orientação proposta para as formas familiares.

Na correlação genótipo-fenótipo constata-se que todas as mutações encontradas no gene *SDHD* foram em tumores aparentemente benignos da cabeça e pescoço. Constata-se também que no grupo de doentes com mutação SDH os quatro casos com

doença maligna tinham mutação no gene *SDHB* (2 com doença abdominal e 2 com doença de cabeça e pescoço) corroborando o conhecimento prévio de que a presença de mutação *SDHB* pode associar-se a malignidade em cerca de 30% dos casos<sup>12,13,16,17,18</sup>. Não obstante, a mutação *SDHD*, embora raramente, já foi também associada a PGLs malignos pelo que a sua presença não permite excluir definitivamente malignidade<sup>12,19</sup>.

Na nossa série foi encontrada uma mutação no gene *SDHC* num doente de 62 anos com um PGL vagal direito sugestivo de penetração clínica baixa. O espectro de localização de PGLs para as mutações de *SDHC* parece ser semelhante às de *SDHD* e *SDHB*<sup>15,16</sup>.

Não se identificou nenhuma mutação no gene *VHL*. A presença de PGLs (nomeadamente de cabeça e pescoço) na doença de Von Hippel Lindau (*VHL*) já foi descrita, sendo a sua prevalência superior à da população em geral<sup>22,23</sup>. O rastreio de mutações *VHL* em doentes sem clínica sugestiva de doença *VHL* pode ser controverso. No entanto, em 2 de 11 casos recentemente descritos com mutação *VHL*, a única manifestação inicial da doença foram PGLs da cabeça e pescoço<sup>23</sup>. Sabe-se também que entre as formas familiares de PGLs *SDH* negativas, as mutações do gene *VHL* são as mais frequentes<sup>22,23,24</sup>.

É actualmente aceite que o rastreio genético selecionado, orientado pela história familiar e fenótipo, deve ser efectuado a todos os casos de PGLs e feocromocitoma<sup>25,26</sup>. Esta nova orientação corrigiu a ideia antiga de que só 10% dos doentes afectados teria uma forma familiar<sup>27</sup>. Embora a relação custo-benefício, associada a este procedimento, deva ser ponderada, as principais vantagens prendem-se com a identificação dos doentes com potencial de desenvolverem tumores múltiplos e ou PGLs malignos. Adicionalmente, o rastreio genético cria condições para estudar familiares assintomáticos e identificar a doença em fase mais precoce e potencialmente curável.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Erickson D, Kudva YC, Ebersold MJ, Thompson GB, Grant CS, van Heerden JA, Young WF Jr. Benign paragangliomas: clinical presentation and treatment outcomes in 236 patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Nov;86(11):5210-6.
2. Baysal BE, Myers EN 2002 Etiopathogenesis and clinical presentation of carotid body tumors. *Microsc Res Tech* 59:256–261
3. Telischi FF, Bustillo A, Whiteman ML, Serafini AN, Reisberg MJ, Gomez-Marin O, Civantos FJ, Balkany TJ. Octreotide scintigraphy for the detection of paragangliomas. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2000;122(3):358
4. Bustillo A, Telischi F, Weed D, Civantos F, Angeli S, Serafini A, Whiteman M Octreotide scintigraphy in the head and neck. *Laryngoscope.* 2004;114(3):434.
5. Taïeb D, Sebag F, Hubbard JG, Mundler O, Henry JF, Conte-Devolx B. Does iodine-131 meta-iodobenzylguanidine (MIBG) scintigraphy have an impact on the management of sporadic and familial pheochromocytoma. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2004;61(1):102
6. Perry CG, Sawka AM, Singh R, Thabane L, Bajnarek J, Young WF Jr. The diagnostic efficacy of urinary fractionated metanephrines measured by tandem mass spectrometry in detection of pheochromocytoma. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007;66(5):703.
7. Sawka AM, Jaeschke R, Singh RJ, Young WF Jr. A comparison of biochemical tests for pheochromocytoma: measurement of fractionated plasma metanephrines compared with the combination of 24-hour urinary metanephrines and catecholamines. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(2):553.
8. Astuti D, Latif F, Dallol A, Dahia PL, Douglas F, George E, Skoldberg F, Husebye ES, Eng C, Maher ER 2001 Gene mutations in the succinate dehydrogenase subunit *SDHB* cause susceptibility to familial pheochromocytoma and to familial paraganglioma. *Am J Hum Genet* 69:49–54
9. Baysal BE, Ferrell RE, Willett-Brozick JE, Lawrence EC, Myssiorek D, Bosch A, van der Mey A, Taschner PE, Rubinstein WS, Myers EN, Richard 3rd CW, Cornilisse CJ, Devilee P, Devlin B 2000 Mutations in *SDHD*, a mitochondrial complex II gene, in hereditary para-

- ganglioma. *Science* 287:848–851
10. Niemann S, Muller U 2000 Mutations in SDHC cause autosomal dominant paraganglioma, type 3. *Nat Genet* 26:268–270
  11. Burnichon N, Rohmer V, Amar L, Herman P, Leboulleux S, Darrouzet V, Niccoli P, Gaillard D, Chabrier G, Chabolle F, Coupier I, Thieblot P, Lecomte P, Bertherat J, Wion-Barbot N, Murat A, Venisse A, Plouin PF, Jeunemaitre X, Gimenez-Roqueplo AP; PGL.NET network The succinate dehydrogenase genetic testing in a large prospective series of patients with paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Aug;94(8):2817–27
  12. Benn DE, Gimenez-Roqueplo AP, Reilly JR, Bertherat J, Burgess J, Byth K, Croxson M, Dahia PL, Elston M, Gimm O, Henley D, Herman P, Murday V, Niccoli-Sire P, Pasieka JL, Rohmer V, Tucker K, Jeunemaitre X, Marsh DJ, Plouin PF, Robinson BG 2006 Clinical presentation and penetrance of pheochromocytoma/paraganglioma syndromes. *J Clin Endocrinol Metab* 91:827–836
  13. Neumann HP, Pawlu C, Peczkowska M, Bausch B, McWhinney SR, Muresan M, Buchta M, Franke G, Klisch J, Bley TA, Hoegerle S, Boedeker CC, Opocher G, Schipper J, Januszewicz A, Eng C 2004 Distinct clinical features of paraganglioma syndromes associated with SDHB and SDHD gene mutations. *JAMA* 292:943–951
  14. Amar L, Bertherat J, Baudin E, Ajzenberg C, Bressac-de Paillerets B, Chabre O, Chamontin B, Delemer B, Giraud S, Murat A, Niccoli-Sire P, Richard S, Rohmer V, Sadoul JL, Stropf L, Schlumberger M, Bertagna X, Plouin PF, Jeunemaitre X, Gimenez-Roqueplo AP 2005 Genetic testing in pheochromocytoma or functional paraganglioma. *J Clin Oncol* 23:8812–8818
  15. Lima J, Feijão T, Ferreira da Silva A, Pereira-Castro I, Fernandez-Ballester G, Máximo V, Herrero A, Serrano L, Sobrinho-Simões M, Garcia-Rostan G High frequency of germline succinate dehydrogenase mutations in sporadic cervical paragangliomas in northern Spain: mitochondrial succinate dehydrogenase structure-function relationships and clinical-pathological correlations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Dec;92(12):4853–64.
  16. Amar L, Baudin E, Burnichon N, Peyrard S, Silvera S, Bertherat J, Bertagna X, Schlumberger M, Jeunemaitre X, Gimenez-Roqueplo AP, Plouin PF 2007 Succinate dehydrogenase B gene mutations predict survival in patients with malignant pheochromocytomas or paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab* 92:3822–3828
  17. Gimenez-Roqueplo AP, Favier J, Rustin P, Rieubland C, Crespin M, Nau V, Khau Van Kien P, Corvol P, Plouin PF, Jeunemaitre X 2003 Mutations in the SDHB gene are associated with extra-adrenal and/or malignant pheochromocytomas. *Cancer Res* 63:5615–5621
  18. Timmers HJ, Kozupa A, Eisenhofer G, Raygada M, Adams KT, Solis D, Lenders JW, Pacak K 2007 Clinical presentations, biochemical phenotypes, and genotype-phenotype correlations in patients with succinate dehydrogenase subunit B-associated pheochromocytomas and paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab* 92:779–786
  19. Havekes B, Corssmit EP, Jansen JC, van der Mey AG, Vriends AH, Romijn JA. Malignant paragangliomas associated with mutations in the succinate dehydrogenase D gene. *Clin Endocrinol Metab.* 2007 Apr;92(4):1245–8
  20. Schiavi F, Boedeker CC, Bausch B, Peczkowska M, Gomez CF, Strassburg T, Pawlu C, Buchta M, Salzmann M, Hoffmann MM, Berlis A, Brink I, Cybulla M, Muresan M, Walter MA, Forrer F, Vañlima ki M, Kawecki A, Szutkowski Z, Schipper J, Walz MK, Pigny P, Bauters C, Willet-Brozick JE, Baysal BE, Januszewicz A, Eng C, Opocher G, Neumann HP 2005 Predictors and prevalence of paraganglioma syndrome associated with mutations of the SDHC gene. *JAMA* 294:2057–2063
  21. Mannelli M, Ercolino T, Giache` V, Simi L, Cirami C, Parenti G 2007 Genetic screening for pheochromocytoma: should SDHC gene analysis be included? *J Med Genet* 44:586–587
  22. Boedeker CC, Erlic Z, Richard S, Kontny U, Gimenez-Roqueplo AP, Cascon A, Robledo M, de Campos JM, van Nederveen FH, de Krijger RR, Burnichon N, Gaal J, Walter MA, Reschke K, Wiech T, Weber J, Rückauer K, Plouin PF, Darrouzet V, Giraud S, Eng C, Neumann HP. Head and neck paragangliomas in von Hippel-Lindau disease and multiple endocrine neoplasia type 2. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Jun;94(6):1938–44
  23. Gaal J, van Nederveen FH, Erlic Z, Korpershoek E, Oldenburg R, Boedeker CC, Kontny U,



- Neumann HP, Dinjens WN, de Krijger RR. Parasympathetic paragangliomas are part of the Von Hippel-Lindau syndrome. *Clin Endocrinol Metab.* 2009 Nov;94(11):4367-71.
24. Ercolino T, Becherini L, Valeri A, Maiello M, Gagliano MS, Parenti G, Ramazzotti M, Piscitelli E, Simi L, Pinzani P, Nesi G, Degl'Innocenti D, Console N, Bergamini C, Mannelli M 2008 Uncommon clinical presentations of pheochromocytoma and paraganglioma in two different patients affected by two distinct novel VHL germline mutations. *Clin Endocrinol (Oxf)* 68:762–768
  25. Gimenez-Roqueplo AP, Lehnert H, Mannelli M, Neumann H, Opocher G, Maher ER, Plouin PF 2006 Pheochromocytoma, new genes and screening strategies. *Clin Endocrinol (Oxf)* 65:699–705
  26. Pacak K, Eisenhofer G, Ahlman H, Bornstein SR, Gimenez-Roqueplo AP, Grossman AB, Kimura N, Mannelli M, McNicol AM, Tischler AS 2007 Pheochromocytoma: recommendations for clinical practice from the First International Symposium. October 2005. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 3:92–102
  27. Bravo, E.L. (1994) Evolving concepts in the pathophysiology, diagnosis, and treatment of pheochromocytoma. *Endocrine Review*, 3, 356–368.

# Formas de apresentação de Diabetes Mellitus tipo 1: revisão de 15 anos.

## *Clinical features at the onset of childhood type 1 Diabetes Mellitus: 15-year review.*

Vinhas da Silva<sup>1</sup>, Miguel Salgado<sup>2</sup>, Filipa Balona<sup>3</sup>, Ana Vieira<sup>4</sup>, Andreia Teles<sup>3</sup>, Jorge Sales Marques<sup>5</sup>, Rosa Arménia Campos<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Interno Complementar de Pediatria do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia / Espinho, EPE

<sup>2</sup> Interno Complementar de Pediatria da Unidade Local de Saúde do Alto Minho, EPE

<sup>3</sup> Assistente Hospitalar de Pediatria do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia / Espinho, EPE

<sup>4</sup> Nutricionista Pediátrica, Serviço de Nutrição do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia / Espinho, EPE

<sup>5</sup> Chefe de Serviço de Pediatria do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia / Espinho, EPE

<sup>6</sup> Assistente Hospitalar Graduado do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia / Espinho, EPE

**Correspondência:** António Augusto Vinhas da Silva › Serviço de Pediatria › Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia / Espinho, EPE › Rua Dr. Francisco Sá carneiro, 4400 V. N. DE GAIA › vinhasdasilva@gmail.com

### RESUMO

**Objectivo:** Caracterização das formas de apresentação (clínica e laboratorial) das crianças com diagnóstico de novo de Diabetes mellitus tipo 1 (DM1) num hospital de nível terciário.

**Métodos:** Estudo retrospectivo dos registos clínicos das crianças admitidas no Serviço de Pediatria do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia / Espinho com o diagnóstico de DM1 inaugural, no período de 1 de Janeiro de 1997 e 30 de Junho de 2011.

**Resultados:** Foram diagnosticados 127 novos casos de DM1 (69 do sexo masculino e 58 do sexo feminino), com uma média de idades de 7,8 anos. Verificou-se um aumento do número de casos / ano desde 2001, sem variações sazonais. A maioria dos casos ocorreu no grupo etário dos 6 aos 10 anos (44,9%). O tempo médio entre o início dos sintomas / sinais e o diagnóstico foi de 28,7 dias, sendo inferior nas crianças do grupo dos 0-5 anos. A polidipsia, poliúria e perda ponderal foram os sintomas / sinais mais frequentemente observados. Quarenta e três crianças (33,9%) apresentaram-se no momento do diagnóstico com cetoacidose diabética (CAD), com predomínio no sexo feminino e nas crianças mais novas, sem variações na incidência ao longo dos anos.

**Conclusão:** A maioria das crianças apresentou os sintomas / sinais típicos no momento do diagnóstico, no entanto, o tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico foi longo e a percentagem de crianças com CAD no momento do diagnóstico foi alta. Estes dados fortalecem a necessidade de maior intervenção e um maior nível de alerta nos Cuidados de Saúde Primários, promovendo campanhas de sensibilização da população e dos profissionais de saúde.

### PALAVRAS-CHAVE

Diabetes mellitus tipo 1; cetoacidose; crianças.

### ABSTRACT

**Aim:** To describe the clinical presentation and laboratory features of children with newly diagnosed type 1 diabetes mellitus.

**Methods:** Retrospective study of hospital records of children with newly diagnosed type 1 diabetes mellitus during the period of 1997-2011 in Paediatric department of Centro Hospitalar de Vila

Nova de Gaia / Espinho.

Results: There were 127 children with newly diagnosed type 1 diabetes mellitus (69 boys and 58 girls) with an average age of 7,8 years. The frequency increased since 2001, without significant seasonality. We found a peak incidence rate in the middle group (6-10 years). The average duration of presenting symptoms before the hospital encounter was 28,7 days, but it was shorter in young age group. Polydipsia, polyuria and weight loss were the most common symptoms. Forty-three (33,9%) children presented with diabetic ketoacidosis, with predominance of girls and young age group. The frequency of diabetic ketoacidosis was constant.

Conclusion: The commonly recognised symptoms of diabetes were present in most of the children at the time of diagnosis, but the average duration of presenting symptoms before diagnosis was long and the frequency of diabetic ketoacidosis was high. These findings call for a collaborative effort for the early recognition of symptoms by patients and physicians.

#### KEYWORDS

Type 1 diabetes mellitus; ketoacidosis; children.

## INTRODUÇÃO

A Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1), uma das doenças crónicas mais frequente na idade pediátrica, é causada pela destruição selectiva das células  $\beta$  pancreáticas e, conseqüentemente, deficiência na produção de insulina<sup>1,2</sup>. A incidência de DM1 está a aumentar a nível mundial, com variações acentuadas da incidência anual entre os diferentes países, desde 0,1 / 100.000 pessoas / ano na China até 40,9 / 100.000 pessoas / ano na Finlândia<sup>3-5</sup>. A incidência em Portugal é desconhecida, mas de acordo com estudos regionais, parece estar a aumentar<sup>6</sup>.

Apesar da maioria das crianças com diabetes se apresentar no momento do diagnóstico com os sintomas / sinais clássicos (poliúria, polidipsia e emagrecimento), a forma de apresentação da DM1 é muito variável com a localização geográfica, a duração dos sintomas e a idade ao diagnóstico<sup>1,7</sup>. A cetoacidose diabética (CAD) é uma forma frequente e grave de manifestação da DM1, presente em 15-67% das crianças no momento do diagnóstico<sup>8,9</sup>. Os estudos mais recentes apontam para uma diminuição da incidência de CAD inaugural, o que pode ser explicado pela melhoria dos cuidados de saúde, maior informação da população e programas de prevenção<sup>6,8</sup>.

O objectivo deste estudo é a caracterização das formas de apresentação (clínica e laboratorial) das crianças com diagnóstico de novo de DM1 num hospital de nível terciário.

## MATERIAL E MÉTODOS

Estudo retrospectivo dos registos clínicos das crianças admitidas no Serviço de Pediatria do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia / Espinho (SPCHVNGE) com o diagnóstico de DM1 inaugural, no período de 1 de Janeiro de 1997 e 30 de Junho de 2011 (14,5 anos). O diagnóstico de DM1 foi realizado de acordo os critérios de 1997 do *Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*<sup>10</sup>. A CAD foi definida como hiperglicemia acima de 250mg/dL e pH <7,3 ou bicarbonatos <15mmol/L na presença de cetonúria e classificada em três níveis de acordo com a gravidade (ligeira – pH <7,3 ou bicarbonatos <15mmol/L; moderada – pH <7,2 ou bicarbonatos <10mmol/L; grave – pH <7,1 ou bicarbonatos <5mmol/L)<sup>1,8</sup>.

Foram analisados os seguintes parâmetros: sexo, idade, ano de diagnóstico, sazonalidade, antecedentes pessoais, manifestações clínicas, tempo decorrido entre o início dos sintomas e o diagnóstico, forma de apresen-

tação (laboratorial) e antecedentes familiares de DM1, DM2 ou doenças auto-imunes.

A análise dos dados foi realizada por grupos etários: grupo 1 (0-5 anos), grupo 2 (6-10 anos), grupo 3 (11-15 anos).

Os dados foram analisados com o programa estatístico SPSS 17.0. Utilizou-se o teste t para avaliar as variáveis contínuas, paramétricas e o teste Mann-Whitney para as variáveis não paramétricas. O teste Qui-Quadrado foi utilizado para avaliar as variáveis categóricas. Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

## RESULTADOS

Durante este período de 14,5 anos foram diagnosticados no SPCHVNGE 127 novos casos de DM1 (69 do sexo masculino e 58 do sexo feminino), com uma média de idades de 7,8 anos (desvio padrão de 3,6 anos; mínimo de 15 meses; máximo de 15 anos). A distribui-

ção dos casos ao longo dos anos, representada no gráfico 1, revelou um aumento do número de casos desde 2001, excepto em 2009, com um pico em 2007. A distribuição sazonal foi relativamente uniforme pelas diferentes estações do ano: Inverno 35 (27,6%); Primavera 32 (25,2%); Verão 28 (22,0%); Outono 32 (25,2%). A distribuição sazonal ao longo dos anos não apresentou variações significativas ( $p=0,399$ ). Em relação à distribuição pelo sexo, verificou-se ligeiro predomínio no sexo masculino (54,3%). Quando comparado o sexo com os diferentes grupos etários, não foi identificada diferença com significado estatístico ( $p=0,934$ ). A maioria dos casos ocorreu no grupo etário dos 6 aos 10 anos (44,9%). As médias da idade de diagnóstico ao longo dos anos foram semelhantes (1997-2001:  $7,6 \pm 3,3$  anos; 2002-2006:  $7,8 \pm 3,4$  anos; 2007-2011:  $7,9 \pm 4,2$  anos;  $p=0,949$ ).

Os dados clínicos e laboratoriais das crianças com o diagnóstico de DM1 inaugural estão representados na tabela 1.

TABELA 1: Dados clínicos e laboratoriais das crianças com o diagnóstico de DM1 inaugural.

	Total	Grupo 1 (0-5 anos)	Grupo 2 (6-10 anos)	Grupo 3 (11-15 anos)	p
n (%)	127 (100%)	36 (28,3%)	57 (44,9%)	34 (26,8%)	0,555
Sexo (M/F)	69/58	19/17	32/25	18/16	0,934
Idade (anos)	7,8 $\pm$ 3,6	3,2 $\pm$ 1,2	8,0 $\pm$ 2,7	12,3 $\pm$ 1,8	0,000
Duração sintomas (dias)	28,7 $\pm$ 26,6	17,9 $\pm$ 13,3	31,0 $\pm$ 31,2	36,5 $\pm$ 26,1	0,011
Sintomas / Sinais					
Polidipsia	120 (94,5%)	35 (97,2%)	54 (94,7%)	31 (91,2%)	0,538
Poliúria	106 (83,5%)	29 (80,6%)	47 (82,4%)	30 (88,2%)	0,663
Perda ponderal	89 (70,0%)	19 (52,8%)	42 (73,7%)	28 (82,4%)	0,019
Polifagia	29 (22,8%)	10 (27,8%)	13 (22,8%)	6 (17,6%)	0,601
Enurese	10 (7,9%)	5 (13,9%)	5 (8,8%)	0 (0%)	0,092
Fadiga	18 (14,2%)	3 (8,3%)	10 (17,5%)	5 (14,7%)	0,461
Vómitos	18 (14,2%)	7 (19,4%)	7 (12,2%)	4 (11,8%)	0,562
Dor abdominal	10 (7,9%)	3 (8,3%)	5 (8,8%)	2 (5,9%)	0,878
Dispneia	6 (4,7%)	2 (5,6%)	3 (5,3%)	1 (2,9%)	0,847
Alterações de consciência	3 (2,4%)	4 (11,1%)	3 (5,3%)	0 (0%)	0,125
História Familiar					
DM1	15 (11,8%)	6 (16,7%)	3 (5,3%)	6 (17,6%)	0,132
DM2	49 (38,6%)	15 (41,7%)	15 (26,3%)	19 (55,9%)	0,078
DM1 / DM2	57 (44,9%)	18 (50,0%)	16 (28,1%)	23 (67,6%)	0,004
CAD	43 (33,9%)	17 (47,2%)	14 (24,6%)	12 (35,3%)	0,088
Gravidade da CAD					0,72
Ligeira	17 (39,5%)	6 (35,3%)	6 (42,9%)	5 (41,7%)	
Moderada	11 (25,5%)	4 (23,5%)	2 (14,3%)	5 (41,7%)	
Grave	10 (23,2%)	4 (23,5%)	4 (28,6%)	2 (16,6%)	
Desconhecido	5 (11,8%)	3 (17,7%)	2 (14,2%)	0 (0%)	
HbA1c (%)	11,6 $\pm$ 2,5	11,2 $\pm$ 2,3	11,9 $\pm$ 2,5	11,6 $\pm$ 2,7	0,558

A maioria das crianças (72,4%) foi orientada para o Serviço de Urgência Pediátrica pelo Médico Assistente / Centro de Saúde, com aumento progressivo dos doentes referenciados ao longo dos anos ( $p=0,334$ ).

Relativamente à existência de história familiar de DM, foi positiva em 44,9% dos casos (DM1 - 11,8%; DM2 - 38,6%), com predomínio nas crianças do grupo dos 0-5 anos e nos adolescentes ( $p=0,004$ ). Quando se correlaciona a existência de história familiar de DM com o tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico não se observa diferença com significado estatístico ( $p=0,166$ ), no entanto é de salientar que a média de dias entre o início dos sintomas e o diagnóstico foi inferior nos casos em que existia história familiar de DM (27,0 vs 34,6).

O tempo médio entre o início dos sintomas / sinais e o diagnóstico foi de 28,7 dias, sendo inferior no grupo 1 (17,9 dias) relativamente às crianças mais velhas / adolescentes ( $p=0,011$ ), sem variação ao longo dos anos.

A polidipsia (94,5%), poliúria (83,5%) e perda ponderal (70,0%) foram os sintomas / sinais mais frequentemente observados no momento do diagnóstico, sendo de salientar uma percentagem superior de identificação de perda ponderal nos adolescentes relativamente às crianças mais pequenas ( $p=0,019$ ). Os sintomas / sinais de maior gravidade, nomeadamente a dispneia (4,7%) e as alterações do estado de consciência (2,4%), foram identificados num pequeno número de crianças.

Um total de 43 crianças (33,9%) apresentaram-se no momento do diagnóstico com CAD, com predomínio significativo do sexo feminino (26 vs 17;  $p=0,016$ ), sem variações significativas na incidência ao longo do tempo do estudo (Gráfico 1). Apesar de não existirem diferenças com significado estatístico quando comparada a forma de apresentação (com ou sem CAD) com os diferentes grupos etários ( $p=0,088$ ), verificou-se um predomínio de casos de

GRÁFICO 1: Distribuição do número de casos de DM1 vs cetoacidose ao longo dos anos.

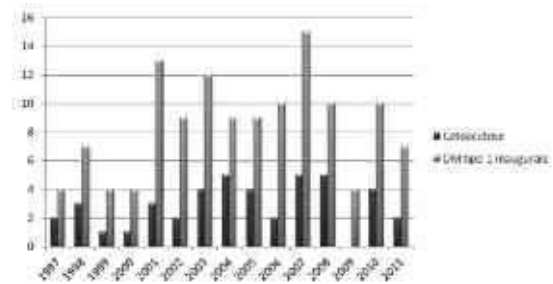
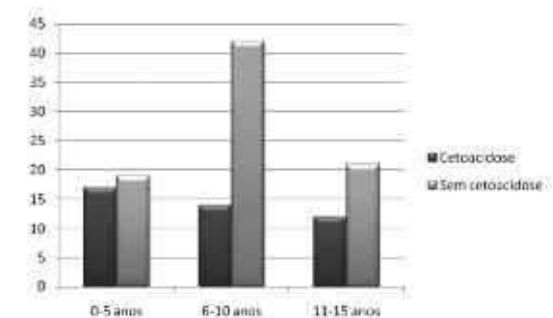


GRÁFICO 2: Distribuição da forma de apresentação (com ou sem CAD) pelos diferentes grupos etários.



CAD no grupo 1 (47,2%) como é possível observar no Gráfico 2. Quando se correlaciona a forma de apresentação (com ou sem CAD) com o tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico não se observa diferen-

TABELA 2: Comparação entre as crianças com CAD e sem CAD.

	CAD	Sem CAD	p
n (%)	43 (33,9%)	84 (66,1%)	0,227
Sexo (M/F)	17/26	69/58	0,016
Idade (anos)	7,1±4,0	8,15±3,4	0,118
Duração sintomas (dias)	22,8±19,0	31,8±29,7	0,077
Sintomas / Sinais			
Polidipsia	42 (97,7%)	77 (91,7%)	0,349
Poliúria	38 (88,4%)	67 (79,8%)	0,334
Perda ponderal	33 (76,7%)	55 (65,5%)	0,261
Polifagia	11 (25,6%)	18 (21,4%)	0,648
Enurese	1 (2,3%)	9 (10,7%)	0,090
Fadiga	9 (20,9%)	9 (10,7%)	0,132
Vómitos	15 (34,9%)	3 (3,6%)	0,000
Dor abdominal	5 (11,6%)	5 (5,9%)	0,279
Dispneia	6 (13,9%)	0 (0%)	0,001
Alterações de consciência	7 (16,3%)	0 (0%)	0,000
História Familiar			
DM1	5 (11,6%)	16 (19,0%)	0,320
DM2	19 (44,1%)	45 (53,6%)	0,391
DM1 / DM2	23 (53,5%)	53 (63,1%)	0,376
HbA1c (%)	12,8±2,3	11,2±2,4	0,013

ça com significado estatístico ( $p=0,077$ ), no entanto é de salientar que a média de dias entre o início dos sintomas e o diagnóstico foi inferior nos casos que se apresentaram com CAD (22,8 vs 31,8). Os vômitos, a dispnéia e as alterações de consciência foram significativamente mais frequentes nas situações de CAD. Relativamente à gravidade da CAD, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos etários, bem como no tempo necessário para o diagnóstico ( $p=0,944$ ). A comparação entre os grupos com CAD e sem CAD está apresentada na Tabela 2.

Relativamente aos dados laboratoriais, o valor médio de HbA1c foi significativamente superior nos casos que se apresentaram com CAD ( $p=0,013$ ).

## DISCUSSÃO

No nosso estudo verificou-se um aumento do número de casos de DM1 diagnosticados ao longo dos anos, sem que existisse aumento significativo da população alvo, o que está de acordo com o descrito na literatura<sup>3,4,5</sup>. Os motivos para este aumento ainda não estão completamente esclarecidos, não sendo possível determinar o papel exacto da susceptibilidade genética e dos factores ambientais. O rápido aumento na incidência é mais compatível com as influências ambientais do que genéticas. Alguns dos factores que têm sido descritos são a exposição pré e pós-natal a vírus, vacinação, nutrição e idade materna avançada<sup>3,11</sup>. No entanto, ao contrário de outros estudos<sup>3</sup>, não identificamos diferenças significativas na distribuição sazonal dos casos, o que justificaria o papel de algumas das influências ambientais descritas anteriormente.

A idade média no momento do diagnóstico na nossa série foi inferior à descrita na maioria das casuísticas, não se verificando diferenças entre os sexos. Na maioria dos estudos, o pico de incidência é na altura da puberdade, sendo mais precoce nas rapari-

gas do que nos rapazes<sup>1,3,8</sup>. De acordo com os dados do Eurodiab, o aumento da incidência da DM1 deve-se principalmente ao aumento do número de casos no grupo etário dos 0-5 anos, principalmente nos países de baixa/moderada incidência, no entanto, apesar de Portugal ser um país de moderada incidência de DM1, a idade média no nosso estudo foi semelhante ao longo dos anos<sup>5</sup>.

O tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico foi sobreponível ao descrito em outras séries, sendo inferior nas crianças mais novas, o que pode ser justificado pelo défice de reserva de células  $\beta$  pancreáticas e pela maior susceptibilidade para a descompensação metabólica<sup>1,2,3</sup>. A polidipsia, poliúria e perda ponderal foram os principais sintomas / sinais no momento do diagnóstico, tal como descrito por outros autores<sup>1,12</sup>.

Apesar de não apresentar significado estatístico, verificou-se ao longo dos anos um aumento do número de casos referenciados do Médico Assistente / Centro de Saúde, o que é um dado a favor do trabalho que está a ser realizado nos Cuidados de Saúde Primários. Contudo ainda há muito trabalho pela frente, atendendo à elevada prevalência de casos de CAD no momento do diagnóstico.

No nosso estudo foi observada uma percentagem elevada (33,9%) de crianças que apresentavam CAD à data de diagnóstico, sem variação ao longo dos anos. A prevalência observada é superior à descrita nos países nórdicos, mas semelhante à descrita noutros países desenvolvidos como o Reino Unido e os Estados Unidos da América<sup>13,14,15</sup>. A justificação para estes resultados pode ser devida à relação inversamente proporcional entre a incidência da DM1 e a prevalência de CAD descrita no estudo EURODIAB<sup>16</sup>. Uma explicação possível para esta associação é um maior nível de alerta médico para os sintomas típicos da diabetes nos locais de maior taxa de incidência. No entanto, em Portugal e no resto da Europa a incidência de DM1 aumentou nos últimos anos<sup>5</sup>, mas a prevalência de CAD no momento do diag-

nóstico manteve-se invariável ao longo dos anos do nosso estudo. Ao contrário de outras investigações<sup>8</sup>, no nosso estudo identificou-se um significativo predomínio de casos de CAD no sexo feminino. À semelhança de outros estudos<sup>8,13,14</sup>, verificou-se um predomínio de casos de CAD nas crianças mais pequenas, o que pode ser justificado pela menor reserva de células  $\beta$  pancreáticas, maior vulnerabilidade à desidratação e dificuldade de identificar os sinais clássicos da DM1 neste grupo etário. O menor tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico nos casos de CAD pode ser um indicador de maior agressividade.

Em suma, a DM1 é uma patologia relativamente frequente cujo diagnóstico é clínico e confirmado laboratorialmente. A maioria das crianças apresenta os sintomas / sinais típicos no momento do diagnóstico, no entanto, o tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico permanece longo e a frequência de crianças com CAD no momento do diagnóstico é alta. Estes dados fortalecem a necessidade de maior intervenção e um maior nível de alerta nos Cuidados de Saúde Primários, através da promoção de campanhas de sensibilização da população e dos profissionais de saúde.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Xin Y, Yang M, Xiao JC, Tong YJ, Zhang LH. Clinical features at the onset of childhood type 1 diabetes mellitus in Shenyang, China. *Journal of Pediatrics and Child Health* 2010; 46: 171-75.
- Bizzarri C, Benevento D, Ciampalini P et al. Clinical presentation and autoimmune characteristics of very young children at the onset of type 1 diabetes mellitus. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2010; 23: 1151-1157.
- Sella T, Shoshan A, Goren I, Shalev V, Blumenfeld O, Laron Z, Chodick G. A retrospective study of the incidence of diagnosed Type 1 diabetes among children and adolescents in a large health organization in Israel, 2000–2008. *Diabet Med* 2011; 28: 48-53.
- The DIAMOND Project Group. Incidence and trends of childhood Type 1 diabetes worldwide 1990–1999. *Diabet Med* 2006; 23: 857–866.
- Patterson CC, Dahlquist GG, Gyurus E, Green A, Soltész G, EURODIAB Study Group. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989–2003 and predicted new cases 2005–2020: a multi-centre prospective registration study. *Lancet* 2009; 373: 2027–2033.
- Campos RA, Borges T, Figueiredo S, Lobarinhas G, Oliveira A, Lira S, Costa A. Diabetes Inaugural: estudo interinstitucional. In: XIX Reunião do Hospital de Crianças Maria Pia; 2007, Porto, Portugal.
- Urakami T, Inami I, Morimoto S, Kubota S, Owada M. Clinical characteristics of non-immune-mediated, idiopathic type 1 diabetes mellitus in Japanese children and adolescents. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2002; 15: 283-285.
- Schober E, Rami B, Waldhoer T. Diabetic ketoacidosis at diagnosis in Austrian children in 1989–2008: a population-based analysis. *Diabetologia* 2010; 53:1057–1061.
- Rewers A, Klingensmith G, Davis C et al. Presence of diabetic ketoacidosis at diagnosis of diabetes mellitus in youth: the Search for Diabetes in Youth Study. *Pediatrics* 2008; 121:e1258–e1266.
- The Expert Committee on Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20: 1183-1197.
- Soltész G, Patterson CC, Dahlquist G, The EURO-DIAB Study Group. Worldwide childhood type 1 diabetes incidence – what can we learn from epidemiology?. *Pediatr Diabetes* 2007; 8: 6-14.
- Al-Magamsi MS, Habib HS. Clinical presentation of childhood type 1 diabetes mellitus in the Al-Madina region of Saudi Arabia. *Pediatr Diabetes* 2004; 5:95-98.
- Hekkala A, Knip M, Veijola R. Ketoacidosis at diagnosis of type 1 diabetes in children in Northern Finland. Temporal changes over 20 years. *Diabetes Care* 2007; 30:861-866.
- Rewers A, Klingensmith G, Davis C et al. Presence of diabetic ketoacidosis at diagnosis of diabetes mellitus in youth: the Search for Diabetes in Youth Study. *Pediatrics* 2008; 121:e1258-e1266.
- Sundaram PCB, Day E, Kirk JMW. Delayed diagnosis in type 1 diabetes mellitus. *Arch Dis Child* 2009; 94:151-152.
- Levy-Marchal C, Patterson CC, Green A, The EURODIAB ACE Study Group. Geographical variation of presentation at diagnosis of type I diabetes in children. *Diabetologia* 2001; 44 (suppl 3): B75-B80.

# Evolução da uricemia após o tratamento cirúrgico da obesidade – experiência do Centro Hospitalar do Porto (CHP)

## *The evolution of uric acid levels after bariatric surgery – the experience of Centro Hospitalar do Porto (CHP)*

Ana Maia Silva<sup>1</sup>, Teresa Azevedo<sup>1</sup>, Gustavo Melo-Rocha<sup>1</sup>, Isabel Silva<sup>1</sup>, Fernando Pichel<sup>1</sup>, Carla Silva<sup>1</sup>, António Sérgio Silva<sup>2</sup>, Jorge Santos<sup>2</sup>, Carlos Nogueira<sup>2</sup>, Fernanda Prelada<sup>3</sup>, José Carlos Oliveira<sup>3</sup>, Helena Cardoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Hospital de Santo António, Centro Hospitalar do Porto

<sup>2</sup> Serviço de Cirurgia 1, Hospital de Santo António, Centro Hospitalar do Porto

<sup>3</sup> Serviço de Química Clínica, Hospital de Santo António, Centro Hospitalar do Porto

**Correspondência:** Ana Maia Silva › Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo › Hospital de Santo António, Centro Hospitalar do Porto, EPE › Largo Prof. Abel Salazar - Edifício Neoclássico › 4099-001 PORTO › anamaiasilva@gmail.com

### RESUMO

**Introdução:** A hiperuricemia tem sido associada aos componentes da síndrome metabólica e pode aumentar o risco cardiovascular por favorecer o stress inflamatório e oxidativo. A cirurgia bariátrica pode promover a sua melhoria nalguns indivíduos. O objectivo deste trabalho foi avaliar a evolução da uricemia pós-gastrobandoplastia e relacioná-la com outros factores de risco vascular e insulino-resistência.

**Métodos:** Estudo prospectivo de avaliação de adultos submetidos a cirurgia bariátrica entre 1995 e 2010 no Centro Hospitalar do Porto, com selecção daqueles submetidos a gastrobandoplastia com registo pré-cirúrgico da uricemia e 3 ou mais anos de seguimento pós-operatório. Foi feita a caracterização da amostra relativamente à uricemia, glicemia, insulinemia, peso, IMC e HOMA pré-cirurgia (t0) e anualmente até aos 3 anos pós-intervenção (t1, t2 e t3 ±3 meses, respectivamente). Os resultados são apresentados sob a forma de média±DP (mínimo-máximo); comparação das médias pelo teste de *t-Student* e correlação entre variáveis pelo coeficiente de *Pearson*.

**Resultados:** Dos 213 doentes avaliados, foram seleccionados 65 para estudo, 55 mulheres e 10 homens, com média de idade na cirurgia de 42,7±11,8anos (19,0-66,0). Em t0 apresentavam peso de 134,7±29,6Kg (92,3-244,0), IMC 52,4±10,9Kg/m<sup>2</sup> (35,0-87,4), uricemia 5,4±1,5mg/dL (2,6-8,9), glicemia 103,5±26,7mg/dL (57,0-219,0), insulinemia 24,5±19,0uU/mL (7,3-113,0) e HOMA 5,9±5,5 (0,1-27,9).

Relativamente a t0, houve redução significativa de todos os parâmetros avaliados quer em t1, t2 ou t3, nomeadamente a uricemia, de 5,4±1,5mg/dL em t0 para 4,6±1,1 mg/dL em t1, 4,1±1,1 mg/dL em t2 e 4,5±1,3 mg/dL em t3, *p*<0,001.

Em t0 e t1 houve correlação positiva significativa entre a uricemia e o peso (*r*=0,36 e *r*=0,39, respectivamente, *p*<0,001), bem como entre a uricemia e o IMC nos mesmos tempos (*r*=0,25 e *r*=0,29, respectivamente, *p*<0,001).

**Conclusões:** A perda de peso consequente à gastrobandoplastia associou-se a uma redução significativa da uricemia, glicemia e insulino-resistência nos doentes avaliados, redução que persistiu ao longo dos 3 anos pós-intervenção.

### PALAVRAS-CHAVE

Ácido úrico; Obesidade; Insulino-resistência; Gastrobandoplastia.



**ABSTRACT**

**Background:** *Hyperuricemia's been associated with metabolic syndrome and it enhances cardiovascular risk by inducing oxidative stress and inflammation. Bariatric surgery can improve uric acid profile in some patients. This study's aim was to analyse uricemia before and after adjustable gastric banding and to correlate it with other cardiovascular risk factors and insulin resistance parameters.*

**Methods:** *Prospective study of adult patients submitted to bariatric surgery between 1995 and 2010 in Centro Hospitalar do Porto. Those submitted to adjustable gastric banding with available data on uric acid levels before surgery and had at least 3 years follow-up after surgery were selected. Patients were analysed according to their levels of serum uric acid, fast glycaemia and insulin as well as weight, body mass index (BMI) and HOMA index before surgery (t0) and in the first, second and third years after surgery (t1, t2 and t3 ±3 months, respectively). The results are expressed by mean±SD (minimum-maximum). T-Student test was used to compare means and Pearson coefficient to correlate parameters.*

**Results:** *Two hundred and thirteen patients were evaluated; 60 met selection criteria (50 women and 10 men). Mean age at surgery was 42,7±11,8years (19,0-66,0). In t0 they had mean weight 134,7±29,6Kg (92,3-244,0), BMI 52,4±10,9Kg/m<sup>2</sup> (35,0-87,54, uricemia 5,4±1,5mg/dL (2,6-8,9), glycaemia 103,5±26,73mg/dL (57,0-219,0), insulinemia 24,5±19,0uU/mL (7,3-113,0) and HOMA 5,9±5,5 (0,1-27,9). Comparing to t0, all parameters decreased significantly, either in t1, t2 or t3, like mean uricemia, reducing from 5,4±1,5mg/dL in t0 to 4,6±1,1 mg/dL in t1, 4,1±1,1 mg/dL in t2 and 4,5±1,3 mg/dL in t3, p<0,001. In t0 and t1 there was positive correlation between uricemia and weight (t0: r=0.36; t1: r=0.39, p<0.001) and uricemia and BMI (t0: r=0.25; t1: r=0.29, p<0.001).*

**Conclusions:** *Weight loss after gastric banding was associated with significant reduction of uricemia, glycaemia and insulin resistance, an effect that persisted throughout the 3 years post-intervention.*

**KEYWORDS**

*Uric acid; Obesity; Insulin resistance; Adjustable gastric banding.*

**INTRODUÇÃO**

Na espécie humana, o ácido úrico é o produto final do metabolismo das purinas, quer das que provém da dieta quer das de origem endógena. Resulta da acção da enzima xantina oxidase intestinal ou hepática sobre a xantina, proveniente da degradação das purinas de ADN e de ARN<sup>1</sup>.

Cerca de dois terços do total de ácido úrico corporal são excretados na urina, pelo que defeitos na depuração renal de ácido úrico podem traduzir-se em hiperuricemia.<sup>2,3,4</sup> É o caso de doentes com insuficiência renal ou com doença renal subclínica, por exemplo indivíduos hipertensos sem doença renal clínica mas com alterações da microvasculatura renal, com tendência à hipoxia e acumulação de lactatos a nível local<sup>4</sup>. De

uma forma geral, a hiperuricemia é descrita como a presença de níveis de ácido úrico superiores a 6,5mg/dL nos homens e a 6,0mg/dL nas mulheres; não obstante, não é infrequente observar-se que indivíduos com níveis séricos de ácido úrico aparentemente normais possam ter já tradução clínica da acumulação daquele metabolito no organismo, como artrite gotosa ou litíase renal, entre outras complicações<sup>3</sup>.

A relação entre a uricemia e o risco cardiovascular é um conceito que tem gerado discussão na literatura<sup>5</sup>.

Vários estudos epidemiológicos sugerem que a uricemia possa comportar-se como um factor de risco de doença cardiovascular em doentes que possuem já os factores clássicos que compõem a síndrome metabólica, tanto para aqueles que se encontram em

prevenção primária como para aqueles em prevenção secundária<sup>5,6,7</sup>. Para muitos autores, a hiperuricemia é mesmo considerada um componente da síndrome metabólica e há dados que indiciam uma maior predisposição para o desenvolvimento de diabetes mellitus em indivíduos com níveis elevados de uricemia, *per se*<sup>8</sup>.

No entanto, a verdadeira relação subjacente a essa associação não está ainda totalmente esclarecida, entre causal (como factor de risco independente)<sup>9,10</sup> ou meramente relacional e funcionando a hiperuricemia como um sinalizador de doentes de risco elevado, no seu global.<sup>10,11</sup> Também o efeito da interferência medicamentosa não é desprezível, sendo que indivíduos com síndrome metabólica são frequentemente polimedicados e a acção hiper ou hipouricemiante dos fármacos também exerce a sua influência e deverá ser considerada na avaliação destes doentes<sup>12</sup>.

Embora seja, de facto, um assunto em investigação, a hiperuricemia parece provocar aumento de mortalidade por doença cardíaca isquémica, numa relação mais consistentemente demonstrada para o sexo feminino<sup>13,14</sup>, por mecanismos ainda não totalmente esclarecidos e pode mesmo provocar um aumento de risco de 12% na mortalidade por doença coronária por cada aumento de 1mg/dL no nível de ácido úrico do doente.<sup>13</sup> No que respeita à doença vascular cerebral, o risco de aumento da incidência e de aumento da mortalidade também parece demonstrado, tanto em pessoas com diabetes mellitus<sup>14</sup> como em adultos em geral, mas sem diferenças significativas entre sexos.<sup>13</sup>

São apontados como principais mecanismos da acção hemodinâmica deletéria do ácido úrico a promoção do stress inflamatório e oxidativo que leva à disfunção endotelial, bem como o aumento da activação e agregação plaquetárias que geram um estado pró-trombótico.<sup>5,16</sup>

A melhoria ou mesmo remissão de factores de risco vascular tem sido alcançada

de forma muito eficaz em doentes obesos em resultado da cirurgia bariátrica<sup>17</sup>.

A obesidade, um dos componentes da síndrome metabólica, é, actualmente, um sério problema de saúde pública e, assumindo um carácter de doença crónica, envolve cada vez mais indivíduos (em Portugal, estima-se que mais de 40% da população tenha obesidade visceral).<sup>18</sup>

Por mecanismos restritivos, mal-absortivos ou mistos, ainda que com algumas diferenças entre eles no que respeita ao grau, ou velocidade de melhoria, a cirurgia bariátrica tem sido a intervenção terapêutica na obesidade que permite alcançar de forma mais satisfatória a melhoria do perfil lipídico e glicémico, a normalização da uricemia e a redução dos outros factores de risco vascular como demonstrou já o estudo sueco em grande escala *Swedish Obese Subjects Study*<sup>17</sup>, para além de que com algumas técnicas pode mesmo ocorrer redução da mortalidade cardiovascular e por cancro nas mulheres.<sup>19,20</sup> De facto, em comparação com o tratamento convencional, as taxas de redução ponderal, de remissão de diabetes mellitus e de melhoria do perfil lipídico e uricémico, entre outros parâmetros avaliados têm sido significativamente superiores com a cirurgia bariátrica.<sup>17,21</sup>

Esta modalidade terapêutica para a obesidade tem sido uma opção também no Centro Hospitalar do Porto (CHP), no seguimento da avaliação multidisciplinar de doentes com obesidade grau III ou grau II com co-morbilidades associadas, que não respondem de forma satisfatória ao tratamento convencional.

Com o presente trabalho, pretendeu-se avaliar a evolução dos níveis de ácido úrico pós-cirurgia bariátrica, bem como estabelecer a relação entre a uricemia e outros factores de risco vascular e de insulino-resistência, de forma a julgar o impacto da intervenção cirúrgica da obesidade nos factores que maior risco parecem exercer no desenvolvimento da doença vascular aterogénica.

## MÉTODOS

Foi realizado um estudo do tipo prospectivo de intervenção, não-controlado com placebo, com o seguimento da população de doentes adultos submetidos a cirurgia bariátrica no CHP no período compreendido entre Janeiro de 1995 e Agosto de 2010. Foram seleccionados para análise todos os indivíduos submetidos a gastrobando-plastia ajustável cujo processo clínico incluía o nível sérico de ácido úrico pré-cirúrgico, de entre aqueles que apresentavam pelo menos 3 anos de seguimento pós-operatório no CHP.

Para os indivíduos seleccionados, foram avaliadas diversas variáveis, nomeadamente uricemia, glicemia, insulinemia, peso, Índice de Massa Corporal (IMC) e índice HOMA de insulino-resistência. Foi feito o registo de cada variável ao tempo pré-cirúrgico (t0), bem como ao 1º ano (t1), 2º ano (t2) e 3º ano (t3) pós-intervenção cirúrgica de obesidade, com um intervalo tolerado para a colheita do estudo analítico/parâmetro antropométrico de  $\pm 3$  meses para cada tempo.

Os valores de ácido úrico, glicemia e insulinemia foram analisados no laboratório de química clínica do CHP; o peso foi avaliado em cada consulta de obesidade na mesma balança digital; o IMC foi calculado

pela relação peso (Kg) /altura<sup>2</sup> (cm) e o índice HOMA pela relação glicemia em jejum (mmol/L) \* insulinemia em jejum (mU/L) / 22,5.

Para a análise estatística, foram utilizados os sistemas informáticos Microsoft Excel 2003 e SPSS versão para Windows 16.0.

A análise univariada foi realizada usando o teste de *t-Student* para amostras independentes para variáveis quantitativas e foi utilizado o coeficiente de *Pearson* para a correlação entre variáveis. O nível de significância estatística assumido foi de 0,05.

Os resultados são apresentados sob a forma de média $\pm$ DP (mínimo-máximo).

## RESULTADOS

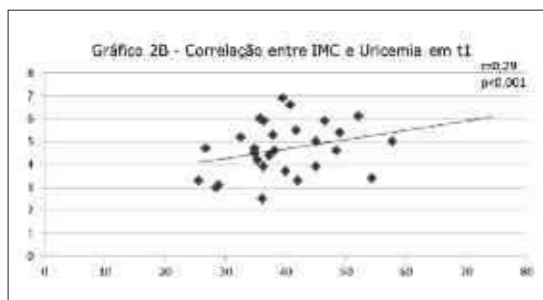
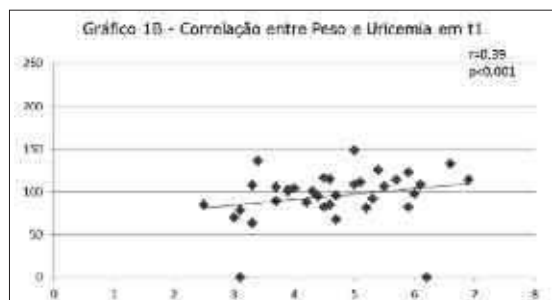
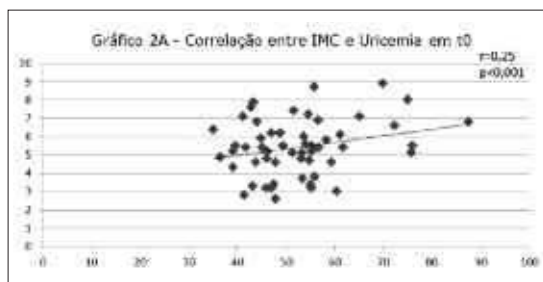
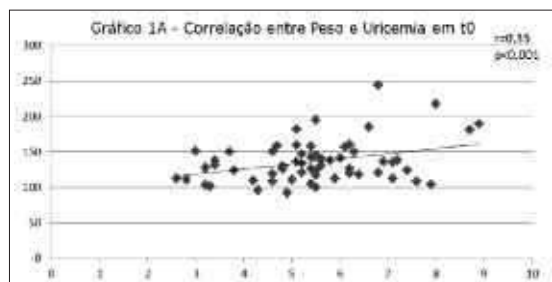
Um total de 213 doentes foi submetido a cirurgia bariátrica no CHP no período mencionado e entre aqueles submetidos a gastrobando-plastia ajustável, 65 tinham registo de uricemia pré-operatória, pelo que foram seleccionados para este estudo. Entre os 65 doentes analisados, 55 (84,6%) eram do sexo feminino e 10 (15,4%) do sexo masculino, com uma idade média no momento da cirurgia de 42,7 $\pm$ 11,8 anos (19,0-66,0).

No momento pré-cirúrgico (Tabela I), os doentes apresentavam uma uricemia média

TABELA 1: Parâmetros médios em t0, t1, t2 e t3.

Parâmetro (Valor de referência)	t0	t1*	t2*	t3*
Uricemia (mg/dL) (2,4-5,7)	5,4 $\pm$ 1,5 (2,6-8,9)	4,6 $\pm$ 1,1 (2,5-6,9)	4,1 $\pm$ 1,1 (2,4-6,7)	4,5 $\pm$ 1,2 (2,7-6,9)
Glicemia (mg/dL) (70-105)	103,5 $\pm$ 26,7 (57,0-219,0)	87,6 $\pm$ 16,9 (68,0-149,0)	83,9 $\pm$ 11,8 (66,0-114,0)	82,6 $\pm$ 12,4 (59,0-109,0)
Insulinemia (uU/mL) (2,6-24,9)	24,5 $\pm$ 19,0 (7,3-113,0)	12,9 $\pm$ 9,1 (4,7-60,8)	8,9 $\pm$ 4,1 (1,0-19,0)	6,8 $\pm$ 3,6 (1,0-14,1)
Peso (Kg)	134,7 $\pm$ 29,6 (92,3-244,0)	103,4 $\pm$ 26,0 (63,0-207,2)	91,6 $\pm$ 19,1 (56,4-130,2)	87,4 $\pm$ 18,5 (47,6-150,0)
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	52,4 $\pm$ 10,9 (35,0-87,5)	40,4 $\pm$ 10,1 (25,6-74,3)	35,2 $\pm$ 8,2 (21,9-56,8)	34,6 $\pm$ 8,3 (21,2-63,4)
Índice HOMA	5,9 $\pm$ 5,5 (0,1-27,9)	2,6 $\pm$ 2,5 (0,2-15,9)	1,7 $\pm$ 1,0 (0,2-4,5)	1,2 $\pm$ 0,9 (0,2-3,3)

\*  $p < 0,001$  para todos os parâmetros em relação a t0



de  $5,4 \pm 1,5$  mg/dL (2,6-8,9), 24 doentes (36,9%) com uricemia superior ao limite superior do normal para o laboratório do CHP (5,7 mg/dL) e a glicemia média foi de  $103,5 \pm 26,7$  mg/dL (57,0-219,0), dos quais 20 doentes (30,8%) tinham anomalia da glicose em jejum e 11 doentes (16,9%) tinham critérios de diabetes mellitus. O IMC médio antes da intervenção cirúrgica foi de  $52,4 \pm 10,9$  Kg/m<sup>2</sup> (35,0-87,4), 30 doentes (46,1%) apresentando IMC superior a 50 Kg/m<sup>2</sup> quando foram submetidos a cirurgia bariátrica, com uma média de excesso de IMC de  $27,4 \pm 10,9$  Kg/m<sup>2</sup> (10,0-62,5). O peso máximo pré-cirúrgico registado foi de 244 Kg.

Ao longo dos 3 anos de seguimento dos doentes, foi possível verificar uma redução estatisticamente significativa de todos os parâmetros médios em relação a t0 (Tabela I).

A redução do excesso de IMC foi de  $50,2\% \pm 19,5$  (17,4-97,0) aos 12 meses, de  $61,6\% \pm 22,7$  (0,0-100,0) aos 24 meses e de  $65,4\% \pm 22,9$  (0,0-100,0) aos 36 meses após cirurgia bariátrica ( $p < 0,05$  para todos os tempos).

A uricemia média era de  $5,4 \pm 1,5$  mg/dL em t0,  $4,6 \pm 1,1$  mg/dL em t1,  $4,1 \pm 1,1$  mg/dL em t2 e  $4,5 \pm 1,3$  mg/dL em t3,  $p < 0,001$ . Portanto, em t1 a redução da uricemia média em relação a t0 foi de 14,8%, em t2

de 24,1% e em t3 de 16,7% em relação ao valor pré-cirúrgico; a discreta elevação da média do ácido úrico entre t2 ( $4,1 \pm 1,1$  mg/dL) e t3 ( $4,5 \pm 1,3$  mg/dL) não teve significado estatístico. Assim, em t0 havia 24 doentes (36,9%) com níveis de ácido úrico acima do limite superior do normal, em t1 havia 8 (12,3%) e em t2 e t3 havia 5 (7,7%).

No que respeita à glicemia média, desceu de  $103,5 \pm 26,7$  mg/dL (57,0-219,0) em t0 para  $87,6 \pm 16,9$  mg/dL (68,0-149,0) em t1,  $83,9 \pm 11,8$  mg/dL (66,0-114,0) em t2 e  $82,6 \pm 12,4$  mg/dL (59,0-109,0) em t3, nenhum dos doentes tendo em t3 critérios de diabetes mellitus (11 em t0 - 16,9%) e apenas 3 doentes (4,6%) com anomalia da glicose em jejum em t3 (20 em t0 - 30,8%).

Relativamente à insulinemia, diminuiu de  $24,5 \mu\text{U/mL} \pm 19,0$  (7,3-113,0) em t0 para  $12,9 \mu\text{U/mL} \pm 9,1$  (4,7-60,8) em t1,  $8,9 \mu\text{U/mL} \pm 4,1$  (1,0-19,0) em t2 e  $6,8 \mu\text{U/mL} \pm 3,6$  (1,0-14,1) em t3 e o índice HOMA diminuiu de  $5,9 \pm 5,5$  (0,1-27,9) em t0, para  $2,6 \pm 2,5$  (0,2-15,9) em t1,  $1,7 \pm 1,0$  (0,2-4,5) em t2 e  $1,2 \pm 0,9$  (0,2-3,3) em t3 (Tabela I). A avaliação das correlações entre variáveis mostrou uma correlação positiva entre a uricemia e o peso em t0 e t1 ( $r = 0,36$  e  $r = 0,39$ , respectivamente,  $p < 0,001$ ), bem como entre a uricemia e o IMC nos mesmos tempos referidos (t0:  $r = 0,25$  e t1:  $r = 0,29$ ,

$p < 0,001B$ ). Portanto, neste estudo, foi possível verificar que, quer antes da cirurgia quer no primeiro ano após a intervenção, os doentes com maior IMC e maior peso eram igualmente os que apresentavam uma média de uricemia mais elevada.

## DISCUSSÃO

A cirurgia bariátrica tem sido uma intervenção terapêutica eficaz na obesidade e a melhoria global do perfil metabólico dos doentes tem incluído a melhoria do seu perfil uricémico.

No estudo apresentado, a predominância do género feminino em relação ao masculino e o facto de a intervenção cirúrgica de obesidade ter sido efectuada mais frequentemente na 5ª década de vida (31,5% dos doentes) não se revelaram dados surpreendentes; de facto, é frequente observar-se aquela superioridade de género entre os doentes avaliados e propostos para cirurgia bariátrica e a intervenção após os 40 anos de vida também é o mais usualmente observado internacionalmente.<sup>17,22,23,24</sup>

No momento pré-cirúrgico, a taxa de indivíduos com valores de uricemia elevados, mais de um terço, foi semelhante à de Frigg *et al*<sup>23</sup>, um estudo sobre o impacto da cirurgia bariátrica (mais precisamente, banda gástrica) nas co-morbilidades associadas à obesidade. Não obstante, no presente estudo, a média basal (5,4 mg/dL) foi inferior àquela registada noutras coortes como no estudo SOS17 (366,2 umol/L ou 6,16 mg/dL) ou no de Lee *et al*<sup>22</sup> (7,69 mg/dL). O peso e IMC basais médios, na amostra apresentada, foram, no entanto, mais elevados do que nestes estudos; no estudo de Lee *et al*, o peso e IMC basais foram de 120,8 Kg e 42,7 Kg/m<sup>2</sup>, respectivamente e no estudo SOS foram de 118,4 Kg e 41,3 Kg/m<sup>2</sup>, enquanto que no presente estudo foram de 134,7 Kg e 52,4 Kg/m<sup>2</sup>, respectivamente (Tabela 1). Tal como noutros

estudos, observar doentes com valores de glicemia em jejum dentro dos critérios de anomalia da glicose em jejum e diabetes mellitus, é também um achado usual.<sup>24,25</sup>

Com a intervenção cirúrgica efectuada na amostra estudada, foi possível verificar uma redução significativa de todos os parâmetros avaliados, mostrando o impacto benéfico da cirurgia bariátrica no perfil metabólico dos obesos. Em particular, foi possível verificar uma marcada melhoria do metabolismo dos hidratos de carbono dos doentes, salientado a importância da cirurgia bariátrica no tratamento da diabetes mellitus tipo 2.

O facto da velocidade de redução dos parâmetros avaliados ter sido superior nos primeiros 2 anos e menor nos anos subsequentes é um efeito previamente demonstrado para a cirurgia da obesidade.<sup>3,26</sup> A manutenção dessa redução até aos 3 anos pós-intervenção, verificada no presente estudo, oferece uma segurança maior acerca da protecção dos doentes contra as co-morbilidades associadas à obesidade e, quiçá, acerca da sua protecção vascular global nos anos seguintes à cirurgia. Isto vai de encontro a outros estudos já publicados, em que o benefício da intervenção cirúrgica sobre os índices antropométricos e de insulino-resistência frequentemente se mantém nos anos seguintes<sup>23,24,25,27</sup> mas que por vezes é difícil de alcançar, dada a tendência a longo prazo para haver, para alguns parâmetros, alguma recuperação da significativa redução inicial<sup>24</sup>. De facto, esta pareceu ser também a tendência no presente estudo para a uricemia ao 3º ano, mas de qualquer forma sem significado estatístico.

O grau de melhoria das variáveis avaliadas no presente estudo, em que os indivíduos estudados foram submetidas à técnica cirúrgica de colocação da banda gástrica ajustável, foi ligeiramente diferente do estudo de Lee *et al*<sup>25</sup>, sobre a intervenção com a mesma técnica em 91 doentes obesos acompanhados durante 36 meses pós-cirurgia.

No estudo de Lee *et al* o IMC basal foi de  $42,7 \pm 6,0$  Kg/m<sup>2</sup> (vs  $52,4 \pm 10,9$  Kg/m<sup>2</sup> no presente estudo) e ao 1º ano foi de  $35,3 \pm 6,6$  Kg/m<sup>2</sup> (vs  $40,4 \pm 10,1$  Kg/m<sup>2</sup> no presente estudo) o que significa uma menor taxa de redução ao 1º ano para aquele autor relativamente ao estudo actual (17,3% vs 22,9% respectivamente). Para a uricemia, Lee *et al* apresenta valores basais de  $7,69 \pm 1,69$  mg/dL (vs  $5,4 \pm 1,5$  mg/dL no presente estudo) e ao 1º ano de  $6,66 \pm 1,44$  mg/dL (vs  $4,6 \pm 1,1$  mg/dL no presente estudo), o que equivale a uma taxa de redução ao 1º ano um pouco superior no presente estudo (13,3% vs 14,8% respectivamente). A redução da glicemia média ao 1º ano, no entanto, foi no presente estudo um pouco inferior à de Lee *et al* (15,4 vs 19,6% no estudo de Lee *et al*).

No presente estudo, foi ainda possível estabelecer uma correlação positiva entre a uricemia e o peso e IMC, de encontro ao que vem sido descrito não só para esses parâmetros mas também para a insulinemia (o que neste estudo não se conseguiu demonstrar), trigliceridemia, colesterolemia total e LDL, tensão arterial sistólica e diastólica e ingestão de álcool<sup>6</sup>. A ausência de correlação entre a uricemia e o peso e IMC nos restantes anos de seguimento deste estudo pode apontar para a tendência para a homogeneização da amostra ao longo do tempo após cirurgia bariátrica.

Como verificado, o estudo actual retrata a coorte de pacientes submetidos a cirurgia de obesidade (por colocação de banda gástrica ajustável) num hospital central em Portugal e promove a reflexão sobre as repercussões que este tratamento proporciona aos doentes obesos acompanhados naquela instituição. No entanto, apresenta algumas limitações, nomeadamente um reduzido número de indivíduos incluídos para análise, devido a lacunas no registo da uricemia pré-operatória de alguns doentes, principalmente aqueles intervencionados até ao ano de 2000, bem como a ausência

de comparação dos resultados verificados por doentes submetidos a outras técnicas de cirurgia bariátrica, dada a marcada prevalência da técnica de gastrobandoplastia no CPH relativamente às outras, no intervalo de tempo estudado.

## CONCLUSÃO

O envolvimento da uricemia no risco vascular é um tema abordado com alguma frequência na literatura e a perda ponderal pode melhorar os níveis de ácido úrico dos doentes. Apesar de não ser um tratamento dirigido à hiperuricemia, tem sido verificado que, além da melhoria ponderal, do perfil lipídico e glicémico dos doentes, a cirurgia bariátrica tem igualmente permitido alcançar melhoria do metabolismo do ácido úrico, pelo que importa cada vez mais avaliar as repercussões da cirurgia bariátrica na redução da hiperuricemia.

O estudo apresentado demonstrou as repercussões da gastrobandoplastia ajustável no perfil metabólico dos doentes, com redução progressiva e significativa da uricemia média ao longo dos 3 anos de seguimento (de  $5,4 \pm 1,5$  mg/dL em t0, para  $4,6 \pm 1,1$  mg/dL em t1,  $4,1 \pm 1,1$  mg/dL em t2 e  $4,5 \pm 1,3$  mg/dL em t3), com redução de até 24,1% da uricemia dos doentes em relação valor basal. Revelou igualmente a melhoria do perfil glicémico dos doentes depois de submetidos a esta técnica de cirurgia bariátrica, nomeadamente com redução da glicemia média de  $103,5 \pm 26,7$  mg/dL antes da cirurgia para  $82,6 \pm 12,4$  mg/dL aos 3 anos, redução do total de indivíduos com critérios de anomalia da glicose em jejum aos 3 anos e reversão dos critérios de diabetes mellitus nos 11 doentes que os apresentavam antes da intervenção. De forma semelhante, mostrou redução significativa dos índices de insulino-resistência dos doentes ao longo do tempo, com redução da insulinemia média e índice HOMA. Relativamente às repercus-

sões no peso e IMC, foi verificada uma redução do peso e IMC pós-cirúrgicos relativamente aos basais (de  $134,7 \pm 29,6$  Kg e  $52,4 \pm 10,9$  Kg/m<sup>2</sup> para  $87,4 \pm 18,5$  Kg e  $34,2 \pm 8,3$  Kg/m<sup>2</sup>, respectivamente), bem como redução da taxa de excesso de IMC de  $50,2\% \pm 19,5$  aos 12 meses, para  $65,4\% \pm 22,9$  aos 36 meses após cirurgia bariátrica.

Nesse sentido, o presente estudo veio reforçar a demonstração das vantagens metabólicas que a gastrobandoplasta ajustável pode conferir aos doentes intervencionados, verificadas logo ao primeiro ano após a cirurgia mas que se tendem a manter de forma progressiva e significativa ao longo dos anos após cirurgia bariátrica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sica DA, Schoolwerth AC. Part 1. Uric acid and losartan. *Curr Opin Nephrol Hypertens*;11:475-82.2002
2. Breckenridge A. Hypertension and hyperuricaemia. *Lancet*;1:15-8.1966
3. Tykarski A. Evaluation of renal handling of uric acid in essential hypertension: hyperuricemia related to decreased urate secretion. *Nephron*;59:364-8.1991
4. Cannon PJ, Stason WB, Demartini FE, Sommers SC, Laragh JH. Hyperuricemia in primary and renal hypertension. *N Engl J Med*;275:457-64.1966
5. Alderman M, Aiyer KJV. Uric Acid: Role in Cardiovascular Disease and Effects of Losartan. *Curr Med Res Opin*;20(3).2004
6. Bonora E, Targher G, Zenere MB, et al. Relationship of uric acid concentration to cardiovascular risk factors in young men. Role of obesity and central fat distribution. The Verona Young Men Atherosclerosis Risk Factors Study. *Int J Obes Relat Metab Disord*; 20(11):975-80.1996
7. Alderman MH. Uric acid and cardiovascular risk. *Curr Opin Pharmacol*;2:126-30.2002
8. Bhole V, Choi JW, Kim SW, Choi H. Serum uric acid levels and the risk of type 2 diabetes: a prospective study. *Am J Med* 2010 Oct;123(10):957-61
9. Persky VW, Dyer AR, Idris-Soven E, Stamler J, Shekelle RB, Schoenberger JA et al. Uric acid: a risk factor for coronary heart disease? *Circulation*;59:969-77.1979
10. Johnson RJ, Kivlighn SD, Kim YG, Suga S, Fogo AB. Reappraisal of the pathogenesis and consequences of hyperuricemia in hypertension, cardiovascular disease, and renal disease. *Am J Kidney Dis*;33:225-34.1999
11. Facchini F, Chen YD, Hollenbeck CB, Reaven GM. Relationship between resistance to insulin-mediated glucose uptake, urinary uric acid clearance, and plasma uric acid concentration. *JAMA*;266:3008-11.1991
12. Sica DA, Schoolwerth AC. Renal handling of organic anions and cations and renal excretion of uric acid. In: Brenner B, Rector F, eds. *The Kidney* 680-700. 2000
13. Kim SY, Guevara JP, Kim KM, Choi HK, Heitjan DF, Albert DA. Hyperuricemia and coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis.

- lysis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*;62(2):170-80.2010
14. Culleton BF, Larson MG, Kannel WB, Levy D. Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: the Framingham Heart Study. *Ann Intern Med*;131:7-13.1999
  15. Lehto S, Niskanen L, Ronnema T, Laakso M. Serum uric acid is a strong predictor of stroke in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Stroke*;29:635-9.1998
  16. Mitu F, Dragan MV. Hyperuricemia and the metabolic syndrome (abstract). *Ver Med Chir Soc Med Nat Iasi*;113(4):1001-5.2009
  17. Sjostrom L, Lindroos A-K, Peltonen M, et al. Lifestyle, Diabetes, and cardiovascular Risk Factors 10 Years after Bariatric Surgery. *N Engl J Med* 351;26. December 2004.
  18. in Estudo PORMETS, Manual de Insulino-Resistência, Grupo de Estudos Insulino-Resistência, SPEDM, 3ª edição
  19. Adams TD, Gress RE, Smith SC, et al. Long-term mortality after gastric bypass surgery. *N Engl J Med*. 357:753-761.2007
  20. Sjöström L, Narbro K, Sjöström D, et al. Effects of Bariatric Surgery on Mortality in Swedish Obese Subjects. *N Engl J Med* 357;8. August.2007
  21. Dixon JB, O'Brien PE. Health Outcomes of Severely Obese Type 2 Diabetic Subjects 1 Year After Laparoscopic Adjustable Gastric Banding. *Diabetes Care* 25:358-363.2002
  22. Tice JA, Karliner L, Walsh J, Peterson AJ, Feldman MD, MPhil. Gastric Banding or Bypass? A Systematic Review Comparing the Two Popular Bariatric Procedures. *The American Journal of Medicine*;121, 885-893.2008
  23. Frigg A, Peterli R, Peters T, Ackermann C, Tondelli P. Reduction in co-morbidities 4 years after laparoscopic adjustable gastric banding. *Obes Surg*;14(2):216-23.2004
  24. Pontiroli AE, Pizzocri P, Librenti MC, e tal. Laparoscopic Adjustable Gastric Banding for the Treatment of Morbid (Grade 3) Obesity and its Metabolic Complications: A Three-Year Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. Vol 87, N 8, 3555-3561.2002
  25. Lee W-J, Wang Weu, Wei P-L, Huang M-T. Weight Loss and Improvement of Obesity-related Illness Following Laparoscopic Adjustable Gastric Banding Procedure for Morbidly Obese Patients in Taiwan. *J Formos Med Assoc*;Vol 105, n 11.2006
  26. Bult MJF, Dalen T, Muller AF. Surgical treatment of obesity. *European Journal of Endocrinology*;158, 135-145.2008
  27. Gasteyger C, Suter M, Calmes J, Gaillard R, Giusti V. Changes in Body Composition, Metabolic Profile and Nutritional Status 24 Months after Gastric Banding. *Obes Surg*. Vol 16, N 3, 243-150(8).2006



# Disfunção Tiroideia Induzida pela Amiodarona

## *Thyroid Dysfunction Amiodarone-Induced*

Pedro Marques<sup>1</sup>, Maria João Bugalho<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Interno do Internato Complementar de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Serviço de Endocrinologia do IPO Lisboa

<sup>2</sup> Assistente Graduada de Endocrinologia do IPO de Lisboa, Professora Auxiliar Convivada da Faculdade de Ciências Médicas de Lisboa

**Correspondência:** Pedro Marques › Serviço de Endocrinologia do IPO Lisboa › Rua Professor Lima Basto › 1099-023 LISBOA › [pedro.miguel.sousa.marques@gmail.com](mailto:pedro.miguel.sousa.marques@gmail.com)

### RESUMO

A amiodarona é um anti-arrítmico frequentemente usado para tratar taquidisritmias cardíacas. No entanto, tem efeitos laterais em vários órgãos e em particular na tiróide. Os efeitos sobre a função tiroideia podem ser induzidos pelo seu conteúdo em iodo ou intrínsecos ao fármaco.

A maioria dos doentes sob amiodarona permanecem eutiroideus, mas 14-18% podem desenvolver disfunção tiroideia. O hipotiroidismo é mais frequente em áreas onde o aporte iodado é suficiente, enquanto o hipertiroidismo é mais habitual em áreas com carência iodada. Outros factores como o sexo, idade e existência de doença tiroideia prévia podem influenciar as manifestações clínicas. A disfunção tiroideia da amiodarona é multifactorial. A falência do escape ao efeito Wolff-Chaikoff responde pelo quadro de hipotiroidismo; o quadro de tireotoxicose ocorre por síntese aumentada das hormonas tiroideias (tipo 1) ou destruição tiroideia (tipo2).

O diagnóstico, sugerido pela clínica, é estabelecido laboratorialmente. No contexto de hipotiroidismo, o tratamento será de substituição com levotiroxina. Na situação de tireotoxicose, impõe-se o diagnóstico diferencial entre tipo 1 e 2. No tipo 1 a terapêutica envolve tionamidas, associando ou não perclorato de potássio e/ou carbonato de lítio; já no tipo 2 a terapêutica implica glicocorticóides. Nos tipos mistos, pode justificar-se a terapêutica combinada. Casos refractários ou urgentes podem implicar terapêuticas como plasmaferese ou tireoidectomia.

A suspensão da amiodarona deve ser ponderada sempre que possível e baseada em critérios cardiológicos. A dronedarona, já aprovada pela FDA, poderá constituir uma promissora alternativa à amiodarona.

### PALAVRAS-CHAVE

Amiodarona; Dronedarona; Hipertiroidismo; Hipotiroidismo.

### ABSTRACT

*Amiodarone is an efficient anti-arrhythmic frequently used to treat cardiac arrhythmias. However, it has adverse effects in many organs in particular in thyroid. The effects on thyroid function can be divided in: iodine-induced and drug-intrinsic.*

*Most of the patients under amiodarone remain euthyroid, but 14-18% can develop thyroid dysfunction. Hypothyroidism is more frequent in iodine-sufficient areas, while hyperthyroidism is more*

habitual in iodine-deficient regions. Other factors like gender, age and underlying thyroid disease can influence clinical manifestations. Thyroid dysfunction amiodarone-induced is multifactorial. The failure to escape from Wolff-Chaikoff effect responds for hypothyroidism; hyperthyroidism occurs due to increased synthesis of thyroid hormones (type 1) or thyroid destruction (type 2).

The diagnosis, suggested by clinical manifestations, is definitively established by laboratory tests. In hypothyroidism, the treatment involves levothyroxine. In thyrotoxicosis at first instance is essential to distinguish between type 1 or 2. In type 1 the treatment includes thionamides, with or without, potassium perchlorate and/or lithium carbonate; in type 2 the therapy involves glucocorticoids. In mixed forms combined therapy can be justified. Refractory or urgent cases can justify therapies like plasmapheresis or thyroidectomy.

The interruption of amiodarone should be considered whenever possible, decision based on cardiologic criteria. Dronedarone, already approved by FDA, appears as a promising alternative for amiodarone.

#### KEYWORDS

Amiodarone; Dronedarone; Hyperthyroidism; Hypothyroidism.

## INTRODUÇÃO

A amiodarona é um fármaco anti-arrítmico da classe III segundo a classificação de Vaughan-Williams, embora apresente actividade de outras classes<sup>1,2</sup>. Frequentemente usada na clínica para tratar taquidisritmias cardíacas, tem um espectro alargado de indicações e é considerada o anti-arrítmico mais eficaz, com baixo risco pró-arrítmico. Não obstante, associa-se a efeitos secundários graves em vários órgãos incluindo a tiróide<sup>3</sup>.

O objectivo do presente artigo é rever os principais aspectos relacionados com a disfunção tiroideia induzida pela amiodarona. A revisão será orientada para responder a questões que se colocam na prática clínica, tais como: Quando suspeitar de disfunção tiroideia induzida pela amiodarona? Quando e como tratar? A suspensão da amiodarona é mandatória em todos os casos? Neste artigo apresenta-se ainda uma promissora alternativa à amiodarona, a dronedarona.

## AMIODARONA

Apresenta um espectro alargado de indicações, mas é especialmente benéfica na

fibrilhação auricular com disfunção ventricular, taquidisritmias ventriculares agudas sustentadas, profilaxia de arritmias pós-cirurgia cardíaca, em doentes com cardio-desfibrilhadores implantados em choque sintomático e como adjuvante na cardioversão elétrica de taquidisritmias supra-ventriculares<sup>3,4</sup>.

Trata-se de um derivado benzofurânico estruturalmente semelhante às hormonas tiroideias, cuja composição inclui cerca de 37% de iodo inorgânico. A metabolização de uma dose diária de amiodarona entre 100-600 mg, traduz-se na libertação para a circulação de 3,5-21 mg de iodo inorgânico, muito superior às necessidades iodadas diárias (cerca de 100-150 µg)<sup>2</sup>. Administrada oralmente, é absorvida lentamente, é muito lipofílica e tem baixa biodisponibilidade (≈40%), atingindo concentrações tecidulares altas (fígado > tecido adiposo > pulmão > rim > coração > músculo > tiróide > cérebro) ficando nestes armazenada. Este aspecto condiciona uma semi-vida longa (≈100 dias); níveis de amiodarona podem permanecer elevados até 9 meses após sua interrupção. É metabolizada no fígado em desetilamiodarona e eliminada preferencialmente pela bÍlis e fezes. Atravessa a placen-

ta e é secretada no leite materno durante a amamentação, constituindo risco de disfunção tiroideia fetal ou no recém-nascido<sup>2,5,6</sup>.

A amiodarona pode afectar diferentes órgãos ou sistemas por mecanismos mais ou menos bem esclarecidos, com incidências variáveis dependendo das séries. Relativamente à toxicidade multi-sistémica da amiodarona, Martino *et al* apontaram: micro depósitos na córnea (100%), sintomas GI como anorexia e náuseas (80%), foto sensibilidade e descoloração cutânea (55-75%), sintomas neurológicos como ataxia, tremor, neuropatia periférica (48%), alteração da função hepática (25%), disfunção tiroideia (14-18%), pneumopatia/pneumonite intersticial (10-13%), epididimite (11%), disfunção cardíaca como bloqueio cardíaco ou bradicardia sinusal (2-3%) e raramente ginecomastia<sup>6</sup>.

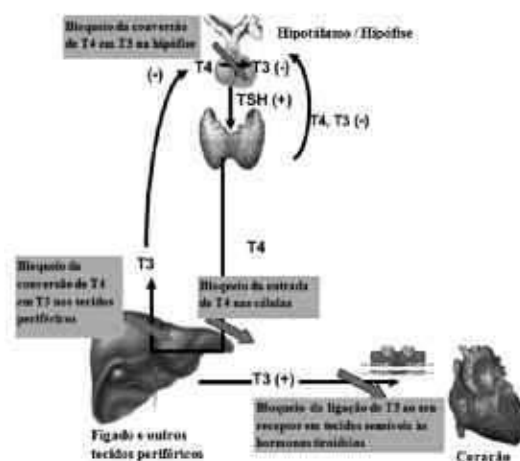
## AMIODARONA E A FUNÇÃO TIROIDEIA

A compreensão dos efeitos da amiodarona sobre a função tiroideia implica o conhecimento da síntese e acção das hormonas tiroideias<sup>7</sup>. Os efeitos da amiodarona na função tiroideia podem ser devidos ao seu conteúdo em iodo e/ou efeitos intrínsecos do fármaco<sup>8</sup>. Quanto aos efeitos induzidos pelo iodo destacam-se: 1) falência de escape ao efeito Wolff-Chaikoff\* em doentes com tiroidite auto-imune; 2) potenciação da autoimunidade tiroideia, acelerando doença tiroideia subjacente; 3) síntese aumentada e desregulada das hormonas tiroideias (efeito de Jod-Basedow) em indivíduos com doença de Graves (DG) ou bócio nodular<sup>8</sup>. Dos efeitos intrínsecos da amiodarona salienta-se: 1) bloqueio da captação celular das hormonas tiroideias; 2) inibição das desidases; 3) diminuição da ligação de T3 ao seu receptor; 4) citotoxicidade tiroideia directa<sup>8</sup>.

Em doentes sob amiodarona, o aporte excessivo de iodo pode condicionar altera-

ções no metabolismo das hormonas tiroideias: agudas ( $\leq 3$  meses) ou crónicas ( $> 3$  meses)<sup>8,9,10</sup>. As alterações agudas, por vezes notórias após alguns dias, incluem: diminuição dos níveis de T3 e aumento da T4 total e T4 livre e aumento da T3 reversa. Os níveis de TSH encontram-se também elevados devido à captação diminuída da T4 para o interior da célula, inibição das desidases e antagonização dos receptores nucleares de T3 hipofisários com diminuição da expressão de alguns genes (Figura 1)<sup>8</sup>.

FIGURA 1: Mecanismos através dos quais a amiodarona afecta a função tiroideia



Adaptado de: Basaria S, Cooper D. Amiodarone and the thyroid. Am J Med. 2005; 118: 706-714

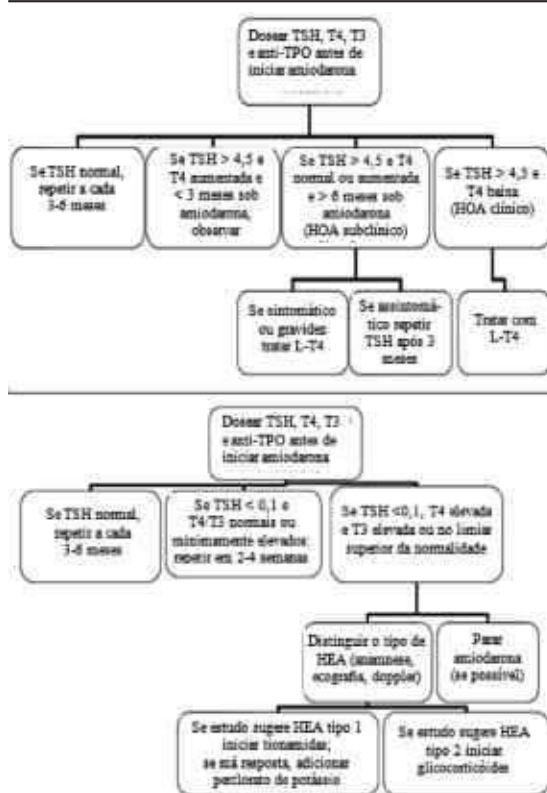
Após 3 meses de terapêutica com amiodarona, atinge-se um estadio com algumas alterações que permanecem indefinidamente: T4 livre normal ou aumentada e T3 diminuída. No entanto, a TSH tende a normalizar após 12 semanas pois ocorre escape ao efeito Wolff-Chaikoff, com normalização do retrocontrolo negativo sobre a secreção de TSH<sup>8,9</sup>. O iodo, substrato para síntese de hormonas tiroideias, é transportado para dentro das células foliculares onde é organizado. Este processo é auto-regulado para evitar que uma sobrecarga iodada desencadeie hipertiroidismo. Em situação de excesso iodado, a síntese de hormonas tiroideias é inibida, processo conhecido pelo efeito de Wolff-Chaikoff, transitório e seguido de

\* O efeito de Wolff-Chaikoff consiste na inibição da síntese hormonal tiroideia quando há aumento do aporte iodado; se há incapacidade de escape a este efeito, verifica-se evolução para hipotiroidismo.

mecanismo de escape. Em casos de doença auto-imune da tiróide, há muitas vezes defeitos nesta auto-regulação com falência do mecanismo de escape<sup>8,9</sup>.

Apesar destas alterações a maioria dos doentes permanece eutiroideus<sup>8</sup>. Não existem *guidelines* embora alguns autores recomendem vigilância tiroideia em doentes sob amiodarona (Figura 2)<sup>5,8</sup>.

FIGURA 2: Monitorização dos doentes sob amiodarona



Adaptado de: Basaria S, Cooper D. Amiodarone and the thyroid. Am J Med. 2005; 118: 706-714

## EPIDEMIOLOGIA DA DISFUNÇÃO TIROIDEIA INDUZIDA PELA AMIODARONA

A incidência do hipotireoidismo induzido pela amiodarona (HOA) e do hipertireoidismo induzido pela amiodarona (HEA) é variável na literatura por várias razões: inclusão só dos casos de disfunção tiroideia clínica ou também dos casos subclínicos, variação nos valores de referência, variações geográficas no aporte iodado, duração

do tratamento sob amiodarona<sup>11</sup>.

A incidência da disfunção tiroideia induzida pela amiodarona situa-se entre 14-18%. O tipo de disfunção depende muito das séries, população estudada e do tipo de aporte de iodo, mas de uma forma geral, a incidência do HOA é de 10-20% e do HEA varia entre 5-10%<sup>7</sup>.

Sumariando uma série de estudos prospectivos em diversos países incluindo doentes sob amiodarona durante 4 anos e meio, foram apontados os números percentuais, respectivamente, para aportes de iodo elevado/intermédio/baixo: HOA - 13,2/5,7/6,4; HEA - 1,7/7,9/11,9. Assim, HOA ocorre mais frequentemente em áreas com aporte de iodo normal ou excessivo, enquanto que o HEA é mais frequente em populações com aporte insuficiente de iodo<sup>6,11</sup>.

Verifica-se uma relativa predominância do sexo feminino no HOA (relação 1,5:1), enquanto que o HEA afecta mais frequentemente o sexo masculino (3:1)<sup>6</sup>.

## HIPOTIROIDISMO INDUZIDO PELA AMIODARONA

### FACTORES DE RISCO

Os factores que conferem susceptibilidade ao desenvolvimento do HOA: aporte iodado suficiente ou excessivo; sexo feminino; existência de tiroidite auto-imune ou anticorpos antitiroideus, sobretudo anticorpos anti-TPO; níveis de TSH altos previamente ao início de amiodarona<sup>8</sup>. São ainda sensíveis ao iodo, doentes com reserva tiroideia diminuída como acontece após terapêutica com iodo radioactivo ou cirurgia tiroideia subtotal<sup>12</sup>. Não há associação entre a dose diária ou doses cumulativas de amiodarona e desenvolvimento de HOA<sup>5</sup>.

### PATOGÉNESE

O excesso de aporte iodado pode resultar na inibição da síntese de hormonas tiroideias através do fenómeno Wolff-Chaikoff.

Quando, ao contrário do que habitualmente acontece, há falência do escape a este mecanismo pode evoluir-se para HOA. Por outro lado, libertação de auto-antígenos da tireóide lesada pela amiodarona potencia os fenómenos auto-imunes<sup>13</sup>.

### MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Não há diferenças entre o HOA e hipotiroidismo decorrente de outras causas. Os sintomas habitualmente são vagos e o diagnóstico raramente é clínico. O quadro pode incluir pele seca, letargia, intolerância ao frio, dificuldades de concentração, entre outros<sup>8,14</sup>.

### DIAGNÓSTICO

Aumento da TSH com diminuição de T4 confirma o diagnóstico; T4 pode eventualmente ser normal (hipotiroidismo subclínico). HOA ocorre tipicamente entre o 6°-12° mês sob amiodarona<sup>7,8,15</sup>. Anticorpos anti-tiroideus devem também ser doseados (sobretudo anti-TPO), pois são marcadores de doença auto-imune tiroideia<sup>16,17</sup>.

### TRATAMENTO

O tratamento do HOA habitualmente não coloca dificuldades. A interrupção da amiodarona deve ser ponderada com base em critérios cardiológicos, podendo não ter benefícios imediatos devido à sua longa semi-vida e deposição no tecido adiposo. Se sob o ponto de vista cardiológico puder ser suspensa, por vezes o HOA reverte espontaneamente e o início de terapêutica com levotiroxina pode ser adiado. Se o doente estiver sintomático deve iniciar levotiroxina<sup>7,8,18</sup>.

A terapêutica envolve a levotiroxina sódica oral (L-T4) e o objectivo é alcançar o eutiroidismo e tratar sintomas<sup>7</sup>. Tem semi-vida de uma semana mantendo níveis plasmáticos estáveis; como tal, pode ser administrada uma vez por dia, em jejum e separadamente de alguns fármacos (como colestiramina, hidróxido de alumínio, sucralfato, inibidores da bomba de prótons, entre outros). Tipicamente, 70-80% da dose oral

administrada é absorvida pelo tracto gastrointestinal, principalmente no íleo<sup>14,19</sup>.

Deve ser iniciada em pequenas doses, habitualmente 25-50 µg/dia ou até mesmo 12,5 µg/dia (particularmente importante em idosos com maior risco de cardiopatia/arritmias). A monitorização terapêutica é feita através do doseamento periódico de TSH (4-6 semanas). O valor de TSH deve situar-se preferencialmente na metade superior do intervalo da normalidade<sup>5,8</sup>. Após estabelecer o eutiroidismo, a monitorização laboratorial passará a ser feita a intervalos maiores (6-12 meses)<sup>5,8</sup>.

Quando a opção é manter a amiodarona, doses mais elevadas de levotiroxina são habitualmente necessárias, possivelmente como resultado da diminuição de T3 intrahipofisária decorrente da inibição das desidases tipo 2<sup>8</sup>. Doses mais elevadas são também necessárias noutras situações: obesidade; crianças e adultos jovens; hipotiroidismo grave; pós-cirurgia *bypass* jejunoileal; cirrose; fármacos que interfiram negativamente com a absorção como ferro, sucralfato ou inibidores da bomba de prótons; terapêutica hormonal de substituição pós-menopausa; gravidez; síndrome nefrótica. Uma importante interacção prende-se com a anticoagulação oral, que muitos destes doentes fazem. A L-T4 potencia o efeito anticoagulante, implicando assim monitorização mais apertada do INR<sup>14,19,20</sup>.

Doentes com hipotiroidismo subclínico têm risco aumentado de se tornarem hipotiroideus, sobretudo quando têm anticorpos anti-tiroideus positivos, pelo que devem ser monitorizados mais frequentemente, através do doseamento de TSH e T4 livre, e em certas situações tratados<sup>5,15,18,21</sup>.

## HIPERTIROIDISMO INDUZIDO PELA AMIODARONA

### FACTORES DE RISCO

Dos factores de risco relacionados com o HEA destacam-se: ingestão iodada insufi-

ciente<sup>5</sup>; género masculino (3:1)<sup>6</sup>; existência prévia de patologia tiroideia nomeadamente bócio nodular/difuso ou DG. Não há relação entre a dose diária ou doses cumulativas de amiodarona e o desenvolvimento de HEA, normalmente imprevisível e em qualquer altura durante a terapêutica com amiodarona, ou até vários meses após a sua interrupção<sup>5,7</sup>.

### PATOGÉNESE

HEA envolve 2 tipos com mecanismos patogénicos e tratamentos diferentes<sup>22,23</sup>.

HEA tipo 1: ocorre por aumento da síntese e libertação sérica de hormonas tiroideias decorrente do excesso iodado (fenómeno de Jod-Basedow), e desenvolve-se predominantemente se houver doença tiroideia prévia (bócio nodular ou difuso e DG). Tipicamente em regiões geográficas com défice de ingestão de iodo na alimentação. Início mais insidioso<sup>5</sup>.

HEA tipo 2: causado por destruição directa tiroideia pela amiodarona ou seus metabolitos, com libertação das hormonas tiroideias para a circulação, afectando predominantemente indivíduos com tiroide normal. O início é abrupto, difícil de prever. A fase de tirotoxicose pode dar lugar a um estadio de hipotiroidismo, habitualmente transitório, excepto se houver doença autoimune subjacente<sup>5</sup>. A histopatologia nestes casos é variável em função da fase (inflamação/fibrose)<sup>5,24</sup>.

Fala-se em tipo “misto” (tipo 3), mais difícil de identificar, quando os tipos 1 e 2 coexistem. A ausência de resposta ao tratamento e eventual agravamento<sup>7,25</sup>, em casos considerados como tipo 1, sugere a possibilidade de se tratar de uma forma mista.

### MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A apresentação clínica dos 2 tipos de HEA é similar e pode incluir alguma da sintomatologia clássica do hipertiroidismo<sup>26,27,28</sup>. Muitos doentes, sobretudo os idosos, encontram-se assintomáticos à altura

do diagnóstico laboratorial devido aos efeitos anti-adrenérgicos da amiodarona (bloqueio dos receptores beta-adrenérgicos e diminuição da sua expressão), e consequente ausência de sintomas adrenérgicos; noutros são evidentes apenas sintomas do foro cardíaco. Doentes idosos podem ainda apresentar quadro frustrante, apenas com apatia, depressão, fadiga, e eventualmente sintomas cardíacos como arritmia descompensada ou insuficiência cardíaca agravada (hipertiroidismo apático)<sup>29</sup>.

### DIAGNÓSTICO

Não basta apenas estabelecer o diagnóstico de HEA. Importa investigar qual o tipo subjacente. O diagnóstico de HEA assenta fundamentalmente na evidência de TSH frenada. Os anticorpos podem ser doseados, nomeadamente os anti-receptores da TSH (indicadores de DG)<sup>13,30</sup>.

O diagnóstico diferencial entre os 2 tipos de HEA, por vezes difícil, é essencial para planear o tratamento e baseia-se em diferentes critérios clínicos, laboratoriais e imagiológicos. Antecedentes de disfunção tiroideia e/ou evidência clínica ou ecográfica de bócio ou DG sugerem HEA tipo 1. Também a presença de anticorpos e/ou a hiperfixação na gamagrafia tiroideia favorecem este diagnóstico. O ecodoppler tiroideu concilia a técnica ecográfica com o fluxo doppler a cores, sendo capaz de avaliar o grau de vascularização da tiroideia (para além de identificar alterações estruturais), e por isso é um dos métodos complementares de diagnóstico mais importante para estabelecer o diagnóstico diferencial entre tipo 1 e 2. A evidência de hipervascularização, por esta técnica, é sugestiva de HEA tipo 1. Pelo contrário, a vascularização ausente, a inexistência de anticorpos anti-tiroideus e a captação baixa de iodo radiomarcado sugerem HEA tipo 2. O doseamento de IL-6 sérica é um bom marcador de destruição do epitélio folicular tiroideu embora não específico, surgindo aumentado no HEA tipo 2, e sendo normal

ou baixo no tipo 1. Importa ainda atender à duração do tratamento sob amiodarona à altura do diagnóstico de HEA: mais curta no tipo 1 (1-2 anos); mais longa no tipo 2 ( $\geq$  2 anos). Nalguns casos, é a evolução para hipotireoidismo que, retrospectivamente, leva a concluir que o HEA era de tipo 2.<sup>8,18,25</sup>

## TRATAMENTO

O tratamento do HEA é geralmente difícil por vários motivos: diferenciar o tipo 1 do tipo 2; o excesso de iodo intra-tiroideu reduz a eficácia a tionamidas; interrupção da amiodarona nem sempre possível; a suspensão da amiodarona pode agravar a condição cardíaca (abolição do efeito B-bloqueador da amiodarona; prolongada semi-vida; desinibição das desiodases); decidir se e quando tratar hipertireoidismos ligeiros (parar amiodarona pode ser suficiente); efeitos laterais dos anti-tiroideus de síntese; o iodo radioactivo está contra-indicado; há um maior risco cirúrgico em doentes com cardiopatia; a plasmaferese, se necessária, é limitada pela baixa disponibilidade e o seu efeito é transitório<sup>5,9</sup>.

O **tratamento do HEA tipo 1** raramente responde à suspensão de amiodarona isoladamente, e a maioria dos doentes permanece em hipertireoidismo 6-9 meses após a instituição do tratamento. As tionamidas são os fármacos de eleição, actuando por ligação à TPO inibindo a síntese de T<sub>3</sub>/T<sub>4</sub>. Doses elevadas de tionamidas são habitualmente necessárias pois o excesso de iodo intra-tiroideu confere resistência à sua acção. O início do tratamento deve ser efectuado com 40-80 mg de metimazol (MTM) ou 600-800 mg de propiltiuracilo (PTU)<sup>5,32</sup>. O fármaco a usar como primeira linha é o MTM devido à possibilidade de toma única diária (maior semi-vida quando comparado com PTU); normalização mais rápida dos níveis hormonais (atinge maiores concentrações tiroideias); menor incidência de efeitos laterais. Há excepções que impõem o PTU como primeira opção: gravidez (MTM contra-indicado no

1º trimestre pela maior associação a malformações congénitas); reacções adversas ao MTM; tirototoxicose grave ou tempestade tiroideia (pela propriedade única do PTU em inibir as desiodases)<sup>32,33</sup>.

Alguns doentes sob tionamidas referem efeitos secundários minor, tais como manifestações cutâneas, gastrointestinais ou artralguas, que geralmente desaparecem com a suspensão. Como efeitos laterais major potencialmente fatais destacam-se: agranulocitose; hepatotoxicidade e vasculites ANCA-positivas. Caso ocorram, não se deve tentar outro anti-tiroideu dado o risco de reactividade cruzada. Os efeitos secundários do MTM são dependentes da dose, enquanto os do PTU são dose-independentes<sup>32,34</sup>.

Nos HEA tipo 1, em que as tionamidas sejam ineficazes, o perclorato de potássio pode ser ponderado como adjuvante. Actua como inibidor da captação de iodo, reduzindo o iodo tiroideu e melhorando a eficácia das tionamidas. A posologia habitual corresponde a 500 mg, 3 vezes por dia, até 6 semanas. A toxicidade limita o seu uso (agranulocitose e anemia aplástica). Doentes sob tionamidas e perclorato de potássio devem realizar um hemograma a cada 15 dias<sup>5,8</sup>. O carbonato de lítio (900-1350 mg/dia, 4-6 semanas) pode contribuir para o restabelecimento do eutiroidismo<sup>5,31</sup>.

O **tratamento do HEA tipo 2** passa pelo recurso a glicocorticóides devido às suas propriedades anti-inflamatórias e estabilizadoras de membrana, bem como à capacidade para inibir as desiodases. As doses diárias preconizadas são variáveis (40-60 mg de prednisona ou 3-6 mg de dexametasona) e a duração do tratamento variável, geralmente 7-12 semanas. Pode haver resposta em dias, mas a redução ou suspensão precoce do tratamento pode conduzir à recidiva<sup>5,6</sup>. Formas “mistas” de HEA implicam a terapêutica combinada com tionamidas, glicocorticóides e perclorato de potássio<sup>5,13</sup>.

Quando o HEA é resistente à terapêutica médica e é urgente restaurar o eutiroidismo,

existem outras alternativas terapêuticas: plasmaferese e tireoidectomia<sup>10,35,36</sup>.

Há um problema que se coloca frequentemente: descontinuar ou não a amiodarona caso ocorra HEA. Critérios cardiológicos devem estar na base desta decisão. A amiodarona é um fármaco extremamente eficaz como anti-arrítmico e impensável de retirar a alguns doentes, especialmente aqueles com taquidisritmias graves, refractárias e potencialmente fatais. Além disso, a amiodarona confere um estado “hypothyroid-like” bloqueando os receptores B-adrenérgicos e antagonizando os receptores das hormonas tiroideias, apresentando assim um efeito protector cardíaco paradoxal, que ao ser retirado pode condicionar agravamento da situação cardíaca<sup>5,13</sup>. Existem ainda casos cujo tratamento do HEA foi bem sucedido mesmo sob amiodarona<sup>37</sup>. No entanto, aconselha-se que a amiodarona seja interrompida sempre que possível, quer no caso do HEA tipo 1 (redução do excesso de iodo e consequentemente da síntese de hormonas tiroideias) quer no HEA tipo 2 (interrupção do efeito citotóxico directo da amiodarona).<sup>5,7,10,38</sup>

## DRONEDARONA: UMA ALTERNATIVA À AMIODARONA?

A amiodarona vê o seu uso limitado pelos efeitos laterais. Nos casos em que ocorre toxicidade, nomeadamente a tiroideia, é necessário interromper a amiodarona, decisão nem sempre fácil pela inexistência de outras opções comprovadamente tão eficazes. Neste contexto, desenhada para ter os mesmos efeitos anti-arrítmicos da amiodarona, mas menor toxicidade, surge a dronedarona, já aprovada pela FDA em 2009.

É um análogo semelhante à amiodarona, estruturalmente diferindo apenas na ausência de iodo que foi substituído por um grupo sulfonil-metano, que não só elimina a toxicidade inerente ao iodo, mas também

confere ao fármaco menor lipofilia, com consequente redução da semi-vida (cerca de 30 horas), menor acumulação nos tecidos e melhoria do perfil de segurança<sup>7,39</sup>. A dronedarona, tal como a amiodarona, bloqueia canais de sódio e potássio e exerce também um efeito anti-adrenérgico pela ligação a receptores beta-adrenérgicos. Está disponível apenas para administração oral (400 mg em 2 tomas diárias), e a biodisponibilidade aumenta se ingerida com as refeições. É metabolizada largamente a nível hepático pelo citocromo P450 (3A4), embora tenha até 6% de excreção renal (em nenhum estudo houve documentação de disfunção renal inerente ao uso de dronedarona)<sup>7,39</sup>.

Vários ensaios clínicos estão já realizados (ATHENA, EURIDIS, ADONIS, ERATO, ANDROMEDA e DYONISIS)<sup>39</sup>. No ensaio ATHENA a utilização de dronedarona reduziu significativamente o risco de hospitalização devido a eventos cardiovasculares em doentes com FA paroxística ou persistente ou flutter; verificou-se ainda uma diminuição na taxa de mortalidade por causas cardiovasculares, bem como por arritmia cardíaca. Nos estudos randomizados EURIDIS e ADONIS a dronedarona mostrou-se mais efectiva que o placebo na manutenção do ritmo sinusal, bem como na redução da frequência ventricular durante a recorrência da FA; nestes estudos também se verificou uma ligeira redução na taxa de hospitalização por causas cardiovasculares, reforçando as conclusões do estudo ATHENA. Um importante estudo é o ensaio ANDROMEDA que pretendia avaliar a segurança da dronedarona em doentes com insuficiência cardíaca congestiva moderada a grave. Este estudo terminou prematuramente devido a um aumento de mortalidade associada à dronedarona concluindo-se que esta não deve ser iniciada em doentes com insuficiência cardíaca severa ou disfunção ventricular esquerda. Por último, é de referir ainda o estudo DYONISIOS que pretendia



comparar directamente a eficácia e segurança entre a amiodarona e a dronedarona, apontando a dronedarona como menos eficaz na manutenção do ritmo sinusal comparativamente à amiodarona, mas com menos efeitos adversos associados<sup>39,40,41</sup>.

A principal indicação da dronedarona, decorrente da evidência dos vários estudos, compreende os casos de FA ou flutter auricular persistentes ou paroxísticos em ritmo sinusal ou com potencial de serem cardiovertidos, baixando assim as taxas de hospitalização. Parece ser um anti-arrítmico menos eficaz do que a amiodarona<sup>39</sup>. Não está indicada nas taquidisritmias agudas com instabilidade hemodinâmica. Não há evidência suficiente que demonstre a eficácia da dronedarona na FA resistente ou refractária a múltiplos anti-arrítmicos. O seu papel, indicações precisas e segurança ainda estão por definir<sup>39,40,41</sup>.

A baixa toxicidade da dronedarona, pelos aspectos já referidos, constitui a sua principal vantagem. Os estudos realizados até à data não documentam haver aumento da disfunção tiroideia, bem como atingimento de outros órgãos como fígado ou pulmão; parece não acarretar efeito pró-arrítmico (taqui ou bradiarritmias ou torsade de pointes)<sup>39</sup>. No entanto, este facto é baseado apenas num pequeno número de anos de observação, podendo haver efeitos a longo prazo ainda desconhecidos. Quanto a efeitos laterais da dronedarona estão descritos efeitos gastrointestinais, elevação da creatinina sem disfunção renal, rash, bradicardia e prolongamento QT. Está contra-indicada na insuficiência cardíaca, em doentes com significativa disfunção ventricular esquerda, bloqueios auriculo-ventriculares de 2º-3º grau, doença do nó sinusal, bradicardia sinusal, síndromes QT longo, doença hepática, gravidez, amamentação ou doentes sob fármacos inibidores da CYP3A (itracozazole, macrólidos entre outros)<sup>39</sup>.

Assim, a dronedarona parece ser uma alternativa promissora em doentes sem

insuficiência cardíaca ou disfunção ventricular significativas, que tenham indicação para a amiodarona e que desenvolvam efeitos laterais ou haja risco de os virem a desenvolver (doença pulmonar ou tiroideia)<sup>7,39</sup>.

## CONCLUSÃO

A amiodarona é um anti-arrítmico eficaz que envolve uma toxicidade multi-sistémica importante. A maioria dos doentes sob amiodarona permanecem eutiroideos, mas em 14-18% pode instalar-se uma disfunção tiroideia. O diagnóstico ocasionalmente sugerido pela clínica, é estabelecido laboratorialmente, daí a importância da monitorização destes doentes. O tratamento é relativamente fácil no HOA, mas pode ser mais difícil no HEA, sendo necessário distinguir qual o tipo de HEA em causa para iniciar o tratamento adequado.

A suspensão da amiodarona deve ser ponderada sempre que possível. Se no HOA é plausível a sua manutenção, já no HEA deve ser suspensa em todos os casos, se sob o ponto de vista cardiológico não houver contra-indicação. Já aprovada pela FDA, mas com eficácia e tolerabilidade ainda não bem estabelecidas, surge a dronedarona uma promissora alternativa à amiodarona. Mais estudos são necessários para determinar as indicações, a eficácia e a segurança desta nova droga.

## BIBLIOGRAFIA

1. Vaughan Williams EM. A classification of anti-arrhythmic actions reassessed after a decade of new drugs. *J Clin Pharmacol*. 1984. 24:129-47.
2. Han, TS *et al*. Benzofuran derivatives and the thyroid. *Clin Endocrinol*. 2009. 70:2-13.
3. Vassallo, P; Trohman, RG. Prescribing Amiodarone-An Evidence-Based Review on Clinical Indications. *JAMA*. 2007. 298(11):1312-1322.
4. Porsche, R; Brenner, ZB. Amiodarone-Induced Thyroid Dysfunction. *Critical Care Nurse*. 2006. 26(3):34-41.
5. Padmanabhan H. Amiodarone and Thyroid Dysfunction. *South Med Journal*. 2010. 103(9):922-930.
6. Martino, E *et al*. The Effects of Amiodarone on the Thyroid. *Endocrine Reviews*. 2001. 22(2): 240-254.
7. Cohen-Lehman, J *et al*. Effects of amiodarone therapy on thyroid function. *Nat Rev Endocrinol*. 2010. 6:34-41.
8. Basaria S, Cooper D. Amiodarone and the thyroid. *Am J Med*. 2005. 118:706-714.
9. Nademanee K, Singh BN, Callahan B, *et al*. Amiodarone, thyroid hormone indexes, and altered thyroid function: long-term serial effects in patients with cardiac arrhythmias. *Am J Cardiol*. 1986. 58:981-986.
10. Campos, MV. Efeitos da amiodarona na tiróide – aspectos actuais. *Acta Med Port*. 2004. 17:241-246.
11. Eskes SA *et al*. Amiodarone and thyroid. *Clin Endocrinol Metab*. 2009. 23:735-751.
12. Braverman, LE. Iodine induced thyroid disease. *Acta Med Aus*. 1990. 17(sup1):29-33.
13. Bogazzi F *et al*. The Various Effects of Amiodarone on Thyroid Function. *Thyroid*. 2001. 11(5):511-519.
14. Roberts CGP, Ladenson PW. Hypothyroidism. *Lancet*. 2004. 363:793-803.
15. Topliss, DJ; Eastman CJ. Diagnosis and management of hyperthyroidism and hypothyroidism. *MJA*. 2004. 180:180-193.
16. McLachlan, SM; Rapoport, B. Why Measure thyroglobulin autoantibodies rather than thyroid peroxidase autoantibodies? *Thyroid*. 2004. 4(7):510-520.
17. Roos, A; Links, TP; Berg LTWJ *et al*. Thyroid peroxidase antibodies, levels of thyroid stimulating hormone and development of hypothyroidism in euthyroid subjects. *Eur J Int Med*. 2010. 21:555-559.
18. Sandhu, R *et al*. Amiodarone induced thyroid dysfunction: pathophysiology, diagnosis and management. *Adverse Drug React, Toxicol Rev*. 2001. 20(2):105-116.
19. Topliss, DJ; Eastman, CJ. Diagnosis and management of hyperthyroidism and hypothyroidism. *MJA*. 2004. 180:180-193.
20. Checci, S *et al*. L-thyroxine requirement in patients with autoimmune hypothyroidism and parietal cell antibodies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008. 93(2):465-469.
21. Melo, M. Tiroidites autoimunes. *Acta Med Port*. 2006. 19:387-394.
22. Tsang, W; Houlden RL. Amiodarone-induced thyrotoxicosis: A Review. *Can J Cardiol*. 2009. 25(7):421-424.
23. Tavares, A *et al*. Amiodarone and Thyrotoxicosis: case reports. *Arq Bras Cardiol*. 2010. 95(5):e122-e124.
24. Nakazawa, T *et al*. Histopathology of the thyroid in amiodarone-induced hypothyroidism: case report. *Pathology International*. 2008. 58: 55-58.
25. Limbert, E. *Endocrinologia, Metabolismo e Nutrição. Tiróide e Fármacos*. 2000. 6-9.
26. Vogel, A *et al*. Affective symptoms and cognitive functions in the acute phase of Graves' thyrotoxicosis. *Psychoneuroendocrinology*. 2007. 32:36-43.
27. Doshi, DN; Blyumin, ML; Kimball, AB. Cutaneous manifestations of thyroid disease. *Clin Dermatol*. 2008. 26:283-7.
28. Weetman, AP. Graves' Disease. *N Engl J Med*. 2000. 343(17):1236-48.
29. Correia, A *et al*. Tireotoxicose apática – um diagnóstico pouco comum: casos clínicos. *Medicina Interna*. 2005. 12(1):15-21.
30. Izumi, Y; *et al*. Simple and practical parameters for differentiation between destruction-induced thyrotoxicosis and Graves' thyrotoxicosis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002. 57:51-58.
31. Dickstein G, *et al*. Lithium treatment in amiodarone-induced thyrotoxicosis. *Am J Med*. 1997. 102: 454-458.
32. Cooper DS. Antithyroid Drugs. *N Engl J Med*. 2005. 352:905-17.
33. Cooper DS. Antithyroid Drugs in the Management of Patients with Graves' Disease:

- An Evidence-Based Approach to Therapeutic Controversies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003. 88(8):3474-81.
34. Iagaru, A; McDougall, IR. Treatment of Thyrotoxicosis. *J Nucl Med.* 2007. 48:379-89.
  35. Ståhlberg, P; *et al.* Surgical Treatment of Graves' Disease: Evidence-Based Approach. *World J Surg.* 2008. 32:1269-77.
  36. Lopes, MHC. Terapia com <sup>131</sup>I para a Resolução do Hipertiroidismo da Doença de Graves: Seleção da Dose. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2007. 51(7):1031-33.
  37. Trip, M; *et al.* Two cases of amiodarone-induced thyrotoxicosis successfully treated with a short course of antithyroid drugs while amiodarone was continued. *Br Heart J.* 1994. 72: 266 –268.
  38. Ryan LE; *et al.* Can Amiodarone Be Restarted After Amiodarone-Induced Thyrotoxicosis? *Thyroid.* 2004. 14(2): 149-153.
  39. Penugonda, N; *et al.* Dronedarone for atrial fibrillation: How does it compare with amiodarone? *Cleveland Clinic Journal of Medicine.* 2011. 78(3):179-185.
  40. Hohnloser, SH *et al.* Effect of Dronedarone on Cardiovascular Events in Atrial Fibrillation. *N Engl J Med.* 2009. 360:668-678.
  41. Wegener, FT; Ehrich, JR; Hohnloser, SH. Dronedarone: an emerging agent with rhythm- and rate-controlling effects. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2006. 17(2):S17-S20.

# Síndrome de CHARGE, uma causa rara de hipogonadismo hipogonadotrófico

## *CHARGE Syndrome, a rare cause of hypogonadotropic hypogonadism*

Anabela Giestas<sup>1</sup>, Susana Figueiredo<sup>2</sup>, Isabel Palma<sup>3</sup>, Gabriela Soares<sup>4</sup>, Cristina Dias<sup>5</sup>, Ana Fortuna<sup>6</sup>, Teresa Bernardo<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Interna Complementar do Serviço de Endocrinologia do Hospital de Santo António, Centro Hospitalar do Porto

<sup>2</sup> Assistente Hospitalar do Serviço de Pediatria do Hospital de Santa Luzia, Unidade Local de Saúde do Alto Minho

<sup>3</sup> Assistente Hospitalar do Serviço de Endocrinologia do Hospital de Santo António, Centro Hospitalar do Porto

<sup>4</sup> Especialista em Genética Médica no Centro de Genética Médica do Porto

<sup>5</sup> Especialista em Genética Médica no Centro de Genética Médica do Porto

<sup>6</sup> Directora da Unidade de Genética Médica do Centro de Genética Médica do Porto

<sup>7</sup> Assistente Hospitalar Graduada do Serviço de Pediatria do Hospital de Santa Luzia, Unidade Local de Saúde do Alto Minho

**Correspondência:** Anabela Giestas › Hospital de Santo António › Largo Prof. Abel Salazar › 4099-001 PORTO › [anabelagiestas@gmail.com](mailto:anabelagiestas@gmail.com)

### RESUMO

No Hipogonadismo Hipogonadotrófico com anosmia/hiposmia os principais diagnósticos diferenciais são a Síndrome de Kallmann, o Hipogonadismo Hipogonadotrófico idiopático/isolado (sem défice do olfato) e a Síndrome de CHARGE (Coloboma, Heart malformation, choanal Atresia, Retardation of growth and / or development, Genital anomalies, and Ear anomalies).

A pesquisa de mutações no gene *CDH7*, identificáveis em 75% dos doentes com Síndrome de CHARGE, está indicada depois de estabelecido o diagnóstico clínico, sobretudo nos casos parciais ou atípicos para confirmação do diagnóstico.

Neste artigo descrevemos as características clínicas, hormonais e moleculares de uma doente com síndrome de CHARGE.

### PALAVRAS-CHAVE

Hipogonadismo hipogonadotrófico; Síndrome de CHARGE.

### ABSTRACT

*Hypogonadotropic hypogonadism is a feature of a number of rare genetic syndromes, such as CHARGE syndrome.*

*CHARGE syndrome (Coloboma, Heart disease, Atresia choanae, Retarded growth and development, Genital anomalies, Ear anomalies) is an association of multiple congenital malformations, in which hypogonadism is a frequent feature.*

*A mutation in the *CDH7* (chromodomain helicase DNA-binding protein 7) gene is present in 75% of patients with CHARGE syndrome, and genetic testing is recommended when the diagnosis is primarily established by clinical findings, particularly in atypical cases for confirmation of the diagnosis.*

*In this article we describe the clinical, hormonal and molecular characteristics of a patient with CHARGE syndrome.*

### KEYWORDS

*Hypogonadotropic hypogonadism; CHARGE syndrome.*

## INTRODUÇÃO

No Hipogonadismo Hipogonadotrófico (HH) com anosmia/hiposmia os principais diagnósticos diferenciais são a Síndrome de Kallmann (SK), o Hipogonadismo Hipogonadotrófico Idiopático/Isolado (HHI) e a Síndrome de CHARGE (SC)<sup>1</sup>.

A SK é caracterizada pela associação de défice isolado de gonadotrofinas e anosmia/hiposmia<sup>2</sup>. A prevalência é de 1:8 000 nos rapazes e 1:40 000 nas raparigas, mas pode estar subestimada sobretudo no sexo feminino em que muitas amenorreias ficam por esclarecer<sup>1</sup>. Em cerca de 30% dos casos já é possível identificar o gene responsável (*KAL1*, *FGFR1*, *PROKR2*, *PROK2*, *FGF8*).

Tendo em conta o grau variável de hiposmia na SK, a distinção entre SK e HHI (sem défice do olfato) é pouco clara, até porque a maioria dos doentes não tem consciência do seu défice e não é submetida a testes olfativos detalhados. Parece haver, contudo, evidência genética que sugere tratar-se de entidades nosológicas distintas<sup>1</sup>.

A maioria dos doentes com síndrome de CHARGE tem anosmia/hiposmia e HH, características que definem o SK<sup>1</sup>.

A associação CHARGE foi descrita pela primeira vez por Hall (1979)<sup>3</sup>, que observou a combinação de atresia de coanas com outras malformações congénitas, em doentes com cariótipo normal. Posteriormente, Pagon et al (1981)<sup>4</sup> propuseram o acrónimo CHARGE para descrever este conjunto de achados:

- C – Coloboma (Coloboma)
- H – Cardiopatia congénita (Heart malformation)
- A – Atresia de coanas (Atresia of the choanae)
- R – Atraso de crescimento e/ou desenvolvimento (Retardation of growth and/or development)
- G – Anomalias genitais (Genital anomalies)
- E – Anomalias do ouvido (Ear anomalies)

Embora a causa não seja conhecida, parece resultar de anomalias específicas da diferenciação cerebral, uma complexa neurocristopatia, para a qual a denominação de síndrome de CHARGE é mais adequada<sup>5</sup>.

Os critérios de diagnóstico clínico da síndrome de CHARGE foram reformulados por Verloes em 2005 (tabela 1) que a definiu também como típica, atípica e parcial (tabela 2); o autor incluiu o HH como um critério menor para o diagnóstico desta síndrome<sup>5</sup>.

TABELA 1: Sinais major e minor da Síndrome de CHARGE<sup>5</sup>

<p><b>Sinais major</b> (“os 3 C”)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Coloboma (íris ou coróide, com ou sem microftalmia)</li> <li>– Atresia de Coana</li> <li>– Hipoplasia dos Canais semicirculares</li> </ul> <p><b>Sinais minor</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Disfunção rombencefálica (disfunção do tronco cerebral, paralisia dos nervos cranianos VII a XII e surdez neurosensorial)</li> <li>– Disfunção hipotálamo-hipofisária (incluindo deficiência de somatotropina e gonadotrofinas)</li> <li>– Anomalias do ouvido médio e ouvido externo</li> <li>– Malformação dos órgãos do mediastino (coração, esófago)</li> <li>– Atraso mental</li> </ul>
--

TABELA 2: Definição da Síndrome de CHARGE típica, atípica e parcial<sup>5</sup>

<p><b>S. de CHARGE típica</b></p> <p>3 sinais major 2/3 sinais major + 2/5 sinais minor</p> <p><b>S. de CHARGE parcial/incompleta</b></p> <p>2/3 major + 1/5 minor</p> <p><b>S. de CHARGE atípica</b></p> <p>2/3 major + 0/5 minor 1/3 major + 3/5 minor</p>
--

Com uma prevalência de 1:10 000 nados-vivos, é uma doença autossómica dominante, embora a maioria dos casos seja esporádica devido a mutações *de novo*. O *CHD7* (chromodomain helicase DNA binding protein), localizado no *locus* 8q12, é o único gene conhecido associado à síndrome de CHARGE e encontra-se mutado em mais de 95% dos doentes que cumprem os critérios clínicos da forma típica de Verloes e em 60-70% dos casos suspeitos (atípicos ou parciais)<sup>5</sup>. A pesquisa da mutação do gene *CDH7* está, por isso, indicada depois de estabelecido o diagnóstico clínico de síndrome de CHARGE, sobretudo nos casos atípicos e parciais. Embora tenham sido refe-

ridos doentes com SK com a mutação no gene *CHD7*, estes indivíduos apresentavam características clínicas da SC, sendo o diagnóstico de SC o mais apropriado para estes doentes.<sup>6,7</sup>

O cariótipo, habitualmente normal, deve ser avaliado para excluir a existência de cromossomopatias<sup>8</sup>.

Clinicamente, a surdez, frequente na SK, é uma das principais características da SC<sup>2,6</sup>. As anomalias dos canais semicirculares, detectadas por tomografia axial computadorizada (TAC) do osso temporal, estão presentes em 95% dos casos. As alterações vestibulares podem comprometer o equilíbrio que por sua vez condiciona atraso do desenvolvimento motor<sup>6</sup>. O HH responsável pela hipoplasia dos genitais no sexo masculino e atraso pubertário nos dois sexos é como já referido, um achado frequente. As outras linhas hipofisárias, incluindo a produção de somatotropina e adrenocorticotropina (ACTH), estão geralmente preservadas, embora tenham sido descritos casos de défice de somatotropina e de hipotireoidismo secundário<sup>9</sup>. A maioria dos casos de atraso de crescimento e baixa estatura, estão relacionados com as doenças associadas à síndrome de CHARGE (doenças cardíacas, respiratórias, problemas na alimentação e deglutição)<sup>10</sup>.

O pico pós-natal das hormonas luteinizante (LH) e folículo-estimulante (FSH), por manutenção da função da GnRH fetal, permite fazer o diagnóstico de HH nos primeiros 6 meses de vida<sup>1</sup>. Depois disso, só volta a ser possível aos 13-14 anos se houver atraso pubertário<sup>11</sup>.

Relativamente à terapêutica endócrina na SC, a testosterona é recomendada no sexo masculino nos casos de atraso da puberdade na adolescência e para promover o crescimento do pénis nos primeiros meses de vida. No sexo feminino está indicada a terapia de substituição hormonal com estrogénios na puberdade<sup>12</sup>. A terapia atempada com hormonas sexuais minimiza os efeitos adversos psicossociais e orgânicos, onde se inclui a osteoporose<sup>13,14</sup>.

A avaliação clínica e abordagem terapêutica dos doentes com SC devem ser efetuadas por uma equipa multidisciplinar que inclua as especialidades de pediatria, cardiologia, otorrinolaringologia, cirurgia maxilofacial, gastroenterologia, oftalmologia, endocrinologia, terapia ocupacional e terapia da fala.

## CASO CLÍNICO

Adolescente de 15 anos, sexo feminino, observada na consulta por atraso pubertário.

É a primeira filha de um casal jovem, saudável e não consanguíneo. Tem uma irmã saudável.

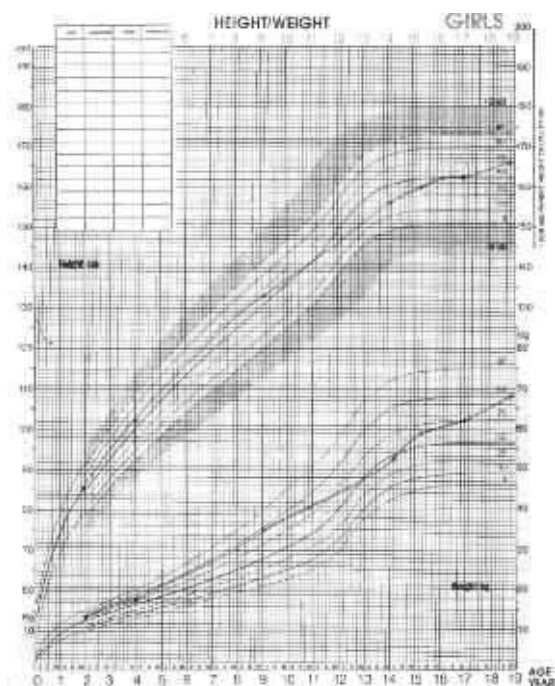
A gestação foi vigiada e sem intercorrências. Nasceu de cesariana às 40 semanas com Apgar 9/10 ao 1º/5º minuto e somatometria apropriada para a idade gestacional (peso 3420g; comprimento 50cm; perímetro cefálico 35cm). Apresentava uma displasia congénita da anca que foi corrigida. Com 1 mês de idade foi operada a uma estenose hipertrófica do piloro.

Teve um atraso da linguagem, embora tivesse verbalizado as primeiras palavras aos 18 meses. Com 4 anos foi diagnosticada surdez neurossensorial moderada a severa à direita e mista, moderada a severa, à esquerda. A TAC dos ouvidos revelou agenesia bilateral dos canais semicirculares. Tem próteses auditivas retro-auriculares e frequentava na altura o 10º ano de escolaridade.

Andou aos 24 meses, correu aos 34 meses e subiu escadas com apoio aos 7 anos. A marcha foi sempre atáxica e de base alargada embora tenha melhorado muito ao longo dos anos. TAC e ressonância magnética (RM) cerebral realizadas aos 3 anos sugeriam ectopia do vérmis cerebeloso inferior.

Ao exame objetivo salientava-se miopia, dismorfia craniofacial ligeira com ponta do nariz e face média achatadas, palato em ogiva, pavilhões auriculares de implantação baixa e hélice displásica. A voz era nasalada e quando questionada

FIGURA 1: Curvas de evolução da estatura e do peso



constatou-se que existia hiposmia. Tinha atraso pubertário (mama – estágio 1 de Tanner; pelo púbico – estágio 2 de Tanner) e crescimento estatural-ponderal normal (figura 1). A marcha era ligeiramente atáxica. Não tinha movimentos em espelho.

A idade óssea era coincidente com a idade cronológica.

No teste de identificação subjectiva de cheiros a doente não conseguiu identificar os cheiros padrão (éter e alfavaca, baunilha, canela e mentol).

No estudo analítico efetuado, os níveis basais de FSH, LH e estradiol eram pré-púberes e a prova com LHRH demonstrou comprometimento severo das respostas de LH (0 min: <0,07 mUI/mL; 30 min: 0,3 mUI/mL; 60 min: 0,3 mUI/mL) e FSH (0 min: 0,1 mUI/mL; 30 min: 1,2 mUI/mL; 60 min: 1,7 mUI/mL). O restante estudo endócrino e bioquímico, nomeadamente cortisol, T4, TSH, prolactina e ferritina, foi normal.

A RM hipofisária e hipotalâmica era normal. Os cortes existentes não permitiam observar nem excluir os bolbos olfativos.

O estudo ecográfico da região pélvica revelou um útero com características pré-

púberes e os ovários não eram visualizados, mas a RM pélvica detetou na região anexial direita um ovário com cerca de 1,5 cm de diâmetro; na região anexial esquerda não se identificaram imagens que traduzissem o ovário.

O cariótipo com bandas de alta resolução era normal (46, XX).

Como o quadro clínico era compatível com Síndrome de CHARGE atípica, foi pedido estudo molecular do gene *CHD7*, que foi realizado em laboratório comercial acreditado (Erasmus MC, Roterdão, Holanda). O diagnóstico clínico foi confirmado por análise de sequenciação directa do DNA do gene *CDH7*, com detecção de uma mutação *de novo* (c.5390G>A) no exão 25, que produz a nível da proteína uma alteração *missense*: substituição do aminoácido glicina (hidrofóbico) na posição 1797 por glutamato (ácido) (p.Gly1797Glu). Este aminoácido é altamente conservado em vertebrados. Esta alteração não é encontrada em qualquer uma das amostras representadas no 1000Genome Project. Análise bioinformática prevê esta alteração como patogénica com os programas SIFT, Align GVGD, Mutation Taster e Polyphen-2.

A ecografia reno-vesical, electrocardiograma e ecocardiograma foram normais.

Entretanto, iniciou terapêutica de reposição hormonal com etinilestradiol em doses progressivas, posteriormente substituído por estroprogestativo.

Aos 18 anos foi referenciada para a consulta de endocrinologia de adultos. Estava medicada com estroprogestativo, com desenvolvimento pubertário completo e antropometria adequada (peso 68 kg, altura 1,66 m, IMC 24,7 kg/m<sup>2</sup>). Constatou-se osteopenia da coluna lombar (T score -1,7) e do fémur (T score -1,4) e iniciou carbonato de cálcio oral. Frequenta o ensino superior.

A doente está informada da necessidade de aconselhamento genético se pretender engravidar.

## DISCUSSÃO

Perante uma adolescente com atraso pubertário, hiposmia, hipogonadismo hipogonadotrófico (deficiência isolada de gonadotrofinas) e TAC/RM cerebral sem alterações significativas, a primeira hipótese de diagnóstico colocada foi a Síndrome de Kallmann, onde a surdez neurossensorial é um achado frequente. Na rapariga esta síndrome é raríssima, com uma prevalência de 1:40 000<sup>1</sup>.

Por outro lado, a doente apresentava dismorfia craniofacial e ataxia ligeiras. Foi pedida reavaliação pela consulta de genética, onde a doente foi classificada com uma Síndrome de CHARGE atípica de acordo com os critérios de Verloes<sup>5</sup> (1 sinal major – hipoplasia dos canais semi-circulares; 3 sinais minor – surdez neurossensorial, anomalias do ouvido externo e disfunção hipotálamo-hipofisária).

A pesquisa da mutação do gene *CHD7* confirmou o diagnóstico. Tendo em conta que a alteração não foi encontrada nos pais, o risco para futuras gestações do casal é de 1-2% (possibilidade de mosaicismo gonadal) com diagnóstico pré-natal específico possível<sup>6</sup>. Para a doente há um risco de recorrência de 50% na sua descendência.

## CONCLUSÃO

Com a apresentação deste caso clínico, os autores pretendem chamar a atenção da necessidade de pesquisar características clínicas da Síndrome de CHARGE em doentes com hipogonadismo hipogonadotrófico e anosmia, particularmente, surdez, dismorfia dos ouvidos e hipoplasia/aplasia dos canais semicirculares, nos quais se recomenda a pesquisa de mutações do gene *CHD7*.

## BIBLIOGRAFIA

1. Dodé C, Hardelin J-P. Kallmann syndrome. *Eur J Hum Genet* 2009;17:139–46
2. Pallais JC, Au M, Pitteloud N, Seminara S, Crowley WF. Kallmann Syndrome. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, editores. *GeneReviews* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-. (versão de 4-1-2011, acedida em [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1334](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1334))
3. Hall BD. Choanal atresia and associated multiple anomalies. *J Pediatr* 1979;95:395-8
4. Pagon R, Graham J, Zonana J, Yong S. Coloboma, congenital heart disease, and choanal atresia with multiple anomalies: CHARGE association. *J Pediatr* 1981;99:223-7
5. Verloes A. Updated diagnostic criteria for CHARGE syndrome: A proposal. *Am J Med Genet* 2005;133A:306–38
6. Lalani SR, Hefner MA, Belmont JW, Davenport SLH. CHARGE Syndrome. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, editores. *GeneReviews* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-. (versão de 22-9-2009, acedida em [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301296](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301296))
7. Blake K, van Ravenswaaij-Arts CM, Hoefsloot L, Verloes A. Clinical utility gene card for: CHARGE syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2011;19(9).doi:10.1038/ejhg.2011.45
8. Lalani SR, et al. Spectrum of *CDH7* mutations in 110 individuals with CHARGE syndrome and genotype-phenotype correlation. *Am J Hum Genet* 2006;78:303-14
9. Aminzadeh M, Kim HG, Layman LC, Cheetham TD. Rarer syndromes characterized by hypogonadotropic hypogonadism. *Front Horm Res* 2010;39:154-67
10. Blake KD, Kirk JM, Ur E. Growth in CHARGE association. *Arch Dis Child* 1993;68:508-9
11. Pallais JC, Au M, Pitteloud N, Seminara S, Crowley WF. Isolated Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Deficiency Overview. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, editores. *GeneReviews* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-. (versão de 14-10-2010, acedida em [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301455](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301455))
12. Blake KD, Salem-Hartshorne N, Abi Daoud M, Gradstein J. Adolescents and adult issues in CHARGE syndrome. *Clin Pediatr (Phila)* 2005;44:151-9
13. Wheeler PG, Quigley CA, Sadeghi-Nejad A, Weaver DD. Hypogonadism and CHARGE association. *Am J Med Genet* 2000; 94: 228–31
14. Forward K, Cummings EA, Blake KD. Risk Factors for Poor Bone Health in Adolescents and Adults with CHARGE syndrome. *Am J Med Genet* 2007; 143:839-45



# Triptorelina de libertação prolongada (11,25 mg) no tratamento da puberdade precoce central – avaliação de dois casos clínicos

## *Three-month sustained-release triptorelin (11,25 mg) in the treatment of central precocious puberty - evaluation of two clinical cases*

Joana Grenha<sup>1</sup>, Andreia Teles<sup>2</sup>, Jorge Sales Marques<sup>3</sup>, Rosa Arménia Campos<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Interna de Formação Específica de Pediatria, Serviço de Pediatria – Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia e Espinho, EPE

<sup>2</sup> Assistente Hospitalar, Serviço de Pediatria – Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia e Espinho, EPE

<sup>3</sup> Assistente Hospitalar Graduado, Serviço de Pediatria – Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia e Espinho, EPE

**Correspondência:** Joana Raquel Senra Grenha Rodrigues Pereira › Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia e Espinho, EPE › Rua Dr. Francisco Sá Carneiro › 4400-129 VILA NOVA DE GAIA › Portugal › joanagrenha@gmail.com

### RESUMO

A Puberdade Precoce (PP) é definida classicamente pelo início do desenvolvimento pubertário antes dos oito anos no sexo feminino e dos nove anos no sexo masculino.

A Puberdade Precoce Central (PPC) resulta da activação da libertação das gonadotrofinas hipofisárias pela hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH) e é responsável por 80% dos casos de PP. É uma condição rara, mais frequente no sexo feminino. Pode ser idiopática ou secundária a patologia do Sistema Nervoso Central (SNC).

A PPC é caracterizada pelo aparecimento precoce de caracteres sexuais secundários, velocidade de crescimento e maturação óssea aceleradas, resultando em perda do potencial de estatura na idade adulta.

Uma combinação de sinais clínicos, imagiológicos – Ressonância Magnética Nuclear (RMN) cerebral, ecografia pélvica nas meninas e testicular nos meninos – idade óssea e estudos hormonais são importantes para o diagnóstico e prognóstico da patologia.

Os objectivos do tratamento são tratar a causa subjacente quando conhecida, travar a progressão dos caracteres sexuais secundários, prevenir problemas psico-sociais/comportamentais e evitar o comprometimento do potencial de crescimento da criança.

A PPC é tratada com análogos de libertação lenta da GnRH (Triptorelina e Leuprorelina), com injeções mensais. Recentemente foi estudada uma nova formulação de Triptorelina de libertação lenta (*depot*), administrada sob a forma de injeção trimestral. Os resultados demonstraram uma elevada eficácia, sem efeitos secundários.

Neste artigo são apresentados dois casos de PPC submetidos a tratamento com Triptorelina *depot*, formulação a três meses. Os resultados confirmam a eficácia, tolerabilidade e aceitação desta forma de tratamento.

### PALAVRAS-CHAVE

Puberdade precoce central; Tratamento; Triptorelina *depot*.

**ABSTRACT**

*Precocious puberty (PP) is classically defined as development of sexual characteristics before the age of eighth years in girls and nine years in boys.*

*Central precocious puberty (CPP) is the consequence of increased stimulation of the release of pituitary gonadotropins by the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and accounts for 80% of PP cases. Is a rare condition more frequent in girls than in boys. It can be idiopathic or a consequence of a central nervous system pathology.*

*CPP is characterized by early pubertal changes, the acceleration of growth velocity and rapid bone maturation that often results in reduced adult height.*

*A combination of clinical and imagiologic signs (nuclear magnetic resonance imaging brain, pelvic echography in girls, testicular ecography in boys, bone age) and hormonal data are important to diagnose CPP and make a judgment concerning progression and prognosis.*

*The aims of the treatment are to treat the underlying cause if known, stop the progression of secondary sex characteristics, to avoid psychosocial/behavioral problems and to increase final adult height.*

*CPP is treated with low-release GnRH analogues (Triptorelina and Leuprorelin), by once-a month injections. Recently it has been studied a new 3-month depot formulation of Triptorelina, administered as quarterly injections. The results demonstrated a high efficacy, with no important secondary effects.*

*In this article two cases of CPP treated with three month depot formulation of triptorelina are presented. The results confirm the efficacy, tolerability and acceptability of this new treatment.*

**KEYWORDS**

*Central precocious puberty; Treatment; Triptorelina depot.*

**INTRODUÇÃO**

A puberdade precoce (PP) é definida na comunidade europeia pelo aparecimento de caracteres sexuais secundários antes dos oito anos de idade no sexo feminino e dos nove anos no sexo masculino<sup>1,2,3,4</sup>. É uma condição rara, com incidência superior no sexo feminino<sup>5</sup>.

A PP divide-se em central (PPC) ou periférica (PPP). Na PPC o aparecimento de caracteres sexuais secundários deve-se à activação do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas, sendo por isso dependente de hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH)<sup>6</sup>. Representa cerca de 80% dos casos de puberdade precoce<sup>4</sup>; pode ser idiopática ou secundária a patologia orgânica, sobretudo do SNC<sup>7,8</sup>.

As crianças com PP apresentam idade óssea avançada e velocidade de crescimen-

to acelerada, por vezes manifestações prévias aos primeiros sinais de desenvolvimento pubertário. A presença de lesões cutâneas hiperpigmentadas pode sugerir o diagnóstico de Neurofibromatose ou Síndrome de McCune-Albright<sup>9</sup>.

O método de diagnóstico de eleição da PPC é a determinação das hormonas hipofisárias luteínica (LH) e folículo-estimulante (FSH) após estimulação com GnRH ou hormona de libertação agonista de GnRH. Níveis basais de LH superiores a 0,6 IU/L e pico de LH após estimulação com GnRH superior a 5-8 IU/L são indicativos de PPC; a relação LH/FSH >1 é também mais frequente em indivíduos púberes<sup>5,7,8,9,10</sup>.

Os principais objectivos do tratamento da PPC são a supressão da secreção das gonadotrofinas e consequentemente dos esteróides sexuais de forma a inibir a pro-

gressão ou mesmo obter a regressão dos caracteres sexuais, desacelerar a maturação óssea e normalizar a velocidade de crescimento, preservando o potencial de estatura final na idade adulta<sup>7</sup>.

A supressão hormonal adequada é normalmente conseguida através de tratamentos mensais com análogos de GnRH de libertação lenta<sup>11,12,13</sup>. Os fármacos mais utilizados são a Triptorelina e Leuprolide *depot*, mais eficazes na supressão hormonal e na preservação da estatura final comparativamente às formulações de acção rápida, administradas várias vezes por dia<sup>11,14</sup>.

Uma formulação mais recente de triptorelina *depot* de administração trimestral é utilizada em vários países no tratamento do cancro prostático e na endometriose<sup>15</sup>.

Em 2006 foi realizado um estudo multicêntrico europeu com o objectivo de avaliar a inibição do eixo hipofisário-gonadal em crianças com PPC submetidas a tratamento com injeções trimestrais de triptorelina *depot* (11,25 mg). Os resultados revelaram uma eficácia semelhante à obtida com as formulações de administração mensal referidas noutros estudos, com boa tolerabilidade<sup>12,15,16,17</sup>.

Descrevem-se dois casos clínicos com o diagnóstico de PPC submetidos a terapêutica com triptorelina *depot* de administração trimestral.

## DESCRIÇÃO DOS CASOS

### CASO CLÍNICO Nº1

Criança com cinco anos e cinco meses do sexo masculino enviado à consulta de Endocrinologia Pediátrica do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia e Espinho, EPE (CHVNGE) em Fevereiro de 2007 por suspeita de puberdade precoce.

A mãe referia aumento do tamanho do pénis com três meses de evolução associado a erecção fácil, testículos retrácteis e aparecimento de pêlo púbico cerca de duas sema-

nas antes da consulta.

Dos antecedentes pessoais de referir história de atopia com necessidade de corticoterapia inalada e Alergia às Proteínas do Leite de Vaca até aos três anos. Verificou-se aos seis meses uma involução das curvas ponderal e estatural (do percentil 50 para canal de percentis 5-10 e do canal de percentis 25-50 para 10-25, respectivamente). Sem outros antecedentes patológicos de relevo.

Sem história familiar de puberdade precoce ou outra patologia relevante. Estatura alvo familiar de 171,5 cm (percentil 10-25).

À data da primeira consulta apresentava um peso de 18,4 kg (percentil 25-50) e estatura de 107 cm (percentil 25), com velocidade de crescimento de 9cm/ano (superior ao p97). Apresentava volume testicular de 6cm<sup>3</sup>, comprimento peniano de 9cm (superior ao p90)<sup>18</sup> e pêlo púbico grau II de Tanner. Sem pêlo axilar e sem outros sinais de puberdade. Exame neurológico normal e sem outras alterações ao exame objectivo. Desenvolvimento psicomotor adequado à idade.

O estudo analítico com hemograma e bioquímica alargada foi normal e os marcadores tumorais negativos. O nível de testosterona total era de 1,48 pg/ml – valor púbere (valor de referência de 0,03 a 0,32 pg/ml) com restantes hormonas supra-renais e tiroideias normais.

A prova de LHRH revelou resposta púbere de predomínio da resposta LH: LH basal de 0,6 mUI/mL, aos 30 minutos de 16,1 mUI/mL, aos 60 minutos de 15,2 mUI/mL, aos 90 minutos de 10,3 mUI/mL e aos 120 minutos de 6,6 mUI/m (figura nº 1).

Realizou uma ecografia testicular que revelou testículos de contornos regulares, textura homogénea e vascularização preservada com dimensões aumentadas (testículo direito com 2,2cm e esquerdo com 2,4cm – volume esperado de 0,5cm). A ecografia abdominal e a RMN cerebral não revelaram alterações e apresentava uma idade óssea de quatro anos.

FIGURA Nº 1: Níveis de LH e FSH após prova de estimulação com LHRH

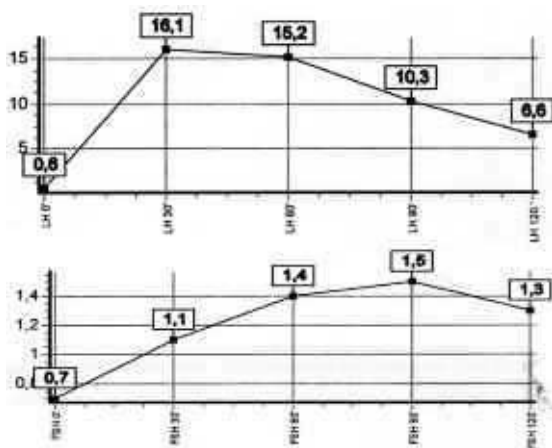
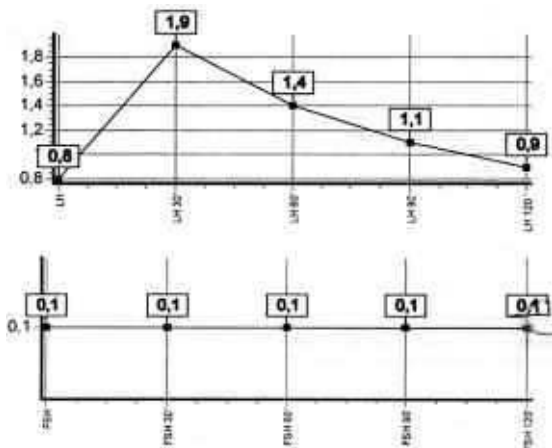


FIGURA Nº 2: Níveis de LH e FSH após prova de estimulação com LHRH (6 meses após início tratamento)



Com o estudo efectuado foi feito o diagnóstico de PPC idiopática.

Três meses depois iniciou tratamento com Triptorelina depot 11,25 mg (Decapeptil®) - uma injeção intramuscular trimestralmente.

Após seis meses de tratamento (duas administrações de Triptorelina 11,25 mg) a prova de LHRH revelou resposta pré-púbere (figura nº 2).

Foram feitas reavaliações clínicas e analíticas seriadas: no primeiro ano de tratamento a velocidade de crescimento foi de 8cm (superior ao p97); aos 7 e 8 anos a velocidade de crescimento foi de 6 cm/ano (p50-75). Não se verificou progressão dos caracteres sexuais; os estudos endocrinológicos e imagiológicos anuais de controlo manteve-

ram-se normais. O tratamento decorreu sem intercorrências, com boa tolerabilidade.

Actualmente, depois de quatro anos de terapêutica - aos nove anos e dez meses - a criança apresenta uma idade óssea concordante com idade cronológica, prova de LHRH pré-púbere e estudo endocrinológico alargado sem alterações. A testosterona total encontra-se em valores pré-púberes. Apresenta uma estatura no percentil 50, velocidade de crescimento de 6cm/ano (p 75-90), IMC de 15, volume testicular de 6cm<sup>3</sup>, raiz dorsal peniana de 9cm e escasso pêlo púbico.

Mantém tratamento trimestral com Triptorelina depot.

CASO Nº 2

Criança de sete anos de idade do sexo feminino, previamente saudável, enviada à consulta de Endocrinologia Pediátrica do CHVNGE em Junho de 2008 por telarca e pubarca.

A mãe referia aparecimento de pêlo púbico e desenvolvimento mamário com início aos seis anos e dez meses e com rápida progressão.

Dos antecedentes pessoais de referir evolução ponderal no percentil 75-90 e estatural no percentil 75. Etapas do desenvolvimento psicomotor cumpridas em idade adequada.

Estatura alvo familiar de 163,5 cm (percentil 50).

A mãe, saudável, teria tido a menarca aos 14 anos. Sem patologia familiar relevante.

Na primeira consulta foram objectivados botão mamário bilateral e pêlo púbico com distribuição compatível com o estadio II de Tanner. Sem pelo axilar, exame neurológico normal, sem outras alterações ao exame físico.

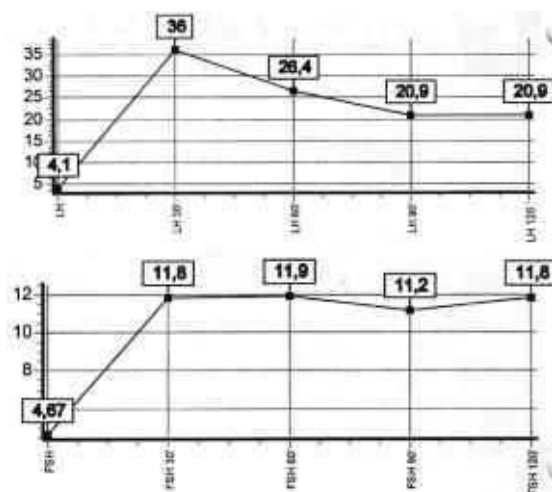
O estudo analítico inicial com hemograma e bioquímica foi normal, bem como o estudo endocrinológico. A ecografia pélvica revelava um útero com diâmetro longitudi-

nal de 45mm e presença de ecos endometriais; o ovário direito apresentava um volume de 4 ml e o esquerdo de 4,3 ml. A idade óssea era concordante com a idade cronológica. Manteve vigilância em consulta trimestral, sem terapêutica.

Aos sete anos e seis meses foram objectivados pêlo púbico e desenvolvimento mamário concordantes com estadio III de Tanner. Apresentava uma velocidade de crescimento de 5,6cm em seis meses (superior ao percentil 97) e idade óssea avançada em dois anos e meio.

A RMN cerebral não revelou alterações. A prova de LHRH revelou uma resposta púber: níveis de LH de 36 mUI/ml e FSH de 11,8 mUI/ml aos 30 min (figura nº 3).

FIGURA Nº 3: Níveis de LH e FSH após prova de estimulação com LHRH



Aos sete anos e nove meses iniciou tratamento com injeções intra-musculares trimestrais de Triptorelina *depot* 11,25 mg (Decapeptil®).

Depois de seis meses sob tratamento verificou-se paragem na progressão dos caracteres sexuais, apresentando um estadio de Tanner PIII BIII, sem pêlo axilar e sem menarca. Os níveis de LH e FSH eram pré-púberes (quadro nº I). A velocidade de crescimento ao fim do primeiro ano foi de 6,5cm (percentil 90) e ao fim do segundo ano de 5cm (percentil 25).

QUADRO Nº I – Níveis de LH e FSH após estimulação com LHRH (6 meses após tratamento)

07/2010	LH	FSH
0 min	0,3 mUI/mL	0,8 mUI/mL
30 min	0,7mUI/mL	1,2 mUI/mL
60 min	0,4 mUI/mL	1,1 mUI/mL
90 min	0,4 mUI/mL	1,0 mUI/mL
120 min	0,3 mUI/mL	0,9 mUI/mL

Não se registaram intercorrências durante o tratamento. As reavaliações clínicas e analíticas com estudo endocrinológico periódicas revelaram-se normais.

Na última reavaliação efectuada, aos nove anos e dez meses, apresentava peso e estatura no canal de percentis 75-90 com velocidade de crescimento no percentil 25, sem progressão dos caracteres sexuais. Os níveis de LH e FSH após estimulação com LHRH mantêm-se pré-púberes. Encontra-se actualmente sob tratamento trimestral com Triptorelina *depot*.

## COMENTÁRIO

A PP tem uma incidência estimada de 1:5000 a 1:10000 com uma prevalência 3 a 23 vezes superior no sexo feminino<sup>19</sup>.

Nas últimas décadas tem-se verificado uma maior precocidade no início da puberdade e autores norte-americanos pretendem antecipar o limite da idade de PP para os sete anos em raparigas anglo-saxónicas e seis anos em afro-americanas<sup>1,20</sup>.

A definição de limites de idade apropriados é crucial para um correcto diagnóstico e intervenção terapêutica<sup>4,21</sup>.

A PP divide-se em dois grupos: puberdade precoce central (PPC) e puberdade precoce periférica (PPP). Este último tipo deve-se à produção das hormonas sexuais independente das gonadotrofinas por tumores adrenais, gonadais ou exposição a esteróides exógenos<sup>6,8,9,11</sup>.

Na maioria dos casos a PP é de causa central e destas é mais frequentemente idiopática no sexo feminino; no sexo masculino é secundária a patologia orgânica em cerca

de 50% dos casos. A secreção de GnRH pode ser consequência de lesões neoplásicas, hidrocefalia, traumatismo crânio-encefálico, asfixia peri-natal, infecções do SNC, quimioterapia ou radioterapia do SNC, síndromes epilépticas ou hipotireoidismo<sup>6,7,8</sup>.

Apesar de não existir nenhum algoritmo de abordagem baseado na evidência, a avaliação etiológica e potencial de progressão é recomendada em todos os rapazes com PP e nas raparigas com desenvolvimento mamário no estadio III de Tanner ou no estadio II com critérios adicionais como velocidade de crescimento acelerada, disfunção do SNC ou PPP<sup>9</sup>. É importante a distinção entre puberdade precoce progressiva de não progressiva através de avaliações seriadas<sup>9,11</sup>.

As concentrações de LH e FSH são pouco úteis como marcadores de início da puberdade; no entanto são importantes na distinção da sua etiologia: central ou periférica. A elevação das hormonas sexuais é pouco sensível no diagnóstico. No entanto a testosterona, ao contrário do estradiol é um bom indicador do início da puberdade no rapaz<sup>6,7,9,11</sup>.

Nas raparigas deve ser realizada uma ecografia pélvica com medição da espessura uterina e do volume dos anexos; nos rapazes deve ser realizada uma ecografia testicular<sup>6,19,22</sup>.

Deve ser realizada uma RMN cerebral a todos os rapazes com PPC pelo risco elevado de patologia orgânica<sup>6,19</sup>. Nas raparigas, apesar de ainda ser controverso, há autores que mais recentemente defendem a realização criteriosa de imagem cerebral. O risco de lesão intracraniana oculta é elevado em casos de início pubertário antes dos 6 anos, presença de alterações no exame neurológico e rápida evolução do desenvolvimento pubertário<sup>22</sup>.

Mesmo nos casos idiopáticos existem importantes consequências resultantes do início precoce do desenvolvimento sexual: a perda de estatura geneticamente determinada na idade adulta por encerramento preco-

ce das epífises sobretudo nos casos mais precoces, menarca precoce nas meninas e problemas psico-sociais em ambos os sexos<sup>6,11,12</sup>.

Não existe consenso acerca dos critérios absolutos para tratamento. Cada uma das variáveis consideradas (idade de início pubertário, idade óssea, diminuição da estatura previsível e resposta puberal a estimulação com GnRH) não está ainda bem definida<sup>6,11,23</sup>. A maioria dos autores considera que nas raparigas quando a puberdade é progressiva com início antes dos sete anos a decisão é mandatória para preservar o potencial de estatura. No entanto, permanece controversa a decisão de tratamento quando o início da puberdade é *borderline* (entre os sete e oito anos). Nestes casos, se a idade óssea for avançada com consequente perda de estatura final ou puberdade rapidamente progressiva o tratamento está indicado<sup>6,7,11,23,24</sup>.

Nos rapazes a indicação de iniciar tratamento baseia-se maioritariamente na idade de início do desenvolvimento pubertário e na sua rapidez de progressão. O tratamento deve ser instituído naqueles com velocidade de crescimento acelerada e rápido aumento dos valores de testosterona<sup>25</sup>. Nos casos de PPC com critérios duvidosos, deverá ser feito um seguimento regular para diagnóstico atempado de puberdade rapidamente progressiva, com indicação para tratamento<sup>11</sup>. As restantes indicações devem ser avaliadas individualmente e prendem-se com aspectos psicológicos e comportamentais, nomeadamente a não-aceitação individual e social, início precoce da actividade sexual, risco acrescido de abuso sexual e gravidez<sup>11,26</sup>. O tratamento não está indicado nos casos que não apresentam secreção pubertária de gonadotrofinas, ausência de perda de estatura final ou PP lentamente progressiva<sup>4</sup>.

Desde os anos 80 é possível o tratamento com análogos sintéticos da GnRH, que actuam dessensibilizando os receptores hipofisários de GnRH com consequente diminuição da libertação de LH (maioritariamente) e de FSH<sup>7,11,16</sup>.

O estudo multicêntrico europeu que avaliou a eficácia de administrações trimestrais de Triptorelina *depot* envolveu um total de 64 crianças, 38 das quais com quatro administrações terapêuticas e seguimento durante um ano. Foram avaliados os níveis de LH e FSH pós estimulação com GnRH, as concentrações das hormonas sexuais e os sinais clínicos pubertários. Os resultados revelaram uma eficácia de cerca de 97%, sugerindo que esta formulação é uma alternativa segura e bem tolerada, com resultados sobreponíveis aos fármacos clássicos<sup>16</sup>.

Nos casos clínicos descritos os resultados obtidos são concordantes com o estudo anterior. De facto, os níveis de gonadotropinas diminuíram e verificou-se paragem do desenvolvimento pubertário com normalização da velocidade de crescimento e aproximação da idade óssea à cronológica. Não se registaram efeitos secundários e a adesão às administrações trimestrais foi de 100%.

Ainda que sendo um número bastante reduzido de casos, da revisão da literatura e com experiência pessoal dos autores é possível inferir que a Triptorelina *depot* é um fármaco promissor no tratamento da PPC, pelo seu perfil de eficácia, segurança e pela comodidade de administração.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Grumbach MM and Styne DM. Puberty: Ontogeny, neuroendocrinology, physiology and disorders. Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM and Larsen PR, eds. Williams Textbook of Endocrinology. 9th ed. Philadelphia: WB Saunders Co., 1998. 1509-1625.
2. Parent AS, Teilmann G, Juul A et al. The Timing of Normal Puberty and the Age Limits of Sexual Precocity: Variations around the World, Secular Trends, and Changes after Migration. *Endocrine Reviews* 2003; 24 (5): 668-693.
3. Bridges NA, Christopher JA, Hindmarsh PC, Brook CG. Sexual precocity: incidence and etiology. *Arch Dis Child* 1994; 70: 116-118.
4. Klein KO Precocious puberty: who as it? Who should be treated? *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 411-414.
5. Teilman G, Pederson CB, Jensen TK, Skakkebaek NE, Juul A. Prevalence and incidence of precocious pubertal development in Denmark: an epidemiologic study based on national registries. *Pediatrics* 2005; 116: 1323-8.
6. Berberoğlu M. Precocious Puberty and Normal Variant Puberty: Definition, etiology, diagnosis and current management. *J Clin Res Ped Endo* 2009; 1(4): 164-174.
7. Longui CA, Calliari LEP, Monte O. Revisão Crítica do Diagnóstico e Tratamento da Puberdade Precoce Central. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2011; 45:48-56.
8. Saenger P, Overview of precocious puberty 2011. [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
9. Carel JC, Leger J. Precocious Puberty. *N Engl J Med* 2008; 358: 2366-77.
10. Carel JC, Eugster EA, Rogol A, et al. Consensus statement on the use of gonadotropin releasing hormone analogues in children. *Pediatrics* 2009; 123:e752.
11. Antoniazzi F, Zamboni G. Central Precocious Puberty: Current Treatment Options. *Pediatr Drugs* 2004; 6 (4): 211-231.
12. Oostdijk W, Huemmelink R, Odink RJH et al. Treatment of children with central precocious puberty by a slow-release GnRH agonist. *European Journal of Pediatrics* 1990; 149:308-313.
13. Carel JC, Lahlou N, Guazzarotti L et al. Treatment of central precocious puberty with

- depot leuprorelin. French leuprorelin Trial Group. *European Journal of Endocrinology* 1995; 132: 699-704.
14. Antoniazzi F, Cisternino M, Nizzoli G et al. Final height in girls with central precocious puberty: comparison of two different luteinizing hormone-releasing hormone agonist treatments. *Acta Paediatrica* 1994; 83: 1052-1056.
  15. Bouchot O, Soret JY, Jacqmin D, Lahlou N et al. Three-month sustained release form of triptorelin in patients with advanced prstatic adenocarcinoma: results of an open pharmacodynamic and pharmacokinetic multicenter study. *Horm Res* 1998; 50: 89-93.
  16. Carel JC, Blumberg J, Seymour C et al. Three-month sustained-release triptorelin (11,25 mg) in the treatment of central precocious puberty. *European Journal of Endocrinology* 2006; 154: 119-124.
  17. Heinrichs C, Craen M, Vanderschueren-Lodeweyckx M, Malvaux P et al. Variations in pituitary-gonadal suppression during intranasal buserelin and intramuscular depot triptorelin therapy of central precocious puberty. Belgian Study Group for Pediatric Endocrinology. *Acta Paediatrica* 1994; 83: 627-633.
  18. Schonfeld, W. A. and Beebe, G. W. Normal growth and variation in the male genitalia from birth to maturity. *Journal of Urology*, 1942. 48, 759-777.
  19. Partsch C, Heger S, Sippell WG. Management and outcome of central precocious puberty. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002; 56(2):129-48.
  20. Kaplowitz P, Oberfield S. Reexamination of the age limit for defining when puberty is precocious in girls in the United States: implications for evaluation and treatment. Drug and Therapeutics and Executive Committees of the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society. *Pediatrics* 1999; 104:936-941.
  21. Midyett L, Moore W, Jacobson J. Are pubertal changes in girls before age 8 benign? *Pediatrics* 2003. 111:47-51.
  22. Chalumeau M, Hadjiathanasiou C, Sze M et al. Selecting girls with precocious puberty for brain imaging: validation of European evidence-based diagnosis rule. *J Pediatr* 2003; 143: 445-50.
  23. Partsch C, Sippell W. Treatment of central precocious puberty. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002; 16: 165-189.
  24. Léger J, Reynaud R, Czernichow P. Do all girls with apparent idiopathic precocious puberty require gonadotropin-releasing hormone agonist treatment? *J Pediatr* 2000; 137:819-25.
  25. Lazar L, Pertzalan A, Weintrob N et al. Sexual precocity in boys: accelerated versus slowly progressive puberty gonadotropin-suppressive therapy and final height. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:4127-32.
  26. Mul D, Hughes A. The use of GnRH agonists in precocious puberty. *Eur J Endocr* 2008; 159 – (acesso em 2011). Disponível em <http://www.eje-online.org>



# Hiperplasia supra-renal congénita e mielolipoma adrenal – relação causal ou accidental? *Congenital adrenal hyperplasia and adrenal myelolipoma - incidental or causal relationship?*

Alexandra Vieira<sup>1</sup>, Isabel Paiva<sup>2</sup>, Jacinta Santos<sup>3</sup>, Márcia Alves<sup>1</sup>, Francisco Carrilho<sup>4</sup>,  
Manuela Carvalheiro<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Interna do Internato Complementar de Endocrinologia, Hospitais da Universidade de Coimbra

<sup>2</sup> Assistente Hospitalar Graduado, Hospitais da Universidade de Coimbra

<sup>3</sup> Assistente Eventual, Hospitais da Universidade de Coimbra

<sup>4</sup> Chefe de Serviço de Endocrinologia, Hospitais da Universidade de Coimbra

<sup>5</sup> Directora do Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Hospitais da Universidade de Coimbra, e Professora da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

**Correspondência:** Alexandra Vieira · Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo · Hospitais da Universidade de Coimbra · Praceta Mota Pinto · 3000-175 COIMBRA · Portugal · alexandravieiracastro@hotmail.com

## RESUMO

Estão descritos na literatura 25 casos associando hiperplasia supra-renal congénita (HSRC) e mielolipoma. Este é um tumor raro, benigno, frequentemente localizado à supra-renal, formado por tecido adiposo e tecido hematopoiético maduro. A origem não é clara, tendo como teoria mais aceite a metaplasia de células reticuloendoteliais dos capilares sanguíneos, em resposta a infecções, stresse ou necrose. Num pequeno número coexiste hipersecreção de ACTH.

Os autores apresentam o caso de uma mulher de 56 anos, referenciada à consulta de Endocrinologia por virilização dos genitais externos. Apresentava baixa estatura, melanodermia, hirsutismo, alopecia androgénica e ambiguidade genital. Antecedentes relevantes: amenorreia primária; supra-renalectomia esquerda por mielolipoma com 12,5cm em 2007.

Os doseamentos hormonais apontaram para HSRC, de tipo virilizante simples (forma clássica). Este diagnóstico foi comprovado pelo estudo molecular que revelou presença em homozigotia da mutação g.999T>A, mutação grave, associada a actividade enzimática da 21-hidroxilase reduzida para 1-2% do normal.

Iniciou dexametasona 0,5mg/dia tendo apresentado melhoria progressiva, clínica e analítica. Apresentamos este caso pela sua singularidade: diagnóstico muito tardio de HSRC virilizante simples, numa doente com mielolipoma de grandes dimensões. Acredita-se que a hipersecreção prolongada de ACTH possa conduzir a alterações mielolipomatosas na supra-renal, mesmo quando secundária ao stresse crónico; esta teoria poderá ser clarificada pela pesquisa de receptores de ACTH nestes mielolipomas.

## PALAVRAS-CHAVE

Mielolipoma adrenal; Hiperplasia supra-renal congénita; Virilização.

## SUMMARY

*There are in the literature 25 reported cases involving congenital adrenal hyperplasia (CAH) and myelolipoma. This is a rare benign tumor, often located on the adrenal, consisting of mature adi-*

pose and hematopoietic tissues. Its origin is unclear; the most accepted theory is the occurrence of blood capillaries reticuloendothelial cells metaplasia, in response to infection, stress or necrosis. In a small number of cases ACTH hypersecretion coexists.

The authors present the case of a 56 years-old woman, referred to endocrinology due to external genitalia virilization. She presented short stature, melanodermia, hirsutism, androgenic alopecia and ambiguous genitalia. Relevant history: primary amenorrhea; left adrenalectomy for myelolipoma (12.5cm) in 2007.

The hormonal assays pointed to congenital adrenal hyperplasia (CAH), simple virilizing (classical form). This diagnosis was confirmed by molecular analysis that showed homozygous for g.999T>A severe mutation, associated with enzyme 21-hydroxylase activity reduced to 1-2% of normal.

Dexamethasone 0.5mg/day was started; she showed progressive improvement, clinical and analytical.

This is a very interesting case in terms of physiopathological correlation between a simple virilizing CAH and a large adrenal myelolipoma. This case reinforces the theory that a prolonged hypersecretion of ACTH can lead to myelolipomatous changes in adrenal gland. The finding of ACTH receptors in myelolipomas will be necessary to prove it.

#### KEYWORDS

Adrenal Myelolipoma; Congenital adrenal hyperplasia; Virilization.

## INTRODUÇÃO

Os mielolipomas da glândula supra-renal foram descritos pela primeira vez em 1905 por Grieke, mas somente em 1929 Oberling os denominou assim<sup>1</sup>. Os mielolipomas são frequentemente localizados à supra-renal, mas podem existir como massas solitárias em qualquer local<sup>2</sup>.

De entre os tumores da supra-renal os mielolipomas têm sido considerados relativamente raros, com incidência estimada em autópsias de 0,003% a 0,4%<sup>1-5</sup>; actualmente esta estimativa tem sido revista<sup>6,7</sup> considerando-se corresponderem a 1,5-9% dos incidentalomas adrenais<sup>8</sup>.

São tumores benignos<sup>2,7,9</sup> caracteristicamente não-funcionantes<sup>2</sup> e assintomáticos<sup>2</sup>, mas podem estar associados a distúrbios endócrinos, como doença de Addison<sup>10</sup>, ou podem coexistir com hiperplasia ou tumores secretores da glândula adrenal<sup>5,11,12</sup>.

São constituídos por tecido hematopoiético e tecido adiposo maduro<sup>2,6,7,9,10,13,14</sup>. A sua origem não é clara, tendo sido propostas

diferentes teorias<sup>6,15,16</sup>, como: desenvolvimento de restos de células-tronco, embolia de células da medula óssea, hematopoiese extramedular e, a mais aceite, metaplasia de células adrenocorticais em resposta a infecções, inflamação, stresse ou necrose<sup>4,5,14,17,18</sup>, devido a estimulação crónica pela ACTH<sup>7,10</sup>.

O possível papel da estimulação crónica da supra-renal é apoiado pela elevada incidência de mielolipomas e tumores adrenais em idosos<sup>19</sup>. Doença de Cushing, HTA, diabetes e obesidade estão frequentemente associados aos mielolipomas adrenais, podendo representar um estímulo para a supra-renal<sup>6,14</sup>. Pelo mesmo mecanismo, se especula se o estilo de vida contemporâneo indissociável do stresse e de dietas desequilibradas poderá ser implicado na patogénese destes tumores<sup>6</sup>.

A hiperplasia supra-renal congénita (HSRC) resulta de um erro inato do metabolismo do cortisol, transmitido geneticamente de forma autossómica recessiva<sup>20-25</sup>. Ocorre por deficiência de uma das enzimas

envolvidas na sua biossíntese: o cortisol é produzido na zona fasciculada, a partir do colesterol, por uma série de passagens enzimáticas interligadas. A enzima 21-hidroxilase (21-OH), pertencente ao grupo de enzimas do citocromo P450, é responsável pela conversão da progesterona em desoxicorticosterona e pela conversão de 17-hidroxi-progesterona (17-OHP) em 11-desoxicortisol<sup>24,26,27</sup>. A enzima 21-OH é codificada pelo gene *CYP21A2*, localizado no cromossoma 6p21.3<sup>28</sup>. A sua deficiência é causada por uma mutação deste gene<sup>24</sup>. Uma vez que a secreção de cortisol está diminuída, os níveis de ACTH aumentam (retrocontrolo negativo) motivando uma acumulação dos precursores substrato para a 21-hidroxilação<sup>23,26,29</sup> que são assim desviados para a via da síntese de androgéneos<sup>24,27,29,30</sup>, com elevação de androstenediona, testosterona, dihidrotestosterona e até dos estrogéneos (aromatizados perifericamente)<sup>24</sup>. Finalmente surge a hiperplasia do seu córtex<sup>23,24,29-31</sup>.

Este défice enzimático é a forma mais comum de HSRC, sendo responsável por cerca de 90%-95% dos casos<sup>22,24,26,28,30-38</sup>.

A associação da HSRC a mielolipomas foi relatada, até à data, em cerca de 25 casos<sup>9</sup>.

Os autores apresentam um caso de mielolipoma da supra-renal numa doente com HSRC, forma clássica, virilizante simples, cujo diagnóstico foi efectuado tardiamente.

## DESCRIÇÃO DO CASO CLÍNICO

MACRM, sexo feminino, 56 anos, solteira, doméstica, enviada à consulta de Endocrinologia em Outubro de 2009 por virilização dos genitais externos. Apresentava os seguintes antecedentes patológicos: meningite aos 8 anos, amenorreia primária, HTA, dislipidemia, osteoartropatia e supra-renalectomia em 2007 por mielolipoma com 12,5cm de diâmetro. Estava medicada com losartan 50mg + hidroclorotiazida 12,5mg id, bezafibrato

400mg id, carbonato de cálcio 1500mg + colecalciferol 400UI e diclofenac em caso de dores.

De entre os antecedentes familiares, destacam-se os seguintes: irmã de 43 anos, paraplégica por causa indeterminada e irmão falecido aos 8 anos por tétano.

Ao exame físico, a doente apresentava melanodermia, hirsutismo e alopecia androgénica. A tensão arterial era normal (TA: 136/68mmHg); altura: 141,2cm; peso: 60Kg; IMC de 30,2Kg/m<sup>2</sup>. Apresentava clitoromegália e coalescência dos pequenos lábios. O ionograma, função renal e hepática eram normais. A doente foi internada no serviço de Endocrinologia para esclarecimento do quadro clínico.

Os doseamentos hormonais estão descritos nos quadros I e II.

QUADRO I: Doseamentos hormonais (\*valores de referência para a menopausa)

	16/10/09	Valor referência
FSH (mUI/mL)	66	>34*
LH (mUI/mL)	21	>25*
Estradiol (pg/mL)	52	<14*
S-DHEA (µg/mL)	1,3	0,35-4,3
Δ4 – androstenediona (ng/mL)	44	0,5-3,4
11-desoxicortisol (ng/mL)	20	<8
17-OHP (ng/mL)	196	0,2-1,6
Testosterona total (ng/mL)	4,0	<0,9
ACTH (pg/mL)	490	9-52
Cortisol (µg/dL)	9,7	5-25
IGF-1 (ng/mL)	127	81-225
Prolactina (ng/mL)	10	<20
TSH (µUI/mL)	1,3	0,8-1,9
T4 livre (ng/dL)	1,3	0,8-1,9
Renina (µU/mL)	6770	7-76
Aldosterona (pg/mL)	302	40-310

QUADRO II: Doseamento de ACTH e cortisol às 8h e 24h

	ACTH	Cortisol
8h	372	11
24h	173	3,8

A doente foi submetida a prova de tetraacetideo (250 µg) com os seguintes doseamentos 1h após a estimulação: 17-OHP de 200ng/mL; 11-desoxicortisol de 23ng/mL;

FIGURA 1: RM hipófise

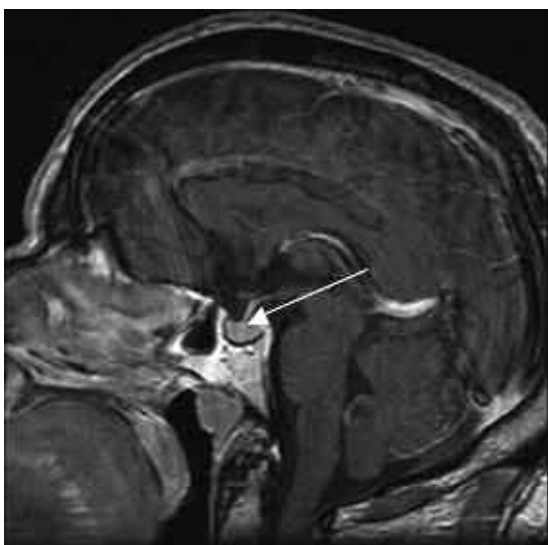


FIGURA 2: TC abdómen; 1 – Supra-renal direita hiperplasiada; 2 – adenoma



cortisol de 10µg/dL. Foi iniciada dexametasona 0,5mg/noite.

Realizou ecografia abdominal e pélvica que revelou fígado com infiltração esteatósica e quisto cortical simples com cerca de 21mm no terço médio do rim esquerdo; útero e anexos não foram visualizados.

A RM hipofisária (Fig 1) mostrou área nodular intra-hipofisária de aproximadamente 5mm, não se podendo excluir microadenoma.

A TC abdominal (Fig. 2) revelou ausência de supra-renal esquerda e supra-renal direita aumentada de tamanho, individualizando-se um nódulo de 15mm compatível com adenoma; revelou também esteatose

hepática difusa e quisto no rim esquerdo com 2,1cm.

O cariótipo foi normal: 46 XX. Foi efectuado o estudo molecular do gene *CYP21A2* que mostrou presença em homozigotia da mutação g.999T>A, mutação grave, associada a actividade enzimática da 21-hidroxilase reduzida para 1-2% do normal.

No seguimento em consulta de Endocrinologia, foi evidente melhoria clínica, tendo sido proposta a redução da dose de dexametasona para 0,25mg id. No entanto a doente manifestou queixas de astenia e algias generalizadas, mantendo 0,5mg id.

No quadro III apresentamos a evolução analítica.

QUADRO III: Evolução analítica

	18/12/09	22/10/10
11-desoxicortisol (ng/mL)	0,5	
17-OHP (ng/mL)	1,9	1,1
Testosterona total (ng/mL)	<0,2	0,1
ACTH (pg/mL)	7,0	5,3
Cortisol (µg/dL)	<1,0	<1,0
Renina (µU/mL)	4576	6870
Aldosterona (pg/mL)	292	403

## DISCUSSÃO

Apresentamos um caso de mielolipoma adrenal numa doente com HSRC por deficiência de 21-OH.

Tanto a clínica como os exames complementares de diagnóstico apontam para hiperplasia supra-renal congénita de tipo virilizante simples (forma clássica). A doente não apresentava desequilíbrios hidroelectrolíticos. A existência de um valor de cortisol sérico normal é justificada pela hipersecreção mantida de ACTH, a qual explica também a melanodermia (visto a ACTH e a MSH - *Melanocyte-Stimulating Hormone* - derivarem do mesmo precursor - pró-opiomelanocortina (POMC)). Para além disso, verificou-se elevação dos precursores que são substrato da enzima 21-OH com desvio para a síntese de androgéneos, motivando

os sinais clínicos de hiperandrogenismo (hirsutismo, virilização dos genitais externos, alopecia androgénica e baixa estatura por encerramento precoce das epífises), a presença de amenorreia primária e a atrofia dos genitais internos (documentada pela ecografia). Do mesmo modo, os níveis de aldosterona são normais (o que não acontece na HSRC, forma perdedora de sal) à custa da hipersecreção da renina, no sentido de ultrapassar o bloqueio enzimático. Após prova do tetracosactídeo não se verificou elevação significativa do cortisol dada a deficiência de 21-OH; para além disso não ocorreu aumento significativo da 17-OHP e do 11-desoxicortisol, já cronicamente elevados nesta enzimopatia.

A doente apresentou melhoria progressiva, clínica e analítica, após introdução da dexametasona. Apesar de não existirem estudos randomizados e controlados relativamente ao seguimento de diferentes modos de tratamento de HSRC em adultos, os glicocorticoides de maior duração de ação são usados muito frequentemente<sup>39</sup>.

No que refere ao mielolipoma, a nossa doente enquadra-se na média de idades habitual da sua ocorrência: na vida adulta, entre 41 e 84 anos (média de 62 anos), não havendo preferência por sexo<sup>2,14</sup>. Pelo contrário, no que se refere à localização, em que os casos descritos na literatura têm predomínio de localização na supra-renal direita<sup>6,14</sup>, a doente apresentada desenvolveu este tumor à esquerda. A razão desta lateralização é desconhecida. Os locais extra-adrenais para mielolipomas incluem o retroperitонеu, o tórax e a pelve<sup>12,14</sup>.

Os mielolipomas têm geralmente dimensões inferiores a 5 cm, são unilaterais e constituem um achado de autópsia ou de exames imagiológicos<sup>2</sup>. Podem adquirir grandes dimensões, sendo que o maior mielolipoma adrenal documentado na literatura pesava 6,0 Kg<sup>1,2</sup>.

A abordagem destes tumores deve ser individualizada<sup>6</sup>. Um tumor com diâmetro

inferior a 5cm e assintomático deve ser seguido cada 1-2 anos com controlo imagiológico<sup>6</sup>, nomeadamente por TC. Se a lesão for sintomática ou maior que 5cm, deve ser removida cirurgicamente, dada a possibilidade de rotura espontânea e hemorragia (com eventual desenvolvimento de choque hipovolémico)<sup>5,13,17,40</sup>, assim como para definição diagnóstica<sup>2,14,41</sup>.

O sintoma mais comum é a dor abdominal, que pode ser devida a hemorragia intratumoral, necrose tumoral ou compressão de órgãos adjacentes<sup>2</sup>. A maioria dos mielolipomas relatados na literatura foi submetida a cirurgia devido à suspeita de malignidade<sup>2</sup>.

O diagnóstico diferencial dos tumores lipomatosos da glândula adrenal inclui lipomas, mielolipomas, angiomiolipomas, teratomas e lipossarcomas<sup>2,17</sup>. Embora a TC seja o exame mais sensível para o diagnóstico de mielolipoma da supra-renal, uma vez que mostra uma massa encapsulada com densidade equivalente à do tecido adiposo<sup>9,13,42-44</sup>, não permite excluir malignidade<sup>44</sup>: o diagnóstico diferencial entre lipossarcoma e mielolipoma só é possível por meio de exame anatomopatológico<sup>2</sup>, sendo por isso necessário realizar cirurgia para total definição diagnóstica<sup>1,2,45</sup>.

Alguns autores recomendam a realização de punção aspirativa por agulha fina guiada por TC para confirmar o diagnóstico<sup>1,2,5</sup>, o que poderia ajudar na programação cirúrgica dos pacientes<sup>2</sup>; no entanto, perante a suspeita de lesão maligna, a citologia não deve ser realizada pelo risco de disseminação de células neoplásicas.

A origem dos mielolipomas é ainda desconhecida, mas várias teorias têm sido propostas: desenvolvimento de tecido mesenquimatoso residual nas supra-renais; metaplasia das células reticuloendoteliais como resultado de stresse crónico<sup>10,13</sup>; indução de hiperplasia adrenocortical nodular ou difusa, que posteriormente pode tornar-se autónoma devido a mutações oncogénicas no tecido<sup>9</sup>.

Na literatura são relatados casos de mielolipomas associados a disfunção endócrina<sup>2,11,46</sup>, acreditando-se que nesses casos o estímulo hormonal crónico do córtex da adrenal possa contribuir para o seu crescimento<sup>2</sup>. Alguns estudos indicam a ACTH como podendo ter um papel no desenvolvimento dos mielolipomas<sup>10,14</sup>, teoria apoiada pela sua elevada frequência relativa em doentes com HSRC<sup>9</sup>, Síndrome de Nelson<sup>9,10</sup> e doença de Addison<sup>9</sup>. Também a terapêutica inadequada de glicocorticóides no início da vida ou episódios frequentes de infecção são indicados como podendo levar a aumento crónico de ACTH, contribuindo para o desenvolvimento posterior de tumores adrenais<sup>13,47</sup>.

Possivelmente pelo mesmo mecanismo, tem-se verificado um aumento da prevalência de incidentalomas, em geral, da supra-renal em doentes com HSRC nomeadamente em casos de déficit de 21-OH, 17-hidroxilase (17-OH) e 11 $\beta$ -hidroxilase<sup>7,8,9,10,13,14,28,46,48,49</sup>. Jaresch *et al* encontraram massas adrenais em 83% dos doentes com HSRC e em 45% dos portadores heterozigóticos, prevalência muito elevada quando comparada com a população em geral<sup>8,13</sup>. É importante fazer ressaltar que a maioria destes doentes não estava medicada ou cumpria a medicação de modo muito irregular e, portanto, estiveram expostos durante muitos anos a níveis elevados de ACTH e andrógenos, os quais parecem induzir a transformação das células precursoras do córtex adrenal em células adiposas maduras<sup>7,9,10</sup>.

Ocasionalmente, os mielolipomas podem ocorrer concomitantemente com outras lesões das supra-renais, tais como adenoma cortical<sup>9,50</sup>, ganglioneuroma<sup>9,51</sup>, carcinoma<sup>9,52</sup>, feocromocitoma<sup>9,53</sup> ou HSRC<sup>9,54</sup>. Também ocorre metaplasia mielóide no córtex da supra-renal em doentes com queimaduras extensas e em doentes com neoplasias malignas, dois grupos que estão sujeitos a longos períodos de stresse intenso<sup>9,10</sup>.

Sendo as massas adrenais comuns nos

casos de HSRC, esta entidade não é descrita como uma causa comum de massas adrenais<sup>13</sup>. No entanto, deve ser incluída no seu diagnóstico diferencial<sup>13</sup>, particularmente quando existe suspeita clínica, devendo ser doseados ACTH, cortisol e 17-OHP<sup>13</sup>. A realização deste diagnóstico num doente com incidentaloma da supra-renal é importante dado o risco de insuficiência cortico-supra-renal aguda<sup>13,55</sup> em consequência de stresse intenso, nomeadamente motivado por intervenções cirúrgicas.

Desconhece-se se o tratamento substitutivo da insuficiência cortico-supra-renal interrompe o crescimento do tumor<sup>13</sup>. Rajput *et al* descreveram a evolução progressiva de uma destas lesões numa mulher com HSRC medicada com prednisolona, que cumpria a terapêutica de modo irregular, mantendo valores de 17-OHP e ACTH persistentemente elevados<sup>13,56</sup>.

Jaresch *et al* descreveram uma correlação positiva entre a idade dos doentes com HSRC, a idade de início de tratamento e o tamanho dos mielolipomas; os doentes mais velhos e os que não foram devidamente tratados durante um período mais longo apresentaram os maiores tumores<sup>9</sup>.

Até à data, foram relatados cerca de 25 casos de HSRC associados a mielolipomas<sup>9</sup>. A média de idade desses pacientes foi de 48 anos (23-82 anos). Em 19 casos (76%), foi associada a deficiência de 21-OH, em quatro (16%) a deficiência de 17-OH e em um (4%) à deficiência de 11 $\beta$ -hidroxilase<sup>9</sup>. O tamanho médio dos tumores foi de 12,4cm (1-43cm) sendo que em 10 casos (40%) existiam lesões bilaterais<sup>9</sup>.

Apesar da HSRC estar subdiagnosticada, tem sido mais frequentemente reportada em indivíduos do sexo masculino. No entanto, não existe dominância de género no que se refere a mielolipomas associados a HSRC descritos na literatura (13 mulheres e 12 homens)<sup>9</sup>. A grande maioria dos mielolipomas associados a HSRC está localizada na supra-renal; contudo existem descrições

da sua presença noutros locais, nomeadamente nos testículos<sup>9,57</sup>. Nos últimos anos, tem havido um aumento do número de casos descritos (12 na última década *versus* 13 entre 1975-1997)<sup>7,9,10,46,54,58-75</sup>, possivelmente pela maior acessibilidade de exames de imagem de alta resolução.

Selye e Stone induziram massas adrenais mielolipomatosas em ratos por injeção de extractos da adeno-hipófise<sup>10</sup>. A testosterona também causou transformação das células precursoras do córtex da supra-renal em células adiposas maduras sendo este efeito reforçado pela administração simultânea de extractos da adeno-hipófise<sup>10</sup>.

De acordo com estes dados, é provável que a secreção excessiva de ACTH ao longo do tempo na nossa doente tenha tido um papel estimulante no aparecimento do mielolipoma. Esta hipótese poderá ser clarificada em estudos futuros, quer pela demonstração de receptores de ACTH nestes tumores, quer pela reafirmação (ou não) de uma maior incidência dos mielolipomas em doentes com hipersecreção prolongada de ACTH.

## BIBLIOGRAFIA

1. Akamatsu H, Koseki M, Nakaba H, Sunada S, Ito A, Teramoto S, et al. Giant adrenal myelolipoma: report of a case. *Surg Today* 2004; 34(3):283-5.
2. Nal G, Agular L, Gimenez V. Mielolipoma gigante bilateral da glândula adrenal. *J Bras Patol Med Lab* 2007; 265-268.
3. Sanders R, Bissada N, Curry N, Gordon B. Clinical spectrum of adrenal myelolipoma: analysis of 8 tumors in 7 patients. *J Urol* 1995; 153(6): 1791-3.
4. Martín M, Romero J, Sánchez A, Millán I, Pabolaza L, Rodríguez J. Bilateral adrenal myelolipoma. *Urol Int* 1999; 62(4): 226-8.
5. Wrightson W, Hahm T, Hutchinson J, Cheadle W. Bilateral giant adrenal myelolipomas: a case report. *Am Surg* 2002; 68(6): 588-9.
6. Tyrizis S, Adamakis I, Migdalís V, Vlachodimitropoulos D, Constantinides C. Giant adrenal myelolipoma, a rare urological issue with increasing incidence: a case report. *Cases Journal* 2009, 2:8863.
7. John M, Menon S, Shah N, Menon P. Congenital adrenal hyperplasia 11 $\beta$ -hydroxylase deficiency: two cases managed with bilateral adrenalectomy. *Singapore Med J* 2009; 50(2): e68-e70.
8. Jaresch S, Kornely E, Kley H, Schlaghecke R. Adrenal incidentaloma and patients with homozygous or heterozygous congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74(3): 685-9.
9. Mermejo L, Junior J, Saggioro F, Junior S, Castro M, Moreira A, et al. Giant adrenal myelolipoma associated with 21-hydroxylase deficiency: unusual association mimicking an androgen-secreting adrenocortical carcinoma. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2010; 54(4): 419-24.
10. Murakami C, Ishibashi M, Kondo M, Ohshiro S, Fujita M, Sato S, et al. Adrenal Myelolipoma Associated with Congenital Adrenal 21-Hydroxylase. *Internal Medicine* 1992; 31: 803-6.
11. Kalidindi R, Hattings L. Bilateral giant adrenal myelolipomas. *Abdom Imaging* 2006; 31(1): 125-7.
12. Patel V, Babalola O, Fortson J, Weaver W. Adrenal myelolipoma: report of a case and review of the literature. *Am Surg* 2006; 72(7): 649-54.
13. Nermoen I, Følling I, Vegge K, Larmo A, Nedrebø, Husebye E, et al. Two Adults with Adrenal Myelolipoma and 21-Hydroxylase Deficiency. *Case Reports in Medicine* 2009. Article ID 916891, 4 pages.
14. Suranagi V, Malur P, Bannur H, Davanageri R, Nerli R. Adrenal Myelolipoma- A Rare Case Report. *Al Ame en J Med Sci* 2009; 2(1): 87-89.
15. Vierna J, Laforga J. Giant adrenal myelolipoma. *Scand J Urol Nephrol* 1994, 28: 301-304.
16. Han M, Burnett A, Fishman E, Marshall F. The natural history and treatment of adrenal myelolipoma. *J Urol* 1997, 157: 1213-1216.
17. Lam K, LO C. Adrenal lipomatous tumors: a 30-year clinicopathological experience at single institution. *J Clin Pathol* 2001; 54: 707-12.
18. Meyer A, Behrend M. Presentation and therapy of myelolipoma. *Int J Urol* 2005, 12:239-243.
19. Yildiz L, Akpolat I, Erzurumlu K, Aydin O, Kandemir B: Giant adrenal myelolipoma: case report and review of the literature. *Pathol Int* 2000, 50:502-504.
20. Mao R, Nelson L, Kates R, Miller C, Donaldson D, Tang W et al. Prenatal diagnosis of 21-hydroxylase deficiency caused by gene conversion and rearrangements: pitfalls and molecular diagnostic solutions. *Prenat Diagn* 2002; 22: 1171-6.
21. Keegan C, Killeen A. An overview of molecular diagnosis of steroid 21-hydroxylase deficiency.

- J Mol Diagn 2001; 3:49-54.
22. Janzen N, Peter M, Sanders S, Steuerwald U, Terhardt M, Holtkamp U, et al. Newborn screening of congenital adrenal hyperplasia: additional steroid profiler using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 2581-9.
  23. Bento L, Ramos C, Gonçalves E, Mello M, Baptista M, Lemos-Marini S, et al. Hiperplasia adrenal congénita por deficiência da 21-hidroxilase, forma clássica: estudo da frequência em famílias de indivíduos afectados. *Rev Paul Pediatr* 2007;25:202-6.
  24. White P, Speiser P. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Rev* 2000; 21: 245-291.
  25. White P, Curnow K, Pascoe L. Disorders of steroid 11 $\beta$ -hydroxylase isozymes. *Endocr Rev* 1994; 15: 421-438.
  26. Speiser P, White P. Congenital adrenal hyperplasia. *N Eng J Med* 2003; 349: 776-788.
  27. White P. Congenital adrenal hyperplasia. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2001; 15: 17-41.
  28. Takahashi S, Yamamoto S, Yamamoto A, Shincho M, Ka T, Inokuchi T, et al. 21-Hydroxylase Deficiency Presenting as an Adrenal Incidentaloma - Endocrinological Evaluation and Mutational Analysis. *The Endocrinologist* 2008; 18: 207-210.
  29. Wajnrajch M, New M. Defects of adrenal steroidogenesis. In: DeGroot LJ, Jameson JL. *Endocrinology*. 4ª edição. Philadelphia:WB Saunders. 2001,1721-36.
  30. New M. Extensive clinical experience – non-classical 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 4205-14.
  31. Lajic S, Nordenstrom A, Ritzén E, Wedwll A. Prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Eur J Endocrinol* 2004; 151: 63-9.
  32. New M. An update of congenital adrenal hyperplasia. *Ann NY Med Acad Sci* 2004; 1038: 14-43.
  33. Merke D, Bornstein S. Congenital adrenal hyperplasia. *Lancet* 2005; 365: 2125-36.
  34. Forest M. Recent advances in the diagnosis and management of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase. *Hum Reprod Update* 2004; 10: 469-485.
  35. Bonfig W, Bechtold S, Schmdit H, Knorr D, Schwarz H. Reduced final height outcome in congenital adrenal under prednisone treatment: deceleration of growth velocity during puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 1635-9.
  36. Chiu R, Lau T, Cheung P, Gong Z, Leung T, Lo Y. Noninvasive prenatal exclusion of congenital adrenal hyperplasia by maternal plasma analysis: a feasibility study. *Clin Chem* 2002; 48: 778-780.
  37. Stewart P. The adrenal cortex. In: Kronenberg H, Melmed S, Polonsky K et al. *Williams Textbook of Endocrinology*. 11ª edição. Saunders Elsevier. 2008; 486-8.
  38. Bachega T, Brenha E, Billerbeck A, Marcondes J, Madureira G, Arnhold I, et al. Variable ACTH-stimulated 17-hydroxyprogesterone values in 21-hydroxylase deficiency carriers are not related to the different CYP21 gene mutations. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 786-790.
  39. Speiser P, Azziz R, Baskin L, Ghizzoni L, Hensle T, Merke D, et al. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 4133-60.
  40. Russell C, Goodacre B, vanSonnenberg E, Orihuela E. Spontaneous rupture of adrenal myelolipoma: spiral CT appearance. *Abdom Imaging* 2000, 25:431-434.
  41. Ares V. Adrenal myelolipoma Case report and bibliographic review. *Arch Esp Urol* 2006; 59(1): 71-73.
  42. Lezoche E, Guerrieri M, Crosta F, Paganini A, D'Ambrosio G, Lezoche G et al. Perioperative results of 214 laparoscopic adrenalectomies by anterior transperitoneal approach. *Surgical Endoscopy* 2008; 22 (2):522-526.
  43. Mansmann G, Lau J, Balk E, Rothberg M, Miyachi Y, Bornstein S. The clinically inapparent adrenal mass: update in diagnosis and management. *Endocr Rev* 2004; 25(2): 309-340.
  44. Lockhart M, Smith J, Kenney P. Imaging of adrenal masses. *Eur J Radiol* 2002; 41(2): 95-112.
  45. Valdes J. Adrenal myelolipoma: case report and bibliographic review. *Arch Esp Urol* 2006; 59(1): 71-73.
  46. Sakaki M, Izaki H, Fukumori T, Tuae R, Kishimoto T, Kanayama H. Bilateral adrenal myelolipoma associated with adrenogenital syndrome. *Int J Urol* 2006; 13(6): 801-2.
  47. Patocs A, Toth M, Barta C. Hormonal evaluation and mutation screening for steroid 21-hydroxylase deficiency in patients with unilateral and bilateral adrenal incidentalomas. *Eur J Endocrinol* 2002; 147 (3): 349-355.
  48. Hisamatsu H, Sakai H, Tsuda S, Shigematsu K, Kanetake H. Combined adrenal adenoma and myelolipoma in a patient with Cushing's syndrome: case report and review of the literature. *Int J Urol* 2004; 11(6): 416-418.
  49. Allison K, Mann G, Norwood T, Rubin B. An unusual case of multiple giant myelolipomas: clinical and pathogenetic implications. *Endocr Pathol* 2003; 14 (1): 93-100.
  50. Manassero F, Pomara G, Rappa F, Cuttano MG,



- Crisci A, Selli C. Adrenal myelolipoma associated with adenoma. *Int J Urol* 2004; 11(5): 326-8.
51. Merchant S, Herman C, Amin M, Ro J, Troncoso P. Myelolipoma associated with adrenal ganglioneuroma. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126(6): 736-7.
  52. Sun X, Ayala A, Castro CY. Adrenocortical carcinoma with concomitant myelolipoma in a patient with hyperaldosteronism. *Arch Pathol Lab Med* 2005; 129(6): e144-7.
  53. Ukimura O, Inui E, Ochiai A, Kojima M, Watanabe H. Combined adrenal myelolipoma and pheochromocytoma. *J Urol* 1995; 154(4): 1470.
  54. Hagiwara H, Usui T, Kimura T, Tagami T, Naruse M, Minamiguchi S, et al. Lack of ACTH and androgen receptor expression in a giant adrenal myelolipoma associated with 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Pathol* 2008; 19(2): 122-7.
  55. Merke D. Approach to the adult with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(3): 653-660.
  56. Rajput R, Bhansali A, Khandelwal N, Radotra B. Evolution of adrenal myelolipoma in a patient with congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinologist* 2007; 17(4): 200-01.
  57. Adesokan A, Adegboyega P, Cowan D, Kocurek J, Neal D. Testicular "tumor" of the adrenogenital syndrome: a case report of an unusual association with myelolipoma and seminoma in cryptorchidism. *Cancer* 1997; 80(11): 2120-7.
  58. Schindler H. Myelolipoma of the adrenal gland in adrenogenital syndrome. *Wien Med Wochenschr* 1975; 725(48): 695-7.
  59. Boudreaux D, Waisman J, Skinner D, Low R. Giant adrenal myelolipoma and testicular interstitial cell tumor in a man with congenital 21-hydroxylase deficiency. *Am J Surg Pathol* 1979; 3(2): 109-23.
  60. Barr A, Giltman L. Congenital adrenal hyperplasia diagnosed in an 82-year-old: case report. *Va Med* 1982; 109(12): 844-5.
  61. Condom E, Villabona C, Gomez J, Carrera M. Adrenal myelolipoma in a woman with congenital 17-hydroxylase deficiency. *Arch Pathol Lab Med* 1985; 109(12): 1116-7.
  62. Sasano H, Masuda T, Ojima M, Fukuchi S, Sasano N. Congenital 17 alpha-hydroxylase deficiency: a clinicopathologic study. *Hum Pathol* 1987; 18(10): 1002-7.
  63. Oliva A, Duarte B, Hammadeh R, Ghosh L, Baker R. Myelolipoma and endocrine dysfunction. *Surgery* 1988; 103(6): 711-5.
  64. Miyazaki Y, Yoshida M, Doi J. A case of adrenal myelolipoma associated with adrenogenital syndrome. *Hinyokika Kyo* 1990; 36(1): 35-9.
  65. Iwamoto T, Yajima M, Tanaka H, Minagawa N, Osada T. A case report: reversible male infertility due to congenital adrenal hyperplasia. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 1993; 84(11): 2031-4.
  66. Ravichandran R, Lafferty F, McGinniss M, Taylor H. Congenital adrenal hyperplasia presenting as massive adrenal incidentalomas in the sixth decade of life: report of two patients with 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81(5): 1776-9.
  67. Umpierrez M, Fackler S, Umpierrez G, Rubin J. Adrenal myelolipoma associated with endocrine dysfunction: review of the literature. *Am J Med Sci* 1997; 314(5): 338-41.
  68. Parenteau C, Mongeau C, Benard B, Maheux P. Pigmented adrenal hyperplasia with myelolipomatous changes and bilateral testicular enlargement in an untreated man with 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Pract* 2000; 6(3): 260-3.
  69. Nagai T, Imamura M, Honma M, Murakami M, Mori M. 17alpha-hydroxylase deficiency accompanied by adrenal myelolipoma. *Intern Med* 2001; 40(9): 920-3.
  70. Allison KH, Mann GN, Norwood TH, Rubin BP. An unusual case of multiple giant myelolipomas: clinical and pathogenetic implications. *Endocr Pathol* 2003; 14(1): 93-100.
  71. Mathew J, Menon PS, Shah NS. An elderly lady in shock. *J Postgrad Med*. 2005; 51(1): 51-3.
  72. Patocs A, Liko I, Varga I, Gergics P, Boros A, Futo L, et al. Novel mutation of the CYP17 gene in two unrelated patients with combined 17alpha-hydroxylase/17,20-lyase deficiency: demonstration of absent enzyme activity by expressing the mutant CYP17 gene and by three-dimensional modeling. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; 97(3): 257-65.
  73. Kalidindi RS, Hattingh L. Bilateral giant adrenal myelolipomas in a patient with known congenital adrenal hyperplasia-imaging appearances and change in the CT morphology following steroid treatment: a case report. *Abdom Imaging* 2006; DOI: 10.1007/s00261-006-9096-x.
  74. Treska V, Wirthova M, Hadravská S, Mukensnabl P, Kuntscher V, Kreuzberg B, et al. Giant bilateral adrenal myelolipoma associated with congenital adrenal hyperplasia. *Zentralbl Chir* 2006; 131(1): 80-3.
  75. Nigawara T, Kageyama K, Sakihara S, Takayasu S, Kawahara M, Imai A, et al. A male case of nonclassical 21-hydroxylase deficiency first manifested in his sixties with adrenocortical incidentaloma. *Endocr J* 2008; 55(2): 291-7.

# Diabetes Monogénica: a importância do diagnóstico molecular

## *Monogenic diabetes: the relevance of molecular diagnosis*

Filipa Correia<sup>1</sup>, Marta Santalha<sup>1</sup>, Carla Meireles<sup>2</sup>, Fátima Fonseca<sup>3</sup>, Alberto Costa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Interna Complementar de Pediatria, Serviço de Pediatria, Centro Hospitalar do Alto Ave;

<sup>2</sup> Assistente Hospitalar de Pediatria, Serviço de Pediatria, Centro Hospitalar do Alto Ave;

<sup>3</sup> Assistente Hospitalar de Nutrição, Serviço de Nutrição, Centro Hospitalar do Alto Ave;

**Correspondência:** Filipa Isabel Sotto-Mayor Correia › Serviço de Pediatria › Centro Hospitalar do Alto Ave › Rua dos Cutileiros, Creixomil › 4835-044 GUIMARÃES › Filipa\_correia@hotmail.com

### RESUMO

*Introdução:* Nas crianças, quase todos os casos de diabetes monogénica resultam de mutações em genes que regulam a função das células beta pancreáticas. Actualmente estão identificados pelo menos seis subtipos de Maturity-onset Diabetes of the Young (MODY).

*Relato do caso:* Duas crianças do sexo masculino, uma com sete e outra com onze anos, referenciadas à consulta de Pediatria por apresentarem hiperglicemia em jejum assintomática. Antecedentes familiares de diabetes mellitus em ambos os casos. O diagnóstico molecular confirmou MODY subtipo 2 – foram detectadas duas mutações distintas no gene GCK. Até à data nenhuma das crianças necessitou de intervenção farmacológica.

*Discussão:* É extremamente importante fazer o diagnóstico correcto de diabetes monogénica, uma vez que só assim é possível prever a evolução clínica do doente e dessa forma proporcionar o tratamento mais adequado, assim como fazer o rastreio em outros familiares.

### PALAVRAS-CHAVE

Maturity-onset Diabetes of the Young; MODY; Crianças; Diabetes.

### ABSTRACT

*Introduction:* In children almost all the cases of monogenic diabetes come from mutations in the genes that regulate pancreatic beta cell function. Currently there are at least six Maturity – Onset Diabetes of the Young (MODY) subtypes.

*Case Report:* Two boys aged seven and eleven years were referred to a pediatric appointment due to asymptomatic fasting hyperglycemia. There was family history of diabetes mellitus in both children. The molecular diagnosis confirmed MODY type 2 – two different GCK gene mutations were detected. There has been no need for pharmacological treatment so far.

*Discussion:* It is extremely important to make the correct diagnosis of monogenic diabetes. This way it is possible to predict the clinical course and to give the most appropriate treatment to the child and to his family.

### KEYWORDS

Maturity-onset Diabetes of the Young; MODY; Children; Diabetes.

## INTRODUÇÃO

A diabetes monogénica resulta de uma ou várias mutações num único gene. Nas crianças quase todos os casos de diabetes monogénica resultam de mutações em genes que regulam a função das células beta pancreáticas. As causas mais comuns de Diabetes ou de Hiperglicemias monogénicas são as formas de Diabetes do adulto iniciada na juventude (Maturity Onset Diabetes of the Young – MODY)<sup>1</sup>.

A diabetes tipo MODY, descrita pela primeira vez em 1974, atinge entre 1 a 5% do total de doentes diabéticos<sup>2</sup>. Infelizmente, este tipo de diabetes frequentemente não é correctamente diagnosticado e fica rotulado erroneamente de diabetes tipo 1 ou tipo 2.

A diabetes mellitus tipo MODY constitui um subtipo de diabetes resultante de um defeito primário na secreção de insulina<sup>3</sup>, associada a disfunção na célula beta pancreática. Este tipo de diabetes caracteriza-se por manifestação em idade precoce (em geral abaixo dos 25 anos) e por uma história familiar positiva, com transmissão autossómica dominante (determinada em pelo menos três gerações). A diabetes tipo MODY corresponde a uma condição monogénica de elevada penetrância - cerca de 95% dos indivíduos que nascem com a mutação, desenvolvem diabetes ou, pelo menos, diminuição da tolerância à glicose ou anomalias da glicemia em jejum, até à sexta década de vida<sup>4,6</sup> - e com grande heterogeneidade clínica.

Esta heterogeneidade permitiu, até ao presente, a determinação de vários subtipos de diabetes tipo MODY. Actualmente estão identificados pelo menos seis subtipos (MODY 1 a 6) de acordo com o gene alvo da mutação: um gene codificando uma enzima da via glicolítica (glucocinase - GCK) e cinco genes codificando factores de transcrição (HNF-1 $\alpha$ , HNF-1 $\beta$ , HNF-4 $\alpha$ , IPF-1 e NeuroD1/BETA2). É importante referir que deverão existir outros genes, ainda não

identificados, responsáveis pelo desenvolvimento de outros subtipos de diabetes tipo MODY, habitualmente referidos como MODY X. O MODY 2 e MODY 3 representam a grande maioria de casos de MODY na população europeia<sup>3</sup>.

Para efectuar o diagnóstico clínico de diabetes tipo MODY são necessárias três condições<sup>7,8</sup>: diagnóstico efectuado antes dos 25 anos de idade em, pelo menos, um membro da família; transmissão autossómica dominante com, pelo menos, três gerações atingidas; capacidade de atingir um bom controlo da diabetes sem recurso à insulino-terapia (e sem cetose) durante um período de dois anos ou apresentar níveis normais de peptídeo C. Para o diagnóstico definitivo é feito o estudo genético.

De seguida procede-se à descrição de dois casos de crianças com diabetes MODY tipo 2 seguidas em consulta de Pediatria no Centro Hospitalar do Alto Ave em Guimarães.

## DESCRIÇÃO DO CASO

### CASO 1

Apresenta-se o caso de uma criança de sete anos, sexo masculino, referenciada à consulta de Pediatria – Diabetes do Hospital de Guimarães aos quatro anos por apresentar hiperglicemia em jejum assintomática. Segundo filho de um casal jovem não consanguíneo. Antecedentes pessoais: gestação de risco por diabetes materna controlada com insulina; antropometria ao nascimento adequada à idade gestacional; sem intercorrências no período neonatal. Antecedentes familiares maternos e paternos de diabetes: incluindo a mãe com diabetes (desde a sua primeira gravidez aos 21 anos quando apresentou diabetes gestacional), avó materna, tia materna (diagnóstico aos 32 anos), avó paterno e duas tias paternas (figura 1). Sem alterações relevantes ao exame objectivo, nomeadamente sinais de insulinoresistên-

FIGURA 1: Árvore genealógica da criança do Caso 1. I 4 – Diagnóstico de diabetes mellitus aos 63 anos, medicada com antidiabéticos orais; II 4 – Diagnóstico de diabetes mellitus aos 21 anos durante a gestação, medicada com antidiabéticos orais; II 5 – Diagnóstico de diabetes mellitus aos 32 anos, sem necessidade de tratamento farmacológico; I 1, II 1 e II 2 – Indivíduos com diabetes mellitus tipo 2; III 2 – Diagnóstico de diabetes tipo MODY aos 4 anos.

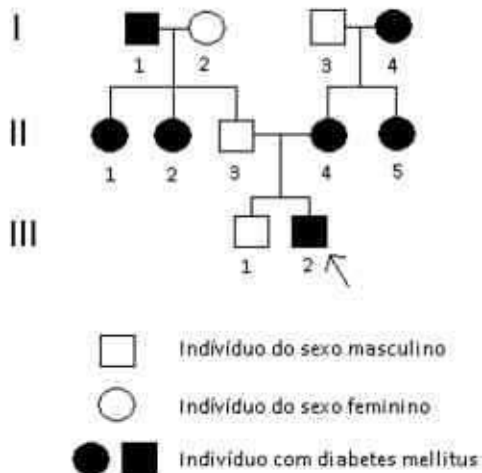
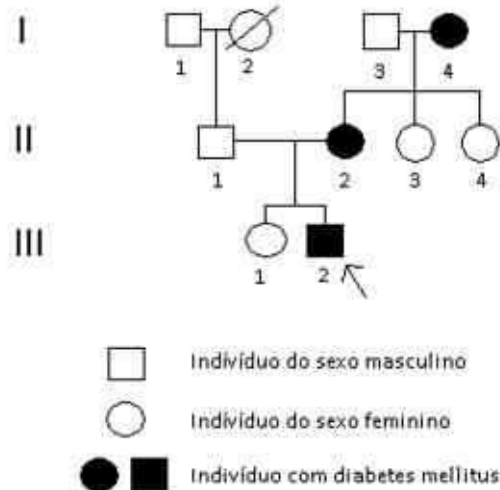


FIGURA 2: Árvore genealógica da criança do Caso 2. I 4 – Diagnóstico de diabetes mellitus aos 50 anos, sem necessidade de tratamento farmacológico; II 2 – Diagnóstico de diabetes mellitus aos 30 anos durante a gestação, medicada com antidiabéticos orais; III 2 – Diagnóstico de diabetes tipo MODY aos 9 anos.



cia. Apresenta índice de massa corporal (IMC) no percentil 50 e tensão arterial adequada à idade, sexo e altura.

Durante os 3 anos de seguimento, constataram-se valores de glicemia em jejum superiores a 126mg/dL, valores ocasionais ao longo do dia superiores a 140mg/dL e uma hemoglobina glicosilada (HbA1c) média de 6,0%. Marcadores de auto-imunidade (ICA, GAD) negativos. Peptídeo-C normal. Sem evidência de complicações microvasculares (nefropatia e retinopatia). O diagnóstico molecular, realizado em laboratório comercial (Centro de Genética Clínica, Porto, Portugal), confirmou MODY subtipo 2 – foi detectada a mutação c.616A>C (p.Thr206Pro) em heterozigotia no exão 6 do gene GCK. Até à data sem necessidade de intervenção farmacológica (no período de vigilância em consulta de 3 anos).

**CASO 2**

Apresenta-se o caso de uma criança de 11 anos, sexo masculino, referenciada à consulta de Pediatria – Diabetes do Hospital de Guimarães aos 9 anos por apresentar hiperglicemia em jejum assintomática.

Segundo filho de um casal jovem não consanguíneo. Antecedentes pessoais: gestação de risco por diabetes materna controlada com insulina; antropometria ao nascimento adequada à idade gestacional; sem intercorrências no período neonatal. Internamento aos 4 anos por pneumonia com hipoxemia. Antecedentes familiares maternos de diabetes: incluindo a mãe com diabetes (desde a sua primeira gravidez aos 30 anos quando apresentou diabetes gestacional) e avó materna também com diabetes (com o diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 sem necessidade de insulino-terapia). Sem alterações relevantes ao exame objectivo, nomeadamente sinais de insulino-resistência. Apresenta IMC no percentil 25 e tensão arterial adequada à idade, sexo e altura.

Durante os 16 meses de seguimento, constataram-se valores de glicemia em jejum entre 120 e 140mg/dL, valores ocasionais ao longo do dia entre 120 e 180mg/dL e uma HbA1c média de 6,2%. Marcadores de auto-imunidade (ICA, GAD) negativos. Peptídeo-C normal. Sem evidência de complicações microvasculares (nefropatia e retinopatia). O diagnóstico molecular, realizado em laboratório comercial (Novogenia,

Mondsee, Áustria), permitiu a detecção de uma mutação heterozigótica no gene GCK (exão e intrão 9 – c.1238\_1253+14delins GCCCCA), mutação que até à data ainda não tinha sido associada a MODY tipo 2. Até à data a criança mantém-se sem necessidade de intervenção farmacológica.

## COMENTÁRIO

A enzima glucocinase (GCK) actua como um sensor de glicose na célula beta pancreática e regula a secreção de insulina<sup>9</sup>. As mutações no gene que codificam a GCK podem resultar em hiper ou hipoglicemia. As mutações heterozigóticas inactivantes do gene GCK são a causa de MODY subtipo GCK. Existem mais de 620 mutações identificadas neste gene<sup>10</sup>. Não existem mutações comuns, estas ocorrem ao longo da distribuição de todo o gene.

No primeiro caso clínico, o estudo genético revelou uma mutação c.616A>C (p.Thr206Pro), em heterozigotia, no exão 6 do gene GCK. Esta mutação já foi descrita noutros doentes com subtipo MODY 2<sup>11</sup>. No segundo caso, o estudo genético revelou uma mutação do gene GCK (c.1238\_1253+14delinsGCCCCA), em heterozigotia, correspondendo a uma deleção de 30 nucleotídeos e a uma inserção de 7 nucleotídeos. Esta mutação específica não tinha sido descrita na literatura científica antes, no entanto uma mutação semelhante na mesma região foi associada previamente a diabetes tipo MODY (c.1238\_1253+8del)<sup>10</sup>.

O subtipo MODY 2 é caracterizado por hiperglicemias moderadas presentes desde o nascimento. Estes doentes geralmente são assintomáticos. A maioria dos doentes com MODY 2 consegue atingir um bom controlo metabólico somente com medidas gerais (mesmo que com baixa adesão à dieta recomendada e ao plano de exercício físico). Em alguns casos é necessário o uso de secretagogos em doses baixas. No entanto, convém

salientar que mulheres afectadas podem necessitar de terapêutica com insulina durante a gravidez para prevenir a macrosomia fetal<sup>12</sup>.

A história natural do MODY 2 não cursa com uma perda progressiva da capacidade secretora da célula beta. Daí que seja raro o aparecimento de complicações tardias da diabetes nomeadamente complicações microvasculares<sup>13</sup>.

A maioria das crianças com o diagnóstico de diabetes monogénica após realização de estudo molecular, foi inicialmente e incorrectamente classificada como tendo diabetes mellitus tipo 1 ou tipo 2. Muitos casos permanecem não diagnosticados ou incorrectamente diagnosticados<sup>14</sup>. Dever-se-à suspeitar de diabetes tipo MODY em doentes tidos como diabéticos tipo 2 com início da doença em idades precoces e pesada carga familiar ou em doentes classificados de diabéticos tipo 1 mas controlados com baixas doses diárias de insulina ou com níveis de péptido C normais.

É importante fazer o diagnóstico correcto de diabetes monogénica pois só assim é possível prever a evolução clínica e o prognóstico do doente. Além de permitir prever a probabilidade do desenvolvimento das complicações tardias da diabetes, a caracterização genética do subtipo de MODY em causa poderá ter implicações sobre o esquema terapêutico a adoptar e sobre o grau de exigência relativo ao controlo metabólico. Além disso, o diagnóstico molecular vai ser importante para outros membros da família. O estudo genético dos restantes familiares (diabéticos ou não) permite a identificação dos membros da família em que a mutação está presente. Nos familiares assintomáticos um maior incentivo à adopção de estilos de vida saudáveis pode ter implicações no atraso de desenvolvimento da doença.

É extremamente importante fazer o diagnóstico correcto de diabetes monogénica uma vez que só assim é possível prever a

evolução clínica do doente e dessa forma proporcionar o tratamento mais adequado. O diagnóstico molecular vai ter ainda implicações para outros membros da família e assim permitir o correcto aconselhamento genético.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ellard S, Bellanné-Chantelot C, Hattersley A. Best practice guidelines for the molecular genetic diagnosis of maturity-onset diabetes of the young. *Diabetologia*. 2008; 51 (4): 546-53.
2. Hwang JS, Shin CH, Yang SW, Jung SY, Huh N. Genetic and clinical characteristics of Korean maturity-onset diabetes of the young (MODY) patients. *Diabetes Res Clin Pract*. 2006; 74 (1): 75-81.
3. Nunes JS. A importância Clínica da Caracterização Genética da Diabetes Mellitus Tipo MODY (Maturity-Onset Diabetes of the young). *Revista Portuguesa de Diabetes*. 2007; 2: 28-32.
4. Velho G, Froguel P. Genetic, metabolic and clinical characteristics of maturity onset diabetes of the young. *Eur J Endocrinol*. 1998; 138 (3): 233-9.
5. 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): 971-80.
6. Byrne MM, Sturis J, Menzel S, et al. Altered insulin secretory responses to glucose in diabetic and nondiabetic subjects with mutations in the diabetes susceptibility gene MODY 3 on chromosome 12. *Diabetes*. 1996; 45 (11): 1503-10.
7. LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM, eds. Diabetes mellitus: a fundamental clinical text. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000: p. 691-705.
8. Hattersley AT. Diagnosis of maturity-onset diabetes of the young in the pediatric diabetes clinic. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2000; 13 (Suppl 6): 1411-7.
9. Agius L. Glucokinase and molecular aspects of liver glycogen metabolism. *Biochem J*. 2008; 414 (1): 1-18.
10. Osbak K, Colclough K, Martin C, et al. Update on Mutations in Glucokinase (GCK), Which cause Maturity-Onset Diabetes of the Young, Permanent Neonatal Diabetes, and Hyperinsulinemic Hypoglycemia. *Hum Mutat*. 2009; 30 (11): 1512-26.
11. Stern E, Strihan C, Potievsky O, et al. Four novel mutations, including the first gross deletion in TCF1, identified in HNF-4alpha, GCK and TCF1 in patients with MODY in Israel. *J Pediatr Endocrinol Metabol*. 2007; 20 (8): 909-21.
12. Feigerlová E, Pruhová S, Dittertová L, et al. Aetiological heterogeneity of asymptomatic hyperglycaemia in children and adolescents. *Eur J Pediatr*. 2006; 165 (7): 446-52.
13. Page RC, Hattersley AT, Levy JC, et al. Clinical characteristics of subjects with a missense mutation in Glucokinase. *Diabetic Med*. 1995; 12 (3): 209-17.
14. Shields BM, Hicks S, Shepherd MH, et al. Maturity-onset diabetes of the young (MODY): how many cases are we missing? *Diabetologia*. 2010; 53 (12): 2504-8.

# Hormona Anti-Mülleriana. Novo marcador de reserva ovárica?

## *Anti-Müllerian Hormone. A new ovarian reserve marker?*

Selma B. Souto<sup>1,2</sup>, Sónia Sousa<sup>3</sup>, Sandra Soares<sup>3</sup>, Ana Margarida Póvoa<sup>3</sup>, Lucinda Calejo<sup>3</sup>, Pedro Xavier<sup>3</sup>, Daniel Carvalho-Braga<sup>1,2</sup>, Davide Carvalho<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Centro Hospitalar São João, E.P.E.

<sup>2</sup> Faculdade de Medicina, Universidade do Porto

<sup>3</sup> Unidade de Medicina da Reprodução, Serviço de Ginecologia e Obstetrícia, Centro Hospitalar São João, E.P.E.

**Correspondência:** Selma B. Souto › Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo › Centro Hospitalar de São João, Alameda Professor Hernâni Monteiro › 4200-319 PORTO › sbsouto.md@gmail.com

### RESUMO

A hormona anti-Mülleriana (HAM) é uma glicoproteína dimérica, produzida exclusivamente nas gónadas e envolvida na regulação do crescimento e desenvolvimento folicular. No ovário, é produzida pelas células da camada granulosa dos folículos primários e parece ser capaz de inibir o início do crescimento dos folículos primordiais e o crescimento dos folículos dependentes da FSH. O seu nível sérico representa a quantidade e a qualidade da reserva ovárica. Comparativamente com os outros testes de reserva ovárica, parece ser o melhor marcador que reflecte o declínio da idade reprodutiva. Pode ser útil para prever a resposta ovárica e possivelmente o prognóstico dos ciclos de fertilização *in vitro* (FIV). A HAM parece ser igualmente um bom marcador na síndrome de ovário poliquístico (SOP). Tem sido ainda usada como marcador nos tumores das células da granulosa. A compreensão clara do papel da HAM na fisiologia ovárica pode ajudar na descoberta da sua importância no âmbito da medicina reprodutiva.

### PALAVRAS-CHAVE

Hormona anti-Mulleriana; reserva ovárica.

### ABSTRACT

*Anti-Müllerian hormone is a dimeric glycoprotein, exclusively produced in the gonads and involved in the regulation of follicular growth and development. In the ovary AHM is produced by granulosa cells of early developing follicles and seems to be able to inhibit the initiation of primordial follicle growth and FSH-induced follicle growth. Serum levels of AMH may represent both the quantity and quality of the ovarian follicle pool. Compared to other ovarian tests, AMH seems to be best marker reflecting the decline of reproductive age. It could also be used to predict the ovarian response and possibly the prognosis of in vitro fertilization cycles. AHM has been shown to be a good surrogate marker for polycystic ovary syndrome. Finally, its use as a marker for granulosa cell tumours has been proposed. A clearer understanding of its role in ovarian physiology may help clinicians to find a role for AMH measurement in the field of reproductive medicine.*

### KEYWORDS

*Anti-Müllerian hormone; Ovarian reserve.*

## INTRODUÇÃO

Perante o adiamento da maternidade pela mulher contemporânea e o cada vez mais frequente recurso a técnicas de procriação medicamente assistida (PMA), a avaliação da reserva ovárica funcional surge como uma tentativa de melhor aconselhar os casais e nortear os protocolos de estimulação ovárica.

A avaliação da reserva ovárica pode ser efetuada através de doseamentos hormonais, na fase folicular do ciclo menstrual, nomeadamente da FSH, da inibina B e do estradiol, e pela contagem dos folículos antrais (CFA) e avaliação do volume dos ovários por ecografia endovaginal<sup>1</sup>.

Desde a década de 80 que o doseamento da FSH na fase folicular é usado como um marcador da reserva ovárica<sup>1</sup>. A persistência elevada de níveis de FSH sugere diminuição da reserva ovárica. Porém, algumas mulheres apresentam elevações transitórias da FSH que não estão relacionadas com a reserva dos folículos primordiais<sup>2</sup>. O facto de a FSH apresentar uma secreção pulsátil e com ritmo circadiano, em associação com a presença de flutuações das isoformas da FSH, pode causar variações no seu doseamento laboratorial.

Relativamente ao doseamento do estradiol na fase folicular do ciclo menstrual, a presença de níveis séricos muito elevados, superiores a 75 pg/mL tem sido associada a fraca resposta nas técnicas de FIV.<sup>3</sup>

No que respeita à inibina B, a presença de níveis séricos inferiores a 45 pg/mL está associada a má resposta à estimulação com gonadotrofinas, a um número elevado de ciclos de FIV cancelados e a obtenção de um número reduzido de ovócitos<sup>4</sup>. O seu nível sérico varia durante o ciclo menstrual, diminui com a idade e na falência ovárica prematura (FOP).

Em relação aos marcadores ecográficos de reserva ovárica (i.e. o volume ovárico e a CFA), têm a vantagem de serem métodos não invasivos, porém muito dependentes da

experiência do observador<sup>5,6</sup>. O número de folículos antrais e o volume ovárico diminuem com a idade<sup>7</sup>.

Neste artigo, os autores discutem os avanços mais recentes do papel da HAM como marcador da reserva e de disfunção ovárica.

## HORMONA ANTI-MÜLLERIANA

A HAM, também designada de substância inibidora anti-Mülleriana, é uma glicoproteína dimérica com peso molecular de 140 kDa e membro da família do TGFb (*transforming growth factor b*)<sup>8</sup>. O gene que a codifica localiza-se no cromossoma 19p13.3.<sup>9</sup>

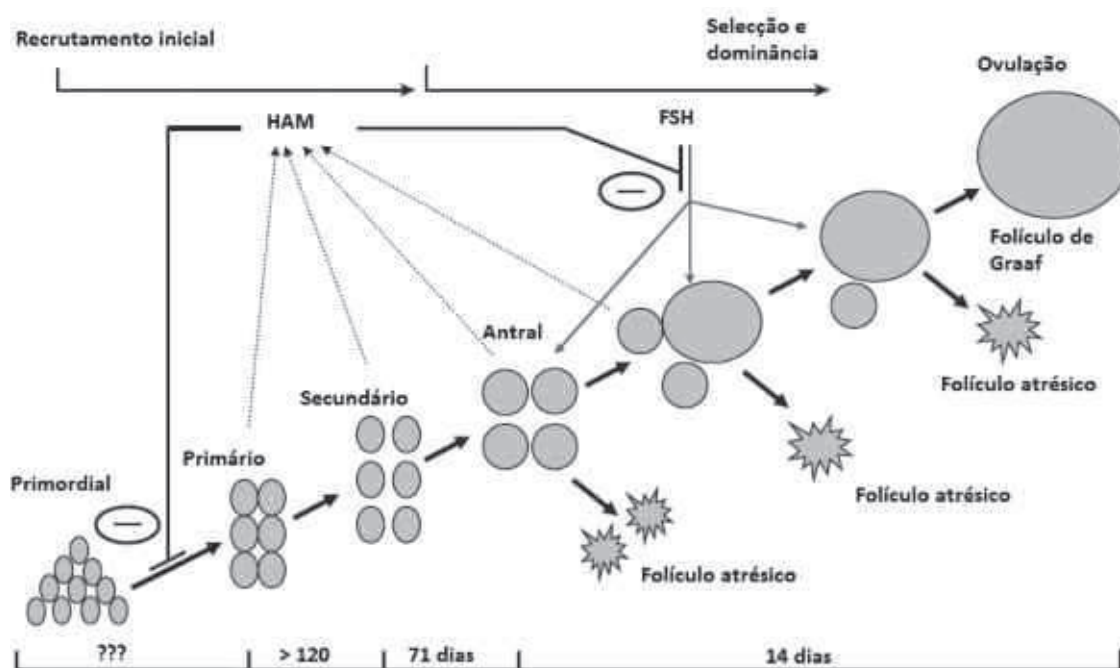
O seu papel na diferenciação sexual está amplamente estudado<sup>10,11</sup>. No sexo masculino, a hormona é produzida pelas células de *Sertoli* durante a diferenciação testicular induzindo a regressão dos ductos de *Müller*, permitindo que os ductos de *Wolf* formem o epidídimo, os canais deferentes e as vesículas seminais<sup>10</sup>. No feto do sexo feminino a HAM pode ser detectada às 36 semanas de gestação<sup>11</sup>, e a sua ausência nos estádios iniciais do desenvolvimento fetal, permite o desenvolvimento de útero, das trompas de Falópio e dos dois terços superiores da vagina a partir dos ductos de *Müller*<sup>12</sup>.

Estão comercializados dois imunoenaios para doseamento da HAM, o *Beckmann Coulter ELISA* e o *DSL ELISA*, com limites de detecção de 0,1 e 0,017 ng/mL (1 ng/mL = 7,14 pmol/L), respetivamente<sup>13</sup>. Os resultados obtidos com estes dois imunoenaios nem sempre são concordantes, sendo os resultados do *Beckmann Coulter* cerca de 3 a 4 vezes mais elevados que os doseamentos do *DSL*.

## PAPEL NA FOLÍCULOGENESE

A partir da puberdade, um pequeno grupo de folículos primordiais inicia diaria-



FIGURA 1: Função intra-ovárica da hormona anti-Mülleriana. Adaptado de Broer e colaboradores<sup>14</sup>.

HAM – hormona anti-Mulleriana; FSH – follicle-stimulating hormone.

mente o processo de recrutamento e maturação folicular, levando ao crescimento de folículos antrais para posterior seleção do folículo dominante (folículo de Graaf) destinado à ovulação (Figura 1)<sup>14</sup>.

A HAM está ausente nos folículos primordiais sendo apenas detectável nas células da granulosa dos folículos primários após o início da maturação folicular<sup>14</sup>. A sua expressão é máxima nas células da granulosa dos folículos pré-antrais e pequenos folículos antrais, até 6 mm de diâmetro. Alguns estudos demonstraram que nos estádios de folículos antrais maiores ( $\geq 7$  mm de diâmetro), quando o crescimento folicular é FSH dependente, a expressão da HAM torna-se indetetável<sup>15,16</sup>. Também não é detetada nos folículos atrésicos e nas células da camada teca<sup>17</sup>.

O padrão de expressão da HAM, dos folículos antrais primários até ao estádio de folículos antrais dependentes da FSH, suporta os achados de que a HAM tem um papel inibitório em duas fases da foliculogénese (figura 1). A primeira fase, corresponde à transição de folículos primordiais para o início da maturação folicular, regulando desta forma o número de folículos que per-

manece no estádio primordial<sup>18</sup> e a segunda fase, diz respeito ao efeito inibitório da sensibilidade folicular à FSH, regulando o processo de selecção folicular.

## UTILIDADE CLÍNICA

Dado que a HAM está relacionada com o recrutamento inicial de folículos levando ao desenvolvimento dos folículos primários e do folículo dominante, o seu nível sérico pode fornecer informações importantes nos casos de anomalias da função ovárica (p.e. FOP, SOP). A alteração no seu nível sérico antecede as alterações dos outros marcadores de reserva ovárica como a inibina B e o estradiol<sup>19</sup>.

Na mulher, o nível sérico de HAM é máximo na puberdade, diminuindo posteriormente de forma progressiva até à menopausa, tornando-se indetetável<sup>20-22</sup>. Níveis séricos inferiores a 0,086  $\mu\text{g/L}$  (Diagnostic Systems Laboratories) sugerem menopausa<sup>21</sup>. Alguns estudos demonstraram que o nível sérico de HAM é independente da fase do ciclo menstrual<sup>23-25</sup>, podendo no entanto ocorrer ligeiras variações, especialmente

nas mulheres com valores muito elevados de HAM<sup>26</sup>. O seu doseamento não é influenciado pela contracepção hormonal<sup>27</sup>, pelos agonistas GnRH<sup>28</sup> e pela gravidez<sup>29</sup>.

Alguns estudos efectuados em mulheres com SOP revelaram utilidade no doseamento da HAM. Na SOP, a morfologia ovárica poliquística é bem caracterizada pelo aumento do número de pequenos folículos antrais, revelando um recrutamento folicular inicial elevado, porém com maturação atrasada apesar de concentrações normais de FSH<sup>13</sup>. Vários estudos demonstraram que a HAM é 2 a 3 vezes mais elevada no SOP<sup>30,31</sup>, o que representa um aumento da produção de HAM pelos folículos pré-antrais e pequenos folículos antrais. Além disso, os níveis de HAM estão associados ao número de folículos avaliados por ecografia transvaginal. Estes dados sugerem que o doseamento de HAM nas mulheres com hiperandrogenismo e/ou oligo-anovulação pode indicar a presença de SOP quando a ecografia não está disponível<sup>32</sup>. Foi ainda sugerido que o grau de elevação da HAM nas obesas com SOP, seria um marcador da probabilidade de normalização do ciclo menstrual após perda de peso<sup>33</sup>. Outro estudo demonstrou a diminuição da HAM e da CFA em mulheres com SOP medicadas com metformina<sup>34</sup>.

Também foram observados níveis elevados de HAM na fase pré-púbere das filhas de mulheres com SOP e nas adolescentes com SOP com ciclos menstruais regulares, o que indica que as alterações do desenvolvimento folicular já estão presentes durante a infância antes da instalação de um fenótipo clínico de disfunção ovárica<sup>35</sup>. Outros estudos demonstram que a diminuição dos níveis de HAM ao longo dos anos é menos pronunciada nas mulheres com SOP, sugerindo que a falência ovárica e a menopausa ocorrem mais tarde nestas mulheres<sup>34</sup>.

O doseamento da HAM também tem revelado utilidade na avaliação da reserva ovárica das mulheres submetidas a quimio-

terapia e a radioterapia<sup>36</sup>. Nestes casos, a reserva ovárica diminui, o que é demonstrado pela elevação da FSH e redução da HAM<sup>37</sup>, mesmo antes de ocorrerem alterações nos níveis de inibina B e de estradiol<sup>38</sup>.

Outro estudo sugeriu que a HAM possa ser usada como um marcador tumoral nos casos de tumores da camada granulosa (TCG)<sup>39</sup>, pelo facto de ser expressa apenas nas células da camada granulosa do ovário. Foi demonstrada elevação do nível sérico da HAM nas mulheres com TCG em 76 a 93% dos casos.

Alguns estudos efectuados na avaliação de mulheres com amenorreia revelaram utilidade clínica no doseamento de HAM. Verifica-se que nas mulheres com hipogonadismo hipogonadotrófico, por amenorreia hipotalâmica funcional, os níveis de HAM são normais, revelando normal recrutamento folicular<sup>40</sup>. Nos casos de hipogonadismo hiperandrotóxico, por FOP, a HAM é indetectável em 83% das mulheres, e tem um nível sérico muito baixo em 17% dos casos.

A HAM pode ainda ser útil na avaliação da reserva ovárica nas mulheres que vão efectuar técnicas de PMA. Nos dias de hoje, com o aumento da média de idade da primeira gravidez, torna-se útil um teste que avalie a "fertilidade feminina potencial". Vários estudos demonstraram uma correlação fortemente positiva entre a CFA e o tamanho dos folículos primordiais com o nível sérico de HAM<sup>1,41-43</sup>. Outros investigadores demonstraram uma forte correlação entre o nível de HAM e o número de ovócitos obtidos<sup>6,44,45</sup>. Um estudo retrospectivo com 109 mulheres submetidas a FIV demonstrou que níveis séricos de HAM < 1,1 ng/mL estavam associados a insucesso da FIV<sup>46</sup>, sendo que estes dados foram confirmados num outro estudo, prospectivo, com 238 mulheres<sup>47</sup>.

Alguns dados sugerem ainda que a HAM possa ser utilizada, antes do início da estimulação ovárica, como um meio predi-

tivo do risco de síndrome de hiperestimulação ovárica e desta forma permitir nortear os protocolos de estimulação ovárica<sup>48, 49</sup>.

No futuro, com os avanços na área da biotecnologia e a possibilidade do desenvolvimento de HAM exógena, torna-se promissor a sua aplicação na medicina reprodutiva. A administração de doses supra-fisiológicas de HAM recombinante, poderia suspender o recrutamento folicular inicial, criando uma forma de contraceção alternativa, adiando o envelhecimento ovárico e a menopausa<sup>13</sup>.

## CONCLUSÕES

Na literatura científica, encontram-se disponíveis várias publicações contribuindo para uma melhor compreensão do papel da HAM na função do ovário. A sua independência da fase do ciclo menstrual, a relação com a CFA e com a idade reprodutiva da mulher faz desta hormona um excelente marcador de avaliação da reserva ovárica funcional. O seu doseamento pode ser útil na prevenção da síndrome de hiperestimulação ovárica nas técnicas de PMA. À semelhança de outros testes de reserva ovárica, tais como a CFA e a FSH, a HAM não é um bom preditor de gravidez.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Domingues, T.S., A.M. Rocha, and P.C. Serafini, *Tests for ovarian reserve: reliability and utility*. *Curr Opin Obstet Gynecol*. **22**(4): p. 271-6.
- de Koning, C.H., et al., *The endocrine and follicular growth dynamics throughout the menstrual cycle in women with consistently or variably elevated early follicular phase FSH compared with controls*. *Hum Reprod*, 2008. **23**(6): p. 1416-23.
- Roberts, J.E., et al., *Taking a basal follicle-stimulating hormone history is essential before initiating in vitro fertilization*. *Fertil Steril*, 2005. **83**(1): p. 37-41.
- Seifer, D.B., et al., *Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome*. *Fertil Steril*, 1997. **67**(1): p. 110-4.
- Kwee, J., et al., *Ovarian volume and antral follicle count for the prediction of low and hyper responders with in vitro fertilization*. *Reprod Biol Endocrinol*, 2007. **5**: p. 9.
- Jayaprakasan, K., et al., *A prospective, comparative analysis of anti-Mullerian hormone, inhibin-B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation*. *Fertil Steril*. **93**(3): p. 855-64.
- Hendriks, D.J., et al., *Ultrasonography as a tool for the prediction of outcome in IVF patients: a comparative meta-analysis of ovarian volume and antral follicle count*. *Fertil Steril*, 2007. **87**(4): p. 764-75.
- Cate, R.L., et al., *Isolation of the bovine and human genes for Mullerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells*. *Cell*, 1986. **45**(5): p. 685-98.
- Cohen-Haguenauer, O., et al., *Mapping of the gene for anti-mullerian hormone to the short arm of human chromosome 19*. *Cytogenet Cell Genet*, 1987. **44**(1): p. 2-6.
- Josso, N., et al., *Anti-mullerian hormone: the Jost factor*. *Recent Prog Horm Res*, 1993. **48**: p. 1-59.
- Rajpert-De Meyts, E., et al., *Expression of anti-Mullerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999. **84**(10): p. 3836-44.
- Lee, M.M. and P.K. Donahoe, *Mullerian inhibiting substance: a gonadal hormone with multiple functions*. *Endocr Rev*, 1993. **14**(2): p. 152-64.
- Broekmans, F.J., et al., *Anti-Mullerian hormone and ovarian dysfunction*. *Trends Endocrinol Metab*, 2008. **19**(9): p. 340-7.
- Broer, S.L., et al., *The role of anti-Mullerian hormone assessment in assisted reproductive technology outcome*. *Curr Opin Obstet Gynecol*. **22**(3): p. 193-201.
- Durlinger, A.L., J.A. Visser, and A.P. Themmen, *Regulation of ovarian function: the role of anti-Mullerian hormone*. *Reproduction*, 2002. **124**(5): p. 601-9.
- Durlinger, A.L., et al., *Anti-Mullerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary*. *Endocrinology*, 2001. **142**(11): p. 4891-9.

17. Ueno, S., et al., *Mullerian inhibiting substance in the adult rat ovary during various stages of the estrous cycle*. *Endocrinology*, 1989. **125**(2): p. 1060-6.
18. Visser, J.A. and A.P. Themmen, *Anti-Mullerian hormone and folliculogenesis*. *Mol Cell Endocrinol*, 2005. **234**(1-2): p. 81-6.
19. Hale, G.E., et al., *Endocrine features of menstrual cycles in middle and late reproductive age and the menopausal transition classified according to the Staging of Reproductive Aging Workshop (STRAW) staging system*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007. **92**(8): p. 3060-7.
20. Sowers, M.R., et al., *Anti-mullerian hormone and inhibin B in the definition of ovarian aging and the menopause transition*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008. **93**(9): p. 3478-83.
21. van Disseldorp, J., et al., *Relationship of serum antimullerian hormone concentration to age at menopause*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008. **93**(6): p. 2129-34.
22. van Rooij, I.A., et al., *Anti-mullerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition*. *Menopause*, 2004. **11**(6 Pt 1): p. 601-6.
23. Hehenkamp, W.J., et al., *Anti-Mullerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006. **91**(10): p. 4057-63.
24. Tsepelidis, S., et al., *Stable serum levels of anti-Mullerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women*. *Hum Reprod*, 2007. **22**(7): p. 1837-40.
25. La Marca, A., et al., *Serum anti-Mullerian hormone throughout the human menstrual cycle*. *Hum Reprod*, 2006. **21**(12): p. 3103-7.
26. Sowers, M., et al., *Anti-Mullerian hormone and inhibin B variability during normal menstrual cycles*. *Fertil Steril*. **94**(4): p. 1482-6.
27. Arbo, E., et al., *Serum anti-mullerian hormone levels and follicular cohort characteristics after pituitary suppression in the late luteal phase with oral contraceptive pills*. *Hum Reprod*, 2007. **22**(12): p. 3192-6.
28. Mohamed, K.A., W.A. Davies, and H. Lashen, *Antimullerian hormone and pituitary gland activity after prolonged down-regulation with goserelin acetate*. *Fertil Steril*, 2006. **86**(5): p. 1515-7.
29. La Marca, A., et al., *Anti-Mullerian hormone concentrations in maternal serum during pregnancy*. *Hum Reprod*, 2005. **20**(6): p. 1569-72.
30. Pigny, P., et al., *Elevated serum level of anti-mullerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003. **88**(12): p. 5957-62.
31. Laven, J.S., et al., *Anti-Mullerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. **89**(1): p. 318-23.
32. Pigny, P., et al., *Serum anti-Mullerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006. **91**(3): p. 941-5.
33. Moran, L.J., et al., *The use of anti-mullerian hormone in predicting menstrual response after weight loss in overweight women with polycystic ovary syndrome*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007. **92**(10): p. 3796-802.
34. Piltonen, T., et al., *Serum anti-Mullerian hormone levels remain high until late reproductive age and decrease during metformin therapy in women with polycystic ovary syndrome*. *Hum Reprod*, 2005. **20**(7): p. 1820-6.
35. Sir-Petermann, T., et al., *Early metabolic derangements in daughters of women with polycystic ovary syndrome*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007. **92**(12): p. 4637-42.
36. Lutchman Singh, K., et al., *Predictors of ovarian reserve in young women with breast cancer*. *Br J Cancer*, 2007. **96**(12): p. 1808-16.
37. Bath, L.E., et al., *Depletion of ovarian reserve in young women after treatment for cancer in childhood: detection by anti-Mullerian hormone, inhibin B and ovarian ultrasound*. *Hum Reprod*, 2003. **18**(11): p. 2368-74.
38. Anderson, R.A., et al., *The effects of chemotherapy and long-term gonadotrophin suppression on the ovarian reserve in premenopausal women with breast cancer*. *Hum Reprod*, 2006. **21**(10): p. 2583-92.
39. La Marca, A. and A. Volpe, *Anti-Mullerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool?* *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2006. **64**(6): p. 603-10.
40. La Marca, A., et al., *Serum anti-mullerian hormone levels in women with secondary amenorrhea*. *Fertil Steril*, 2006. **85**(5): p. 1547-9.
41. van Disseldorp, J., et al., *Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Mullerian hormone and antral follicle counts*. *Hum Reprod*. **25**(1): p. 221-7.

42. van Rooij, I.A., et al., *Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve*. Hum Reprod, 2002. **17**(12): p. 3065-71.
43. de Vet, A., et al., *Antimullerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging*. Fertil Steril, 2002. **77**(2): p. 357-62.
44. Nelson, S.M., R.W. Yates, and R. Fleming, *Serum anti-Mullerian hormone and FSH: prediction of live birth and extremes of response in stimulated cycles--implications for individualization of therapy*. Hum Reprod, 2007. **22**(9): p. 2414-21.
45. Wunder, D.M., et al., *Anti-Mullerian hormone and inhibin B as predictors of pregnancy after treatment by in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection*. Fertil Steril, 2008. **90**(6): p. 2203-10.
46. Hazout, A., et al., *Serum antimullerian hormone/mullerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B, or estradiol*. Fertil Steril, 2004. **82**(5): p. 1323-9.
47. Tremellen, K.P., et al., *Anti-mullerian hormone as a marker of ovarian reserve*. Aust N Z J Obstet Gynaecol, 2005. **45**(1): p. 20-4.
48. Lee, T.H., et al., *Serum anti-Mullerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles*. Hum Reprod, 2008. **23**(1): p. 160-7.
49. Nakhuda, G.S., et al., *Elevated serum mullerian-inhibiting substance may be a marker for ovarian hyperstimulation syndrome in normal women undergoing in vitro fertilization*. Fertil Steril, 2006. **85**(5): p. 1541-3.

# *The Relevance of Prandial State for Peripheral Insulin-Dependent Glucose Uptake*

## A Relevância do Estado Prandial para o Aporte Periférico de Glucose por via Insulinodependente

Ricardo A. Afonso, PhD<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> CEDOC, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa

<sup>2</sup> Departamento de Ciências Biomédicas e Medicina, Universidade do Algarve

**Correspondência:** Ricardo A. Afonso › Área de Ensino e Investigação em Ciências Funcionais e Alvos Terapêuticos (Departamento de Fisiologia) › Faculdade de Ciências Médicas › Universidade Nova de Lisboa › Campo Mártires da Pátria, 130, 1169-056 LISBOA › ricardo.afonso@fcm.unl.pt

### RESUMO

A acção da insulina é um processo essencial para o metabolismo glicídico e para a homeostase da glucose em particular.

Recentemente, tem sido reconhecido um papel preponderante do estado nutricional para a acção da insulina, sendo dada uma relevância cada vez maior aos estudos realizados no estado pós-prandial, em detrimento do estado de jejum. De facto, se por um lado o pâncreas é essencial para a secreção de insulina, por outro lado, o fígado parece ser importante na acção periférica (extra-hepática) da insulina, através de uma via que apenas está activa após a refeição e que, quando alterada, induz ou agrava a condição de insulinorresistência. Tal é compatível com as recentes observações de que as anomalias metabólicas que ocorrem numa fase de pré-diabetes são primeiramente evidentes no estado pós-prandial.

Na presente revisão irão abordar-se os principais mecanismos de acção hipoglicemiante da insulina numa perspectiva do organismo (*whole-body*), dando particular ênfase às diferenças entre a acção da insulina no estado de jejum e no pós-prandial. Em particular, discutir-se-á como diferentes tipos de refeição afectam a sensibilidade à insulina pós-prandial e qual a relevância do mecanismo dependente da substância hepática sensibilizadora da insulina (HISS) na acção da insulina.

As abordagens no tratamento da insulinorresistência têm-se centrado quase exclusivamente na insulina, tendo por base estudos realizados numa situação de estado estacionário (jejum). Espera-se que a presente revisão permita servir de ponto de partida para novas abordagens e terapêuticas para reversão da condição de insulinorresistência.

### PALAVRAS-CHAVE

Insulina; Acção da insulina; Via de transdução de sinal da insulina; Estado prandial; Substância hepática sensibilizadora da insulina (HISS).

### ABSTRACT

*Insulin action is an essential process for carbohydrates metabolism and for glucose homeostasis in particular. Recently, it has been recognized the vital importance of the nutritional state for insulin action, being given a higher relevance to the postprandial state in comparison with the fasted state.*

*In fact, if the pancreas is essential for insulin secretion on one hand, on the other it has been also described an hepatic pathway that contributes to increase peripheral (extra-hepatic) insulin action following a meal. Impairment of this hepatic pathway leads to or aggravates insulin resistance, which is in accordance with those reports claiming that the metabolic anomalies observed in the course towards diabetes are first seen in the postprandial state.*

*In this review it will be provided a brief overview of the major mechanisms of insulin hypoglycemic action in a whole-body perspective, giving particular emphasis to the differences in insulin action between fasted and postprandial states. In particular, it will be discussed how different meal compositions affect postprandial insulin sensitivity and what is the relevance of the hepatic insulin sensitizing substance (HISS)-dependent mechanism for insulin action.*

*Until now, approaches to the treatment of insulin resistance have been focused almost exclusively on insulin, being based on studies performed in a steady-state (fasted state). It is expected that the present review may serve as a starting point for new approaches and therapeutics for reversion of insulin resistance conditions.*

#### KEYWORDS

*Insulin; Insulin action; Prandial state; Hepatic insulin sensitizing substance (HISS).*

## INTRODUCTION

Insulin action was discussed in the previous review from a molecular and cellular perspective, supported in information obtained mainly from *in vitro* studies. However, insulin action, in particular its hypoglycemic action, can be studied at the level of tissues, organs and whole-body (*ex vivo* and *in vivo* studies). Insulin role in glucose uptake has been studied in all sorts of systems, such as tissues<sup>1</sup> or isolated organs maintained under perfusion<sup>2</sup>.

It is unquestionable that the most objective way of performing these studies is *in vivo*, despite of a higher degree of complexity. Several methodologies are described to assess insulin sensitivity *in vivo*, both in animals and humans. For a review of the methodologies available to assess insulin sensitivity, consult additional publications<sup>3-6</sup>.

Insulin hypoglycemic action involves glucose distribution from the blood circulation to tissues/cells. It is reasonable to assume that this insulin-dependent glucose uptake by the tissues is more relevant when the glycemia rises, which, under physiological conditions,

occurs after a meal (*e.g.*). Thus, the essential role played by insulin in glucose homeostasis is particularly important in the postprandial state, not only because it has an inhibitory action upon hepatic glucose production and output, but mainly because it stimulates glucose uptake by peripheral tissues, namely skeletal muscle and adipose tissue. Indeed, it is now assumed that reducing post-meal glucose excursions is rather difficult, although extremely important in people with diabetes and impaired glucose tolerance<sup>7-10</sup>.

#### IMPORTANCE OF THE PRANDIAL STATE FOR HYPOGLYCEMIC ACTION OF INSULIN

Until recently, most diagnostics were dependent essentially on fasting plasma levels of glucose and/or insulin. However, a better understanding of the pathophysiology behind diabetes lead us to the observation that type 2 diabetes is characterized by a decline in insulin secretion, essentially in response to nutrient ingestion<sup>11</sup>. In fact, the major complications related with insulin resistance are primarily observed in the

postprandial state<sup>9,12-15</sup>, which reflects a higher need for insulin action. Thus, the traditional focus on the fasted state is inconsistent with recent data, which indicates that the metabolic defect in the pre-diabetic condition relates more strongly to postprandial deficiency than to the fasting state<sup>12,16</sup>.

It is estimated that 54 to 67% of the people with reduced glucose tolerance present a normal fasting glycemia<sup>16</sup>. Furthermore, a meta-analysis of 20 European studies revealed that about 31 % of the people that were diagnosed with diabetes using the postprandial glycemia had also normal fasting glycemia<sup>16</sup>, suggesting a clear difference in the regulation of glucose homeostasis before and after a meal. On the other hand, fasting insulinemia, which has also been used as a surrogate for insulin resistance, bears a nonlinear relationship to insulin action directly measured<sup>17</sup> and its applicability also seems to fail when there is even subtle  $\beta$ -cell failure<sup>18</sup>.

The awareness of the importance of postprandial insulin action and glucose homeostasis has led to recent guidelines issued by the International Diabetes Federation (IDF), aiming to control postprandial blood glucose levels<sup>7</sup>.

In the past decade, several studies have highlighted the importance of postprandial insulin action. It has been observed that under physiological conditions insulin action is significantly higher in the postprandial than in the fasted state<sup>11,19-21</sup>. Indeed, although there is no consensus about which nutrients or types of meal are the most effective in producing the increment in insulin action, the majority of the studies that compare insulin sensitivity before and after a meal suggest that insulin action is higher in the postprandial state<sup>11</sup>. Animal experiments have demonstrated that insulin action increases following a meal, when this meal was provided *ad libitum*, *i.e.*, without restriction<sup>19,20,22</sup>, when it was delivered endogastrically by gavage<sup>19</sup> or when it was given

intra-gastrically via a surgically-placed gastric catheter<sup>21</sup>. Additionally, experiments performed by our group suggested that for the meal-induced insulin sensitization to occur, the meal must reach the intestine (Afonso and Macedo, unpublished observations).

Recently, this same meal-effect on insulin sensitivity was also shown in humans<sup>23</sup>. In healthy individuals, with a body mass index (BMI) of  $23.3 \pm 0.8$  kg/m<sup>2</sup>, insulin sensitivity was assessed before (24 h fasting) and after ingestion of a standard test meal; it was observed that insulin sensitivity in the postprandial state was about 3 times higher than that in the fasted state<sup>23</sup>. When the same protocol was applied to individuals with excess weight (BMI of  $27.7 \pm 0.4$  kg/m<sup>2</sup>), a condition usually associated with the decrease of insulin sensitivity, insulin action in the fasted state was similar to that observed in normal-weight individuals; however, the excess-weight individuals presented a significant impairment of the postprandial insulin sensitivity (Patarrão and Macedo, unpublished observations).

These data, both animal and human, suggest that early stages of insulin resistance may already exist, but can only be detected in the postprandial state. Thus, from a clinical point of view, it becomes particularly relevant to assess insulin action in the postprandial state, since it is when the first manifestations of insulin resistance seem to occur, still in a pre-diabetic and asymptomatic stage.

#### THE RELEVANCE OF MEAL COMPOSITION FOR POSTPRANDIAL INSULIN ACTION

Mixed-meals, composed by proteins, lipids and carbohydrates, were used in the experiments described in the previous section. Further evaluation of the impact of meal composition on insulin action revealed that meals composed by carbohy-



drates only (glucose or sucrose) do not induce an increase in insulin action from fasted to fed state<sup>21</sup>.

Indeed, unlike mixed-meals, glucose and sucrose are clearly incapable of producing the prandial signal that leads to potentiation of insulin action after a meal<sup>21</sup>. Therefore, neither glucose nor sucrose seems to be adequate to mimic the postprandial condition.

This is very important from a clinical point of view, since it suggests that studies of insulin action using glucose test meals, such as the oral glucose tolerance test (OGTT), are not the most appropriate to evaluate insulin action in the postprandial state, unlike tolerance tests that use mixed-meals, *i.e.*, meal-tolerance tests (MTT). According to other authors, the mixed-meal-based tests (MTT) provide higher insulin sensitivity indexes than the OGTT or the hyperglycemic clamp<sup>24</sup>. Probably due to this, the use of mixed-meals allow greater capacity to simultaneously detect differences in both glycemic and insulinemic profiles than OGTT, in particular in insulin resistant models<sup>25</sup>.

#### ROLE OF THE AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM IN GLUCOSE HOMEOSTASIS

Autonomic nervous system is the major mediator of physiological responses to both internal and external stimuli.

Autonomic nervous system can be divided in sympathetic (SNS) and parasympathetic nervous system (PNS), both of which enervate the GI tract. PNS and SNS usually act in a reciprocal way, *i.e.*, the increase in activity of one of them is accompanied or induces a decreased activity of the other<sup>26</sup>. However, although the reciprocity between sympathetic and parasympathetic nervous systems is the general rule, there are some exceptions, in certain physiological conditions; *e.g.*, in hypoglycemic conditions, activation of both sympathetic and parasympa-

thetic induces the release of glucagon by  $\alpha$ -pancreatic cells<sup>26</sup>.

Generally speaking, regulation of glycemia and glucose homeostasis, one can consider that SNS and PNS have antagonistic effects: usually, the PNS acts towards facilitation of peripheral glucose uptake, whereas the SNS leads to a rise in glycemia, through reduction of glucose uptake and increase of hepatic glucose production.

SNS contribution for regulation of glycemia and peripheral glucose distribution is done, for instance, by control of the vascular tone, which regulates blood flow to a particular system or tissue, but mostly through its hepatic effects. Indeed, under stress and/or hypoglycemic conditions, SNS activation leads to stimulation of both glycogenolysis and gluconeogenesis, therefore increasing glucose efflux from the liver into the circulation. Gardemann and Jungermann (1986) determined that the neural-induced increase in glucose output from the liver is due to SNS rather than PNS activity, since they observed that hepatic neuronal stimulation, after  $\alpha$ - and  $\beta$ -adrenergic blockade, did not induce hepatic glucose output<sup>27</sup>. Nevertheless, others claim that stimulation of hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis by SNS activation have a small contribution to the hepatic response to hypoglycemia, as long as the hormonal regulatory systems remain intact<sup>28</sup>. Thus, regulation of the endogenous glucose production seems to be mediated essentially by modulation of insulin (decrease) and glucagon (increase) secretion, and by the SNS<sup>27</sup>.

Activation of the PNS (vagal) occurs during ingestion of a meal<sup>26,29</sup>. The vagus nerve innervates almost all organs involved in digestion, absorption and metabolism of nutrients. Therefore, it profoundly influences the metabolic processing of food<sup>26</sup>. Several authors have observed that the PNS plays a key role in regulation of glycemia through pancreas and liver innervations<sup>16,26,27,30,31</sup>. Indeed, vagal electrical stimu-

lation seems to increase glucose or meal-induced insulin secretion<sup>32</sup>, which is impaired by muscarinic antagonism<sup>33</sup>, although these observations are not consensual<sup>34,35</sup>. Interestingly, prolonged hyperinsulinemia can lead to impairment of parasympathetic signaling<sup>36</sup>, which can explain eventual autonomic nervous dysfunctions in pathophysiological conditions associated with hyperinsulinemia, such as obesity<sup>37</sup>. In addition, specifically at the hepatic level, Gardemann and Jungermann (1986) observed that parasympathetic stimulation has direct effects on glucose metabolism<sup>27</sup>, which are synergistic with insulin action and antagonistic from glucagon action, such as activation of glycogenesis and inhibition of glycogenolysis and gluconeogenesis<sup>26,38</sup>. Xie and co-workers further observed that surgical ablation of hepatic parasympathetic nerves reduces peripheral insulin sensitivity in the postprandial state<sup>30</sup>, which was reversed by intraportal acetylcholine administration<sup>39</sup>.

#### RELEVANCE OF THE LIVER FOR INSULIN ACTION AND GLUCOSE HOMEOSTASIS

The central role of the liver in glucose uptake by peripheral (extra-hepatic) tissues has long been acknowledged by several authors<sup>2,27,28,31,40-42</sup>.

In the fifties, Lang and co-workers observed that performing a hepatectomy in healthy animals leads to an impairment of the peripheral glucose uptake of about 60%, which could not be reversed by high-dose insulin administration<sup>40</sup>. These authors suggested at that time that the liver releases a humoral agent capable of potentiating glucose uptake by extra-hepatic tissues<sup>40</sup>. In the following decade, Mertz e Schwartz confirmed the essential role of the liver in peripheral glucose uptake, through the observation that the reduction of glucose uptake in eviscerated was reversed by

administration of an extract of fresh liver<sup>2,41</sup>.

In the last decade of the past century, Petersen e Tygstrup observed that the inclusion of isolated rat liver in a skeletal muscle preparation with a recirculatory system significantly increased glucose uptake by the skeletal muscle<sup>2</sup>; these authors further observed that the rate of glucose incorporation into the muscle decreases when the liver was removed from the system, presenting a 30-min half-life, suggesting that the liver releases a humoral factor which increases glucose uptake by the skeletal muscle<sup>2</sup>.

The hypothesis that the process of insulin-dependent glucose uptake depends not only on insulin action *per se*, but also on an hepatic mechanism that potentiates insulin hypoglycemic action, has evolved enormously mainly through the contribution of Lutt and co-workers in the past 15 years. In 1993, these investigators realized for the first time that hepatic parasympathetic nerves are essential for peripheral glucose uptake and homeostasis<sup>30</sup>, which was also confirmed by Moore and co-workers<sup>31</sup>. This parasympathetic activity is part of a pathway that is specifically stimulated in the postprandial state and it is responsible for 50 to 60% of insulin hypoglycemic action after a meal<sup>19</sup>. Lutt and co-workers then suggest that such pathway involves the release of an hepatic humoral factor, which potentiates peripheral insulin action<sup>19,43,44</sup>.

Thus, meal-induced increment in insulin sensitivity seems to rely mostly on an hepatic mechanism that involves hepatic parasympathetic nerves and culminates in the release of a humoral factor – the hepatic insulin sensitizing substance (HISS) –, which potentiates peripheral insulin action.

One can consider that insulin hypoglycemic action in the postprandial state can be divided in two components, which act synergistically to increase glucose uptake. The first component is insulin

action *per se*, which corresponds to direct action of the insulin molecule on target cells, stimulating its receptor and activating the signaling transduction pathway(s). The second component is a HISS-dependent component of insulin action, in which HISS release from the liver is required to potentiate peripheral insulin hypoglycemic action.

#### THE HISS PATHWAY AND MEAL-INDUCED INSULIN SENSITIZATION

Meal ingestion promotes insulin secretion from the pancreas and activation of the PNS<sup>26</sup>. This parasympathetic activation is extremely important for glucose homeostasis<sup>26,30,43</sup>, since it triggers the mechanism of HISS synthesis, action of which is essential for postprandial insulin sensitivity<sup>45</sup>. Indeed, Lutt's group observed that surgical ablation of hepatic anterior plexus induces pronounced peripheral insulin resistance, which is caused specifically by the loss of parasympathetic function<sup>30,46</sup>.

This hepatic parasympathetic reflex seems to be mediated by muscarinic receptors present in the liver, reason why intraportal atropine administration induces significant peripheral insulin resistance<sup>47</sup>. Atropine-induced insulin resistance is dose-dependent<sup>47,48</sup> and does not aggravate insulin resistance caused by ablation of hepatic anterior plexus<sup>43,47</sup>. Furthermore, intraportal, but not intravenous, acetylcholine administration completely reverses insulin resistance induced either by ablation of hepatic anterior plexus or by atropine administration<sup>39</sup>; on the other hand, acetylcholine administration to animals with intact hepatic parasympathetic nerves does not have any additional effect on insulin sensitivity<sup>39</sup>.

Many of acetylcholine biologic actions are mediated by nitric oxide (NO)<sup>49</sup>. Indeed both L-NMMA and L-NAME, competitive inhibitors of NO synthase (NOS), reduce insulin sensitivity, but only when adminis-

tered intraportally<sup>50</sup>. Furthermore, hepatic NOS inhibition in animals previously submitted to hepatic parasympathetic denervation does not produce any additional insulin resistance, whereas intraportal administration of the NO donor SIN-1 completely reversed insulin resistance caused either by hepatic NOS inhibition or hepatic denervation<sup>50</sup>. Additional experiments performed by our group showed that hepatic acetylcholine induces hepatic NOS activation and consequently increases NO synthesis, and not the other way around<sup>51</sup>, as described by others for NO metabolism in different systems<sup>52,53</sup>.

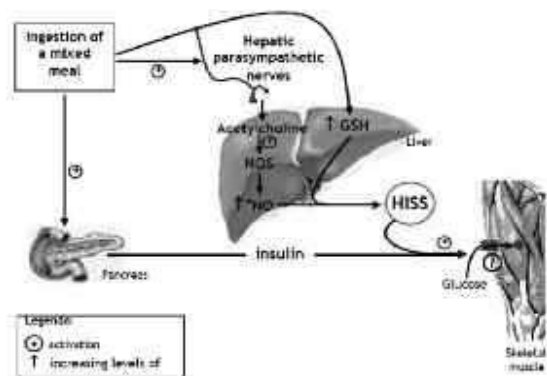
Thus, parasympathetic nerves induce the release of acetylcholine in the liver, leading to an increase in hepatic NO synthesis, which seems to be necessary for HISS synthesis.

Additionally, several authors observed that depletion of hepatic glutathione levels (GSH, reduced form) directly leads to impairment of glucose tolerance<sup>54</sup>. In fact, our studies showed that hepatic GSH depletion through inhibition of its synthesis leads to a condition of insulin resistance similar to that produced by hepatic NOS inhibition, which is not reversed simply by SIN-1 administration<sup>55</sup>, suggesting that both NO and GSH are required, but not sequential steps in HISS synthesis. This was later confirmed by the observation that intraportal co-administration of NO and GSH donors increases insulin sensitivity, which does not occur when those donors are given separately or intravenously<sup>56</sup>. Recent experiments performed by Punithavathi and co-workers support these conclusions, since they observed that reversion of insulin resistance in several animal models implies the increase of GSH levels<sup>57</sup>.

In summary, from what is known so far, HISS synthesis is initiated following meal ingestion, through an hepatic parasympathetic reflex that involves acetylcholine release in the liver. Acetylcholine activates hepatic muscarinic receptors, stimulating hepatic NOS and NO production, which, in

the presence of GSH, leads to HISS synthesis. HISS is then released from the liver potentiating peripheral insulin action, namely at the skeletal muscle. The known steps in HISS synthesis and action are represented in figure 1.

FIGURE 1



Pathway of hepatic insulin-sensitizing substance (HISS). In the postprandial state, hepatic parasympathetic nerves are stimulated and the resultant acetylcholine binds to muscarinic receptors, activating hepatic nitric oxide synthase (NOS) and consequently increasing nitric oxide (NO) production. In addition to NO, hepatic glutathione (GSH) is also essential for the synthesis and/or release of HISS from the liver. HISS induces an increase in postprandial insulin-dependent glucose uptake in 50-60%, by acting primarily in the skeletal muscle (adapted from<sup>19</sup>).

HISS action seems to be directed mainly to skeletal muscle, the major tissue responsible for glucose uptake<sup>43</sup>, as represented in figure 1. The work performed by Petersen e Tygstrup in 1994 already suggested that a humoral factor released by the liver increases glucose uptake in skeletal muscle<sup>2</sup>. Afterwards, using arterial-venous gradients, Xie and Lautt demonstrated that the main site affected by HISS inhibition is the skeletal muscle, suggesting that this organ is the main target for HISS action<sup>43</sup>. This is consistent with the observations that the skeletal muscle is the major glucose uptaker by an insulin-dependent mechanism<sup>58-60</sup>. Alterations of glucose uptake by the muscle are also the primer responsible for postprandial hyperglycemia in insulin resistant states<sup>58,61</sup>.

HISS-dependent insulin action is regulated by the prandial state, being maximal after a meal and inhibited/absent by fasting<sup>19,20,62</sup>. Indeed, HISS action increases significantly 1-2 h after food ingestion, both

when the access to nutrients is *ad libitum* and when the food is provided by gavage (endogastric administration)<sup>19</sup>. In rats tested after different fasting periods (0 h, 6 h, 18 h and 24 h), it was observed that insulin sensitivity decreases progressively with the duration of fasting, which was caused by a progressive decline in HISS action<sup>19</sup>. HISS-independent insulin action, on the other hand, is not affected by the prandial state<sup>19</sup>.

Additionally, according to our studies, meal composition is also an important regulating factor on HISS pathway activation (figure 1). In fact, carbohydrate meals are not effective triggers of HISS mechanism, whereas mixed meals are capable of stimulating HISS synthesis and therefore allowing for meal-induced insulin sensitization to occur<sup>21</sup>. Indeed, neither intragastric glucose nor sucrose induced a normal increment of fasted insulin action, but a meal composed of proteins, lipids and carbohydrates, administered intragastrically did increase peripheral insulin sensitivity significantly, in a volume-independent manner<sup>21</sup>. Furthermore, denervation of hepatic anterior plexus (parasympathetics) prevents meal-induced insulin sensitization and either hepatic parasympathetic denervation or atropine administration, performed after mixed-meal ingestion, inhibited insulin sensitivity to levels similar to those observed in the fasted state, suggesting the involvement of HISS mechanism<sup>21</sup>.

As previously noted, these observations are extremely relevant from the nutritional and clinical perspective, because one of the most widely used tolerance tests, the OGTT, does not take in consideration either the fact that insulin action is higher in the fed than in the fasted state, or the fact that HISS is required for maximal insulin action, which is not triggered by carbohydrates alone. Indeed, if glucose is not an efficient activator of HISS pathway, OGTT neglects the HISS-dependent component of insulin action, which represents 50-60% of total

insulin action in the postprandial state. Thus, eventual alterations in HISS synthesis and/or action cannot be detected by the OGTT, not allowing an early identification of a pre-diabetes condition, which would have been detected through the use of a mixed-meal.

Subsequent studies revealed that the meal must reach the intestine to properly trigger HISS synthesis/action and stimulating meal-induced insulin sensitization (Afonso and Macedo, unpublished observations). This is consistent with the concept that, although the stomach is the main organ in digestion, it is in the small intestine where most nutrient absorption occurs and different intestinal portions are responsible for the absorption of different nutrients and for secretion of different substances, which vary according with prandial state<sup>63,64</sup>. On the other hand, it is described that PNS, which is essential for HISS pathway, is modulated by the prandial state<sup>26</sup>. The presence of certain aminoacids in portal circulation seems to activate hepatic parasympathetics<sup>65</sup> and different nutrients or hormones in portal circulation, such as glucose, aminoacids and somatostatin, affect hepatic parasympathetics<sup>66</sup>. Additional studies also associate hepatic GSH levels with the prandial state<sup>55,67</sup>.

Thus, HISS is inactive in the fasted state and it is released from the liver after a mixed-meal. This seems to be an important physiological mechanism to selectively increase glucose uptake by the skeletal muscle when glucose absorption is high, *i.e.*, after a meal, and to diminish glucose uptake in sparing conditions, such as the fasted state (figure 1).

The lack or impairment of HISS-dependent insulin action was shown to contribute for postprandial insulin resistance in several pathophysiological conditions usually associated with insulin resistance and/or type 2 diabetes. Indeed, HISS pathway

decreases with aging<sup>20</sup> (Lautt *et al*, 2008), high-sucrose feeding<sup>68</sup>, hypertension<sup>69,70</sup> and obesity<sup>37,71,72</sup>.

In obesity in particular, HISS impairment seems to be the main contributor for the observed postprandial insulin resistance. In fact, HISS action is significantly impaired both in genetic obesity<sup>71</sup> and high-fat diet-induced obesity<sup>37</sup>. Moreover, our studies have demonstrated that the HISS-dependent insulin action is negatively correlated with both whole-body and abdominal adiposity, suggesting a clear relationship between fat mass accumulation and HISS pathway impairment (Afonso *et al*, unpublished observations). In humans, we have also observed that excess weight is associated with impaired insulin sensitivity, for which the decrease in HISS action is an important factor (Patarrão and Macedo, unpublished observations).

HISS-dependent component is already described in several animal models, such as cats<sup>30,47</sup>, rats<sup>19,43,44</sup>, dogs<sup>31</sup> and mice<sup>73</sup>, with no differences observed between males and females<sup>20,74</sup>. Recently, experiments performed by our group revealed the existence of the HISS pathway also in humans<sup>23,75</sup>.

## HISS AND POSTPRANDIAL POTENTIATION OF INSULIN ACTION: GUT-BRAIN-LIVER AXIS?

Gastrointestinal tract, enteric nervous system and central nervous system<sup>(1)</sup> seem to be involved in a two-way communication (efferent and afferent)<sup>76</sup>, composed by sympathetic, parasympathetic and afferent sensorial fibers, required for the so-called gut-brain axis signaling<sup>77</sup>. Gut (enteric) hormones also seem to stimulate sensorial nerves and activate autonomic reflexes in the postprandial state<sup>78</sup>. Although it is not

(1) The term "enteric nervous system" was proposed by Wingate in 1981, to characterize a third division of the autonomic nervous system, formed by a neuronal network, intrinsic to the gastrointestinal tract<sup>75</sup>.

yet clear how this mechanism contributes for glucose homeostasis, it seems to require an interaction between gastrointestinal tract, central nervous system and effector organs involved in regulation of glycemia, namely pancreas and liver. Some authors suggest that this autonomically-mediated metabolic reflex is anticipatory, since it allows the peripheral tissues to prepare for the adequate handling of nutrients<sup>79</sup>. They also claim that diabetes is associated with impairment of such anticipatory reflex<sup>79</sup>.

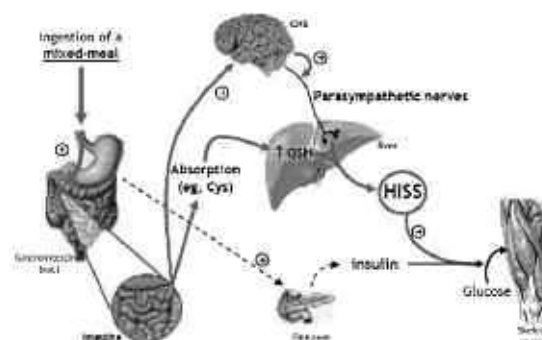
The gut-brain-liver interactions seem to be mediated by autonomic nervous system, and by the PNS in particular, which is stimulated by ingestion of a meal and it is involved in peripheral glucose uptake<sup>21</sup>. As previously mentioned, the prandial signal that leads to HISS synthesis depends on elevation of hepatic GSH and hepatic parasympathetic activation, both resultant from meal ingestion<sup>26,29,55,67</sup>. Thus, the HISS mechanism seems to fit within such gut-brain-liver axis. Recent data obtained by our group further supports the involvement of HISS in this gut-brain-liver axis, since we recently observed that the intestine plays a key role in the process of postprandial activation of HISS pathway, through absorption of substrates required for GSH synthesis and stimulation of PNS (Afonso and Macedo, unpublished data). These data also seem to fit in the hypothesis previously launched by Lautt, according to whom HISS pathway results from a centrally-mediated reflex<sup>45</sup>. In this context, we propose the involvement of the gut-brain axis in hepatic activation of HISS synthesis/release.

Gut-brain axis depends on vagal stimulation, but it is described only in control of exocrine pancreas secretions and enteric motility, secretion and flux<sup>77,78</sup>. Additionally, other authors observed that this gut-brain reflex also affects the liver, although such description is restricted to hepatic glucose production<sup>80</sup>. Therefore, considering these and our results, one can speculate about the

existence of an association between the gut-brain axis and the hepatic mechanism of insulin sensitization.

In fact, insulin action increases after ingestion of a mixed-meal, through a mechanism that depends on hepatic parasympathetic nerves, in resemblance with gut-brain reflex, also vagally mediated<sup>77,78</sup>. Furthermore, postprandial potentiation of insulin action seems to be triggered in the upper intestine (duodenum), which suggests the existence of a prandial reflex initiated in the gut following a mixed-meal. Such prandial reflex may be centrally mediated and involves the parasympathetic nervous system, which, along with high levels of hepatic GSH, activates the hepatic mechanism of HISS synthesis and/or release, promoting peripheral insulin action. This hypothesis is represented in figure 2.

FIGURE 2



Proposed hypothesis for activation of the hepatic insulin sensitizing substance (HISS) pathway following a meal. Intestinal nutrient absorption after a mixed-meal (composed of proteins, lipids and carbohydrates) allows glutathione (GSH) synthesis that is essential for synthesis/release of HISS; simultaneously, a postprandial mechanism is triggered in the intestine, which seems to involve central nervous system (CNS) and stimulates the liver, through parasympathetic nerves, for HISS synthesis and release – entero-cerebral-hepatic hypothesis. HISS then acts at the skeletal muscle to potentiate insulin-dependent glucose uptake. Cys, cysteine; ⊕ activation. Adapted from<sup>81</sup>.

## CONCLUSION

Insulin plays a central role in carbohydrate metabolism. Normal insulin action is physiologically required to regulate glucose homeostasis. Pathological insulin resistance constitutes the most important and serious event in the progression towards diabetes in

such a way that most therapeutic strategies are firstly aimed at increasing peripheral insulin sensitivity. So far, most of these strategies have been supported by insulin sensitivity studies based on a steady-state approach, *i.e.*, fasted state. However, huge differences in terms of insulin sensitivity/resistance and glucose homeostasis have been recently acknowledged between fasting and postprandial conditions. In fact, based on observations that alterations in carbohydrates metabolism occur firstly and more dramatically in the postprandial state, IDF as recently issued guidelines that aim specifically at the management of postprandial glycemia.

Insulin action depends not only on insulin action *per se*, *i.e.*, direct insulin action in its receptor, but also on an hepatic mechanism (HISS) that is responsible for potentiation of peripheral (extra-hepatic) insulin action following a meal. This mechanism, which involves parasympathetic activation and seems to be triggered at the intestine, is active only in the postprandial state. Furthermore, this meal-induced insulin sensitization seems to be sensitive to meal composition. Mixed-meals, composed of proteins, lipids and carbohydrates, are capable of triggering the meal-induced insulin sensitization, unlike carbohydrates alone (*e.g.*, glucose or sucrose), which do not trigger this mechanism. Thus, insulin sensitivity increases significantly following a mixed-meal, but not after glucose. Therefore, testing insulin sensitivity either in the fasted state or after a glucose meal neglects the contribution of the hepatic (HISS)-dependent mechanism for insulin action, possibly leading to false negatives in detection of insulin resistance.

Hopefully, the observations reviewed herein will re-direct our clinical approach towards postprandial evaluation of insulin resistance, rendering better results both in terms of early diagnosis and treatment of insulin resistance.

## ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to acknowledge Prof. M. Paula Macedo and Prof. W. Wayne Lutt, for their scientific guidance and support throughout the past ten years.

I would also like to acknowledge all my co-workers, past and present, without whom the bench work would have been extremely dull.

## REFERENCES

1. McGrowder D, Ragoobirsingh D, Brown P (2006) Acute effects of exogenous nitric oxide on glucose uptake in skeletal muscle of normoglycaemic and diabetic rats. *Med Sci Monit* **12**,BR28-35.
2. Petersen KF, Tygstrup N (1994) A liver factor increasing glucose uptake in rat hindquarters. *J Hepatol* **20**,461-5.
3. Ratner R (2003) Insulin glargine versus NPH insulin in patients with type 1 diabetes. *Drugs Today (Barc)* **39**,867-76.
4. Radziuk J (2000) Insulin sensitivity and its measurement: structural commonalities among the methods. *J Clin Endocrinol Metab* **85**,4426-33.
5. Pacini G, Mari A (2003) Methods for clinical assessment of insulin sensitivity and beta-cell function. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* **17**,305-22.
6. Patarrao RS, Lutt WW, Guarino MP, *et al.* (2007) A New Technique to Assess Insulin Sensitivity in Humans: The Rapid Insulin Sensitivity Test (RIST). *Proc West Pharmacol Soc* **50**,105-109.
7. Ceriello A, Colagiuri S (2008) International Diabetes Federation guideline for management of postmeal glucose: a review of recommendations. *Diabet Med* **25**,1151-6.
8. Giugliano D, Ceriello A, Esposito K (2008) Glucose metabolism and hyperglycemia. *Am J Clin Nutr* **87**,217S-222.
9. Ceriello A, Colagiuri S, Gerich J, *et al.* (2008) Guideline for management of postmeal glucose. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **18**,S17-33.
10. Ratner RE (2001) Controlling postprandial hyperglycemia. *Am J Cardiol* **88**,26H-31H.

11. Leiter LA, Ceriello A, Davidson JA, *et al.* (2005) Postprandial glucose regulation: new data and new implications. *Clin Ther* **27 Suppl B**,S42-56.
12. Monnier L, Colette C, Dunseath GJ, *et al.* (2007) The Loss of Postprandial Glycemic Control Precedes Stepwise Deterioration of Fasting With Worsening Diabetes 10.2337/dc06-1612. *Diabetes Care* **30**,263-269.
13. Ceriello A, Esposito K, Piconi L, *et al.* (2008) Oscillating glucose is more deleterious to endothelial function and oxidative stress than mean glucose in normal and type 2 diabetic patients. *Diabetes* **57**,1349-54.
14. Hanefeld M, Temelkova-Kurktschiev T (2002) Control of post-prandial hyperglycemia--an essential part of good diabetes treatment and prevention of cardiovascular complications. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **12**,98-107.
15. Giugliano D, Ceriello A, Esposito K (2008) Glucose metabolism and hyperglycemia. *Am J Clin Nutr* **87**,217S-222S.
16. Lutt WW (2007) Postprandial insulin resistance as an early predictor of cardiovascular risk. *Ther Clin Risk Manag* **3**,761-70.
17. Kahn SE, Prigeon RL, McCulloch DK, *et al.* (1993) Quantification of the relationship between insulin sensitivity and beta-cell function in human subjects. Evidence for a hyperbolic function. *Diabetes* **42**,1663-72.
18. Caumo A, Bergman RN, Cobelli C (2000) Insulin sensitivity from meal tolerance tests in normal subjects: a minimal model index. *J Clin Endocrinol Metab* **85**,4396-402.
19. Lutt WW, Macedo MP, Sadri P, *et al.* (2001) Hepatic parasympathetic (HISS) control of insulin sensitivity determined by feeding and fasting. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **281**,G29-36.
20. Ribeiro RT, Afonso RA, Guarino MP, *et al.* (2008) Loss of postprandial insulin sensitization during aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **63**,560-5.
21. Sadri P, Reid MA, Afonso RA, *et al.* (2006) Meal-induced insulin sensitization in conscious and anaesthetized rat models comparing liquid mixed meal with glucose and sucrose. *Br J Nutr* **95**,288-95.
22. Peitl B, Szilvassy Z (2007) The inhibitory effect of proglumide on meal-induced insulin sensitization in rats. *Metabolism* **56**,863-4.
23. Patarrao RS, Lutt WW, Afonso RA, *et al.* (2008) Meal-induced insulin sensitization and its parasympathetic regulation in humans. *Can J Physiol Pharmacol* **86**,880-8.
24. Steil GM, Hwu CM, Janowski R, *et al.* (2004) Evaluation of insulin sensitivity and beta-cell function indexes obtained from minimal model analysis of a meal tolerance test. *Diabetes* **53**,1201-7.
25. Berthiaume N, Zinker BA (2002) Metabolic responses in a model of insulin resistance: comparison between oral glucose and meal tolerance tests. *Metabolism* **51**,595-8.
26. Teff KL (2008) Visceral nerves: vagal and sympathetic innervation. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* **32**,569-71.
27. Gardemann A, Jungermann K (1986) Control of glucose balance in the perfused rat liver by the parasympathetic innervation. *Biol Chem Hoppe Seyler* **367**,559-66.
28. Puschel GP (2004) Control of hepatocyte metabolism by sympathetic and parasympathetic hepatic nerves. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* **280**,854-67.
29. Uijtdehaage SH, Stern RM, Koch KL (1992) Effects of eating on vection-induced motion sickness, cardiac vagal tone, and gastric myoelectric activity. *Psychophysiology* **29**,193-201.
30. Xie H, Tsybenko VA, Johnson MV, *et al.* (1993) Insulin resistance of glucose response produced by hepatic denervations. *Can J Physiol Pharmacol* **71**,175-8.
31. Moore MC, Satake S, Baranowski B, *et al.* (2002) Effect of hepatic denervation on peripheral insulin sensitivity in conscious dogs. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **282**,E286-96.
32. Kaneto A, Kosaka K, Nakao K (1967) Effects of stimulation of the vagus nerve on insulin secretion. *Endocrinology* **80**,530-6.
33. Teff KL, Townsend RR (1999) Early phase insulin infusion and muscarinic blockade in obese and lean subjects. *Am J Physiol* **277**,R198-208.
34. Teff KL, Alavi A, Chen J, *et al.* (1999) Muscarinic blockade inhibits gastric emptying of mixed-nutrient meal: effects of weight and gender. *Am J Physiol* **276**,R707-14.
35. Schneeberger D, Tappy L, Temler E, *et al.* (1991) Effects of muscarinic blockade on insulin secretion and on glucose-induced thermogenesis in lean and obese human subjects.



- Eur J Clin Invest* **21**,608-15.
36. Van De Borne P, Hausberg M, Hoffman RP, *et al.* (1999) Hyperinsulinemia produces cardiac vagal withdrawal and nonuniform sympathetic activation in normal subjects. *Am J Physiol* **276**,R178-83.
  37. Afonso RA, Lutt WW, Ribeiro RT, *et al.* (2007) Insulin Resistance in Two Animal Models of Obesity: A Comparison of HISS-Dependent and HISS-Independent Insulin Action in High-Fat Diet-Fed and Zucker Rats. *Proc West Pharmacol Soc* **50**,110-114.
  38. Mondon CE, Burton SD (1971) Factors modifying carbohydrate metabolism and effect of insulin in perfused rat liver. *Am J Physiol* **220**,724-34.
  39. Xie H, Lutt WW (1996) Insulin resistance caused by hepatic cholinergic interruption and reversed by acetylcholine administration. *Am J Physiol* **271**,E587-92.
  40. Lang G, Goldstein MS, Levine R (1954) Influence of the liver on uptake of glucose by extrahepatic tissues. *Am J Physiol* **177**,447-50.
  41. Mertz W, Schwarzk (1962) An effect of liver extracts on glucose tolerance in rats. *Am J Physiol* **203**,53-6.
  42. Lutt WW (1980) Hepatic parasympathetic neuropathy as cause of maturity-onset diabetes? *Gen Pharmacol* **11**,343-5.
  43. Xie H, Lutt WW (1996) Insulin resistance of skeletal muscle produced by hepatic parasympathetic interruption. *Am J Physiol* **270**,E858-63.
  44. Sadri P, Legare DJ, Lutt WW (1997) Insulin resistance caused by nitric oxide synthase inhibition. *Proc West Pharmacol Soc* **40**,19-20.
  45. Lutt WW (2004) A new paradigm for diabetes and obesity: the hepatic insulin sensitizing substance (HISS) hypothesis. *J Pharmacol Sci* **95**,9-17.
  46. Lutt WW, Wong C (1978) Hepatic parasympathetic neural effect on glucose balance in the intact liver. *Can J Physiol Pharmacol* **56**,679-82.
  47. Xie H, Lutt WW (1995) Induction of insulin resistance by cholinergic blockade with atropine in the cat. *J Auton Pharmacol* **15**,361-9.
  48. Takayama S, Legare DJ, Lutt WW (2000) Dose-related atropine-induced insulin resistance: comparing intraportal versus intravenous administration. *Proc West Pharmacol Soc* **43**,33-4.
  49. Ignarro LJ (1992) Haem-dependent activation of cytosolic guanylate cyclase by nitric oxide: a widespread signal transduction mechanism. *Biochem Soc Trans* **20**,465-9.
  50. Sadri P, Lutt WW (1999) Blockade of hepatic nitric oxide synthase causes insulin resistance. *Am J Physiol* **277**,G101-8.
  51. Guarino MP, Correia NC, Lutt WW, *et al.* (2004) Insulin sensitivity is mediated by the activation of the ACh/NO/cGMP pathway in rat liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **287**,G527-32.
  52. Lopez-Jaramillo P, Gonzalez MC, Palmer RM, *et al.* (1990) The crucial role of physiological Ca<sup>2+</sup> concentrations in the production of endothelial nitric oxide and the control of vascular tone. *Br J Pharmacol* **101**,489-93.
  53. Hogan K, Markos F (2007) Muscarinic type 1 receptors mediate part of nitric oxide's vagal facilitatory effect in the isolated innervated rat right atrium. *Nitric Oxide* **16**,110-7.
  54. Khamaisi M, Kavel O, Rosenstock M, *et al.* (2000) Effect of inhibition of glutathione synthesis on insulin action: in vivo and in vitro studies using buthionine sulfoximine. *Biochem. J.* **349**,579-586.
  55. Guarino MP, Afonso RA, Raimundo N, *et al.* (2003) Hepatic glutathione and nitric oxide are critical for hepatic insulin-sensitizing substance action. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **284**,G588-94.
  56. Guarino MP, Macedo MP (2006) Co-administration of glutathione and nitric oxide enhances insulin sensitivity in Wistar rats. *Br J Pharmacol* **147**,959-65.
  57. Punithavathi VR, Anuthama R, Prince PS (2008) Combined treatment with naringin and vitamin C ameliorates streptozotocin-induced diabetes in male Wistar rats. *J Appl Toxicol* **28**,806-13.
  58. Kemmer FW, Berger M, Herberg L, *et al.* (1979) Glucose metabolism in perfused skeletal muscle. Demonstration of insulin resistance in the obese Zucker rat. *Biochem J* **178**,733-41.
  59. DeFronzo RA, Jacot E, Jequier E, *et al.* (1981) The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose. Results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization. *Diabetes* **30**,1000-7.
  60. Scheen AJ, Paquot N, Castillo MJ, *et al.* (1994) How to measure insulin action in vivo. *Diabetes Metab Rev* **10**,151-88.
  61. Brozinick JT, Jr., Etgen GJ, Jr., Yaspelkis BB, 3rd, *et al.* (1994) Glucose uptake and GLUT-4 protein distribution in skeletal muscle of the obese

- Zucker rat. *Am J Physiol* **267**,R236-43.
62. Lutt WW, Wang X, Sadri P, et al. (1998) Rapid insulin sensitivity test (RIST). *Can J Physiol Pharmacol* **76**,1080-6.
  63. Genuth SM. The endocrine system. In: Berne RM, Levy MN, editors. *Physiology*. 4th ed. St. Louis: Mosby; 1998. p. 777-1013.
  64. Holst JJ, Gromada J (2004) Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **287**,E199-206.
  65. Tanaka K, Inoue S, Nagase H, et al. (1990) Amino acid sensors sensitive to alanine and leucine exist in the hepato-portal system in the rat. *J Auton Nerv Syst* **31**,41-6.
  66. Nijijima A. An electrophysiological study on hepatovisceral reflex: the role played by vagal afferents from chemosensors in the hepatoportal region. In: Haussinger D, Jungermann K, editors. *Liver and Nervous System*. Dordrecht: Kluwer Academic; 1998. p. 159-172.
  67. Tateishi N, Higashi T, Naruse A, et al. (1977) Rat Liver Glutathione: Possible Role as a Reservoir of Cysteine. *J. Nutr.* **107**,51-60.
  68. Ribeiro RT, Lutt WW, Legare DJ, et al. (2005) Insulin resistance induced by sucrose feeding in rats is due to an impairment of the hepatic parasympathetic nerves. *Diabetologia* **48**,976-83.
  69. Afonso RA, Ribeiro RT, Macedo MP (2004) Defective hepatic nitric oxide action results in HISS-dependent insulin resistance in spontaneously hypertensive rats. *Proc West Pharmacol Soc* **47**,103-4.
  70. Ribeiro RT, Afonso RA, Macedo MP (2007) Hepatic parasympathetic role in insulin resistance on an animal model of hypertension. *Metabolism* **56**,227-33.
  71. Afonso RA, Ribeiro RT, Fernandes AB, et al. (2007) Hepatic-dependent and -independent insulin actions are impaired in the obese Zucker rat model. *Obesity (Obes Res)* **15**,314-21.
  72. Afonso RA, Lutt WW, Schafer J, et al. (2010). High-fat diet results in postprandial insulin resistance that involves parasympathetic dysfunction. *Br J Nutr* **104**,1450-9.
  73. Latour MG, Chan CC (2002) A rapid insulin sensitivity test (RIST) in the anesthetized mice. *Diabetes* **51 (Suppl 2)**,A422 (Abstract).
  74. Ribeiro RT, Afonso RA, Macedo MP (2002) The action of hepatic insulin-sensitizing substance: gender comparison in Wistar rats. *Proc West Pharmacol Soc* **45**,55-6.
  75. Patarrao RS, Lutt WW, Guarino MP, et al. (2007) A new technique to assess insulin sensitivity in humans: the rapid insulin sensitivity test (RIST). *Proc West Pharmacol Soc* **50**,105-9.
  76. Wingate EL, Ewart WR. The brain-gut axis. In: Yamada T, Alpers DH, Owyang C, Powell DW, Silverstein FE, editors. *Textbook of Gastroenterology*. Philadelphia: B. Lippincott Co.; 1981.
  77. Konturek SJ, Konturek JW, Pawlik T, et al. (2004) Brain-gut axis and its role in the control of food intake. *J Physiol Pharmacol* **55**,137-54.
  78. Konturek SJ, Pepera J, Zabielski K, et al. (2003) Brain-gut axis in pancreatic secretion and appetite control. *J Physiol Pharmacol* **54**,293-317.
  79. Burcelin R The gut-brain axis: a major glucoregulatory player. *Diabetes Metab* **36 Suppl 3**,S54-8.
  80. Wang PY, Caspi L, Lam CK, et al. (2008) Upper intestinal lipids trigger a gut-brain-liver axis to regulate glucose production. *Nature* **452**,1012-6.
  81. Afonso RA (2009) Sensibilidade à Insulina Pós-prandial: Mecanismos Fisiológicos de Ativação e Fisiopatologia na Obesidade. *Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa*, Tese de Doutoramento.

# Insulino-Resistência e Síndrome Metabólica: perspectiva imunológica

## *Insulin resistance and the metabolic syndrome: an immunological perspective*

Joana Carneiro<sup>1</sup>, Luís Guilherme Casimiro<sup>1</sup>, Margarida Miranda<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Aurora Mendes<sup>1</sup>,  
Teresa Caridade<sup>1</sup>, Teresa Monteiro<sup>1</sup>, Hugo Seco<sup>1</sup>, Cristina Lopes<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Alunos do Mestrado Integrado em Medicina, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto.

<sup>2</sup> Assistente Convidado, Serviço de Imunologia, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto.

<sup>3</sup> Assistente Hospitalar Imunoalergologia, Unidade de Imunoalergologia, Hospital Pedro Hispano, Matosinhos.

**Correspondência:** Luís Guilherme Casimiro › Rua 25 de Dezembro n. 65, 1º Esquerdo › 4445-005 ALFENA › luis\_ggc19@hotmail.com

### RESUMO

A insulino-resistência é um estado patológico caracterizado por uma resposta deficitária das células-alvo aos níveis normais de insulina circulante. Este conceito abrange as múltiplas acções da insulina, nomeadamente a função endotelial e expressão génica, bem como o metabolismo glicídico, lipídico e proteico. Os processos moleculares indutores de insulino-resistência são vários e ainda existem muitas incertezas nesta área, mas estudos recentes indicam que na base destes mecanismos existe uma componente genética e ambiental. A insulino-resistência pode estar associada a outras co-morbilidades como a obesidade, a hipertensão arterial e a dislipidemia, componentes da síndrome metabólica. O facto da insulino-resistência se poder desenvolver décadas antes da manifestação destas patologias, faz com que a identificação e o tratamento precoce destes doentes seja essencial.

### PALAVRAS-CHAVE

Insulino-resistência; Síndrome metabólica; Obesidade; Inflamação; Tecido adiposo; Adipocinas.

### SUMMARY

*The insulin resistance is a pathological state characterized by a deficient response of target cells to normal levels of circulating insulin. This concept embraces the multiple actions of insulin, in particular the endothelial function and gene expression, as well as the glucose, lipid and protein metabolism. Despite the multiplicity and the existence of many uncertainties in the molecular processes that induce insulin resistance, recent studies show an environmental and genetic basis. Insulin resistance can be associated with other co morbidities as obesity, arterial hypertension and dislipidemia, components of metabolic syndrome. The fact that insulin resistance can develop prior to these pathologies, make the early identification and treatment of these patients an essential issue.*

### KEY-WORDS

*Insulin resistance; Metabolic syndrome; Obesity; Inflammation; Adipose tissue; Adipokines.*

## INTRODUÇÃO

A insulino-resistência envolve uma resposta diminuída da acção da insulina nos tecidos-alvo (principalmente, fígado, músculo e tecido adiposo), verificando-se uma redução na taxa de eliminação de glicose do plasma para uma determinada concentração de insulina. Afecta inúmeras acções metabólicas desencadeadas por esta hormona, nomeadamente a nível do metabolismo glicídico<sup>1,2</sup>.

Diversos estudos têm demonstrado que a insulino-resistência está relacionada com um conjunto de entidades clínicas como a obesidade, a hipertensão arterial e a dislipidemia, componentes da síndrome metabólica, cuja história natural termina frequentemente na doença cardiovascular (DCV)<sup>3</sup>. A síndrome metabólica é uma entidade cuja definição está longe de ser consensual. Em 2005, o *Adult Treatment Panel III do National Cholesterol Education Program (ATP III)* reviu a sua definição, actualizando-a, e propondo o diagnóstico quando 3 ou mais dos seguintes elementos estão presentes: perímetro da cintura - sexo masculino  $\geq 102$  cm (90/80 em asio-americanos) ou sexo feminino  $\geq 88$  cm; triglicéridos (TG)  $\geq 150$  mg/dL ou em tratamento; HDL - sexo masculino  $< 40$  mg/dL ou em tratamento ou sexo feminino  $< 50$  mg/dL ou em tratamento; tensão arterial sistólica  $\geq 130$  ou diastólica  $\geq 85$  mmHg ou em tratamento; glicemia plasmática jejum  $\geq 100$  mg/dL ou em tratamento. O facto da insulino-resistência poder ser identificada previamente ao aparecimento das manifestações clínicas de DCV torna a sua detecção precoce indispensável<sup>4</sup>.

Os mecanismos subjacentes ao desenvolvimento da insulino-resistência são multifactoriais (factores genéticos e ambientais), e envolvem alterações da via de sinalização da insulina<sup>1</sup>.

Aparentemente, a insulino-resistência é transmitida como um traço poligénico familiar e, os principais genes que podem estar implicados na sua patogénese são os

que codificam o GLUT-4, o receptor da insulina (IR), os substratos do receptor da insulina 1 e 2 (IRS-1 e IRS-2) e a cínase do fosfatidilinositol 3 (cínase do PI3)<sup>1,5,6</sup>.

Para além de factores genéticos, inúmeros factores ambientais parecem contribuir para a insulino-resistência ocorrendo em idades mais precoces em indivíduos obesos e agravando-se quando se desenvolve a diabetes. O tecido adiposo intra-abdominal parece desempenhar um papel crítico nas respostas neuroendócrinas a factores ambientais de stress em indivíduos com insulino-resistência<sup>1,2</sup>. A relação directa entre o estilo de vida ocidental e o desenvolvimento deste estado patológico implica na sua prevenção e tratamento uma alteração comportamental, não farmacológica.

## ACÇÃO E VIA DE SINALIZAÇÃO DEPENDENTE DA INSULINA

A insulina é secretada pelo pâncreas endócrino em resposta à ingestão de proteínas e hidratos de carbono (a glicose é o principal estímulo), induzindo a absorção e o armazenamento eficiente do excesso de nutrientes, enquanto suprime a mobilização de substratos endógenos<sup>1</sup>.

A cascata de transdução de sinal mediada pela insulina inicia-se pela ligação da hormona à subunidade extracelular  $\alpha$  do IR. Este é constituído por duas subunidades  $\alpha$  extracelulares e duas subunidades  $\beta$  intracelulares com actividade de tirosina cínase. A ligação da insulina promove a autofosforilação do IR o que possibilita a ligação dos IRSs ao complexo hormona-receptor. Os IRS-1 e IRS-2 desempenham funções selectivas na regulação das respostas metabólicas e mitogénicas nos tecidos sensíveis à insulina. No músculo funcionam como local de ancoragem e de activação de inúmeras proteínas cínases, como por exemplo a cínase do PI3 que gera fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfatos [PI (3,4,5) P<sub>3</sub>], que por sua vez fosforilam outras proteínas

cínases em cascata como a proteína cínase C (PKC) e a proteína cínase B (PKB ou Akt) mediando a translocação do transportador de glicose, GLUT-4, no músculo esquelético e tecido adiposo<sup>2,7,8,9</sup>.

## INSULINO-RESISTÊNCIA – UM SINAL DA OBESIDADE?

O tecido adiposo, principalmente o tecido adiposo branco, é considerado um órgão endócrino activo originando um grande número de mediadores bioactivos: as adipocinas ou adipocitocinas. Através destes mediadores, envia e responde a sinais que modulam o apetite, o consumo energético, a sensibilidade à insulina, o sistema endócrino e reprodutivo, o metabolismo ósseo, a inflamação e a imunidade<sup>10</sup>.

Nos depósitos individuais de tecido adiposo, existem vários tipos de células como macrófagos, fibroblastos, pré-adipócitos e adipócitos com actividade secretora variável e que interagem com as células do sistema imune<sup>11,12</sup>.

A distribuição da gordura corporal é um factor determinante da sensibilidade à insulina, sendo a obesidade do tipo andróide um determinante importante da insulino-resistência. Indivíduos magros, com uma distribuição mais periférica de gordura são mais sensíveis à insulina do que os que têm a gordura distribuída predominantemente nas áreas abdominal e torácica<sup>13</sup>.

O tecido adiposo intra-abdominal é metabolicamente mais activo do que o periférico, provavelmente devido à maior irrigação sanguínea, densa enervação simpática e alta expressão de receptores adrenérgicos  $\beta_3$  que medeiam a lipólise<sup>1</sup>. Em indivíduos obesos a existência de níveis elevados de ácidos gordos livres (AGL), leptina, resistina, factor de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleucina 6 (IL-6), inibidor do activador do plasminogénio 1 (PAI-1) e angiotensinogénio, pode constituir uma importante inter-relação entre a obesidade e a insulino-resistência<sup>14</sup>.

A **adiponectina** é sintetizada principalmente pelos adipócitos, sendo também expressa pelas células musculares esqueléticas, cardiomiócitos e células endoteliais<sup>15</sup>. É a adipocina produzida em maior quantidade pelo tecido adiposo<sup>16</sup> e existe no sangue sob quatro formas distintas, de baixo, médio, alto peso molecular e globular. Os seus níveis circulantes correlacionam-se inversamente com a insulino-resistência e com a percentagem de gordura corporal<sup>15,16,17</sup>. Para além disso, tem um papel protector em relação à aterosclerose<sup>16</sup>. Existem dois receptores da adiponectina: AdipoR1, expresso maioritariamente no músculo esquelético; e AdipoR2, expresso mais abundantemente no fígado<sup>16</sup>. Tal como a adiponectina, a expressão destes receptores está diminuída em modelos animais de obesidade e insulino-resistência<sup>17</sup>. Em termos imunológicos apresenta um efeito anti-inflamatório por inibição da expressão de TNF- $\alpha$  e activação do factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B); interfere na função macrófagica inibindo a capacidade fagocítica; induz a produção de IL-10 e agonistas dos receptores da IL-1 (citocinas anti-inflamatórias) e, suprime a produção de interferão- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )<sup>15</sup>. Pode, também, reduzir a resposta inflamatória induzida pelo TNF- $\alpha$ <sup>18</sup>. Por outro lado, o TNF- $\alpha$  suprime a transcrição da adiponectina no adipócito, o que pode explicar os níveis baixos encontrados nos indivíduos obesos. A sua expressão é também regulada por outros mediadores pró-inflamatórios, como a IL-6<sup>15</sup>.

A **leptina** é expressa e produzida quase exclusivamente no tecido adiposo branco, mais particularmente nos adipócitos maduros diferenciados<sup>16,18</sup>, sendo o seu efeito biológico principal o controlo do apetite e a homeostasia energética. Parece ser um indicador real do total de massa gorda em indivíduos magros. Os seus níveis séricos estão fortemente associados com o índice de massa corporal (IMC) e com a gravidade da obesidade, sendo proporcionais ao total de massa adiposa<sup>15,16,18</sup>. Tal como a adiponectina, a leptina promove uma maior sensibilidade à insulina através da activação da

AMPK, o que resulta numa redução da lipogénese associada a um aumento da  $\beta$ -oxidação dos ácidos gordos<sup>17</sup>. Parece inibir a secreção de insulina em animais magros e, à medida que o peso corporal aumenta, parece proteger as células  $\beta$  dos ilhéus pancreáticos de efeitos adversos, como a acumulação de lipídeos. A insulina também estimula a biossíntese e a secreção de leptina estabelecendo-se uma ansa de *feedback* negativo<sup>17</sup>. Embora mudanças na dieta e na massa gorda corporal total afetem a sensibilidade à insulina nos tecidos periféricos, a regulação da leptina na homeostasia da glicose ocorre independentemente dos seus efeitos na regulação do apetite<sup>17</sup>. Nos monócitos e macrófagos, aumenta a produção de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- $\alpha$ , as IL-6 e IL-12 e, por outro lado, o TNF- $\alpha$  e a IL-6 são capazes de estimular a produção de leptina pelos adipócitos<sup>15,17,18</sup>. O facto dos níveis desta adipocina estarem aumentados na obesidade sem um aumento proporcional da sua resposta nos órgãos-alvo, sugere que a obesidade também se associa a “leptino-resistência”<sup>17</sup>.

A **resistina** é produzida no tecido adiposo, músculo, pâncreas e células mononucleadas. A sua expressão genética parece ser maior nas células sanguíneas mononucleadas periféricas do que nos adipócitos, permanecendo a dúvida de qual é o principal responsável pela sua produção sistémica. Tem sido implicada na associação entre obesidade, insulino-resistência e diabetes mellitus tipo 2 em modelos animais<sup>15</sup>. A associação permanece ainda controversa no homem. Nas células sanguíneas mononucleadas periféricas as citocinas pró-inflamatórias IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$  aumentam a expressão do mRNA da resistina, que por sua vez induz a expressão de TNF- $\alpha$  e de IL-6 no tecido adiposo branco e nas células sanguíneas mononucleadas periféricas<sup>17</sup>.

A **visfatina** é secretada por adipócitos da gordura visceral, e diminui a insulino-resistência<sup>15,17</sup>. Liga-se e activa o IR, não competindo com a insulina. Foi original-

mente identificada como *pre-B cell colony-enhancing factor* (PBEF), e está associada a várias doenças inflamatórias<sup>15</sup>. Como a insulina, a visfatina *in vitro* conduz ao *uptake* de glicose pelos miócitos e adipócitos e inibe a libertação hepática de glicose. Esta hormona induz a produção de TNF- $\alpha$  e IL-8 nas células sanguíneas mononucleadas periféricas. Vários estudos sugerem que pode actuar como um mediador inflamatório envolvido em vários processos patológicos<sup>18</sup>.

A **vaspina** (*visceral adipose-tissue-derived serine protease inhibitor*) tem efeitos semelhantes à adiponectina na sensibilidade à insulina e, pode também ter um efeito anti-inflamatório por suprimir a produção de TNF- $\alpha$ , leptina e resistina<sup>15</sup>.

Os níveis de **RBP4** (*retinol binding protein 4*) estão correlacionados com a insulino-resistência, intolerância à glicose e diabetes mellitus tipo 2 em obesos e em indivíduos com história familiar de obesidade<sup>18</sup>. O facto do tratamento com fenretinide, que aumenta a excreção urinária de RBP4, melhorar a sensibilidade à insulina em ratinhos obesos, bem como a injeção de RBP4 transgénica em ratinhos causar insulino-resistência, sugere que a diminuição de RBP4 poderia ser uma estratégia terapêutica para a insulino-resistência<sup>15</sup>.

A **quemerina** sintetizada no fígado e tecido adiposo branco, é uma adipocina que se correlaciona com o IMC, os níveis de triglicédeos e a pressão arterial. É crucial na diferenciação normal dos adipócitos, modula a expressão de genes envolvidos na homeostasia da glicose e de lipídeos, melhorando o *uptake* de glicose estimulado pela insulina e a fosforilação de IRS-1. Assim, pensa-se que poderá aumentar a sensibilidade à insulina no tecido adiposo<sup>17</sup>.

A **omentina** está presente no estroma das células vasculares do tecido adiposo omental, mas não nos adipócitos maduros. Melhora o *uptake* de glicose estimulado pela insulina e a fosforilação de Akt na gordura visceral e subcutânea, aumentando a sensibilidade à insulina. Os seus níveis correla-

cionam-se inversamente com a obesidade e a insulino-resistência, e positivamente com os níveis de adiponectina e lipoproteínas de alta densidade (HDL)<sup>17</sup>.

## INSULINO-RESISTÊNCIA – UM ESTADO INFLAMATÓRIO

A inflamação crónica sistémica desempenha um papel importante na patogénese da insulino-resistência associada à obesidade. Inicialmente pensou-se que as células da imunidade inata seriam as principais intervenientes neste processo, no entanto sabe-se agora que linfócitos T e outros leucócitos como macrófagos integram também este complexo mecanismo imunologicamente mediado<sup>19</sup>.

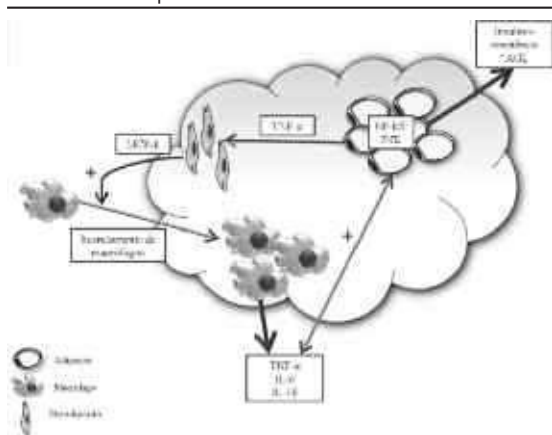
Os macrófagos e os adipócitos contribuem de forma independente para o estado de inflamação local no tecido adiposo, estimulando sinergicamente a actividade inflamatória um do outro<sup>20</sup>: ambos têm actividade fagocítica e produzem factores de transcrição, citocinas (CCL2, IL-6, IL-1 $\beta$ , factor inibidor da migração de macrófagos (MIF) e TNF- $\alpha$ ), e transportadores de ácidos gordos<sup>19</sup>. O TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ , e possivelmente outras citocinas e factores segregados pelos macrófagos exercem efeitos parácrinos envolvidos na activação das vias inflamatórias nas células-alvo da insulina (Fig.1)<sup>21</sup>.

O TNF- $\alpha$  é uma citocina pró-inflamatória produzida por vários tipos de células,

nomeadamente macrófagos e linfócitos, que desempenha um papel importante na fisiopatologia da insulino-resistência. A sua deleção ou dos seus receptores em ratinhos obesos, resulta em melhoria da sensibilidade à insulina e aumento da captação periférica de glicose<sup>16,22</sup>. Níveis elevados de TNF- $\alpha$ , observados em indivíduos obesos, interferem com a actividade tirosina cínase do IR: o TNF- $\alpha$  aumenta a fosforilação do resíduo de serina do IRS-1, o que inibe a fosforilação do resíduo de tirosina prejudicando o mecanismo de sinalização da insulina<sup>3,8</sup>. Há também evidência que no músculo, o TNF- $\alpha$  está associado à *downregulation* do mRNA do GLUT-4, o que contribui para a insulino-resistência<sup>23</sup>. Embora tenha sido demonstrado que o tecido adiposo visceral está intimamente correlacionado com a insulino-resistência, a expressão do mRNA do TNF- $\alpha$  é semelhante no tecido adiposo subcutâneo e visceral. Isto sugere que o tecido adiposo não está directamente implicado no aumento da circulação dos níveis de TNF- $\alpha$  observados em indivíduos obesos. Provavelmente, há outros mecanismos associados a um efeito sistémico da leptina ou de outras adipocinas que podem induzir a secreção de TNF- $\alpha$  por outros tipos de células como, por exemplo, os macrófagos<sup>16</sup>.

A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória produzida por fibroblastos, células endoteliais e macrófagos em diferentes tecidos, nomeadamente no tecido adiposo. Um dos seus principais efeitos é induzir a produção da Proteína C Reactiva, um indicador sensível de inflamação e que tem elevada importância clínica na avaliação do risco cardiovascular<sup>16</sup>. Por outro lado, níveis elevados de IL-6 podem, igualmente reduzir a sensibilidade à insulina por inibição do GLUT-4<sup>23</sup>. Foi recentemente proposto que a IL-6 desempenha um papel central na inter-relação entre a obesidade, a inflamação e a doença coronária. Assim, para além de agravar o risco cardiovascular, níveis cronicamente aumentados de IL-6 contribuem para a manutenção do estado de insulino-resistência<sup>16</sup>.

FIGURA 1: Estado pró-inflamatório na insulino-resistência.



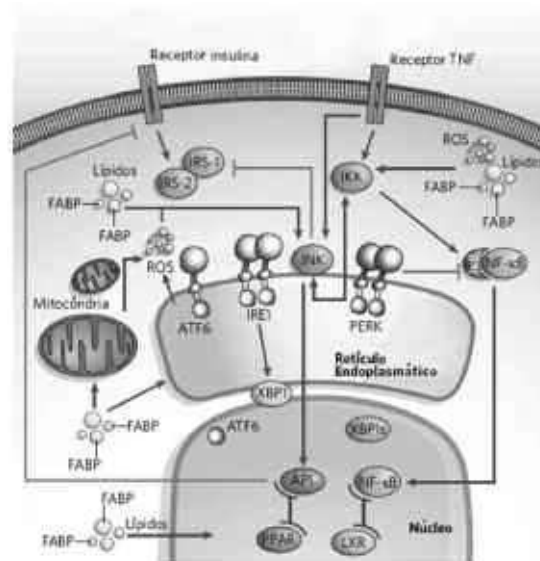
A IL-1 $\beta$  é uma citocina pró-inflamatória produzida por macrófagos e células epiteliais. Concentrações elevadas de glicose ou AGL aumentam a expressão de IL-1 $\beta$ , por activação do receptor da IL-1<sup>24</sup>: as células  $\beta$  do pâncreas são extremamente sensíveis às mudanças na concentração de IL-1 $\beta$  local, devido ao seu elevado número de receptores da IL-1<sup>25</sup>. A diabetes *mellitus* tipo 2 é caracterizada por apoptose progressiva das células  $\beta$ , ocorrendo também, em alguns casos, uma mobilização de células T reactivas para antígenos das células  $\beta$ , que resulta numa destruição auto-imune destas células. O ciclo vicioso de citocinas pró-inflamatórias, em particular a IL-1 $\beta$ , parece ser um importante efector patogénico responsável pela indução da apoptose das células  $\beta$ , em ambos os tipos de diabetes<sup>23</sup>. Por outro lado, baixas concentrações de IL-1 $\beta$  promovem a função e sobrevivência destas células<sup>26</sup>.

## VIAS DE SINALIZAÇÃO INFLAMATÓRIA NA INSULINO-RESISTÊNCIA

Embora os mecanismos moleculares envolvidos na fisiopatologia da insulino-resistência ainda não sejam claramente compreendidos, estudos sugerem que os efeitos dos factores anteriormente descritos podem ser mediados por vias de sinalização intracelulares específicas, nomeadamente a via do inibidor  $\kappa\beta$  (I  $\kappa\beta$ )/Factor Nuclear  $\kappa\beta$  (NF  $\kappa\beta$ ) e da cínase NH2-terminal c-Jun (JNK) (Fig.2). Em indivíduos obesos está aumentada a actividade da via do I  $\kappa\beta$ /NF  $\kappa\beta$  e da JNK, não só como resposta às adipocinas mas também por aumento da concentração dos AGL e do stress oxidativo, sendo estas vias as principais responsáveis pela manutenção do estado de insulino-resistência<sup>18</sup>.

Em condições normais o NF  $\kappa\beta$  está associado ao I  $\kappa\beta$  no citoplasma. Aquando da activação de factores inflamatórios, a cínase do I  $\kappa\beta$  fosforila o I  $\kappa\beta$ , degradando-o<sup>27</sup>.

FIGURA 2: Vias moleculares em resposta ao stress e à inflamação associadas à acção da insulina



Os IRS-1 e IRS-2 são moléculas de transdução de sinal cruciais na acção da insulina. A activação do JNK por vias de sinalização de citocinas, produtos lipídicos, ROS ou através do IRE1 durante o stress no RE promove a fosforilação do resíduo de serina dos IRS-1 e 2, e consequentemente inibe a sinalização da insulina. Outros sinais envolvendo por exemplo a PERK, também activam o IKK e inibem a acção da insulina através de fenómenos de transcrição mediados pelo NF- $\kappa$ B. O JNK também regula a transcrição através do AP-1. Os fenómenos de transcrição activados por lipídeos são mediados por receptores hormonais nucleares como PPAR e LXR. A actividade biológica dos lipídeos é regulada por FABPs que funcionam como chaperonas. As mitocôndrias e o RE podem contribuir para a produção de ROS. A ATF6 e a XBP1 são reguladores importantes da função do RE e das suas respostas adaptativas<sup>11</sup>.

Na sequência da activação do NF  $\kappa$ B pela cínase I $\kappa$ B (IKK), este desloca-se para o núcleo aumentando a transcrição de genes que promovem o aumento da expressão de marcadores inflamatórios (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e PKC), o recrutamento de monócitos e a sua diferenciação em macrófagos<sup>22,28</sup>. O aumento marcado da actividade da JNK no tecido adiposo e hepático, também apresenta um importante papel na inter-relação entre a obesidade e a insulino-resistência<sup>29</sup>. Intervenções para bloquear a actividade da JNK em modelos animais de obesidade e diabetes melhoraram a homeostasia da glicose sistémica, a sensibilidade à insulina e a aterosclerose, sugerindo que a inibição da JNK pode ser uma terapêutica promissora para a diabetes<sup>12</sup>. Metabolitos tóxicos intracelulares resultantes do metabolismo dos AGL (acil-Coa, diacilglicerol e ceramidas) e do triacilglicerol promovem insulino-resis-



tência por diminuição da activação da via de sinalização da insulina e de múltiplas etapas do metabolismo da glicose<sup>30</sup>. Os AGL circulantes também provocam inflamação e insulino-resistência por activação directa de receptores de membrana, tais como os receptores *toll-like 4*. Em indivíduos obesos e com diabetes *mellitus* tipo 2 há *upregulation* destes receptores relacionados com a activação da via I  $\kappa\beta$ /NF  $\kappa\beta$ <sup>31</sup>. Para além disso, os AGL estimulam a formação de colagénio que integra a placa aterosclerótica<sup>27</sup>.

## INSULINO-RESISTÊNCIA, SÍNDROME METABÓLICA E DCV

A insulino-resistência está associada a um conjunto de alterações metabólicas e cardiovasculares (dislipidemia, hipertensão arterial, obesidade, entre outras), componentes da síndrome metabólica que constituem cada um deles um factor de risco independente para DCV. Diversos estudos prospectivos demonstraram uma associação entre a insulino-resistência e uma rápida progressão da DCV em doentes com diabetes *mellitus* tipo 2, bem como em indivíduos não diabéticos<sup>27</sup>.

A insulina é um potente factor de crescimento<sup>32</sup> cujos efeitos são mediados pela via da cínase da proteína activadora do mitogénio (MAP)<sup>33</sup>. Em indivíduos diabéticos e obesos, a sinalização da insulina está diminuída por inibição da fosforilação do resíduo de tirosina do IRS-1, com consequente diminuição/aumento da activação da cínase do PI3/cínase da MAP, respectivamente. O aumento da expressão da cínase da MAP activa as vias inflamatórias do I  $\kappa\beta$ /NF  $\kappa\beta$  e da JNK<sup>28</sup>. Provoca também proliferação das células do músculo liso vascular (VSMCs), aumento da formação de colagénio e produção excessiva de factores de crescimento/citocinas inflamatórias, que contribuem para uma rápida progressão da aterosclerose<sup>27</sup>.

O óxido nítrico (NO) é um potente vasodilatador e agente anti-aterogénico. A insulina desempenha um papel importante na

activação da síntese do NO, por activação da via da cínase do PI3. Assim, em indivíduos com insulino-resistência a produção de NO está diminuída, resultando em disfunção endotelial e activação de múltiplas vias envolvidas na aterogénese<sup>27</sup>. Estudos realizados em VSMCs demonstraram que quando a via da cínase do PI3 é inibida, há diminuição da produção de NO com consequente aumento da susceptibilidade destas células aos efeitos dos factores de crescimento entre os quais factor de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), factor de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crescimento epidérmico (EGF) e angiotensina II. A sensibilização destas células para a angiotensina II assume particular importância, uma vez que a hiperinsulinemia duplica a capacidade da angiotensina II activar a via do I  $\kappa\beta$ /NF  $\kappa\beta$  e provoca fosforilação do resíduo de serina do IRS-1<sup>27</sup>. Verifica-se que as alterações na via de sinalização da insulina promovem não apenas a diminuição da utilização de glicose pelas células, mas também hipertensão arterial e aterosclerose<sup>32</sup>, contribuindo para a elevada incidência de DCV em doentes com diabetes *mellitus* tipo 2<sup>27</sup>.

## IMPLICAÇÕES TERAPÊUTICAS

Devido à relação próxima verificada entre a insulino-resistência e a hiperinsulinemia, a utilização de fármacos que aumentem ou melhorem a acção intracelular da insulina e agentes que reduzam a hiperglicemia<sup>34</sup> constituem uma importante arma terapêutica. As potenciais terapêuticas estão associadas a vias mediadas por peptídeos e lipídeos (Fig.3).

Quanto às vias mediadas por peptídeos, os alvos mais óbvios são as citocinas, as quimiocinas e os seus respectivos receptores<sup>12</sup>. O TNF- $\alpha$  pode induzir insulino-resistência, contudo os estudos que têm como objectivo avaliar se o bloqueio do TNF- $\alpha$  com mAbs (anticorpos monoclonais) melhora a

FIGURA 3: Alvos terapêuticos: vias mediadas por lipídeos e por peptídeos e “organelle therapy”.



sensibilidade à insulina têm sido inconclusivos até ao momento<sup>28</sup>. Outra abordagem possível seria actuar a nível mais central, não na produção de moléculas singulares, mas sim numa cadeia de respostas, cujos melhores exemplos são as vias JNK e IKK. Os salicilatos não acetilados, tais como salicilato de sódio, salsalato e trilisato, inibem o NF- $\kappa$ B, o que se presume estar directamente ligado com a inibição de IKK $\beta$ <sup>28</sup>. Altas doses destes salicilatos podem melhorar o metabolismo da glicose tanto em ratinhos obesos como em humanos diabéticos<sup>35</sup>. Por outro lado, a segmentação da JNK usando um peptídeo inibidor (pequenas moléculas sintéticas inibidoras ou “*RNA interference (RNA-i)-based technologies*”) tem demonstrado resultados tais como o aumento da acção da insulina em vários modelos animais<sup>36</sup>. O desenvolvimento destas pequenas moléculas que possam manter a eficácia quando administradas por via oral tem sido um desafio que continua a constituir uma enorme barreira ao potencial terapêutico da segmentação da JNK em humanos.

Entre as vias mediadas por lipídeos, o principal exemplo de sucesso terapêutico são as tiazolidinedionas (TZDs), que aumentam a sensibilidade à insulina e reduzem a hiperglicemia em doentes com diabetes *mellitus* tipo 2. O seu principal mecanismo de acção decorre da ligação e activação do receptor gama activado de proliferação dos peroxisso-

mas (PPAR $\gamma$ ) que induz a expressão de produtos de genes com funções na diferenciação adipocitária<sup>28</sup>. Este facto promove no adipócito a lipogénese, aumenta a glicogénese e a utilização periférica de glicose, podendo ainda reduzir a produção hepática de glicose<sup>34</sup>. Para além dos adipócitos, macrófagos e outras células do sistema imune, hepatócitos, células endoteliais, e VSMCs também expressam PPAR $\gamma$ . Ao nível da acção anti-inflamatória e do risco cardiovascular, as TZDs inibem a libertação de adipocinas pró-inflamatórias, pró-trombóticas e aterogénicas do tecido adiposo e promovem a redistribuição da gordura visceral para depósitos subcutâneos. A análise de todos os estudos duplamente cegos com placebo e pioglitazona realizados nos Estados Unidos da América demonstraram uma redução significativa dos eventos cardiovasculares, bem como da espessura das camadas íntima e média das artérias carótidas e do volume da placa aterosclerótica coronária. Os benefícios clínicos das TZDs podem depender em parte dos efeitos anti-inflamatórios que funcionam em conjunto com os mecanismos clássicos de regulação da glicose e dos lipídeos para melhorar a sensibilidade à insulina, promover a remodelação plaquetária e, potencialmente, reduzir eventos cardiovasculares<sup>28</sup>.

Uma verdadeira mudança de paradigma seria uma abordagem “*organelle therapy*”. Como os defeitos mitocondriais e as disfunções do retículo endoplasmático (RE) são relevantes na activação de várias vias inflamatórias importantes, a correcção química das suas deficiências funcionais poderia resultar em novas formas de tratamento para interromper o ciclo vicioso entre as cascatas metabólicas e inflamatórias, recuperar a acção da insulina e/ou corrigir as disfunções metabólicas<sup>12</sup>.

Assim, vários estudos preliminares já foram realizados mas, provavelmente, a criação de uma “nova homeostasia” requiera a modificação de mais do que um alvo, havendo ainda um longo caminho a percorrer nesta área.

## CONCLUSÕES

A insulino-resistência é um estado patológico comum em que várias citocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\beta$  e IL-6), a via IKK $\beta$  de activação do NF- $\kappa$ B e a via de sinalização da JNK estão envolvidas. Existe uma relação estreita entre o sistema imunológico, a insulino-resistência e a obesidade, um estado de inflamação crónica de baixo grau. A libertação de adipocinas pelo tecido adiposo evidencia a sua importância como órgão endócrino na patologia da insulino-resistência. A relação da insulino-resistência com a síndrome metabólica é evidente não apenas em termos patológicos, mas pelo sucesso terapêutico de fármacos que aumentam a sensibilidade à insulina na diminuição de eventos cardiovasculares. O estudo cada vez mais aprofundado das vias de sinalização da insulina e da actividade metabólica do tecido adiposo poderá contribuir para aumentar o sucesso a nível terapêutico desta síndrome.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pérez-Martin A, Raynaud E, Mercier J. Insulin resistance and associated metabolic abnormalities in muscle: effects of exercise. *Obes Rev.* 2001; 2(1):47-59.
2. Ryan AS. Insulin resistance with aging: effects of diet and exercise. *Sports Med.* 2000; 30(5):327-46.
3. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 1988; 37:1595-1607.
4. Grundy S, Cleeman J, Daniels S, Donato K, Eckel R, Franklin B, Gordon D, Krauss R, Savage P, Smith S, Spertus J, Costa F. Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome. *Circulation.* 2005; 112:2735-2752.
5. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature.* 2001; 409(6818):307-12.
6. York D, Bouchard C. How obesity develops: insights from the new biology. *Endocrine.* 2000; 13(2):143-54.
7. Goodyear LJ, Kahn BB. Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. *Annu Rev Med.* 1998; 49:235-61.
8. Zierath JR. Invited review: Exercise training-induced changes in insulin signaling in skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2002; 93(2):773-81.
9. Krook A, Wallberg-Henriksson H, Zierath JR. Sending the signal: molecular mechanisms regulating glucose uptake. *Med Sci Sports Exerc.* 2004; 36(7):1212-7.
10. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2005; 115(5):911-9.
11. Costa JV, Duarte JS. Tecido adiposo e adipocinas. *Acta Med Port.* 2006; 19:251-56.
12. Hotamisligil G. S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 2006; 444:860-67.
13. Kahn S, Hull R, Utzschneider K. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature.* 2006; 444(7121):840-46.
14. Burén J, Eriksson JW. Is insulin resistance caused by defects in insulin's target cells or by a stressed mind? *Diabetes Metab Res Rev.* 2005; 21(6):487-94.
15. Tilg H, Moschen AR. Adipocytocines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol.* 2006; 6(10):772-83.
16. Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ,

- Caron M, Vidal H, Capeau J, Feve B. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw.* 2006; 17(1):4-12.
17. Broedl U, Lehrke M, Parhofer K, Rabe K. Adipokines and Insulin Resistance. *Mol Med.* 2008; 14:741-751.
  18. Antuna-Puente B, Feve B, Fellahi S, Bastard JP. Adipokines: The missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes Metab.* 2008; 34(1):2-11.
  19. Denison FC, Roberts KA, Barr SM, Norman JE. Obesity, pregnancy, inflammation and vascular function. *Reproduction.* 2010; 1-38 [Epub ahead of print].
  20. Ramalho R, Guimarães C. Papel do tecido adiposo e dos macrófagos no estado de inflamação crónica associada à obesidade. *Acta Med Port.* 2008; 21:489-96.
  21. Glass CK, Olefsky JM. Macrophages, Inflammation, and Insulin Resistance. *Annu Rev Physiol.* 2010; 72:219-46.
  22. King GL. The Role of Inflammatory Cytokines in Diabetes and Its Complications. *J Periodontol.* 2008; 79(8 Suppl):1527-34.
  23. Alexandraki K, Piperi C, Kalofoutis C, Singh J, Alaveras A, Kalofoutis A. Inflammatory Process in Type 2 Diabetes The Role of Cytokines. *Ann N Y Acad Sci.* 2006; 1084:89-117.
  24. Donath MY, Böni-Schnetzler M, Ellingsgaard H, Ehses JA. Islet inflammation impairs the pancreatic beta-cell in type 2 diabetes. *Physiology.* 2009; 24:325-331.
  25. Boni-Schnetzler M, Boller S, Debray S, Bouzakri K, Meier DT, Prazak R, Kerr-Conte J, Pattou F, Ehses JA, Schuit FC, Donath MY. Free fatty acids induce a proinflammatory response in islets via the abundantly expressed interleukin-1 receptor I. *Endocrinology.* 2009; 150(12):5218-29.
  26. Maedler K, Schumann DM, Sauter N, Ellingsgaard H, Bosco D, Baertschiger R, Iwakura Y, Oberholzer J, Wollheim CB, Gauthier BR, Donath MY. Low concentration of interleukin-1beta induces fllice-inhibitory protein-mediated beta-cell proliferation in human pancreatic islets. *Diabetes.* 2006; 55(10):2713-22.
  27. DeFronzo R. A. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. *Diabetologia.* 2010; 53:1270-1287.
  28. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2006; 116:1793-1801.
  29. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Görgün CZ, Uysal KT, Maeda K, Karin M, Hotamisligil GS. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature.* 2002; 420(6913):333-6.
  30. Belfort R, Mandarino L, Kashyap S, Wirfel K, Pratipanawatr T, Berria R, DeFronzo RA, Cusi K. Dose response effect of elevated plasma FFA on insulin signaling. *Diabetes.* 2005; 54:1640-1648.
  31. Reyna SM, Ghosh S, Tantiwong P, Meka CS, Eagan P, Jenkinson CP, Cersosimo E, DeFronzo RA, Coletta DK, Sriwijitkamol A, Musi N. Elevated toll-like receptor 4 expression and signaling in muscle from insulinresistant subjects. *Diabetes.* 2008; 57:2595-2602.
  32. Coletta D, Balas B, Chavez AO, Baig M, Folli F, Tripathy D, Mandarino LJ, Cornell JE, DeFronzo RA, Jenkinson CP. Effect of acute physiological hyperinsulinemia on gene expression in human skeletal muscle in vivo. *Am J Physiol Endo Metab.* 2008; 294:E910-E917.
  33. Wang L, Goalstone ML, Draznin B. Molecular mechanisms of insulin resistance that impact cardiovascular biology. *Diabetes.* 2004; 53:2735-2740.
  34. Kobayashi M. Effects of current therapeutic interventions on insulin resistance. *Diabetes Obes Metab.* 1999; 1(8 Suppl):S32-S40.
  35. Yuan M, Konstantopoulos N, Lee J, Hansen L, Li ZW, Karin M, Shoelson SE. Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikk $\beta$ . *Science.* 2001; 293:1673-77.
  36. Kaneto H, Kaneto H, Nakatani Y, Miyatsuka T, Kawamori D, Matsuoka TA, Matsuhisa M, Kajimoto Y, Ichijo H, Yamasaki Y, Hori M. Possible novel therapy for diabetes with cell-permeable JNK inhibitory peptide. *Nat Med.* 2004; 10:1128-32.



# RELATÓRIO DE ACTIVIDADES DA SPEDM

ANO 2011

---

## **Caro associada/o da SPEDM:**

*A Direcção da Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo cumpre o dever estatutário de apresentar o relatório de actividades relativo ao ano 2011. Será apresentado, discutido e votado na próxima Assembleia Geral da SPEDM a realizar no dia 27 de Janeiro de 2012 às 18:30 horas no decurso do XIII Congresso Português de Endocrinologia.*

*Neste último relatório de actividades a actual direcção, agradece toda a colaboração recebida dos associados visando a prossecução dos objectivos da SPEDM e enaltece o espírito de colaboração, competência, empenho e entreajuda que reinou entre os seus membros, secretariado e as empresas que têm assegurado a contabilidade e a logística dos congressos anuais.*

## **1. REUNIÕES DA DIRECÇÃO DA SPEDM**

A Direcção reuniu com regularidade, realizando com a comparência da totalidade ou da maioria dos seus membros, 5 reuniões durante o ano de 2011. Durante o ano foram feitos contactos quase quotidianos entre os membros da Direcção, o Secretário-geral e o Tesoureiro que também se deslocaram várias vezes à sede para resolver assuntos do interesse da SPEDM.

## **2. SÓCIOS E SEDE**

Temos actualmente 485 sócios dos quais 13 são sócios honorários.  
Foram admitidos 38 novos sócios em 2011.  
Pediram demissão 3.  
Com quotas em atraso (anteriores a 2012) encontram-se 201 sócios.  
Como tem sido referido em relatórios anteriores, o facto de termos uma sede com secretariado permanente é de grande importância no funcionamento da Direcção e na organização da SPEDM. Dispomos de instalações amplas que estão ao dispor dos sócios e/ou grupos de estudo para efectuar reuniões de trabalho.

### 3. XII CONGRESSO PORTUGUÊS DE ENDOCRINOLOGIA, 62ª REUNIÃO ANUAL DA SPEDM, TROIA, 27-30 DE JANEIRO DE 2011

Realizámos em 2011 o XII Congresso Português de Endocrinologia e a 62ª Reunião Anual da SPEDM. Contámos com a presença de quase todos os endocrinologistas portugueses e também de médicos de outras especialidades com particular relevo de internistas e médicos de família.

Pensamos que o programa teve muitos pontos de interesse para todos os endocrinologistas. A realização e inclusão do 2º Simpósio SPEDM/SEEN (Sociedade Espanhola de Endocrinologia) no programa do XII Congresso deu continuidade à tradição de realizar reuniões conjuntas com outras sociedades tendo como objectivo partilhar experiências e desenvolver contactos pessoais com colegas de grande prestígio na endocrinologia.

Começámos com dois cursos práticos e com a apresentação dos resultados finais do Estudo do Aporte do Iodo em Portugal. Nesta apresentação contámos na mesa com a presença do Sr Director Geral de Saúde, Dr Francisco George. Fizeram parte do programa oito sessões para apresentação das comunicações livres, seis conferências com temas de grande actualidade como “Glicemia, IGF1 e cancro”; “Cardiovascular Risk in women with Polycystic Ovary Syndrome: Causes and Consequences”; “Perinatal programming and the metabolic syndrome», entre outros.

A diabetes e a síndrome metabólica continuaram a ter um peso importante, No Congresso foi apresentado o II Relatório de Consenso Diabetes e Gravidez, da iniciativa da SPEDM com a colaboração das Sociedades afins, que actualizou a metodologia do diagnóstico da Diabetes Gestacional e da terapêutica para a terapêutica e monitorização das grávidas com diabetes. Tivemos seis simpósios, seis encontros com o especialista, um Hot Topic” «Evolving classification systems on neuroendocrine tumours: implications on clinical practice». Foram apresentadas 123 comunicações originais sob a forma de Comunicações Oraís e Cartazes. Tal como em anos anteriores foram feitas as visitas de discussão dos cartazes que este ano decorreram de um modo mais satisfatório atendendo às dimensões do Centro de Congressos.

Realizou-se a Assembleia Geral onde a Direcção apresentou o relatório do seu segundo ano de mandato e o orçamento para 2011. Realizou-se também a Assembleia do Colégio de Endocrinologia da Ordem dos Médicos.

Para o êxito da reunião muito contribuiu o esforço e trabalho dos colegas da Comissão Organizadora. Para estes colegas propomos a aprovação de um voto de louvor.

Foram atribuídos os seguintes prémios:

#### **PRÉMIO DE INVESTIGAÇÃO CLÍNICA – 1º Prémio**

##### **DEPRIVAÇÃO PATERNA PRECOCE E RISCO DE ADENOMAS HIPOFISÁRIOS**

Sobrinho LG, Duarte JS, Paiva I, Gomes L pelo GETH, e Vera Vicente e Pedro Aguiar pela EUROTRIALS.

#### **E 1 MENÇÃO HONROSA:**

##### **A ACTIVIDADE DA PARAOXONASE 1 COMO MARCADOR DE RISCO CARDIOMETABÓLICO NA DIABETES TIPO 2 – INFLUÊNCIA DA PRÁTICA MODERADA DE EXERCÍCIO FÍSICO E DE HÁBITOS TABÁGICOS**

Filipa Mascarenhas Melo, E Teixeira de Lemos, D Marado, F Palavra, J Oliveira, P Garrido, J Sereno, S Baptista, G Gonçalves, A Coelho, F Teixeira, F Reis

#### **PRÉMIO DE INVESTIGAÇÃO BÁSICA – 1º Prémio ex-aequo**

##### **UM NOVO MECANISMO MOLECULAR PARA A REGULAÇÃO DO TRANSPORTADOR DE GLICOSE GLUT1**

Ana Isabel Mendes, Paulo Matos, Sónia Moniz and Peter Jordan

E

##### **INIBIÇÃO DA DPP-4 COM BAIXAS DOSES DE SITAGLIPTINA: EFEITOS NO CONTROLO DA GLICEMIA E DAS LESÕES PANCREÁTICAS NUM MODELO ANIMAL DE DIABETES TIPO 2**

Edite Teixeira de Lemos, C Mega, H Vala, R Fernandes, J Oliveira, F Mascarenhas-Melo, R Pinto, F Teixeira, F Reis

**E 2 MENÇÕES HONROSAS:****EXPRESSÃO DE MICRORNAS COMO MARCADORES DE INVASÃO NOS GONADOTROFINOMAS: RESULTADOS PRELIMINARES**

Filipe Da Mota, Paula Soares, Ricardo Celestino, Rune Matthiessen, João Vinagre, Joana Torres, Dário Ligeiro, Patrícia Pereira, Daniela Seixas, Sérgio Castro, Josué Pereira, Elsa Fonseca, Davide Carvalho

E

**CONHECER MELHOR O CORAÇÃO DIABÉTICO: VIAS DE SOBREVIVÊNCIA E DE MORTE NA RESPOSTA À ISQUÊMIA**

Crisóstomo J; Matafome P.; Santos-Silva D.; Rodrigues L.; Sena C.; Gonçalves L.; Pereira P.; Seica R.

**PRÉMIO DE CASUÍSTICA****NÍVEIS DE 25OHD NUMA AMOSTRA DE DOENTES COM HIPERPARATIROIDISMO PRIMÁRIO.**

Helder Simões, Paula Font, Deolinda Madureira, Valeriano Leite

**E 2 MENÇÕES HONROSAS:****PARAGANGLIOMAS, CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E FUNCIONAL DE 40 CASOS**

Rita Santos, Rita Domingues, Pedro Montalvão, Miguel Magalhães, Maria João Bugalho

E

**CARCINOMAS PAPILARES DESCOBERTOS DE FORMA INCIDENTAL APÓS TIROIDECTOMIA TOTAL POR PATOLOGIA BENIGNA**

Teixeira S, Silva AM, Amaral C, Freitas C, Carvalho A, Teixeira MJ, Canha A, Moreira da Costa A, Borges F

#### **4. XIII CONGRESSO PORTUGUÊS DE ENDOCRINOLOGIA, 63ª REUNIÃO ANUAL DA SPEDM, COIMBRA, 26-29 DE JANEIRO DE 2012**

Vamos realizar em Janeiro de 2012 o XIII Congresso Português de Endocrinologia e a 63ª Reunião Anual da SPEDM. Contamos com a presença de todos os endocrinologistas portugueses mas também de médicos de outras especialidades com particular relevo de internistas, cardiologistas e médicos de família.

Pensamos que o programa, terá muitos pontos de interesse para todos os endocrinologistas. A realização e inclusão do 3º Simpósio SPEDM/SEEN (Sociedade Espanhola de Endocrinologia) no programa do XIII Congresso dá continuidade à tradição de realizar reuniões conjuntas com os nossos colegas ibéricos, com o objectivo de partilhar experiências e desenvolver contactos pessoais com colegas de prestígio na endocrinologia.

Devemos salientar a participação da Indústria Farmacêutica, sem a qual não seria possível a realização deste Congresso, apesar das dificuldades da conjuntura sócio económica actual.

Neste Congresso a Direcção irá propor para Sócios honorários os seguintes associados que já serviram na direcção da SPEDM com mérito reconhecido: Dr. Raul Magalhães Faria, Dr. Fernando Malheiro, Prof. José Luís Medina e Dr. Serafim Rosas.

## 5. GRUPOS DE ESTUDO DA SPEDM

Tem a SPEDM 10 Grupos de Estudo (GE): GE dos Tumores da Supra-Renal, GE de Cirurgia Endócrina, GE da Diabetes Mellitus, GE das Dislipidemias, GE de Endocrinologia, Diabetes, Metabolismo e Gravidez, GE da Insulino-Resistência, GE da Osteoporose e Doenças Ósseas Metabólicas, GE da Tiróide, GE dos Tumores da Hipófise e o GE dos Tumores Neuro-Endócrinos.

A actividade dos grupos de estudo é muito importante para a nossa Sociedade continuando a existir uma heterogeneidade quanto à actividade desenvolvida. Deve ser destacado o trabalho do GE de Tumores da Hipófise, DEPRIVAÇÃO PATERNA PRECOCE E RISCO DE ADENOMAS HIPOFISÁRIOS, premiado no XII Congresso e publicado na revista *Pituitary* em 2011. Uma palavra de apreço para os dois grupos mais jovens: O GE dos tumores neuro-endócrinos que desenvolveu um programa para o registo nacional destes tumores, com o apoio do Laboratório Ipsen. Em seu nome a direcção da SPEDM fechou recentemente o contrato com a empresa que vai ajudar no arranque do 1º ano do registo. O GE dos tumores da supra-renal, esforçou-se por fazer o levantamento dos feocromocitomas, cujos resultados serão apresentados no XIII Congresso.

Há grupos de estudo com grande actividade em termos da formação dos seus membros, promovendo trabalhos cooperativos e reuniões de consenso, enquanto outros não desenvolveram actividades significativas e cuja continuidade deverá ser objecto de ponderação.

Continuam os Grupos de Estudo a dispor até 5000 euros/ano para suporte das suas actividades. Para além disso foi atribuída a primeira Bolsa anual para apoiar um projecto de investigação nacional.

## 6. REVISTA DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE ENDOCRINOLOGIA, DIABETES E METABOLISMO

A Prof.<sup>a</sup> Helena Cardoso continuou com a função de editora da revista e manteve o seu grande empenho na continuidade e crescimento deste projecto. A revista manteve uma periodicidade semestral (apesar de termos tido dificuldades em termos da angariação de publicidade que assegure uma certa sustentabilidade das suas edições) mas conseguimos assegurar o objectivo principal da continuidade e mantivemos a sua distribuição. Continuamos empenhados em reunir as condições para que seja indexada no *Index Medicus*.

Renovamos pois o apelo para colaboração activa dos sócios da SPEDM, para que contribuam com artigos originais, artigos de revisão e casos clínicos.

Os conteúdos do *site* da SPEDM não satisfazem completamente a Direcção. A sua renovação e diversidade é sempre uma preocupação, mas temos recebido contribuições de muito poucos associados, para além da Direcção. Não conseguimos envolver o corpo redactorial da revista nesta tarefa como esperávamos e como sucede com outras sociedades científicas. Mesmo assim tivemos 210 132 acessos à página no ano de 2011, um acréscimo de 27 500 relativamente a 2010. Para esta subida pode ter contribuído o número crescente de cibernautas inscritos para receber as *newsletters* (1982 no total). Este número elevado colocou-nos recentemente em dificuldades, pois a distribuição das *newsletters* ocupa o servidor demasiado tempo e tem de ser feita manualmente por subgrupos.



## 7. ACESSO A UMA BIBLIOTECA VIRTUAL DE TODA AS REVISTAS MÉDICAS

Durante o ano de 2009 a Direcção obteve um patrocínio dos Laboratórios Takeda para possibilitar o acesso a toda a informação online através dos serviços de uma empresa especializada – a INFOCIÊNCIA. Disponibilizámos o acesso a uma Biblioteca virtual de todas as revistas médicas em texto integral aos sócios interessados em informação científica actualizada e completa. No 1º ano do projecto disponibilizámos este serviço para 50 sócios, mas apenas metade se inscreveu. O contrato com a Infociência não foi renovado mas esta empresa permitiu ainda em 2011 o acesso ao serviço por mais alguns sócios da SPEDM que o quiseram utilizar.

## 8. BOLSAS DE ESTUDO

- 8.1. **A Bolsa da SPEDM para Projectos de Investigação**, foi atribuída pelo Juri nomeado pela Direcção da SPEDM, ao projecto *Evaluation of CDKN3, ESRP1 and ESRP2 Genes as potential new targets for the treatment of anaplastic thyroid carcinomas* submetido por Branca Cavaco, Rita Santos, Jaime Pita e Joana Silva
- 8.2. **A BOLSA Prof. Edward Limbert** foi atribuída ao único trabalho submetido intitulado *Identification of novel genes associated with sporadic medullary thyroid carcinoma using the microarray technology* dos autores Branca Cavaco, Margarida Moura e Valeriano Leite que o Juri considerou merecedor do Prémio.

## 9. BOLSAS DE ESTÁGIO E BOLSAS PARA APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS CIENTÍFICOS NO ESTRANGEIRO

Foram atribuídas 3 Bolsas de Estágio em 2011 no valor total de 9000€ e 1 Bolsa para apresentação de trabalhos que poderá ir até 1500 €.

## 10. A RESPONSABILIDADE E A INTERVENÇÃO SOCIAL DA SPEDM

Este verão a SPEDM foi convidada pela Direcção-Geral da Saúde, a colaborar com o Departamento da Qualidade na Saúde, na elaboração de muitas das dezenas de Normas de Orientação Clínica que estiveram em discussão pública até ao final de Dezembro. A Ordem dos Médicos está envolvida no projecto e o Bastonário defende a sua implementação. Colaborámos na Norma sobre Insulinoterapia na Diabetes Mellitus tipo 2 e na Norma sobre Prescrição e determinação da hemoglobina glicada - A1c (ambas em colaboração com a SPD). Também na Norma sobre a Prescrição de Exames Laboratoriais para Avaliação e Monitorização da Função Tiroideia. Também colaborámos na Norma para a Abordagem Terapêutica Farmacológica na Diabetes tipo 2 tendo a Presidente sido representada nesta função pela Dra. Dircea Rodrigues.

A pedido da Direcção da SPEDM, foi realizada uma reunião em Novembro na DGS, com vista à publicação de Normas sobre a suplementação de iodo nas grávidas (sob a forma de comprimidos) e na população em geral, através da introdução de sal iodado cuja aquisição deverá ser feita a nível dos locais de venda de produtos alimentares a retalho. Espera-se a implementação da Norma em 2012.

Igualmente junto ao Infarmed a SPEDM, deu a conhecer os problemas inerentes à prescrição da L-tiroxina genérica e o aumento de custo gerado pela necessidade de exames complementares mais frequentes para acerto da dose. Igualmente está em curso uma solicitação para autorização de venda de Hidrocortisona oral nas farmácias Hospitalares.

Entretanto o protocolo de parceria com a RTP2 para o programa Sociedade Civil continuou em vigor; entrevistamos em 3 debates. A Direção agradece aos colegas que se disponibilizaram para ir aos estúdios, novamente em Lisboa, participar em direto.

Outra parceria para que fomos convidados a integrar em 2009 promovida pelo Alto Comissariado da Saúde foi no desenvolvimento de materiais de vídeo para serem projectados nas salas de espera das Unidades de Saúde do SNS. Houve dificuldades no desenvolvimento deste projecto ficando aberto a hipótese de continuidade para o futuro.

A Sra. Prof<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro esteve presente nas várias reuniões promovidas pelo Alto Comissariado da Saúde para a Concepção de Referenciais de Competências e de formação para o domínio da diabetes.

A SPEDM foi convidada para participar numa conferência sobre a “Declaração para uma vida melhor” que foi apresentada às sociedades científicas e associações de doentes pela Direcção Geral de Saúde em Fevereiro. Esta iniciativa surge na sequência do projecto de Resolução das Nações Unidas sobre Prevenção e Controlo das Doenças Crónicas.

De novo a SPEDM, foi uma das Sociedades científicas que integraram a realização do 5º Fórum Nacional da Diabetes, que teve lugar dia 19 de Novembro em Santarém e reuniu cerca de duas mil pessoas. O Fórum mantém-se como um espaço de celebração do Dia Mundial da Diabetes.

## 11. PARTICIPAÇÃO DA DIRECÇÃO EM ACTIVIDADES INSTITUCIONAIS NACIONAIS (16)

- O Sr. Dr. Sequeira Duarte representou a Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro na Reunião APIFARMA com Sociedades e Associações Médicas, 17 Janeiro de 2011, Lisboa;
- O Sr. Dr. Sequeira Duarte representou a Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro na Sessão Inaugural do XXXII Congresso Português de Cardiologia, 8 de Abril, Centro de Congressos de Lisboa;
- O Sr. Dr. Sequeira Duarte representou a Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro na reunião de apresentação às Sociedades Científicas pela Direcção Geral de Saúde da “Declaração para uma vida melhor”, 3 de Março 2011, Parque Infarmed; A Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro esteve presente nas IV Jornadas de Endocrinologia e Diabetes do Hospital Curry Cabral, 12 e 13 de Maio de 2011, Vip Grande Lisboa Hotel;
- A Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro esteve presente no 6º Dia D.E.O., 26 e 27 de Maio de 2011, Novotel, Setubal;
- A Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro esteve presente nas 8as Jornadas de Endocrinologia do Hospital Militar Principal, 15 e 16 de Março de 2011;
- A Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro esteve presente nos eventos XVII Curso Pósgraduado de Endocrinologia ,Diabetes e Metabolismo , V Curso de Sexologia Clínica, Cursos de Auto-vigilância, entrevista motivacional, nutrição clínica e insulino-terapia na Diabetes Tipo 2 e Curso avançado de endocrinologia- 24 a 26 de Março de 2011, Porto;
- A Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro esteve presente no 53 Congresso da Sociedade Espanhola de Endocrinologia e Nutrição, 18 a 20 de Maio de 2011, Santiago de Compostela;
- O Sr. Dr. Sequeira Duarte representou a Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro no X Congresso de Nutrição e Alimentação/II Congresso Ibero-Americano de Nutrição, 12 e 13 de Maio de 2011, Centro de Congressos de Lisboa;
- A Sra. Prof.<sup>a</sup> Helena Cardoso representou a Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro no Seminário Comemorativo do Dia Internacional da Tiróide “A Tiróide e suas doenças”, 25 de Maio de 2011, IPATIMUP;
- O Sr. Dr. Celestino Neves representou a Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro na Cerimónia de Abertura das II Jornadas de Diabetologia, 2 de Julho de 2011, Hotel Solverde, Chaves;

- O Sr. Dr. Sequeira Duarte representou a Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro na reunião nacional “Estratégia Nacional para a qualidade na saúde-2<sup>a</sup> apresentação pública de progresso”, dia 29 de Junho de 2011, Fundação Calouste Gulbenkian;
- O Sr. Dr. Sequeira Duarte representou a Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro na Reunião de Outono do Grupo de Estudo da Insulino-resistência da SPEDM “A Batalha contra a Insulino-resistência”, 15 de Outubro de 2011, Hotel Villa Batalha;
- A Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro esteve presente na Cerimónia de Abertura da Iniciativa “Changing Diabetes World Tour & Village”, dia 13 Setembro de 2011 em Lisboa;
- A Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro esteve presente no XII Congresso de Endocrinologia e nutrição dos Açores, XIII Jornadas de Diabetologia e IV Simpósio Satélite, 25 a 28 de Outubro de 2011;
- A Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro esteve presente no 5º Forum Nacional da Diabetes, 19 de Novembro de 2011, Santarém;
- A Sra. Prof.<sup>a</sup> Helena Cardoso representou a Sra. Prof.<sup>a</sup> Manuela Carvalheiro no 12º Congresso do Núcleo de estudos da Doença Vasculiar Cerebral da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna, 18 e 19 de Novembro de 2011, Porto.

## 12. PARTICIPAÇÃO DA DIREÇÃO EM REUNIÕES INTERNACIONAIS

A Sra. Prof.<sup>a</sup> Helena Cardoso esteve presente na Assembleia Geral da ESE e no encontro da Direção da ESE com as Sociedades Nacionais. Neste encontro tomou-se conhecimento da disponibilidade da ESE para continuar a participar sem custos nos Congressos das Sociedades Nacionais e fizemos os contactos para a sua concretização, para o próximo congresso.

## 13. A SPEDM DEU O SEU PATROCÍNIO DA SPEDM ÀS SEGUINTE REUNIÕES CIENTÍFICAS (21)

- 8as Jornadas de Endocrinologia do Hospital Militar Principal, 15 e 16 de Março de 2011;
- XVII Curso Pósgraduado de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, V Curso de Sexologia Clínica, Cursos de Auto-vigilância, entrevista motivacional, nutrição clínica e insulino-terapia na Diabetes Tipo 2 e Curso avançado de endocrinologia- 24 a 26 de Março de 2011, Porto;
- 15º Curso Pós-Graduado Endocrinologia Clínica do NEDO, 9 e 10 de Abril de 2011, Hotel Vila Galé, Ericeira;
- V Jornadas do Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo do Hospital de Santa Maria,- 28 a 30 de Abril de 2011,Salão Nobre da Reitoria da Universidade de Lisboa;
- IV Jornadas de Endocrinologia e Diabetes do Hospital Curry Cabral, 12 e 13 de Maio de 2011, Vip Grande Lisboa Hotel;
- 6º Dia D.E.O., 26 e 27 de Maio de 2011, Novotel, Setubal;
- X Congresso de Nutrição e Alimentação/II Congresso Ibero-Americano de Nutrição, 12 e 13 de Maio de 2011, Centro de Congressos de Lisboa;
- Seminário Comemorativo do Dia Internacional da Tiróide “A Tiróide e suas doenças”, 25 de Maio de 2011, IPATIMUP ;
- 8º Curso de Nefrologia Clínica do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia, 01 a 03 de Junho de 2011;
- 16º Curso Pós-Graduado Endocrinologia Clínica do NEDO, 18 e 19 de Junho de 2011, Hotel das Termas de Monte Real;
- 3as Jornadas Nortenhas de Diabetologia Prática em Medicina Familiar, Chaves, 1 e 2 de Julho de 2011;
- 7º Curso Avançado de Acromegalia, 24 de Setembro de 2011, Hotel Curia Palace;
- 17º Curso Pós-Graduado Endocrinologia Clínica do NEDO, 1 e 2 de Outubro de 2011, Hotel Turismo da Covilhã;

- VIII Jornadas de Endocrinologia e Diabetes do Serviço de Endocrinologia e Diabetes do Hospital Garcia de Orta, 14 e 15 de Outubro de 2011, Hotel Melia, Aldeia dos Capuchos, Costa da Caparica;
- Reunião de Outono do Grupo de Estudo da Insulino-resistência da SPEDM “A Batalha contra a Insulino-resistência”, 15 de Outubro de 2011, Hotel Villa Batalha;
- XII Congresso de Endocrinologia e nutrição dos Açores, XIII Jornadas de Diabetologia e IV Simpósio Satélite, 25 a 28 de Outubro de 2011;
- VII Curso de Actualização em Oncologia da Tiroideia-17 e 18 de Novembro de 2011 e 3º Curso de Monitorização nervosa intraoperatória- 27 e 28 de Outubro de 2011;
- 12º Congresso do Núcleo de estudos da Doença Vasculiar Cerebral da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna, 18 e 19 de Novembro de 2011, Porto;
- 5º Forum Nacional da Diabetes, 19 de Novembro de 2011, Santarém;
- XVI Jornadas de Endocrinologia e Diabetologia, XI Simpósio de Endocrinologia e Diabetes na Gravidez, 3º Curso Prático de Insulinoterapia Intensiva na Diabetes Tipo 1, 2º Curso Prático de Insulinoterapia na Diabetes Tipo 2 e V Curso Prático de Diabetes para Enfermeiros, Hotel Vila Galé Coimbra, 15 a 18 Novembro de 2011;
- 4º Simpósio de Diabetes do Algarve, 24 a 26 de Novembro de 2011, Hotel Tivoli Victória;
- 18º Curso Pós-Graduado Endocrinologia Clínica do NEDO, 26 e 27 de Novembro de 2011, Novotel, Setúbal;

Pela Direcção

***Presidente***

Manuela Carvalheiro

***Secretário-geral***

João Sequeira Duarte



# RELATÓRIO DE ACTIVIDADES DOS GRUPOS DE ESTUDO DA SPEDM

ANO 2011

## Grupo de estudo de tumores da supra-renal



Durante o ano de 2011, o GET-SR realizou três Reuniões: em 29 de Janeiro, em 7 de Maio e em 1 de Outubro, mantendo-se o mesmo Secretariado:

Dr<sup>a</sup> Isabel Paiva (HUC) (Coordenadora)  
Dr<sup>a</sup> Ana Paula Marques (H. Pedro Hispano)  
Dr<sup>a</sup> Inês Sapinho (H. Fernando Fonseca)

Na Reunião de 29 de Janeiro (decorrida no Centro de Congressos de Tróia, durante o Congresso Nacional de Endocrinologia) a Ordem de Trabalhos centrou-se na programação das actividades a desenvolver no ano de 2011.

Assim, foi definido o seguinte programa geral:

- Continuação do Registo Nacional dos Carcinomas da Supra-Renal
- Lançamento do tema “Feocromocitomas e Paragangliomas” como área a desenvolver durante o ano.

Como objectivo complementar, foi considerada a possibilidade de propor à Direcção da SPEDM a realização de um Simpósio ou Mesa Redonda sobre este tema no XIII Congresso Anual de Endocrinologia, em 2012.

Neste âmbito, seriam integrados: os resultados do levantamento casuístico dos diferentes Centros representados no GET-SR, o trabalho de caracterização genética de feocromocitomas realizado pelo Prof. Doutor Hugo Prazeres (uma das vertentes da sua Tese de doutoramento) e, se possível, a experiência dos colegas do Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas de Madrid (dado terem apresentado recentemente estudos epidemiológicos e de genética referentes a esta patologia).

Na sequência deste projecto, foi apreciada a proposta de folha de recolha de dados clínicos e laboratoriais, tendo sido feitas algumas alterações em relação aos itens considerados importantes para a caracterização futura destes casos clínicos.

Foi também sugerida, pela Dr.<sup>a</sup> Margarida Bastos, a elaboração de um “Protocolo de Actuação” no

tratamento pré-, peri- e pós-operatório destes tumores da supra-renal; foi agendado para apresentar na próxima Reunião, com objectivo de vir a ser posteriormente transformado em Documento de Consenso do GET-SR. A Dr<sup>a</sup> Márcia Alves aceitou a tarefa de preparar este documento para discussão na reunião de Maio.

A 2<sup>a</sup> Reunião (7 de Maio) realizou-se na Biblioteca do Serviço de Endocrinologia e da AGI Médica I dos HUC, tendo sido verificada a necessidade de todos intensificarem o fornecimento de dados para o trabalho comum, tendo sido decidido que quem os iria centralizar, trabalhar e apresentar no Congresso, seria a Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Marques.

Tal como programado foi apresentada a “Proposta de protocolo de tratamento dos feocromocitomas e paragangliomas – pré, intra, e pós-operatório” pela Dr<sup>a</sup> Márcia Alves. Após discussão foram sugeridas algumas alterações, e considerado o seu posterior envio a todos os membros do GET-SR para um consenso final.

Foram também apresentados, pelas colegas que participaram no 13<sup>o</sup> Congresso Europeu de Endocrinologia (Dr.<sup>as</sup> Isabel Paiva, Ana Paula Marques e Joana Couto), alguns aspectos mais relevantes ou considerados como novidades, recolhidos nas sessões dedicadas a “Tumores da Supra-renal”.

Foi colocada a hipótese de candidatura à participação no registo em implementação pelo ENS@T (European Network for the Study of Adrenal Tumours) – o “ENS@TCANCER” – com o objectivo de otimizar o nível de cuidados aos nossos doentes, assim como a eventual participação em estudos futuros a desenvolver por esse Grupo da Sociedade Europeia de Endocrinologia. Assim, dado haver elementos do GET-SR pertencentes a esta sociedade científica (nomeadamente a Coordenadora do Secretariado) foi decidido contactar a Comissão Coordenadora do ENS@T para obter cópia dos documentos a apresentar às Comissões de Ética de cada Centro.

Foram ainda discutidos dois casos clínicos, apre-

sentados respectivamente pelas Dr.ªs Ana Paula Marques e Inês Sapinho.

Na última reunião, em 1 de Outubro, foram apresentados os documentos obtidos do ENS@T (Consentimento Informado para os Doentes, e Protocolo de Estudo para apresentação às Comissões de Ética). Verificou-se a necessidade da sua tradução (de alemão e de inglês) que ficou atribuída à Dr.ª Ana Paula Marques.

Foi tomada a decisão da compra de um “disco externo” para compilação de todos os documentos gerados pelo GET-SR (Programas das Reuniões e respectivas Actas, bases de dados, trabalhos apresentados ou escritos, projectos...).

Foi dado conhecimento ao Grupo da aceitação do tema “Feocromocitomas e Paragangliomas” pela Direcção da SPEDM e pela Comissão Científica do Congresso de Endocrinologia de Janeiro 2012. Foi programada a realização de

um Simpósio conjunto da SPEDM e SEEN, com o título “Feocromocitomas e Paragangliomas: uma visão Ibérica”, em que a casuística nacional será apresentada pela Dr.ª Ana Paula Marques em nome do GET-SR.

Foi decidido fazer um reforço, através de nova abordagem aos Serviços de Endocrinologia, para maximizar a dimensão da casuística.

Ficou agendada a primeira reunião de 2012 para o dia 27 de Janeiro, em hora a definir, durante o XIII Congresso Português de Endocrinologia.

O GET-SR agradece à Direcção da SPEDM a disponibilização da Sala Douro do Centro de Congressos de Tróia para a 1ª Reunião, e à Direcção do Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo e da AGI Média I dos HUC-EPE a disponibilização da respectiva Biblioteca para a realização das duas outras Reuniões.

---

## Grupo de Estudo da Insulino- Resistência (GEIR)

*Coordenadora: Paula Freitas*

O GEIR – Grupo de Estudos da Insulino-resistência mudou de coordenador em 2011, contudo no decurso deste ano deu-se continuidade aos projectos dos anos anteriores.

O grupo conta actualmente com 23 membros, sócios da SPEDM, não só Endocrinologistas como também investigadores das ciências básicas com interesse na área da insulino-resistência.

O projecto PORMETS (PORTuguese METabolic Syndrome) coordenado pelo Dr. Luis Raposo (anterior coordenador) continuou a ser produtivo. Em Janeiro de 2011 foi apresentado no XII Congresso Português de Endocrinologia/62ª Reunião Anual da SPEDM uma comunicação intitulada: “Associação da PCR-as com a síndrome metabólica e os seus componentes na população portuguesa continental”. De referir também a apresentação do tema “Estudo PORMETS: obesidade e risco vascular” num simpósio da Reunião do GEIR 2011 e a submissão para apresentação em comunicação oral na reunião SPEDM 2012 “Obesidade no estudo PORMETS”, que aguarda decisão da Comissão Científica.

Está ainda submetido um artigo do estudo PORMETS (Prevalence of metabolic syndrome in Portugal) e estão em fase final de preparação 2 artigos (um sobre PCR e outro sobre obesidade do estudo PORMETS).

A 3ª edição on-line do Manual da Insulino-resistência continua em actualização, pela editora, Professora Doutora Helena Cardoso, e com o apoio do Laboratório Merck Serono, estando disponível no site do GEIR.

O apogeu deste ano de 2011 do GEIR consistiu na terceira reunião que se realizou no dia 15 de Outubro de 2011 na Batalha intitulada “**A Batalha contra a insulino-resistência**”.

Foi uma reunião com elevada adesão, que contou com 99 participantes, 26 dos quais intervenientes diretos (moderadores, palestrantes e elementos do painel de discussão). De salientar que os moderadores, elementos do painel de discussão e a maioria dos palestrantes da reunião eram membros do grupo. A manhã foi dedicada à investigação básica, e contamos com os trabalhos de vários investigadores nacionais, do Norte do país (Departamento de Bioquímica da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto), do Centro (Centro de Neurociências da Universidade de Coimbra) e do Sul (Departamento de Fisiologia da Universidade de Lisboa); e também à investigação clínica, tendo sido apresentados dados do PORMETS pelo Dr. Luís Raposo.

A tarde, dedicada à clínica, continuou com elevada participação na discussão dos casos clínicos apresentados na sessão interactiva com televoto

entre os apresentadores e a assistência. Houve também uma sessão onde se abordou o papel dos fármacos na insulino-resistência (metformina, liraglutida e pioglitazona) e uma conferência proferida pelo Professor Davide Carvalho sobre um tema bastante actual: "Flora intestinal e patogénese da insulino-resistência". Esta reunião contou, portanto, com um público diversificado, elevada interacção, não se restringindo apenas aos elementos do grupo ou sócios da SPEDM.

Ficam, deste modo, sintetizadas as nossas actividades referentes ao ano de 2011.

Por fim, convido todos os sócios da SPEDM a visitar o site do GEIR na internet, que se pode aceder em [www.spedm-geir.org](http://www.spedm-geir.org), onde estão também disponíveis algumas fotografias da reunião. Aproveito para desejar um próspero ano de 2012, recheado de empenho e dedicação, para que possamos dar continuidade ao nosso trabalho.

BOM 2012 para todos!  
Paula Freitas

## Grupo de Estudos da Tiróide



- Durante o ano de 2011 o GET reuniu-se três vezes. Durante estas reuniões além de serem discutidas as actividades abaixo diferenciadas, foram apresentados casos clínicos e um novo estudo de investigação – ensaio clínico de um novo inibidor da tirosina kinase em doentes com Carcinoma diferenciado da Tiróide refractário ao Iodo 131.
- O número dos membros aumentou novamente, contando com mais 2 Endocrinologistas. Dos seus membros fazem parte Endocrinologistas, Cirurgiões, Especialistas de Medicina Nuclear, Especialistas em Biologia Molecular (investigação em patologia tiroideia) e uma Nutricionista.
- Entre as actividades desenvolvidas em 2011 destacam-se:
  - A realização de um **Curso Prático de Ecografia da Tiróide** em colaboração com a SPEDM no XII Congresso Português de Endocrinologia (Troia 2011).
  - A conclusão do **estudo do rastreio do nível de iodo nas crianças em idade escolar** deu ori-

gem a um artigo científico intitulado "**Aporte de iodo nas crianças das escolas em Portugal**" que aguarda publicação na revista Acta Médica.

- A comemoração do **Dia Mundial da Tiróide** em 25 de Maio, com a organização de um Simpósio denominado "**A Tiróide e suas doenças**" no IPATIMUP (Porto), destinado ao público em geral e à população com doenças da tiróide, com o objectivo de recrutar membros para a **Associação de Doentes da Tiróide** (prevê-se que esta associação seja apresentada na próxima Reunião Anual da SPEDM).
- A realização de um **novo folheto para doentes "Iodo e Tiróide na gravidez"**.
- A realização de um artigo destinado aos profissionais de saúde intitulado "**Iodo e Gravidez o que o clínico deve saber**" a aguardar publicação na Revista Acta Médica.

Maria João Oliveira  
Coordenadora do GET

## Grupo de Estudos de Tumores Neuroendócrinos



O GE-TNE, constituído em Dezembro de 2009, tem como coordenadora a Dra. Ana Paula Santos (Endocrinologista do IPO do Porto), a Prof. Dra. Maria João Bugalho (Endocrinologista do IPO de Lisboa) e o Prof. Dr. José Manuel Lopes (Anatomopatologista do HSJ/IPATIMUP).

Fazem parte actualmente do GE-TNE 42 elementos, pertencentes a 18 instituições (17 hospitais e IPATIMUP), distribuídos pelas especialidades de Endocrinologia, Cirurgia, Oncologia Médica, Gastrenterologia, Anatomia Patológica, Medicina Nuclear e Biologia Molecular e Radiologia de Intervenção.

As **Recomendações sobre os Requisitos Mínimos para um Relatório de Anatomia Patológica e Recomendações para a Preparação para Procedimentos Invasivos**, foram publicadas na Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo de Dezembro de 2010, distribuída na altura do Congresso de Endocrinologia de Janeiro de 2011. Estão a ser preparadas separatas para serem distribuídas pelos médicos das diferentes especialidades com interesse nesta área, com o patrocínio da *Novartis Oncology*. As referidas publicações encontram-se também disponíveis no site da SPEDM na secção Revista.

A 3ª reunião do GE-TNE decorreu no dia 11 de Março em Lisboa, no final do Congresso da ENETS (European Neuroendocrine Tumors Society), evento onde foram apresentados cartazes elaborados por elementos do grupo. Nessa reunião, patrocinada pela *Novartis Oncology*, foi decidido adiar a publicação dos *guidelines* de diagnóstico e tratamento dos PETs, que tinham já sido elaboradas por vários elementos do grupo, atendendo à nova classificação da OMS para estes tumores (2010) e ao facto de ser preferível aguardar pelas novas *guidelines* da ENETS, em fase de publicação.

De acordo com o que foi decidido em 2010, os Tumores Neuroendócrinos Pancreáticos (TEPs),

foram escolhidos como tema principal do 1º **Network de tumores neuroendócrinos**, que se realizou na Curia em 14 de Maio: um curso de formação aberto a colegas exteriores ao grupo, e que consistiu numa discussão prática, multidisciplinar e interactiva de vários casos clínicos. Este curso foi patrocinado pela *Pfizer*.

Em continuidade com o ano anterior foi mais uma vez realizada uma parceria entre o GE-TNE, a *Novartis Oncology* e a Associação Raríssimas na comemoração do 2º **dia Mundial de Sensibilização para os Tumores Neuroendócrinos a 10 de Novembro de 2011**, através da divulgação em órgãos de comunicação social e internet, nomeadamente as redes sociais mais utilizadas como o *Facebook* e *Twitter*.

O ano de 2011 terminou da melhor forma para o GE-TNE com a assinatura de um contrato entre a SPEDM, a IPSEN Portugal e a Keypoint, em que se prevê iniciar em 2012, um **Estudo Transversal de Tumores Neuroendócrinos**, um *snapshot* sobre a prevalência em Portugal de tumores neuroendócrinos durante 2012, e que se pretende possa evoluir, a partir de 2013 para o Registo Nacional de TNEs. A apresentação desse estudo foi efectuada em 6 de Janeiro de 2012 no Porto, na 4ª **Reunião do GE-TNE**.

## Grupo de Estudo de Tumores da Hipófise



O Grupo de Estudos de Tumores Hipofisários (GETH) reuniu em Janeiro de 2011, durante o Congresso da Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, em Tróia. Foi nessa altura alterada a sua coordenação, tendo ficado como Coordenadora a Dra. Isabel Torres, do Serviço de Endocrinologia do Instituto Português de Oncologia – Porto, em colaboração com o Dr. Eduardo Vinha, do Serviço de Endocrinologia do Hospital de S. João – Porto e Dra. Olinda Marques, do Serviço de Endocrinologia do Hospital Escala – Braga.

O GETH reuniu no dia 09/04/11, no Hotel Palace, em Monte Real, tendo contado com o patrocínio do laboratório Pfizer.

Estiveram presentes Endocrinologistas (26) e Neurocirurgiões (3), dos diferentes hospitais do país.

Graças ao empenho de todos os envolvidos (e em particular da Pfizer), foi possível integrar o Simpósio “Tratamento da Acromegalia”, organizado pelo Prof. Davide Carvalho, que contou com o Prof. Christian Strasburger, da Universidade Charité, de Berlim.

O Simpósio terminou com apresentação de dois casos clínicos, pela Dra. Raquel Martins e Dra. Olinda Marques.

Após o almoço, teve lugar a reunião propriamente dita, iniciada com apresentação de casos clínicos pelas Dras. Conceição Marques, Catarina Matos, Ana Isabel Oliveira, Joana Couto.

Em relação ao plano de actividades para 2011, ficou decidido que seria apresentado na reunião seguinte a base de dados de cada Serviço, para tentar actualizar a base actual.

Foi discutido o problema da inexistência de hidrocortisona nas farmácias de rua, tendo o Grupo manifestado a sua apreensão pela potencial gravidade desta situação, pelas consequências clínicas que pode acarretar, de que foi dado conhecimento à SPEDM e Infarmed.

Foi lembrado pelo Prof. Davide Carvalho que as Recomendações Portuguesas para Acromegalia seriam publicadas na Acta Médica Portuguesa e revista da SPEDM.



O Grupo de Estudos de Tumores Hipofisários (GETH) efectuou a sua 2ª reunião no dia 22/Outubro/2011, no hotel Villa Batalha, na Batalha.

Estiveram presentes 12 Endocrinologistas e 1 Internista.

O Prof. Stephan Petersenn, da Universidade de Duisburg-Essen, Alemanha, apresentou duas conferências:

– “What have we learnt from the patients basal evaluation of SOM 230 trial in the diagnosis of Cushing disease?” e

– “Cushing disease medical management”.

É de salientar a qualidade científica das palestras apresentadas, a que se seguiu animada sessão de perguntas e respostas.

Foi ainda apresentada a base de dados de Tumores Hipofisários, pelo Dr. Sequeira Duarte e mais uma vez incentivada a sua actualização.

Foi também apresentada pela empresa EXIGO uma proposta de estudo, patrocinado pelo laboratório Novartis, sobre custo-eficácia dos análogos da somatostatina. Esta proposta foi discutida pelos elementos do GETH, não tendo sido tomada decisão definitiva.

Foram ainda debatidos os seguintes aspectos:

- proposta de solicitação de pagamento de deslocações à SPEDM, para participação nas reuniões do GETH, à semelhança de outros Grupos, dada a actual conjuntura económica e dadas as múltiplas deslocações, o que pode contribuir para o “absentismo” às reuniões. Ficou decidido que a coordenadora enviaria os respectivos impressos aos Colegas presentes, ficando o seu preenchimento ao critério de cada um
- sugestões para a próxima reunião de Abril/2012, patrocinada pela Ipsen:

Local – Coimbra ou Figueira da Foz

Programa provisório:

- Apresentação, por um elemento de cada hospital, de
  - a) doentes com dados introduzidos na base de dados e
  - b) doentes com doença de Cushing submetidos a suprarrenalectomia.
- Apresentação de resultados da prova da bromocriptina na acromegalia (a combinar com Dra. Isabel Paiva).
- Apresentação, pela Dra. Raquel Martins, de revisão da literatura sobre doença de Cushing e suprarrenalectomia.

## Grupo de Estudos da Diabetes Mellitus

No início de 2011, procedeu-se ao início do trabalho conducente ao lançamento da segunda edição do livro “*DIABETES: uma abordagem global*”, do Grupo de Estudos da Diabetes Mellitus. Uma segunda edição justificava-se pelo facto de, em menos de um ano, se ter já esgotado a primeira edição do livro. Por outro lado, recentemente, tinham acabado de ocorrer mudanças radicais relativas a alguns temas abordados no livro, concretamente, no capítulo “*Diabetes e Gravidez*”. Assim, em tempo recorde, as autoras do capítulo procederam à reformulação do mesmo bem como foram executadas pequenas alterações em mais três outros capítulos.

Foi, entretanto criado um logótipo para o Grupo de Estudos da Diabetes Mellitus e expreso abaixo:



Este logótipo simboliza a integração do círculo azul da campanha “*Unite for diabetes*” no logótipo oficial da Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo.

Com algum tempo de atraso, face ao inicialmente previsto, foi activada a página electrónica do nosso Grupo de Estudos. Para manter activa esta página electrónica, que se quer dinâmica, ficaram como responsáveis os seguintes elementos: Dra. Joana Costa, Dra. Léone Duarte, Dra. Selma Souto e Dr. José Silva Nunes. Contudo, para manter o dinamismo de uma área médica em que existe uma profícua produção científica, pretende-se a colaboração de todos os nossos colegas da SPEDM, com particular empenho dos colegas que integram este Grupo de Estudos.

O Coordenador do Grupo de Estudos da Diabetes Mellitus da S.P.E.D.M.

José Silva Nunes  
Lisboa, Janeiro de 2012

**AGENDA 2012 – CONGRESSOS – REUNIÕES CIENTÍFICAS**

DESIGNAÇÃO   EVENTO	LOCAL	DATA	CONTACTOS   INFORMAÇÕES
<b>INTERNACIONAIS</b>			
IONM in Thyroid Surgery	Emmerdingen Germany	25 a 27 Mar. 2012	<a href="http://www.eurothyroid.com/admin/dc_media/03-2012_IONM_Thyroid.pdf">www.eurothyroid.com/admin/dc_media/03-2012_IONM_Thyroid.pdf</a>
Joint 15 <sup>th</sup> International Congress of Endocrinology and 14 <sup>th</sup> European Congress of Endocrinology	Florence Italy	5 a 9 Mai. 2012	<a href="http://www.ice-ece2012.com">www.ice-ece2012.com</a>
AACE 21 <sup>st</sup> Annual Scientific & Clinical Congress	Philadelphia USA	23 a 27 Mai. 2012	<a href="http://am.aace.com/">http://am.aace.com/</a>
ENDO 2012	Houston, Texas USA	23 a 26 Jun. 2012	<a href="http://www.endo-society.org/endo/">www.endo-society.org/endo/</a>
Basic Postgraduate Course in Endocrinology Summer School on Endocrinology	Bregenz Austria	5 a 9 Ago. 2012	<a href="http://www.euro-endo.org/education/index.aspx">www.euro-endo.org/education/index.aspx</a>
82 <sup>nd</sup> Annual Meeting of the American Thyroid Association	Quebec Canada	19 a 23 Set. 2012	<a href="http://www.thyroid.org">www.thyroid.org</a>
ESE Postgraduate Courses in Clinical Endocrinology 12 <sup>th</sup> ESE Postgraduate Course in Clinical Endocrinology	Antalya Turkey	18 a 21 Out. 2012	<a href="http://www.euro-endo.org/education/index.aspx">www.euro-endo.org/education/index.aspx</a>
1 <sup>st</sup> American Diabetes Association Middle East Congress	Dubai Convention Center	4 a 6 Dez. 2012	<a href="http://ada-me.org/index.html">http://ada-me.org/index.html</a>
<b>NACIONAIS</b>			
6 <sup>o</sup> Congresso Nacional de Cirurgia de Obesidade e Doenças Metabólicas “Políticas de Saúde em Cirurgia Bariátrica”	Centro Cultural de Belém Lisboa Portugal	3 e 4 Fev. 2012	<a href="http://www.spco.pt/agenda/6o-congresso-nacional-cirurgia-de-obesidade-e-doencas-metabolicas-2">www.spco.pt/agenda/6o-congresso-nacional-cirurgia-de-obesidade-e-doencas-metabolicas-2</a>
10 <sup>o</sup> Congresso da Sociedade Portuguesa de Diabetologia	Hotel Tivoli Marina Vilamoura Portugal	7 a 10 Mar. 2012	<a href="http://www.diabetologia2012.com/home.html">www.diabetologia2012.com/home.html</a>
XII Jornadas de Endocrinologia do Hospital Egas Moniz	Auditório da Fundação Champalimaud Lisboa Portugal	21 a 23 Mar. 2012	
XVIII Curso Pós-graduado de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo	Centro de Congressos do Hotel Porto Palácio Porto	29 a 31 Mar. 2012	Secretariado: Mário Blanco Peres - <a href="mailto:congressosporto@sapo.pt">congressosporto@sapo.pt</a>
IV Jornadas Nortenhas de Diabetologia Prática em Medicina Familiar	Hotel Solverde Chaves Portugal		Secretariado: Prismédica – Av Miguel Bombarda 61 R/C esquerdo 1050-161 Lisboa - <a href="mailto:geral@prismédica.pt">geral@prismédica.pt</a>

## NORMAS DE PUBLICAÇÃO PARA AUTORES

A **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo** aceita para publicação artigos de investigação fundamental, epidemiológica, clínica, sobre administração de serviços de saúde ou sobre educação, bem como artigos de revisão, artigos sobre a prática clínica, relatos de casos clínicos, artigos de opinião e outros que possam contribuir para o desenvolvimento da especialidade de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo ou para a melhoria dos cuidados de saúde prestados aos doentes. Os artigos deverão ser redigidos em português ou inglês, podendo em casos excepcionais ser aceites textos em francês ou castelhano.

Os artigos propostos não podem ter sido objecto de qualquer outro tipo de publicação, nem ter sido simultaneamente propostos para publicação noutras revistas ou jornais. As opiniões expandidas são da inteira responsabilidade dos autores. Os artigos publicados ficarão de inteira propriedade da Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo e não poderão ser reproduzidos, no todo ou em parte, sem prévia autorização do seu Director.

A **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo** subscreve os requisitos constantes das normas de Vancouver(1). Recomenda-se aos autores a sua leitura atenta.

A revista publica artigos nas seguintes secções:

### 1. EDITORIAIS.

Da iniciativa do Editor

### 2. ESTUDOS ORIGINAIS.

Artigos de investigação no âmbito da **endocrinologia, diabetes e metabolismo**. Não deverão ultrapassar as 12.000 palavras, em texto dactilografado a dois espaços, sendo admitido o número máximo de 10 ilustrações (quadros, figuras ou fotografias). Deverão seguir as normas internacionalmente aceites para este tipo de artigos (1). O corpo do artigo deve ser subdividido em: **Introdução, Métodos, Resultados, Discussão**. O artigo deve incluir **Referências Bibliográficas** e, eventualmente, **Agradecimentos**. Deve também incluir um **Resumo/Abstract** (em Português e em Inglês) e duas a seis **Palavras-chave/Keywords**. O uso de abreviaturas e símbolos, bem como as unidades de medida, devem estar de acordo com as normas internacionalmente aceites (2).

A **Introdução** deverá ser sintética. Deve apresentar claramente o problema em questão, resumir o estado actual do conhecimento sobre ele e referir os motivos que levaram à execução do estudo. Os objectivos e/ou hipóteses formuladas devem ser indicados.

Os **Métodos** deverão referir a configuração, local e tempo de duração de estudo, a população estudada, os métodos de amostragem, as unidades de observação e as variáveis medidas, os métodos de recolha de dados, bem como critérios, instrumentos, métodos, aparelhos e técnicas utilizados. A metodologia estatística usada deve ser indicada. No caso particular de estudos de avaliação de qualidade, devem ser indicados a dimensão estudada, o tipo de cuidados, a unidade de estudo e a população estudada, relação temporal, o tipo de dados, o avaliador e os critérios e padrão de qualidade aceites.

Os **Resultados** deverão ser apresentados de forma clara usando textos e ilustrações (figuras ou quadros), apresentar as figuras com algarismos árabes e os quadros com numeração romana, pela ordem da sua primeira citação no texto. O texto não deve repetir dados incluídos em ilustrações, limitando-se nesse caso a realçar ou resumir os seus aspectos mais importantes.

A **Discussão** deverá salientar aspectos novos ou importantes do estudo e apresentar apenas as conclusões justificadas pelos resultados. Poderão ser comentadas limitações ou vieses importantes do estudo. Sempre que possível deverão ser feitas comparações com estudos idênticos realizados por outros autores. Podem ser sugeridas novas hipóteses de trabalho. Não devem ser feitas afirmações não baseadas no estudo efectuado, nem alusões a trabalhos incompletos ou não publicados.

As **Referências Bibliográficas** devem seguir rigorosamente o formato indicado nas normas internacionais (estilo de Vancouver)(1). Devem ser assinaladas no texto com algarismos árabes em elevado, pela ordem

de primeira citação e incluídas neste capítulo, utilizando exactamente a mesma ordem de citação no texto. Os nomes das revistas devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus. A Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo é referenciada usando a abreviatura Rev Port End Diab Metab.

Os **Agradecimentos**, quando existirem, devem ser colocados após as referências Bibliográficas e respeitar rigorosamente as normas internacionais e aceites (1). O **Resumo** deve expor os objectivos do trabalho, a metodologia básica, os resultados e conclusões principais e realçar aspectos novos e importantes do estudo ou das observações. É obrigatoriamente estruturado, incluindo os seguintes subtítulos: *Objectivos, Tipo de estudo, Local, População, Métodos, Resultados e Conclusões*. Não deve ultrapassar as 300 palavras e deve incluir 2 a 6 **Palavras-chave**.

### 3. ARTIGOS BREVES

Textos de pequena dimensão (como, por exemplo, estudos originais curtos ou de divulgação de resultados preliminares, apontamentos sobre casos clínicos, pequenos estudos de séries). Não deverão ultrapassar as 5.000 palavras, em texto dactilografado a dois espaços, sendo admitido o número máximo de 2 ilustrações (quadros, figuras ou fotografias) por artigo.

Devem incluir um **Resumo estruturado** (em Português e em Inglês) semelhante ao descrito para os Estudos Originais e 2 a 6 **Palavras-chave** (em Português e em Inglês).

### 4. REVISÕES

Estudo de revisão bibliográfica ou trabalhos de síntese ou actualização clínicas, que possam constituir instrumentos auxiliares de actualização e de aperfeiçoamento da prática clínica.

Os estudos de revisão não deverão ultrapassar as 12.000 palavras, em texto dactilografado a 2 espaços, sendo admitido o número máximo de 12 ilustrações (quadros, figuras ou fotografias) por artigo. Os artigos devem ser subdivididos em: **Introdução, Métodos, o Corpo da revisão** propriamente dito, **Conclusões, Referências Bibliográficas** e, eventualmente, **Agradecimentos**.

Devem também incluir um **Resumo** (em Português e em Inglês) e 2 a 6 **Palavras-chave** (em Português e em Inglês).

A **Introdução** deverá ser sintética. Deve apresentar claramente o problema em questão, referir os motivos que levaram à execução do estudo e discutir a sua oportunidade.

A pergunta e o objectivo específico da revisão deverão aparecer claramente formulados.

Os **Métodos** deverão referir, fundamentando, a metodologia usada para efectuar o processo de revisão. Devem nomeadamente ser indicados o tópico em revisão, as várias definições (por exemplo, critérios de diagnóstico), processos utilizados para a pesquisa bibliográfica (período a que diz respeito a revisão, bases de dados ou documentais consultadas, descritores utilizados para a pesquisa) e processos e critérios usados para a selecção de fontes documentais (inclusão de toda a bibliografia relevante, exclusão de artigos de má qualidade).

O **Corpo da revisão** deve ser constituído por uma apresentação do conteúdo da revisão propriamente dito, feito de forma estruturada e sistematizada e com recurso a subtítulos, se necessário. Deve incluir elementos de argumentação crítica (avaliação de qualidade dos dados, síntese de dados, perspectivas em confronto, identificação de problemas não resolvidos).

As **Conclusões** devem fornecer um resumo crítico dos dados relevantes, enfatizar os aspectos práticos, equacionar os problemas que subsistem e propor perspectivas futuras.

As **Referências Bibliográficas** devem seguir rigorosamente o formato indicado nas normas internacionais (estilo de Vancouver) (1). Devem ser assinaladas no texto com algarismos árabes em elevado, pela ordem de primeira citação e incluídas neste capítulo, utilizando exactamente a mesma ordem de citação no texto. Os

nomes das revistas devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus. A Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo é referenciada usando a abreviatura Rev Port End Diab Metab.

Os **Agradecimentos**, quando existirem, devem ser colocados após as Referências Bibliográficas e respeitar rigorosamente as normas internacionalmente aceites (1).

O **Resumo** (em Português e em Inglês) deve expor os objectivos do trabalho, a metodologia básica, os resultados e conclusões principais, e realçar aspectos novos e importantes da revisão. É obrigatoriamente estruturado, incluindo os seguintes subtítulos: *Objectivos, Métodos e Conclusões*. Não deve ultrapassar as 300 palavras e deve incluir 2 a 6 **Palavras-chave** (em Português e em Inglês).

### 5. PRÁTICA CLÍNICA

Trabalhos descritivos de experiências ou projectos considerados relevantes para a prática clínica diária. Não deverão ultrapassar as 8.000 palavras, em texto dactilografado a 2 espaços, sendo admitido o número máximo de 4 ilustrações (quadros, figuras ou fotografias) por artigo. Devem incluir um **Resumo** (em Português e em Inglês) que não deve ultrapassar as 300 palavras e 2 a 6 **Palavras-chave** (em Português e em Inglês).

### 6. FORMAÇÃO

Relatos de projectos ou experiências considerados importantes no campo da educação médica pré e pós-graduada no contexto dos cuidados de saúde na área de endocrinologia, diabetes e metabolismo. Não deverão ultrapassar as 6.000 palavras, em texto dactilografado a 2 espaços, sendo admitido o número máximo de 6 ilustrações (quadros, figuras ou fotografias) por artigo. Devem incluir um **Resumo** (em Português e em Inglês) que não deve ultrapassar as 300 palavras e 2 a 6 **Palavras-chave** (em Português e em Inglês).

### 7. RELATOS DE CASOS CLÍNICOS

Textos descritivos de casos clínicos. Não deverão ultrapassar as 6.000 palavras, em texto dactilografado a 2 espaços, sendo admitido o número máximo de 8 ilustrações (quadros, figuras ou fotografias) por artigo. Os artigos devem ser subdivididos em: **Introdução, Descrição do caso, Comentário, Referências Bibliográficas** e, eventualmente, **Agradecimentos**. Devem também incluir um **Resumo** (em Português e em Inglês) e 2 a 6 **Palavras-chave** (em Português e em Inglês).

A **Introdução** deve ser sintética, apresentando o problema em questão e referindo os motivos que levaram à apresentação do caso clínico.

A **Descrição do caso** deve ser constituída por uma apresentação do caso clínico propriamente dito, feito de forma estruturada e com recurso a subtítulos, se necessário.

O **Comentário** deverá chamar a atenção para os aspectos práticos relevantes e incluir uma breve revisão teórica final.

As **Referências Bibliográficas** devem seguir rigorosamente o formato indicado nas normas internacionais (estilo de Vancouver) (1). Devem ser assinaladas no texto com algarismos árabes em elevado, pela ordem de primeira citação e incluídas neste capítulo utilizando exactamente a mesma ordem de citação no texto. Os nomes das revistas devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus. A Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo é referenciada usando a abreviatura Rev Port End Diab Metab.

Os **Agradecimentos**, quando existirem, devem ser colocados após as Referências Bibliográficas e respeitar rigorosamente as normas internacionalmente aceites (1).

O **Resumo** (em Português e em Inglês) não deve ultrapassar as 300 palavras e deve incluir 2 a 6 **Palavras-chave** (em Português e em Inglês).

### 8. OPINIÃO E DEBATE

Textos de opinião livre susceptíveis de fomentar a reflexão e a discussão sobre temas de interesse para a prática clínica em cuidados de saúde primários. Não deverão ultrapassar as 4.000 palavras, em texto dactilografado a 2 espaços. Devem incluir um **Resumo** (em Português e em Inglês) que não deve ultrapassar as 300 palavras e 2 a 6 **Palavras-chave** (em Português e em Inglês).

## NORMAS DE PUBLICAÇÃO PARA AUTORES

### 9. DOCUMENTOS

Declarações, recomendações ou outros documentos de âmbito nacional ou internacional que sejam relevantes para a endocrinologia, diabetes e metabolismo.

### 10. CARTAS AO DIRECTOR

Comentários a artigos publicados previamente na revista ou notas breves sobre experiências relevantes na prática diária. Não deverão ultrapassar as 3.500 palavras, em texto dactilografado a 2 espaços, sendo admitido o número máximo de 1 ilustração (quadro, figura ou fotografia).

### OUTRAS SECÇÕES

Leituras, Agenda, etc..

### PREPARAÇÃO DOS ARTIGOS

Os artigos devem ser dactilografados a 2 espaços em qualquer processador de texto e gravados em formato texto (ASCII). O formato das páginas deve ser A4 (210 x 297mm) e as suas margens de, pelo menos, 25 mm de ambos os lados. As páginas devem ser numeradas.

#### PRIMEIRA PÁGINA

Deverá incluir apenas:

1. O título do artigo, que deverá ser conciso.
2. O nome do autor ou autores (devem usar-se apenas 2 nomes ou 3 nomes por autor).
3. O grau, título ou títulos profissionais e/ou académicos do autor ou autores.
4. O serviço, departamento ou instituição onde trabalha(m).

#### SEGUNDA PÁGINA

Deverá incluir apenas:

1. O nome, telefone/fax e endereço do autor responsável pela correspondência com a revista acerca do manuscrito.
2. O nome e endereço do autor a quem deve ser dirigida a correspondência sobre o artigo após a sua publicação na revista.

#### TERCEIRA PÁGINA

Deverá incluir apenas:

1. Título do artigo.
2. Um resumo (em Português e em Inglês) que não deve ultrapassar as 300 palavras. O resumo deve respeitar as normas indicadas para o tipo de artigo em questão e tornar possível a compreensão do artigo sem que haja necessidade de o ler.
3. De 2 até 6 palavras-chave (em Português e em Inglês) ou curtas frases usando de preferência termos da lista de descritores médicos (MeSH) do Index Medicus, da lista de palavras-chave do FAMILI (2), dos descritores em ciências da saúde (DeCS) da BIREME (3) ou dos descritores da Base Nacional de Dados Bibliográficos PORBASE (Índice de Assuntos).

#### PÁGINAS SEGUINTE

As páginas seguintes incluirão o texto do artigo, devendo cada uma das secções em que este se subdivida começar no início de uma página.

#### Primeira página a seguir ao texto

Deverá conter o início do capítulo Referências Bibliográficas.

Primeira página a seguir a Referências Bibliográficas Deverá incluir o capítulo Agradecimentos, quando este exista.

#### PÁGINAS SEGUINTE

Deverão incluir as ilustrações. Estas devem ser enviadas cada uma em sua folha com indicação do respectivo número (algarismo árabe ou numeração romana). Os quadros, com numeração romana, deverão sempre incluir um título curto e ser dactilografados a 2 espaços, sem recurso a linhas de separação horizontais ou verticais no seu interior (excepção feita a linhas de separação de títulos, subtítulos e notas de rodapé). Poderão incluir em rodapé notas explicativas consideradas necessárias e assinaladas utilizando os símbolos indicados nas normas de Vancouver (1).

Gráficos, diagramas e gravuras (figuras) deverão ser apresentados com qualidade que permita a sua reprodução directa e numerados com algarismos árabes. As fotografias em suporte de papel ou filme (diapositivos) deverão ter boa qualidade e ser devidamente identificadas (algarismos árabes) com etiqueta autocolante no verso ou na margem. No caso de se tratar de fotografias de pessoas ou de fotografias já publicadas, proceder

de acordo com as normas de Vancouver (1). Fotografias e diapositivos deverão ser enviados em separado.

#### ÚLTIMA PÁGINA

Deverá incluir apenas as legendas para as ilustrações, dactilografadas a 2 espaços e identificadas com o algarismo árabe ou o número romano correspondentes à numeração da ilustração.

#### Envio dos Artigos

Utilizar e preencher a lista de verificação anexa antes do envio dos artigos.

Devem ser enviados por correio postal para:

Director da Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo,  
Ou por correio electrónico para:

1. O original do artigo incluindo ilustrações, gravado em disquete de computador ou em ficheiro(s) anexo(s) a mensagem de correio electrónico.
2. Carta assinada por todos os autores com pedido de publicação, indicando em que secção da revista se propõe a publicação.
3. Declaração, assinada por todos os autores, de acordo com o modelo anexo.
4. Cópias de quaisquer autorizações para reproduzir material já publicado, para utilizar figuras ou relatar informação pessoal sensível de pessoas identificáveis ou para citar os nomes de pessoas a quem se agradecem os contributos.
5. Lista de verificação anexa, devidamente preenchida.

#### TRATAMENTO EDITORIAL

Os textos recebidos são identificados por um número comunicado aos autores, que devem referi-lo em toda a correspondência com a revista. São em seguida apreciados por elementos do Conselho Editorial e do Conselho Científico e por um grupo de Revisores, sem que estes tenham conhecimento da identidade dos autores. Os artigos poderão ser aceites sem modificação, recusados ou aceites apenas após correcções ou modificações propostas aos autores e por estes efectuadas. Neste caso, as modificações sugeridas de-verão ser realizadas pelos autores no prazo indicado. O teor das apreciações será sempre comunicado aos autores. Alterações ao manuscrito original poderão ser efectuadas com o acordo dos autores. Independentemente da decisão sobre a publicação do artigo, apenas serão devolvidos, a pedido dos autores, fotografias ou diapositivos, pelo que se aconselha aos autores a conservação de uma cópia do ficheiro ou disquete enviados.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Comissão Internacional de Editores de Revistas Médicas. Normas para apresentação de artigos propostos para publicação em revistas médicas. Rev Port Clin Geral 1991;8:82-9
2. WONCA. Key words in Family Medicine (A The-saurus). FAMILI 1989;10:XI-XVIII.
3. BIREME. Descritores em ciências da saúde (DeCS). São Paulo: Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde, 1988.

#### ANEXO

##### DECLARAÇÃO

Declaro que autorizo a publicação do artigo junto, com o título

do qual sou autor (ou co-autor). Declaro ainda que o presente artigo é original, não foi objecto de qualquer outro tipo de publicação, nem foi proposto simultaneamente para publicação em outras revistas ou jornais. Declaro também que os requisitos sobre autoria definidos nas normas de Vancouver foram respeitados, bem como que li e concordo inteiramente com o conteúdo do presente artigo.

Data

Assinatura(s)

#### Lista de Verificação para Preparação de Artigos para a Revista Portuguesa de Clínica Geral

##### PRIMEIRA PÁGINA

- O título é conciso, breve e suficientemente informativo.
- Os nomes dos autores estão correctos e são os 2/3

nomes usados habitualmente na Clínica ou nas actividades científicas.

- Estão indicados os graus ou títulos dos autores.

- Estão indicados os locais, instituições ou serviços aos quais os autores estão ligados.

##### SEGUNDA PÁGINA

- Está indicado o nome, telefone/fax e endereço do autor responsável pela correspondência com a revista acerca do manuscrito.

- Está indicado o nome e endereço do autor a quem deve ser dirigida a correspondência sobre o artigo após a sua publicação na revista.

##### TERCEIRA PÁGINA

- Está indicado o título do artigo.

- O Resumo segue as normas da revista para o tipo de artigo em questão.

- Estão indicadas duas a seis palavras-chave adequadas.

##### PÁGINAS SEGUINTE

- O texto do artigo segue as normas da revista e não excede os limites previstos.

- O texto está correctamente dactilografado a 2 espaços, sem rasuras.

- Cada uma das secções do artigo começa no início de uma página.

- As referências bibliográficas estão correctamente assinaladas e numeradas ao longo do texto.

- As ilustrações estão devidamente assinaladas no texto e numeradas pela ordem por que são mencionadas.

- As figuras estão numeradas com algarismos árabes e os quadros com numeração romana.

##### PRIMEIRA PÁGINA A SEGUIR AO TEXTO

###### (REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS)

- As referências bibliográficas estão devidamente assinaladas no texto.

- Os documentos referenciados foram cuidadosamente verificados e estão listados de acordo com as normas de Vancouver.

##### PRIMEIRA PÁGINA A SEGUIR A REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS (AGRADECIMENTOS QUANDO EXISTEM)

- Respeitam rigorosamente as normas internacionalmente aceites, existindo nomeadamente as autorizações para citar os nomes de pessoas a quem se agradecem os contributos.

##### ILUSTRAÇÕES

- Todos os quadros estão dactilografados a dois espaços, numerados e têm título adequado.

- Não existem linhas de separação horizontais ou verticais no interior dos quadros, com excepção das linhas de separação de títulos, subtítulos e notas de rodapé.

- Todas as restantes ilustrações estão numeradas e identificadas.

- Todas as ilustrações têm qualidade que permita a sua reprodução directa.

- Cada ilustração está devidamente assinalada no texto e é apresentada em separado.

- Fotografias ou diapositivos estão devidamente identificados (algarismos árabes) com etiqueta autocolante no verso ou na margem.

##### ÚLTIMA PÁGINA

- As legendas para as ilustrações estão dactilografadas a dois espaços e identificadas com o correspondente algarismo árabe ou número romano.

##### PEDIDO DE PUBLICAÇÃO

- É enviada disquete gravada em formato ASCII, ou ficheiro anexo a mensagem de correio electrónico, com o original do texto (incluindo ilustrações).

- A carta de pedido de publicação está assinada por todos os autores e é enviada por correio postal.

- Uma declaração de teor igual ou idêntico ao apresentado na Declaração modelo anexa às Normas da revista está assinada por todos os autores e é enviada por correio postal.

- São enviados por correio postal os originais de fotografias em suporte de papel ou filme (diapositivos).

- Estão prontas cópias de todas as autorizações necessárias para a publicação e são enviadas por correio postal.

- Está preenchida e é enviada por correio postal esta lista de verificação.

- Todo o conjunto de documentos está dirigido ao Director da Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo.