

REVISTA PORTUGUESA DE ENDOCRINOLOGIA, DIABETES E METABOLISMO

PORTUGUESE JOURNAL OF ENDOCRINOLOGY, DIABETES AND METABOLISM



SPEDM *Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo*

ISSN 1646-3439



REVISTA PORTUGUESA DE ENDOCRINOLOGIA, DIABETES E METABOLISMO

PORTUGUESE JOURNAL OF ENDOCRINOLOGY, DIABETES AND METABOLISM



© Sociedade Portuguesa de Endocrinologia,
Diabetes e Metabolismo (2014)

Todos os direitos reservados.

O conteúdo desta publicação não pode ser reproduzido ou transmitido por qualquer forma eletrônica ou mecânica, incluindo fotocópia, gravação magnética ou gravada por qualquer sistema de recuperação de informação, sob qualquer forma ou por qualquer meio, sem o prévio consentimento por escrito do titular dos direitos de explorá-la.

Nem a Elsevier nem a Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo se responsabilizarão pelas lesões e/ou danos sobre pessoas ou bens que sejam resultado de alegadas declarações difamatórias, violações de direitos de propriedade intelectual, industrial ou privacidade, responsabilidade por produto ou negligência. Também não assumirão qualquer tipo de responsabilidade pela aplicação ou utilização dos métodos, produtos, instruções ou ideias descritos no presente material. Em particular, recomenda-se a realização de uma verificação independente dos diagnósticos e das doses farmacológicas. Ainda que o material publicitário se encontre ajustado aos standards éticos (médicos), a sua inclusão nesta publicação não constitui garantia nem qualquer confirmação acerca da qualidade ou do valor desse produto, nem das afirmações realizadas pelo seu fabricante.

Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo

Rua Fernando Vicente Mendes, n.º 1B - 1.º Dto
1600-892 Lisboa - Portugal
<http://spedm.org>

Publicação semestral
<http://www.elsevier.pt/rpedm>

Indexação:

Index Revista Medicas Portuguesas
Latindex

Tiragem: 5.000 exemplares
Informações sobre reprints/recompilações
Clarissa Felix: c.felix@elsevier.com

E-mail para pedidos de subscrições da revista:
spedm@netcabo.pt



Travesera de Gracia, 17-21
08021 Barcelona (Espanha)
Telefone: +34 932 418 800

José Abascal, 45, 3.º andar
28003 Madrid (Espanha)
Telefone: +34 914 021 212

Membro da Asociación de Prensa Profesional. Sección
Ciencias de la Salud

Proteção de dados: Elsevier España, SL. afirma cumprir o disposto na Lei 15/1999 de 13 de dezembro sobre a Proteção de Dados Pessoais.

Referenciada na SciVerse Scopus

ISSN: 1646-3439

Impressa em Portugal
Impressa em acid free paper

Depósito legal: 01020304/04

Directora:

Maria Helena Cardoso

Editor:

Edward Limbert

Editores Adjuntos:

João Jácome de Castro

João Sequeira Duarte

Conselho Editorial:

Ana Paula Santos

António Machado Saraiva

Elizabete Geraldês

Fernando Malheiro

Fernando Rodrigues

Francisco Carrilho

Isabel Paiva

Isabel Torres

José Boavida

Luis Raposo

Manuel Fontoura

Manuel Lemos

Maria Helena Ramos

Maria João Oliveira

Mariana Monteiro

Olinda Marques

Paula Freitas

Rui César

Teresa Dias

Teresa Borges

Valeriano Leite

Editores eméritos:

Alberto Galvão-Teles

José Luis Medina

Manuela Carvalheiro

Conselho Científico

Artur Águas

Beatriz Campos

Celestino Neves

Daniel Carvalho Braga

Davide Carvalho

Fátima Borges

Fernando Baptista

Henrique Barros

Isabel do Carmo

José Teixeira

Lídia Pereira Monteiro

Liliana Guerreiro

Luís Gardete Correia

Luis Sobrinho

M. Almeida Ruas

Manuel Sobrinho-Simões

Manuel Portocarrero

Margarida Bastos

Serafim Rosas

Silvestre Abreu

Conselho Editorial Internacional

Antonio Ceriello-Italy

Daniel Glinde-Belgium

Ezio Ghigo-Italy

Felipe F. Casanueva-Spain

Gareth Williams-UK

Hossein Gharib-USA

Javier Salvador-Spain

John Monson-UK

Jose Manuel Miralles Garcia-Spain

Martin Buysschaert-Belgium

Ricardo Garcia Mayor-Spain

Rui Maciel-Brasil

Steve Bloom-UK

ASSEMBLEIA GERAL

Presidente:
Francisco Carrilho

Primeiro Secretário:
Rui César

Segundo Secretário:
Ema Nobre

Elemento suplente:
Leonor Gomes

DIRECÇÃO

Presidente:
Maria Helena Cardoso

Vice-Presidente:
Margarida Bastos

Vice-Presidente:
Silvestre Abreu

Secretário-Geral:
João Jácome de Castro

Tesoureiro:
Luis Raposo

Secretária-Adjunta:
Maria João Oliveira

Secretária-Adjunta:
Paula Freitas

CONSELHO FISCAL

Presidente:
Valeriano Leite

Vogais:
Rui Carvalho
Isabel Manita

Suplente:
Teresa Martins

GRUPOS DE ESTUDO DA S.P.E.D.M.

Grupo de Estudos dos Tumores da Supra-Renal
Coordenadora: Isabel Paiva

Grupo de Estudos de Cirurgia Endócrina
Coordenador: Luis Matos Lima

Grupo de Estudos da Diabetes Mellitus
Coordenador: Pedro Melo

Grupo de Estudos de Dislipidemia
Coordenadora: Elizabete Rodrigues

Grupo de Estudos de Endocrinologia, Diabetes, Metabolismo e Gravidez
Coordenadora: Joana Queirós

Grupo de Estudos da Insulino-Resistência
Coordenadora: Paula Freitas

Grupo de Estudos da Osteoporose e Doenças Ósseas Metabólicas
Coordenador: Mário Mascarenhas

Grupo de Estudos da Tiróide
Coordenadora: Luis Raposo

Grupo de Estudos da Hipófise
Coordenadora: Leonor Gomes

Grupo de Estudos dos Tumores Neuro-Endócrinos
Coordenadora: Ana Paula Santos

Grupo de Estudos de Laboratório
Coordenadora: Deolinda Madureira

PRESIDENTES DA SPEDM

1949/1955
A. Celestino da Costa

1956/1960
Manuel João Xavier Morato

1961/1966
Manuel Joaquim Bruno da Costa

1967/1969
António Castro Caldas

1970/1976
Eduardo Girão de Amaral

1977/1981
Rodolfo Iriarte Peixoto

1982/1984
Manuel Pinheiro Hargreaves

1985/1990
Manuel Martins Almeida Ruas

1991/1996
Emílio Fernando Peres

1997/2002
Alberto Galvão-Teles

2003/ 2008
José Luís Medina

2009/2011
Manuela Carvalheiro

2012/.....
Maria Helena Cardoso

REVISTA PORTUGUESA DE ENDOCRINOLOGIA, DIABETES E METABOLISMO

A publicidade deve ser enviada para:

Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo • Rua Fernando Vicente Mendes, N° 1B, 1° Dto. •
1600-892 Lisboa • Portugal • Telf: 21 721 0548 • Fax: 21 721 05 66 • E-mail: spedm@netcabo.pt

A assinatura da Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo está incluída na quotização anual dos sócios da Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo.

Volume 9 • Número 1 • Janeiro/Junho 2014

SUMÁRIO

Editorial

Em que língua publicar na Revista Portuguesa de Endocrinologia? Edward Limbert	1
-----------------------------------------------------------------------------------------	---

Artigos originais

Regulação do metabolismo do cálcio em pseudohipoparatiroidismo de tipo 1b. Do genótipo à fisiopatologia Luís G. Sobrinho, Branca M. Cavaco e Hugo G. Ferreira	2
Risco de pólipos e cancro colorretal em doentes com acromegalia: experiência de 20 anos Henrique Vara Luiz, Ana Almeida Nunes, Tiago Nunes da Silva, Isabel Manita, Luísa Raimundo, João de Freitas e Jorge Portugal	7
Efetividade dos contraceptivos orais após cirurgia bariátrica – revisão baseada na evidência Isabel Sousa e Maria João Sá	12
Padrão terapêutico numa população de diabéticos tipo 2: relação com o tempo de doença e nível de cuidados de saúde Maria Joana Santos, Margarida Monteiro, Pedro Pereira, Mário Freitas e Olinda Marques	15
Prevalência da diabetes mellitus no internamento de um hospital central Ana Maia Silva, Cláudia Freitas, Jorge Dores e Fátima Borges	21
Avaliação de macroprolactina pelo método de precipitação com polietilenoglicol Ana Maia Silva, Paula Martins da Costa, Ana Pacheco, José Carlos Oliveira e Cláudia Freitas	25

Revisão

A genética dos feocromocitomas e paragangliomas Marta Almeida Ferreira e Joana Vilaverde	29
A leptina e o seu impacto metabólico nas lipodistrofias Eva Lau, Paula Freitas, Ana Isabel Oliveira e Davide Carvalho	36
Hipotiroidismo congénito Ana Luísa Rodrigues, Ana Carvalho, Carlos Pereira Duarte, Rui César e João Anselmo	41
Inibidores da aromatase em adolescentes do sexo masculino com baixa estatura idiopática Ana Laura Fitas, Daniela Amaral e Lurdes Lopes	53
Hiperplasia congénita da suprarrenal não clássica – aspetos relevantes para a prática clínica Teresa Azevedo, Teresa Martins, Manuel Carlos Lemos e Fernando Rodrigues	59
Métodos de avaliação e índices de sensibilidade à insulina Rita S. Patarrão, Wilford Wayne Lutt e Maria Paula Macedo	65
Sobrecarga de ferro e diabetes <i>mellitus</i> Sofia Gouveia, Cristina Ribeiro e Francisco Carrilho	74

Casos clínicos

Diabetes <i>mellitus</i> associada à desnutrição proteica: realidade ou ficção? Ana Rita Caldas, André Couto Carvalho, Anabela Giestas, Marta Almeida Ferreira, Cláudia Amaral, Cláudia Freitas e Maria Helena Cardoso	79
Nervo laríngeo não recorrente: uma “armadilha” anatómica Sofia Guerreiro, Marta Lamas, Henrique Candeias, Rosário Eusébio e Vítor Rocha	84
Tempestade tiroideia – caso clínico Luísa C. Teixeira, Ana Araújo, Miriam Magalhães, Diana Fernandes, Marta Gôja, Nuno Sousa, Alcina Ponte e Renato Saraiva	88
Hipopituitarismo de etiologia não esclarecida Joana Couto, Marta Casal Moura, Joana Menezes, Cláudia Nogueira, Maria João Matos, César Esteves, Georgina Jorge, Joana Queiróz, Carla Andrade, Celestino Neves, Elisabete Rodrigues e Davide Carvalho	92

Calendário

Calendário	95
------------------	----

Volume 9 • Number 1 • January/June 2014

CONTENTS

Editorial

- Which language to use when publishing in the *Portuguese Journal of Endocrinology*?
Edward Limbert 1

Original articles

- Regulation of calcium metabolism in pseudohypoparathyroidism type 1b. From genotype to physiopathology
Luís G. Sobrinho, Branca M. Cavaco and Hugo G. Ferreira 2
- Risk of polyps and colorectal cancer in patients with acromegaly: A 20-year experience
Henrique Vara Luiz, Ana Almeida Nunes, Tiago Nunes da Silva, Isabel Manita, Luísa Raimundo, João de Freitas and Jorge Portugal 7
- Oral contraception effectiveness after bariatric surgery – Evidence-based review
Isabel Sousa and Maria João Sá 12
- Therapeutic pattern in a population of type 2 diabetics: Relationship with disease duration and type of health care
Maria Joana Santos, Margarida Monteiro, Pedro Pereira, Mário Freitas and Olinda Marques 15
- The prevalence of inpatient diabetes mellitus in a general hospital
Ana Maia Silva, Cláudia Freitas, Jorge Dores and Fátima Borges 21
- Assessment of macroprolactinemia by polyethylene glycol precipitation method
Ana Maia Silva, Paula Martins da Costa, Ana Pacheco, José Carlos Oliveira and Cláudia Freitas 25

Review articles

- Genetics of pheochromocytomas and paragangliomas
Marta Almeida Ferreira and Joana Vilaverde 29
- Leptin and its metabolic impact on lipodystrophy
Eva Lau, Paula Freitas, Ana Isabel Oliveira and Davide Carvalho 36
- Congenital hypothyroidism
Ana Luísa Rodrigues, Ana Carvalho, Carlos Pereira Duarte, Rui César and João Anselmo 41
- Aromatase inhibitors in male adolescents with idiopathic short stature
Ana Laura Fitas, Daniela Amaral and Lurdes Lopes 53
- Nonclassical congenital adrenal hyperplasia – relevant aspects for clinical practice
Teresa Azevedo, Teresa Martins, Manuel Carlos Lemos and Fernando Rodrigues 59
- Assessment of methods and indexes of insulin sensitivity
Rita S. Patarrão, Wilford Wayne Lutt and Maria Paula Macedo 65
- Iron overload and diabetes *mellitus*
Sofia Gouveia, Cristina Ribeiro and Francisco Carrilho 74

Clinical cases

- Diabetes mellitus associated to protein malnutrition: Fiction or reality?
Ana Rita Caldas, André Couto Carvalho, Anabela Giestas, Marta Almeida Ferreira, Cláudia Amaral, Cláudia Freitas
and Maria Helena Cardoso 79
- The non-recurrent laryngeal nerve: An anatomical “trap”
Sofia Guerreiro, Marta Lamas, Henrique Candeias, Rosário Eusébio and Vítor Rocha 84
- Thyroid storm - clinic case
Luísa C. Teixeira, Ana Araújo, Miriam Magalhães, Diana Fernandes, Marta Gôja, Nuno Sousa, Alcina Ponte and Renato Saraiva 88
- Hypopituitarism of unknown origin
Joana Couto, Marta Casal Moura, Joana Menezes, Cláudia Nogueira, Maria João Matos, César Esteves, Georgina Jorge,
Joana Queiróz, Carla Andrade, Celestino Neves, Elisabete Rodrigues and Davide Carvalho 92

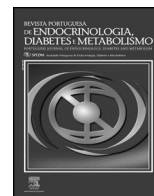
Calendar

- Calendar 95



Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo

www.elsevier.pt/rpedm



Editorial

Em que língua publicar na Revista Portuguesa de Endocrinologia?



Which language to use when publishing in the *Portuguese Journal of Endocrinology*?

Edward Limbert

O Editor da RPEDM

A Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo iniciou a sua publicação em 2005.

É grato constatar que ao longo da sua vigência, a nossa Revista tem vindo a melhorar o seu desempenho o que se deve ao envolvimento empenhado dos editores e dos revisores a quem deixamos o nosso agradecimento, pelo trabalho imprescindível desenvolvido em prol da Revista e da Sociedade. A melhoria do desempenho da Revista é traduzida na sua procura crescente e aqui fica também o nosso agradecimento aos autores, cada vez mais diversificados, que procuram publicar mais e melhor. O aumento da procura da Revista tem levado a uma maior exigência da parte dos revisores e editores quanto à qualidade dos trabalhos, fator que tem vindo a contribuir para a sua melhoria.

O número de trabalhos originais é significativo. A revisão por pares vai envolvendo cada vez maior número de sócios na tentativa de distribuir esse trabalho árduo mas indispensável por mais pessoas. A resposta é na generalidade boa, pesem embora alguns problemas informáticos que a nossa secretária, sempre disponível, tem ajudado a resolver. Os prazos de revisão e resposta vão-se aproximando do estipulado (10 dias para responder e 30 para rever).

Desde há um ano, como sabem, a publicação da revista foi entregue à Elsevier, garante do respeito pelas regras internacionais de publicação e por um excelente aspeto gráfico.

Julgamos ter atingido um nível que nos permite alcançar um objetivo já antigo: a indexação na Medline, que a concretizar-se constituirá um grande progresso na divulgação da Revista e como tal na sua procura. Que óbices nos podem apontar? A qualidade dos artigos? Demoras na revisão com atraso nas publicações? A língua em que os trabalhos são escritos?

Algumas Revistas Portuguesas de Especialidade têm optado por dar exclusivo à língua inglesa nas suas publicações. É inegável que tal atitude permite uma muito maior divulgação dos trabalhos e poderá de algum modo facilitar a indexação. Não é no entanto situação indispensável para tal. Convidamos os autores com capacidade para o fazer para redigirem em inglês.

No entanto, não podemos ignorar que a Revista é órgão oficial duma Sociedade Portuguesa, e não podemos negar aos autores a possibilidade de escrever na sua própria língua. É um direito que lhes assiste.

Aceitámos também alguns trabalhos em castelhano. Foi a título excepcional. Continuem a enviar-nos artigos quer em português quer em inglês. Faremos o possível para os publicar e, se necessário, através dos comentários dos revisores, ajudar na sua melhoria.



Original article

Regulation of calcium metabolism in pseudohypoparathyroidism type 1b. From genotype to physiopathology

Luis G. Sobrinho^{a,*}, Branca M. Cavaco^{b,c}, Hugo G. Ferreira^d^a Serviço de Endocrinologia, Instituto Português de Oncologia de Francisco Gentil, Lisboa, Portugal^b Unidade de Investigação de Patobiologia Molecular (UIPM), Instituto Português de Oncologia de Francisco Gentil, Lisboa, Portugal^c Centro de Estudos de Doenças Crónicas (CEDOC), Faculdade de Ciências Médicas, Lisboa, Portugal^d Rede de Química e Tecnologia (REQUIMTE), Departamento de Química, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, Portugal

ARTICLE INFO

Article history:

Received 29 October 2013

Accepted 6 May 2014

Available online 5 July 2014

Keywords:

1,25 dihydroxy vitamin D

Hypocalcemia

Mathematical models

Pseudohypoparathyroidism

ABSTRACT

Objective: Pseudohypoparathyroidism type 1b (PHP1b) results from methylation defects in the maternal *GNAS* locus. It is implied that the observed hypocalcemia results from impairment of renal vitamin D 1α hydroxylase. This study was undertaken to clarify: (1) How serum concentrations of calcium, phosphate, PTH and 1,25 dihydroxy vitamin D (1,25OH₂D) relate to each other in patients with PHP1b; (2) how a mathematical model of calcium metabolism could reproduce the observed findings.

Patients: The study included 139 untreated patients, retrieved from the literature, with simultaneous measurements of Ca, P and PTH of whom 25 had measurements of 1,25OH₂D.

Results: Mean values and standard errors of the mean (SEM) were: PTH = 43 pM (3.66); P = 2.16 mM (0.056); Ca = 1.69 mM (0.038); 1,25OH₂D = 84 pM (10.9). Phosphate correlated negatively with calcium ($R = -0.590$; $p < 0.001$) and with age ($R = -0.623$; $p < 0.001$). No other correlations were observed. The mathematical model simulated closely the biochemical pattern of PHP1b when the clearance of phosphate was reduced to 20%, the clearance of calcium was doubled and the response of 1α hydroxylase was reduced to 30%.

Conclusions: (1) In PHP1b the concentrations of 1,25OH₂D are mostly normal. Therefore, they cannot explain the observed hypocalcemia; (2) hypocalcemia can only be explained by increased fractional excretion of calcium resulting from *GNAS* haplo-insufficiency at the level of the distal tubule; (3) the use of mathematical models to simulate complex metabolic systems allows the extraction, from clinical data, of insights onto physiopathology that are not accessible to intuition alone.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Regulação do metabolismo do cálcio em pseudohipoparatiroidismo de tipo 1b. Do genótipo à fisiopatologia

RESUMO

Objetivo: O pseudohipoparatiroidismo tipo 1b (PHP1b) resulta de defeitos de metilação no locus materno do *GNAS*. É aceite que a hipocalcémia que se observa nestes casos resulta da consequente inativação da hidroxilase 1α . Este estudo foi feito para caracterizar: 1) As relações entre as calcémias, fosfatémias e concentrações de PTH e de 1,25 dihidroxi vitamina D (1,25OH₂D) nos doentes com PHP1b; 2) Se um modelo matemático do metabolismo do cálcio poderia reproduzir os dados observados.

Doentes: O estudo incluiu os casos de 139 doentes não medicados, extraídos da literatura, e que tinham medições simultâneas de Ca, P e PTH. Em 25 deles tinham também sido medidos os valores da 1,25OH₂D.

Resultados: Os valores médios e o erro-padrão (SEM) foram: PTH = 43 pM (3,66); P = 2,16 mM (0,056); Ca = 1,69 mM (0,038); 1,25OH₂D = 84 pM (10,9). Os valores da fosfatémia estavam fortemente correlacionados com os da calcémia ($R = -0,590$; $p < 0,001$) e com a idade age ($R = -0,623$; $p < 0,001$). Não se

Palavras-chave:

1,25 dihidroxi vitamina D

Hipocalcemia

Modelos matemáticos

Pseudohipoparatiroidismo

* Corresponding author.

E-mail address: luis.g.sobrinho@sapo.pt (L.G. Sobrinho).

encontraram outras correlações significativas. O modelo matemático simulou com grande aproximação o padrão hormonal global do PHP 1b quando a depuração de fosfatos foi reduzida para 20%, a depuração de cálcio foi duplicada e resposta da 1α hidroxilase foi reduzida a 30%.

Conclusões: 1) As concentrações de $1,25\text{OH}_2\text{D}$ são normais na maior parte dos casos de PHP1b. Por consequência, não podem explicar a hipocalcemia; 2) A hipocalcemia só pode ser explicada pelo aumento da excreção fraccional de cálcio resultante da haplo-insuficiência do *GNAS* ao nível do túbulo distal; 3) O recurso a modelos matemáticos que simulam sistemas metabólicos complexos permite extrair, a partir de dados da rotina clínica, informações sobre fisiopatologia que não são acessíveis ao raciocínio intuitivo.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

Introduction

Patients with pseudohypoparathyroidism type 1b (PHP1b) present resistance to parathyroid hormone (PTH) at the proximal renal tubules. In this tissue, the G-protein alpha-subunit ($G\alpha$), from the PTH receptor-coupled G-protein, is not transcribed by the paternal allele, being expressed mainly by the maternal allele, due to imprinting.^{1,2} Therefore, disruption of the $G\alpha$ encoding locus involving silencing of the maternal allele results in reduced or absent $G\alpha$ activity. The consequent renal resistance to the actions of PTH is believed to increase the threshold for phosphate excretion and to reduce the synthesis of 1α hydroxylase. Hyperphosphatemia, hypocalcemia and high PTH levels are expected, and observed, consequences. Most encountered serum levels of $1,25$ dihydroxyvitamin D ($1,25\text{OH}_2\text{D}$) are within the normal range.

The present study was designed with two purposes: (1) To define the relationships between the serum concentrations of the observed variables (Ca, P, PTH and $1,25\text{OH}_2\text{D}$) in a population of patients with PHP1b, extracted from the literature; (2) to find out if and how feeding the primary abnormalities of PHP1b (resistance to the effects of PTH on the threshold for phosphaturia and on the synthesis of 1α hydroxylase) into a previously published mathematical model^{3,4} of calcium metabolism could reproduce the observed findings on the patients.

Materials and methods

All articles selected in PubMed under the heading “pseudohypoparathyroidism” until August 2012 and their cross-references were screened for descriptions of actual cases of PHP1b. All cases with simultaneous, pretreatment, measurements of serum calcium, phosphate and PTH were selected for the study.^{1,2,5–22} Two additional cases without measurements of PTH but in which $1,25\text{OH}_2\text{D}$ had been measured¹⁷ were included. Care was taken to avoid duplications of cases published on different occasions by the same groups.

Patients

A total of 139 cases were selected (80 females, 52 males, and 7 with non-specified sex). Sixty-three of the cases were familial, 38 were sporadic and this information was missing in 38. Twenty-five of the patients also had measurements of $1,25\text{OH}_2\text{D}$. In 14 cases PTH had been measured by RIA directed at the amino terminal part of the PTH molecule. In these cases the values were converted to the equivalent values for the assays of “intact” PTH using a factor – 0.0165 – calculated from the reference ranges reported. Reference data for all the variables were checked for conformity with those published by Kratz et al.²³ for adults, generally accepted by the medical community when local references are not available. As exploratory analysis revealed that serum phosphate was correlated with age this variable was included in the correlation analysis.

For the correlations with $1,25\text{OH}_2\text{D}$ only 23 patients were used, because in 2 of them there was no information on PTH.

Statistics – The significance of the differences between the averages of groups were calculated by the *t*-test. Two tailed Pearson’s correlations between variables were calculated by bivariate analysis and then by stepwise multiple regression analysis considering each of the variables (except age) as a dependent variable. The calculations were made using the software SPSS, version 19. Significance was defined at the level of 5%.

Simulations

In order to compute the expected results of the pertinent variables (serum concentrations of calcium, phosphorus, PTH and $1,25\text{OH}_2\text{D}$) when the known defects observed in PHP1b were considered, we used an upgraded version³ of a mathematical model of calcium metabolism published by our group.⁴ A source code of the program can be obtained from h.g.ferreira3@gmail.com. The parameters determining all the functions dependent on PTH were relaxed so that: (1) The postulated abnormalities described in PHP1b were included in the equations; (2) the outcoming values for the pertinent variables at steady state would mimic as much as possible the average values from the observed series.

Results

Descriptive statistics of the variables

The serum levels of calcium, phosphorus and $1,25\text{OH}_2\text{D}$ had a Gaussian distribution. Age and the concentrations of PTH had a log normal distribution. All variables had unimodal distributions.

The number of cases (*n*), mean, standard error of the mean (SEM) and range of each of the variables is shown in Table 1.

When the patients were grouped by sex it was found that the mean age of the males was significantly lower than that of the females (13.3 vs. 21.5 years; $p=0.001$) and the phosphate levels were significantly higher in males than in females (2.29 vs. 2.01 mM; $p=0.007$). No significant differences were observed for the other variables. When the patients were grouped as sporadic ($n=38$) vs. familial ($n=63$) cases no differences were found in sex (36/27 females in familial cases vs. 21/17 in sporadic cases), age (16 vs. 19.5 years), calcium (1.61 vs. 1.75 mM), phosphate (2.08 vs. 2.07 mM) or PTH (47.7 vs. 44.4 pM).

Correlations

Phosphate levels correlated negatively with calcium levels ($t=-7.668$; $p<0.001$) and with age ($t=-7.253$; $p<0.001$) on multiple regression analysis considering age, serum calcium concentrations and PTH as independent variables. No other significant correlations were observed. In patients aged 39 years or older the concentrations of PTH were positively correlated with that of

Table 1
Number of patients with PHP-1b and mean, SEM and range of the variables.

	Age (years)	Ca (mM)	P (mM)	PTH (pM)	1,25OH2D (pM)
<i>n</i>	123	137	137	137	25
Mean	18.7	1.69	2.16	43	84
SEM	1.21	0.038	0.056	3.66	10.9
Range	3–61	0.90–2.95	0.81–3.42	5.83–258	15–203
Reference range ^a	–	2.25–2.63	0.97–1.45 ^b	1.1–6.6	63–113

^a Reference ranges according to Kratz et al.²³

^b Reference for adults.

Table 2
Changes in the parameters introduced in the model so that the presumed consequences of the genetic defects characteristic of PHP1b are included and the outcomes, at steady state, mimic the empirical results observed in the present series.

Parameter	Change introduced in the model
Clearance of phosphate by the kidney	Reduced to 20% of the reference value
Clearance of calcium by the kidney	Increased by 100% of the reference value
Responsiveness of 1 α hydroxylase to PTH	Reduced to 30% of the reference value

calcium ($t=2.501$; $p=0.041$). This subgroup was selected because 39 years was the age of the youngest patient with PHP and documented tertiary hyperparathyroidism.²⁰ The correlations between the serum concentrations of PTH and those of calcium and phosphate remained not significant even after this subgroup of patients were removed.

Simulations

The model could simulate the observed hypocalcemia only on the condition that the clearance of calcium was increased above the reference value. The best simulation of all the observed variables was obtained introducing in the model the adjustments in the parameters shown in Table 2.

The magnitude of the reduction in the responsiveness of 1 α hydroxylase to PTH is difficult to anticipate considering that this enzyme is also expressed at the level of the distal tubule.²⁴ It seemed, therefore reasonable to consider that this defect was less intense than that on the clearance of phosphate.

Modifications on the parameters describing the effect of PTH on the production of fibroblast growth factor 23 (FGF 23) and on the fluxes of calcium to and from the bone were also relaxed but the effects on the pertinent variables were small. The predicted values of the variables at steady state and the average of the actually observed values in the patients are shown in Table 3.

Discussion

Hypoparathyroidism type 1b is an interesting model to study the translation of well defined abnormalities at the genetic/cellular level into their systemic repercussions. An epigenetic abnormality consisting of methylation defects at the maternally derived *GNAS* locus, paternally imprinted at the proximal renal tubule^{1,2,25} is present in these patients. It has been generally accepted that

Table 3
Values of the variables calculated by the model compared to the values observed in the present series.

Variable	Simulated	Observed
Phosphoremia (mM)	2.10	2.16
Calcaemia (mM)	1.75	1.69
PTH (pM)	44	43
1,25OH2D (pM)	77	81

this abnormality is responsible for the observed resistance to the actions of PTH resulting in hyperphosphatemia and hypocalcemia due to increased threshold for phosphate excretion and reduced synthesis of 1 α hydroxylase. Yet, no quantitative studies on the excretion of phosphate or on the activity of 1 α hydroxylase have been reported in these patients or even in animal models.

An increase in the threshold for phosphate can explain the observed hyperphosphoremia, leading to increased PTH, while the impaired synthesis of 1 α hydroxylase should result in reduced levels of 1,25OH2D, a lowering of serum calcium concentration and a further increase in the concentrations of PTH. The finding of a normal concentration of 1,25OH2D in one of our patients¹⁶ raised doubts about the validity of this explanation and prompted us to perform a meta-analysis of the available literature on this matter considering that PHP1b is a rare condition.

In a series of 7 untreated patients with pseudohypoparathyroidism type 1, subtype not specified (PHP1?), the authors reported average 1,25OH2D levels below normal (37 pM/l vs. 100 in controls).²⁶ This series was not included in our analysis since the authors provided only average values for 1,25OH2D. However, in the 27 patients collected for the present study it was found that the scatter of values of 1,25OH2D contained the normal range. This might be explained by the high values of PTH, but cannot explain the observed hypocalcemia. Hypocalcemia could be due to some degree of resistance to parathyroid hormone at the level of the distal renal tubule and consequent increase in the calcium excretion when normalized for the corresponding glomerular load. The responsiveness to PTH at this level is believed to be preserved, since an infusion of PTH in patients with PHP1? reduces the urinary excretion of calcium^{24,27} and, for similar levels of calcium, patients with PHP1? excrete less calcium than patients with idiopathic hypoparathyroidism, both groups being under treatment with 1 α hydroxyl vitamin D.^{24,28}

While reduction in the excretion of calcium after an infusion of PTH indicates that the distal nephron responds to PTH it does not establish that the response is quantitatively normal. Evidence that the distal nephron is affected in patients with PHP1? is provided by the finding that the urinary excretion of cathepsin D (a marker of distal tubular function) following an infusion of PTH is significantly reduced in patients with PHP1? as compared to normal controls or to patients with idiopathic hypoparathyroidism.²⁶ This observation probably reflects haplo-insufficiency of *GNAS* in non imprinted tissues of patients with PHP1?, a finding described in mice knocked-out for the gene *GNAS*.²⁵ The only way to quantitatively assess the re-absorption of calcium by the distal nephron is by calculating the fractional excretion of calcium. To the extent of our knowledge only one report in the literature contains data in untreated patients with PHP1?²⁴ that allow such calculation. In the five patients with PHP1? in which this ratio could be computed it was 0.0195 ± 0.0046 while in 10 patients with idiopathic hypoparathyroidism reported in the same publication it was 0.0316 ± 0.0059 . This was compared with 0.0109 ± 0.0009 in our own series of 41 normal controls. Although only the difference between controls and hypoparathyroid patients reached a level of statistical significance ($p < 0.001$), most likely due to the small sample size of patients with PHP1?,

these observations suggest that patients with PHP1? live in a steady state such that the fractional excretion of calcium by the kidney is higher than normal but lower than that observed in idiopathic hypoparathyroidism. This is what could be expected considering the *GNAS* haplo-insufficiency at the level of the distal nephron.^{25,26} The possibility that, as a result of a positive balance of phosphate, a direct physical effect of the hyperphosphatemia could contribute to the observed hypocalcemia is suggested by the observation that when increased quantities of phosphate are added to aliquots of the same blood sample a perfect negative correlation between concentrations of ionized calcium and phosphorus is observed.²⁹ However, living organisms exist in a steady state of fluxes, not in equilibrium, as in a flask. For the product of solubility to be a determinant factor of hypocalcemia one would expect continuous accretion of calcium in the bone or somewhere else as occurs in familial tumoral calcinosis a condition wherein, despite the extensive calcinosis, serum calcium concentrations are usually kept within normal limits. Cases of osteosclerosis³⁰ or of extensive soft tissue calcification³¹ in PHP1b have been reported but are exceptional and most patients with PHP1b present lower bone mass density than normal controls or patients with hypoparathyroidism.^{32,33}

The simulations performed with the mathematical model of calcium metabolism provided support to the formulation that haplo-insufficiency of the *GS α* encoding locus at the level of the distal tubule results in a reduction of its responsiveness to the calcium sparing function of PTH.

When the fractional excretion of calcium by the kidney was increased to twice as much its reference value (a factor calculated from the reported cases by Yamamoto,²⁴ and reasonable to expect given the haplo-insufficiency) the model closely reproduced the empirical observations extracted from the reported literature, including the somewhat bizarre findings of hypocalcemia in the presence of high values of PTH and normal serum concentrations of 1,25OH₂D.

No differences in the metabolic phenotype were found between sporadic and familial cases. The genetic basis of the familial forms is rather homogeneous, in most cases consisting of a deletion of about 3 kb in the *STX16* gene. Unidentified genetic causes account for most sporadic forms although, along with familial forms, the abnormalities converge to the same final defect – loss of the maternal epigenotype within the exon 1A DMR. Considering the small sample size and the different methods used by different authors at different times no attempts were made to further sub divide the population according to the genetic abnormalities.

Phosphate levels were negatively associated with age, a finding already described in healthy people.³⁴ This association may be responsible for the significantly higher phosphate levels observed in males (2.29 vs. 2.00 mM) as the average age of the males in the sample was significantly lower than that of the females (13.3 vs. 21.5 years).

It is interesting that the serum concentrations of PTH, although consistently high did not correlate with calcium, phosphorus or 1,25OH₂D except in older patients in whom documented²⁰ or presumed tertiary hyperparathyroidism may occur. Factors responsible for the elevation of PTH are hypocalcemia, hyperphosphatemia and, when present, low concentrations of 1,25OH₂D. The absence of correlations between these variables is certainly due to the complexity of the non-linear multi-loop system regulating calcium metabolism.

Conclusions: (1) In PHP1b the concentrations of 1,25OH₂D are inappropriately normal, scattered over an interval that contains the normal range. Therefore, reduced activity of 1 α hydroxylase cannot explain the consistently observed hypocalcemia; (2) hypocalcemia is most likely due to an increased fractional excretion of calcium resulting from *GNAS* haplo-insufficiency at the level of the distal tubule; (3) although the genetic defects in

PHP1b affect predominantly the excretion of phosphate and the activity of 1 α hydroxylase, the physiopathology of the condition is ultimately determined by the altered fractional excretion rate of calcium, besides that of phosphate. The reduced responsiveness of 1 α hydroxylase to PTH is offset by the high levels of PTH; (4) the use of mathematical models to simulate complex metabolic systems allows to extract, from clinical data, information on physiopathology that is not accessible to intuition alone.

Ethical disclosures

Protection of human and animal subjects. The authors declare that no experiments were performed on humans or animals for this study.

Confidentiality of data. The authors declare that they have followed the protocols of their work center on the publication of patient data.

Right to privacy and informed consent. The authors declare that no patient data appear in this article.

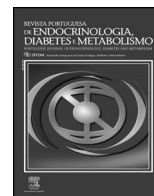
Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

- Bastepe M, Fröhlich LF, Hendy GN, Indridason OS, Josse RG, Koshiyama H, et al. Autosomal dominant pseudohypoparathyroidism type 1b is associated with a heterozygous microdeletion that likely disrupts a putative imprinting control element of *GNAS*. *J Clin Invest*. 2003;112:1255–63.
- Maupetit-Méhouas S, Mariot V, Reynès C, Bertrand G, Feillet F, Carel JC, et al. Quantification of the methylation at the *GNAS* locus identifies subtypes of sporadic pseudohypoparathyroidism type 1b. *J Med Genet*. 2011;48:55–63.
- Yokota H, Raposo JF, Chen A, Ferreira HG. Evaluation of the role of FGF23 in mineral metabolism. *Gene Regul Syst Biol*. 2010;4:53–60.
- Raposo JF, Sobrinho LG, Ferreira HG. A minimal mathematical model of calcium homeostasis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:4330–40.
- Murray T, Rao LG, Wong MM, Waddell JP, McBroom R, Tam ICS, et al. Pseudohypoparathyroidism with osteitis fibrosa cystica: direct demonstration of skeletal responsiveness to parathyroid hormone in cells cultured from bone. *J Bone Miner Res*. 1993;8:83–91.
- Schipani E, Weinstein LS, Bergwitz C, Iida-Klein A, Kong XF, Stuhmann M, et al. Pseudohypoparathyroidism type 1b is not caused by mutations in the coding exons of the human parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80:1611–21.
- Fukumoto S, Suzawa M, Takeuchi Y, Kodama Y, Nakayama K, Ogata E, et al. Absence of mutations in parathyroid hormone (PTH)/PTH-related protein receptor complementary deoxyribonucleic acid in patients with pseudohypoparathyroidism type 1b. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:2554–8.
- Bettun JD, Minagawa M, Kwan MY, Lee H, Yasuda T, Hendy G, et al. Cloning and characterization of the promoter regions of the human parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor gene: Analysis of deoxyribonucleic acid from normal subjects and patients with pseudohypoparathyroidism type 1b. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:1031–40.
- Bastepe M, Lane AH, Jüppner H. Paternal uniparental isodisomy of chromosome 20q – and the resulting changes in *GNAS1* methylation – as a plausible cause of pseudohypoparathyroidism. *Am J Hum Genet*. 2001;68:1283–9.
- Wu WJ, Schwindinger WF, Aparicio LF, Levine MA. Selective resistance to parathyroid hormone caused by a novel uncoupling mutation in the carboxyl terminus of Gas – a cause of pseudohypoparathyroidism type 1b. *J Biol Chem*. 2001;276:165–71.
- Freson K, Thys C, Wittevrongel, Proesmans W, Hoylaerts MF, Vermeylen J, et al. Pseudohypoparathyroidism type 1b with disturbed imprinting in the *GNAS1* cluster and *Gsa* deficiency in platelets. *Hum Mol Genet*. 2002;11:2741–50.
- Mahmud FH, Linglart A, Bastepe M, Jüppner H, Lteif AN. Molecular diagnosis of pseudohypoparathyroidism type 1b in a family with presumed paroxysmal dyskinesia. *Pediatrics*. 2005;115:242–4.
- Agarwal C, Seigle R, Agarwal S, Bilezikian J, Hyman JE, Oberfield SE. Pseudohypoparathyroidism: a rare cause of bilateral slipped capital femoral epiphysis. *J Pediatr*. 2006;149:406–8.
- Faissolle P, Wagner-Mahler K, Mas J-C, Moreigne M, Khalfi A, Leonetti V, et al. A cause of intracerebral calcifications that should be known: pseudohypoparathyroidism 1b. *Arch Pediatr*. 2008;15:1433–6.

15. Alsum Z, Safieh LA, Nygren AOH, Al-Hamed, Alkuraya FS. Methylation-specific multiplex-ligation-dependent probe amplification as a rapid molecular diagnostic tool for pseudohypoparathyroidism Type 1b. *Gene Test Mol Biomarkers*. 2010;14:135–9.
16. Cavaco BM, Tomaz RA, Fonseca F, Mascarenhas MR, Leite V, Sobrinho LG. Clinical and genetic characterization of Portuguese patients with pseudohypoparathyroidism type 1b. *Endocrine*. 2010;37:408–14.
17. Kinoshita K, Minagawa M, Takatani T, Takatani R, Ohashi M, Kohono Y. Establishment of diagnosis by bisulfite-treated methylation specific PCR method and analysis of clinical characteristics of pseudohypoparathyroidism type 1b. *Endocr J*. 2011;58:879–87.
18. Fernández-Rebollo E, Nanclares GP, Lecumberri B, Turan S, Anda E, Pérez-Nanclares G, et al. Exclusion of the GNAS locus in PHP-1b patients with broad GNAS methylation changes: evidence for an autosomal recessive form of PHP1b. *J Bone Miner Res*. 2011;26:1854–63.
19. Sanchez J, Perera E, Jan de Beur S, Ding C, Dang A, Berkovitz L. Madelung-like deformity in pseudohypoparathyroidism type 1b. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:E1507–11.
20. Neary NM, El-Maouche D, Hopkins R, Libutti S, Moses AM, Weinstein LS. Development and treatment of tertiary hyperparathyroidism in patients with pseudohypoparathyroidism type 1b. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97:3025–30.
21. Richard N, Abeguilé G, Coudray N, Mittre H, Gruchy N, Andrieux J, et al. A new deletion ablating NESP55 causes loss of maternal imprint of A/B GNAS and autosomal dominant pseudohypoparathyroidism type 1b. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97:E863–7.
22. Perez-Nanclares G, Romanelli V, Mayo S, Garin I, Zazo C, et al. Detection of hypomethylation syndrome among patients with epigenetic alterations at the GNAS locus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97:E1060–7.
23. Kratz A, Ferraro M, Sluss PM, Lewandrowsky KB. Laboratory reference values. *N Engl J Med*. 2004;351:1548–63.
24. Yamamoto M, Takuwa Y, Masuko S, Ogata E. Effects of endogenous and exogenous parathyroid hormone on tubular reabsorption of calcium in pseudohypoparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1988;66:618–25.
25. Yu S, Yu D, Lee E, Eckhaus M, Lee R, Corria Z, et al. Variable and tissue-specific hormone resistance in heterotrimeric Gs protein α -subunit (Gsa) knockout mice is due to tissue-specific imprinting of the Gsa gene. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:8715–20.
26. Goto M, Mizunashi K, Kimura N, Furukawa Y. Decreased sensitivity of distal nephron and collecting duct to parathyroid hormone in pseudohypoparathyroidism Type 1. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12:1965–70.
27. Moses AM, Breslau N, Coulson R. Renal responses to PTH in patients with hormone-resistant (pseudo) hypoparathyroidism. *Am J Med*. 1976;61:184–9.
28. Mizunashi K, Furukawa Y, Sohn HE, Miura R, Yumita S, Yoshinaga K. Heterogeneity of pseudohypoparathyroidism type 1 from the aspect of urinary excretion of calcium and serum levels of parathyroid hormone. *Calcif Tissue Int*. 1990;46:227–32.
29. Lehmann M, Mimouni F. Serum phosphate concentration: effect on serum ionized calcium concentration in vitro. *Am J Dis Child*. 1989;143:1340–1.
30. Sbrocchi AM, Rauch F, Lawson ML, Hadjiyannakis S, Lawrence S, Bastepe M, et al. Osteosclerosis in two brothers with autosomal dominant pseudohypoparathyroidism type 1b: bone histomorphometric analysis. *Eur J Endocrinol*. 2011;164:295–301.
31. Shimizu T. Images in clinical medicine. Massive calcification in pseudohypoparathyroidism. *N Engl J Med*. 2003;349:464.
32. Breslau NA, Moses AM, Pak CY. Evidence for bone remodeling but lack of calcium mobilization response to parathyroid hormone in pseudohypoparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1983;57:638–44.
33. Kanatani M, Sugimoto T, Kaji H, Ikeda K, Chihara K. Skeletal responsiveness to parathyroid hormone in pseudohypoparathyroidism. *Eur J Endocrinol*. 2001;144:263–9.
34. Greenberg BG, Winters RW, Graham JB. The normal range of serum inorganic phosphorus and its utility as a discriminant in the diagnosis of congenital hypophosphatemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 1960;20:364–79.



Artigo original

Risco de pólipos e cancro colorretal em doentes com acromegalia: experiência de 20 anos



Henrique Vara Luiz^{a,*}, Ana Almeida Nunes^b, Tiago Nunes da Silva^a, Isabel Manita^a, Luísa Raimundo^a, João de Freitas^b e Jorge Portugal^a

^a Serviço de Endocrinologia e Diabetes, Hospital Garcia de Orta, Almada, Portugal

^b Serviço de Gastrenterologia, Hospital Garcia de Orta, Almada, Portugal

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Historial do artigo:

Recebido a 4 de dezembro de 2013

Aceite a 11 de março de 2014

On-line a 18 de junho de 2014

Palavras-chave:

Acromegalia
Pólipos
Cancro colorretal
Divertículos
Colonoscopia

R E S U M O

Introdução: A literatura sugere que a acromegalia está associada a risco de pólipos e cancro colorectal (CCR), não existindo dados consensuais quanto aos fatores associados ao seu desenvolvimento.

Objetivos: Calcular a prevalência de pólipos adenomatosos (PA), pólipos hiperplásicos (PH), CCR e divertículos do cólon (DC) em doentes com acromegalia; comparar com as respetivas prevalências na população em geral; estudar relação entre os achados endoscópicos e os níveis de hormona de crescimento e fator de crescimento semelhante à insulina 1, a duração da doença e a presença de fibromas cutâneos.

Métodos: Estudo retrospectivo com análise dos processos clínicos dos doentes, seguidos no Hospital Garcia de Orta entre 1992-2012.

Resultados: Identificados 33 indivíduos com acromegalia, 28 dos quais submetidos a pelo menos uma colonoscopia. A prevalência de alterações encontradas neste estudo versus dados na população em geral foi: PA 14,3 versus 38% ($p=0,0098$), PH 14,3 versus 9% ($p=0,33$), CCR 7,1 versus 1% ($p=0,0012$) e DC 21,4 versus 19% ($p=0,75$). Nos doentes com acromegalia e CCR a mediana da duração da doença (anos) foi de 30, comparativamente a 11 no grupo sem alteração na colonoscopia ($p=0,028$). Não houve diferenças significativas nos valores hormonais nem na presença de fibromas cutâneos.

Conclusões: Nos doentes com acromegalia foram encontrados significativamente menos PA e mais CCR que na população em geral. A duração da doença foi significativamente maior nos doentes com acromegalia e CCR, comparativamente ao grupo sem alteração na colonoscopia. Não se obteve relação entre os achados endoscópicos e os doseamentos laboratoriais ou os fibromas cutâneos. Este estudo realça o risco de CCR na acromegalia e sugere a duração da doença como um dos possíveis fatores associados ao desenvolvimento de neoplasia do cólon. No entanto, o número limitado de doentes não permite obter conclusões válidas e incentiva a realização de estudos a nível nacional.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier Espanha, S.L. Todos os direitos reservados.

Risk of polyps and colorectal cancer in patients with acromegaly: A 20-year experience

A B S T R A C T

Keywords:

Acromegaly
Colon polyps
Colorectal cancer
Colon diverticula
Colonoscopy

Introduction: Several studies suggest that acromegaly is associated with an increased risk of colon polyps and colorectal cancer (CRC). There is no consensus on the factors associated with its development.

Objectives: To assess the prevalence of colon adenomas (CA), hyperplastic polyps (HP), CRC and colon diverticula (CD) in patients with acromegaly; to compare with the prevalence in the general population; to determine the relationship between colonoscopic lesions and growth hormone and insulin-like growth factor 1 levels, the duration of the disease and the presence of skin tags.

Methods: Retrospective study with analysis of medical records of the patients, followed in Garcia de Orta hospital, between 1992 and 2012.

* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: hvaraluiz@gmail.com (H. Vara Luiz).

Results: Thirty three patients with acromegaly were identified and 28 underwent at least one endoscopic examination. The prevalence of abnormalities found in this study versus data in the general population was: CA 14.3 versus 38% ($p=0.0098$), HP 14.3 versus 9% ($p=0.33$), CRC 7.1 versus 1% ($p=0.0012$) and CD 21.4 versus 19% ($p=0.75$). In patients with acromegaly and CRC the median disease duration (years) was 30 compared to 11 in the group without any colonoscopic lesion ($p=0.028$). There were no significant differences in hormone levels or in the presence of skin tags.

Conclusions: Patients with acromegaly had significantly less CA and more CRC than the general population. Disease duration was significantly higher in patients with acromegaly and CRC, compared to those with no colonoscopic abnormalities. There was no relationship between endoscopic findings and laboratory results or skin tags. This study highlights the risk of CRC in acromegaly and suggests the duration of the disease as one of the possible factors associated with the development of cancer. However, the limited number of patients prevents reaching valid conclusions and encourages the performance of studies at a national level.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introdução

Acromegalia é uma doença rara com uma prevalência de 40-125 casos por milhão e uma incidência de 3-4 casos por milhão por ano¹. A distribuição é idêntica por ambos os sexos. Caracteriza-se por hipersecreção persistente de hormona de crescimento (GH) no adulto e associa-se a macroadenoma hipofisário na maioria dos casos². O seu fenótipo é insidioso e variado. Quando há suspeita clínica, um doseamento de fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) sérico acima do limite superior do normal para a idade sugere a doença. O diagnóstico é confirmado quando ocorre supressão inadequada de GH sérica durante a prova de tolerância à glicose oral (PTGO). Para determinar a causa, o primeiro exame a solicitar deverá ser a ressonância magnética nuclear da região selar. O tratamento inicial é, na maioria dos casos, cirúrgico, efetuado geralmente por via transfenoidal²⁻⁴.

Alguns estudos sugerem que a acromegalia está associada a risco aumentado de pólipos adenomatosos (PA), pólipos hiperplásicos (PH), cancro colorretal (CCR) e divertículos do cólon (DC)⁵⁻⁸. O aumento do IGF-1 nestes doentes pode ter efeitos proliferativos e antiapoptóticos, contribuindo para as alterações observadas na colonoscopia. Por este motivo, as *guidelines* mais recentes recomendam efetuar exame endoscópico total logo após o diagnóstico da doença². Apesar da maioria dos CCR ser proveniente de PA, foi recentemente reconhecido o potencial maligno dos PH^{9,10}. Na literatura há resultados discrepantes sobre os eventuais fatores associados ao desenvolvimento de lesões do cólon nos indivíduos com acromegalia^{6-8,11}.

Os objetivos deste estudo são: 1) calcular a prevalência de PA, PH, CCR e DC num grupo de doentes com acromegalia, utilizando os dados da colonoscopia inicial; 2) comparar com as respetivas prevalências na população em geral; e 3) nos acromegálicos, estudar se existe relação entre cada um dos achados endoscópicos e os níveis de GH e IGF-1 (doseados na altura da colonoscopia), a duração da doença (definida como superior ao intervalo de tempo entre o início dos sintomas e a realização do procedimento) e a presença de ≥ 3 fibromas cutâneos.

Métodos

Estudo retrospectivo com análise dos processos clínicos dos doentes acromegálicos, seguidos em consulta externa de Endocrinologia no Hospital Garcia de Orta (HGO) entre 1992-2012 (período de 20 anos).

O diagnóstico de acromegalia foi efetuado por suspeita clínica, IGF-1 sérico acima do limite superior do normal para a idade e supressão inadequada de GH sérica durante a PTGO ($\text{GH} \geq 1 \text{ ng/mL}$). Considerou-se doença ativa se doseamentos de

IGF-1 fora dos valores de referência e/ou GH ocasional ou durante PTGO $\geq 1 \text{ ng/mL}$. A GH sérica foi doseada por quimioluminescência utilizando Immulite® 2000 (Euro/DPC Ltd. Gwynedd, Reino Unido) com resultado em ng/mL. O método de determinação do IGF-1 sérico foi também quimioluminescência e a unidade de medida usada ng/mL. Valores apresentados em nmol/L foram multiplicados por 7,65 para conversão em ng/mL. Procedeu-se ao cálculo do índice de IGF-1 de modo a corrigir o valor de IGF-1 para a idade (índice de IGF-1 = IGF-1 medido/limite superior da normalidade para a idade).

A colonoscopia foi realizada no HGO ou no exterior, por diferentes executantes. Utilizou-se preparação oral standard com polietilenoglicol na maioria dos casos. Os pólipos identificados foram excisados e submetidos a exame anatomopatológico. Foram apenas estudados os dados relativos à primeira colonoscopia realizada (exame inicial).

A análise estatística foi efetuada em SPSS 20.0. Para as variáveis contínuas a normalidade foi avaliada pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e de Shapiro-Wilk. No caso das populações a comparar terem distribuição normal, o resultado foi apresentado pela média \pm desvio-padrão (SD) e utilizado o teste t de Student. Se ausência de normalidade em pelo menos uma das populações, os valores foram referidos pela mediana e percentis e a análise estatística efetuada pelo teste de Mann-Whitney. As variáveis discretas foram estudadas através do teste do qui-quadrado e teste exato de Fisher. Para comparar prevalências de alterações na colonoscopia entre doentes com acromegalia e a população em geral (teórica) foi utilizado o teste para proporções. Considerou-se um nível de significância de 5% ($p=0,05$).

Resultados

Durante o período de estudo, 37 doentes com diagnóstico confirmado de acromegalia foram seguidos em consulta externa de Endocrinologia no HGO. Desses, excluíram-se 4 por dados insuficientes no processo clínico. Foram então incluídos 33 doentes, apresentando-se as suas características na tabela 1. Destacam-se uma distribuição por género semelhante, com a maioria dos diagnósticos efetuados entre a 4.^a e a 6.^a décadas de vida e um período desde o início do quadro clínico até ao diagnóstico de $6,4 \pm 6,3$ anos. Nenhum dos indivíduos tinha história familiar de CCR e a maioria apresentava ≥ 3 fibromas cutâneos (54,5%).

Vinte e oito doentes (84,8%) efetuaram pelo menos uma colonoscopia. A sua caracterização está representada na tabela 2. O exame endoscópico foi realizado $13,5 \pm 8,4$ anos após o início das manifestações clínicas. Apesar de 23 doentes (82,1%) terem sido submetidos a terapêutica antes da realização da colonoscopia (mais frequentemente cirurgia transfenoidal), a maioria manteve doença ativa. A preparação do cólon foi classificada como boa

Tabela 1

Características clínicas e laboratoriais dos doentes com diagnóstico de acromegalia incluídos no estudo

	Doentes com acromegalia (n = 33)
<i>Género</i>	
Feminino	17 (51,5%)
Masculino	16 (48,5%)
<i>Idade início sintomas (anos)</i>	40,1 ± 11,5
<i>Idade diagnóstico (anos)</i>	46,4 ± 11,7
<i>História familiar de CCR</i>	0
<i>≥ 3 fibromas cutâneos</i>	
Sim	18 (54,5%)
Não	13 (39,4%)
Desconhecido	2 (6,1%)
<i>GH sérica ao diagnóstico (ng/mL)</i>	19,9 ± 23,2
<i>IGF-1 sérico ao diagnóstico (ng/mL)</i>	787,9 ± 448

em 4 casos (14,3%) e deficiente em 11 (39,3%); a progressão foi total (até ao cego) em 20 doentes (71,4%) e não total em 6 (21,4%).

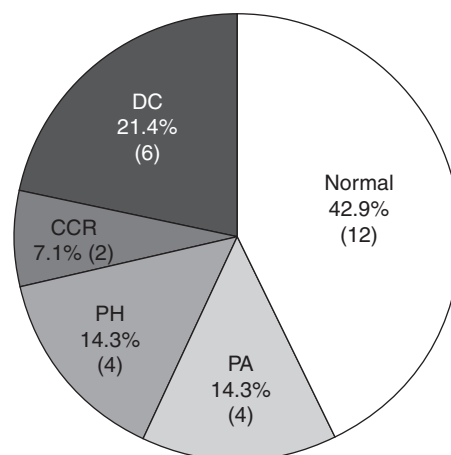
Os resultados da colonoscopia inicial estão representados na figura 1. O exame foi considerado normal em 12 doentes (42,9%). Foram identificados PA em 4 casos (14,3%), dos quais 2 apresentavam lesões múltiplas (número máximo de 2 adenomas) e um tinha uma lesão com dimensão superior a 1 cm, estando os adenomas localizados no reto (2 casos), cólon descendente (um caso) e cólon ascendente (um caso). Outros 4 doentes (14,3%) apresentavam PH, 3 com mais do que uma lesão (máximo de 10 pólipos), todos medindo menos de 1 cm e localizando-se na sigmoideia (2 casos) e no reto/sigmoideia (2 casos). Foi efetuado diagnóstico de CCR em 2 casos (7,1%), ambos envolvendo a sigmoideia e com dimensão superior a 1 cm. Identificaram-se DC em 6 doentes (21,4%).

Para obter prevalências de alterações endoscópicas relativas à população em geral foram utilizados dados de 2 estudos: um estudo nacional com colonoscopia realizada para rastreio de CCR em 2.700 indivíduos (idade média 56 anos, 47% ♂ e 53% ♀), que identificou prevalência de PA 38% e de CCR 1%¹², e um estudo internacional em que o rastreio foi efetuado em 214 casos (idade

Tabela 2

Caracterização dos doentes com acromegalia submetidos a colonoscopia inicial

	Doentes com acromegalia submetidos a colonoscopia inicial (n = 28)
<i>Local de realização do exame</i>	
HGO	24 (85,7%)
Exterior	4 (14,3%)
<i>Idade colonoscopia (anos)</i>	53,9 ± 11,3
<i>Tempo entre início sintomas e colonoscopia (anos)</i>	13,5 ± 8,4
<i>Terapêutica antes da colonoscopia</i>	
Sim	23 (82,1%)
Não	5 (17,9%)
<i>Doença ativa à data da colonoscopia</i>	
Sim	23 (82,1%)
Não	5 (17,9%)
<i>GH sérica à data da colonoscopia (ng/mL)</i>	7,6 ± 16,1
<i>IGF-1 sérico à data da colonoscopia (ng/mL)</i>	446,5 ± 308,9
<i>Preparação</i>	
Boa	4 (14,3%)
Razoável	9 (32,1%)
Deficiente	11 (39,3%)
Desconhecida	4 (14,3%)
<i>Progressão</i>	
Total (até cego)	20 (71,4%)
Cólon ascendente	1 (3,6%)
Ângulo hepático	1 (3,6%)
Cólon transversal	2 (7,1%)
Cólon descendente	2 (7,1%)
Desconhecida	2 (7,1%)

**Figura 1.** Resultados da colonoscopia inicial, efetuada aos doentes com acromegalia (n = 28).

média 57 anos, 56% ♂ e 44% ♀), com prevalência de PH 9% e de DC 19%⁸.

Comparativamente à população em geral (teórica), os doentes com acromegalia apresentaram significativamente menos PA ($p = 0,0098$) e mais CCR ($p = 0,0012$). As diferenças não foram significativas para os PH e os DC (tabela 3).

A tabela 4 esquematiza a relação entre a presença de alterações endoscópicas e os níveis de GH e IGF-1 (doseados na altura do exame), nos indivíduos com acromegalia. Destaca-se o facto dos acromegálicos em que foram identificados PH apresentarem doseamento de GH superior ao dos doentes com colonoscopia normal, embora sem significado estatístico ($p = 0,069$). Do mesmo modo, obteve-se um doseamento de IGF-1 superior nos doentes com acromegalia e PH comparativamente àqueles com resultado normal, sem significância estatística ($p = 0,091$). Quando se utilizou o índice de IGF-1, as diferenças também não foram significativas para qualquer dos achados endoscópicos.

A tabela 5 representa a associação entre os achados endoscópicos e a duração da doença (definida como superior ao intervalo de tempo entre o início dos sintomas e a realização do exame), nos doentes com acromegalia. Pretende-se realçar que a duração foi significativamente maior nos acromegálicos com CCR, comparativamente aos doentes com procedimento considerado normal ($p = 0,028$).

Embora todos os doentes com PH apresentassem um número de fibromas cutâneos ≥ 3 , não se identificou associação entre qualquer dos resultados da colonoscopia e a presença dessas lesões (tabela 6).

Dos 28 doentes que realizaram colonoscopia inicial, 8 (28,6%) foram submetidos a exame subsequente.

Relativamente ao follow-up dos 33 doentes acromegálicos estudados, 25 (75,8%) mantêm seguimento, 5 (15,1%) abandonaram a consulta e 3 (9,1%) faleceram; as causas de morte foram CCR (um caso), acidente vascular cerebral (AVC) isquémico (um caso) e suicídio (um caso).

Tabela 3

Comparação de prevalências de alterações na colonoscopia entre doentes com acromegalia e a população em geral. Valores p significativos estão apresentados a negrito

	Acromegalia (n = 28)	População em geral	Valor p
PA (%)	14,3	38	0,0098
PH (%)	14,3	9	0,33
CCR (%)	7,1	1	0,0012
DC (%)	21,4	19	0,75

Tabela 4

Análise da relação entre as alterações na colonoscopia e os níveis de GH e IGF-1 nos doentes com acromegalia. Procedeu-se a comparação entre cada um dos diagnósticos (PA, PH, CCR e DC) e resultado normal. Apesar de algumas diferenças observadas, não se obteve nenhum valor p significativo

	Normal	PA	PH	CCR	DC
GH (ng/mL)	Mediana 1,7 P25 0,53 P75 4,13	Mediana 2,69 P25 1,52 P75 7,63 p = 0,396	Mediana 16,95 P25 3,57 P75 69,03 p = 0,069	Mediana 6,1 P25 2 p = 0,273	Mediana 2,05 P25 0,58 P75 7,23 p = 0,851
IGF-1 (ng/mL)	Mediana 368 P25 216 P75 555,9 Média ± SD 375,1 ± 186,5	Mediana 480 P25 271,25 P75 488,5 p = 0,716	Média ± SD 604,1 ± 309,7 p = 0,091	Mediana 483,35 P25 381,7 p = 0,465	Mediana 265,5 P25 108,75 P75 865 p = 0,779
Índice IGF-1	Mediana 1,58 P25 0,98 P75 2,19	Mediana 2,27 P25 1,13 P75 2,41 p = 0,33	Mediana 1,8 P25 1,55 P75 3,84 p = 0,4	Mediana 2,46 P25 1,8 p = 0,2	Mediana 1,08 P25 0,46 P75 3,52 p = 0,64

Tabela 5

Análise da associação entre os achados na colonoscopia e a duração da doença nos doentes com acromegalia. Procedeu-se seguindo o mesmo modelo da tabela 4. Valores p significativos estão apresentados a negrito

	Normal	PA	PH	CCR	DC
Duração da doença (anos)	Mediana 11 P25 6,25 P75 19,25 Média ± SD 12,17 ± 7,7	Média ± SD 6,5 ± 3,87 p = 0,186	Mediana 10 P25 9,25 P75 25 p = 0,67	Mediana 30 P25 29 p = 0,028	Média ± SD 14,33 ± 4,93 p = 0,542

Tabela 6

Análise da relação entre as alterações endoscópicas e a presença de ≥ 3 fibromas cutâneos nos doentes com acromegalia. Não se obteve nenhum valor p significativo

	Presença de ≥ 3 fibromas cutâneos (%)	
PA		
Sim	75	
Não	58,3	p = 1
PH		
Sim	100	
Não	54,2	p = 0,132
CCR		
Sim	50	
Não	61,5	p = 1
DC		
Sim	50	
Não	63,6	p = 0,653

Discussão

Dos 33 doentes com acromegalia incluídos neste estudo, a maioria (28 casos, 84,8%) foi submetida a pelo menos uma colonoscopia. Identificou-se alteração em mais de metade dos exames endoscópicos iniciais (16 doentes, 57,1%): PA em 4 (14,3%), PH em outros 4 (14,3%), CCR em 2 (7,1%) e DC em 6 (21,4%). Os casos de CCR foram diagnosticados em doentes do sexo feminino, aos 75 e 65 anos, com lesão envolvendo a sigmoideia e dimensão superior a 1 cm. Uma das doentes acabou por falecer no contexto do CCR, por progressão da doença; a outra foi operada e entrou em remissão, tendo falecido 16 anos depois por AVC isquémico. Estes dados apoiam a necessidade de submeter todos os doentes a colonoscopia, preferencialmente logo após o diagnóstico. O facto de as lesões estarem por vezes localizadas no cólon ascendente torna recomendável efetuar exame endoscópico total. Os motivos da não realização do procedimento em 5 casos foram: abandono precoce da consulta (4 casos) e recusa do próprio (um caso).

Os acromegálicos apresentaram significativamente menos PA e mais CCR que a população em geral, não se obtendo diferenças estatisticamente significativas para os PH e os DC. Estes resultados

encontram-se de acordo com a literatura apenas no que respeita ao CCR, uma vez que a maioria dos estudos semelhantes demonstrou uma prevalência aumentada de todas estas lesões do cólon nos indivíduos com acromegalia⁵⁻⁸.

O grupo com acromegalia e PH teve valores de GH e de IGF-1 superiores àquele com colonoscopia normal. Embora esta diferença não tenha demonstrado significado estatístico, sugere-se que o aumento dos valores hormonais pode ter contribuído para a formação de PH. A duração da doença foi significativamente maior nos doentes com CCR, comparativamente àqueles que não apresentaram alterações no exame. Além disso, os 2 casos de CCR apresentavam valores hormonais elevados na altura de realização do procedimento endoscópico. Estes dados levam-nos a questionar se o grande período de tempo a que essas doentes estiveram sujeitas aos efeitos do GH e do IGF-1 pode ter contribuído para o desenvolvimento de CCR. Não se obteve associação entre qualquer das alterações na colonoscopia e a presença de fibromas cutâneos.

Este trabalho realça o risco de CCR na acromegalia e sugere a duração da doença como um dos possíveis aspetos associados ao desenvolvimento de neoplasia do cólon. No entanto, o número limitado de doentes incluídos bem como a reduzida dimensão dos grupos com alteração na colonoscopia, não permite obter conclusões válidas.

Assim, como limitações ao estudo deve ser referido que apresentamos doentes seguidos em uma única instituição (33, dos quais 28 foram submetidos a colonoscopia) e a utilização de dados a nível nacional seria certamente uma mais-valia para a evolução do conhecimento nesta área. Além disso, não foi possível efetuar exame total em 21,4% dos casos e a preparação do cólon foi deficiente em 39,3%. Estes aspetos podem ter impedido a identificação de lesões e subestimado os nossos resultados. Uma vez que grande parte dos indivíduos com acromegalia apresenta dolicocólon, bem como aumento do tempo do trânsito intestinal, a preparação oral standard é muitas vezes inadequada. Alguns autores preconizam a utilização do dobro do volume da preparação intestinal¹³; além disso, a utilização de colonoscópio longo pode melhorar a taxa de atingimento cecal. Por último, apenas 8 doentes (28,6%) foram submetidos a colonoscopias subsequentes, o que impossibilitou a análise desses dados. Seria importante estudar quais os fatores de

risco de recidiva de pólipos que, segundo alguns estudos, são a presença de lesões no exame inicial e a persistência de doseamentos elevados de IGF-1¹¹; além disso, esta informação adicional poderia contribuir para a definição da periodicidade de realização de procedimentos endoscópicos na acromegalia, já que a literatura não é consensual^{2,11,13}.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Dr. Miguel Carvalho (Matemática Aplicada, subespecialização em Estatística), pelo apoio na análise dos dados.

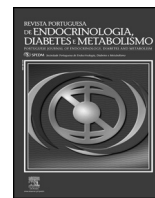
Bibliografia

- Alexander L, Appleton D, Hall R, Ross WM, Wilkinson R. Epidemiology of acromegaly in the Newcastle region. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1980;12:71-9.
- Katznelson L, Atkinson JL, Cook DM, Ezzat SZ, Hamrahian AH, Miller KK. American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and treatment of acromegaly - 2011 update. *Endocr Pract*. 2011;17:1-44.
- Melmed S, Colao A, Barkan A, Molitch M, Grossman AB, Kleinberg D, et al. Guidelines for acromegaly management: An update. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:1509-17.
- Ben-Shlomo A, Melmed S. Acromegaly. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2008;37:101-22.
- Rokkas T, Pistiolas D, Sechopoulos P, Margantinis G, Koukoulis G. Risk of colorectal neoplasm in patients with acromegaly: A meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2008;14:3484-9.
- Bogazzi F, Cosci C, Sardella C, Costa A, Manetti L, Gasperi M, et al. Identification of acromegalic patients at risk of developing colonic adenomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:1351-6.
- Terzolo M, Reimondo G, Gasperi M, Cozzi R, Pivonello R, Vitale G, et al. Colonoscopic screening and follow-up in patients with acromegaly: A multicenter study in Italy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:84-90.
- Wassenaar MJ, Cazemier M, Biermasz NR, Pereira AM, Roelfsema F, Smit JW, et al. Acromegaly is associated with an increased prevalence of colonic diverticula: A case-control study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:2073-9.
- Jass JR. Hyperplastic polyps and colorectal cancer: Is there a link? *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004;2:1-8.
- Wynter CV, Walsh MD, Higuchi T, Leggett BA, Young J, Jass JR. Methylation patterns define two types of hyperplastic polyp associated with colorectal cancer. *Gut*. 2004;53:573-80.
- Dworakowska D, Gueorguiev M, Kelly P, Monson JP, Besser GM, Chew SL, et al. Repeated colonoscopic screening of patients with acromegaly: 15-years experience identifies those at risk of new colonic neoplasia and allows for effective screening guidelines. *Eur J Endocrinol*. 2010;163:21-8.
- Cotter J, Lima S, Barroso S, Marinho C, Moutinho P, Rodrigues A, et al. Rastreio endoscópico do cancro colorrectal. Experiência de dois anos. *J Port Gastroenterol*. 2008;15:156-60.
- Cairns SR, Scholefield JH, Steele RJ, Dunlop MG, Thomas HJ, Evans GD, et al. Guidelines for colorectal cancer screening and surveillance in moderate and high risk groups (update from 2002). *Gut*. 2010;59:666-89.



Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo

www.elsevier.pt/rpedm



Artigo original

Efetividade dos contraceptivos orais após cirurgia bariátrica – revisão baseada na evidência



Isabel Sousa^{a,*} e Maria João Sá^b

^a Medicina Geral e Familiar da USF Serpa Pinto, ACeS Porto Ocidental, Porto, Portugal

^b Medicina Geral e Familiar da USF Lidador, ACeS Grande Porto III, Porto, Portugal

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Historial do artigo:

Recebido a 10 de setembro de 2013

Aceite a 27 de fevereiro de 2014

On-line a 18 de junho de 2014

Palavras-chave:

Cirurgia bariátrica
Contraceptivos orais
Bypass gástrico
Diversão bilio-pancreática

R E S U M O

Introdução: A cirurgia bariátrica é um procedimento cada vez mais utilizado no tratamento da obesidade e suas comorbidades. As mulheres em idade fértil submetidas a este procedimento constituem um grupo que merece particular atenção. Existe o consenso de que a gravidez deva ser evitada pelo menos até um ano após a cirurgia, dado as complicações materno-fetais associadas, pelo que uma contraceção eficaz é essencial.

Os contraceptivos orais são amplamente utilizados, no entanto, a cirurgia de *bypass* gástrico pode condicionar uma diminuição da capacidade absorptiva destes fármacos. É objetivo desta revisão avaliar a efetividade dos contraceptivos orais nas mulheres submetidas a cirurgia bariátrica.

Métodos: Foi realizada uma pesquisa sistemática da literatura nas bases de dados TRIP Database, Cochrane Library, DARE, Bandolier, National Guideline Clearing House, NeLH Guidelines Finder e Medline, entre janeiro de 2002 e janeiro de 2012, em inglês, espanhol e português.

Resultados: Dos 12 artigos encontrados, 3 cumpriam os critérios de inclusão definidos: uma revisão sistemática (NE 2a), um estudo de cohort (NE 2b) e uma revisão clássica (NE 4). A revisão sistemática conclui que, apesar de a evidência ser limitada, não se verifica diminuição substancial da efetividade dos contraceptivos orais. O ensaio clínico não aconselha a utilização de contraceptivos orais e privilegia os métodos contraceptivos que não utilizem a via oral. A revisão clássica aponta para a falência dos contraceptivos orais após a cirurgia bariátrica e a diminuição da capacidade absorptiva após cirurgia de *bypass* gástrico.

Discussão: A evidência existente sobre a efetividade dos contraceptivos orais é limitada a um número reduzido de estudos. Não foi identificada uma diminuição substancial da efetividade dos contraceptivos orais nos estudos incluídos. O uso de contraceptivos orais após cirurgia bariátrica tem uma força de recomendação C.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

Oral contraception effectiveness after bariatric surgery – Evidence-based review

A B S T R A C T

Background: Bariatric surgery is commonly used in the treatment of obesity and its comorbidities. Women of childbearing age who use this procedure represent a group of particular concern. There is a consensus that pregnancy should be avoided at least one year after surgery because of the complications for both mother and fetus. Therefore, it is essential for these women to have an efficient contraception.

Gastric bypass surgery may have the potential to reduce the absorption capacity of oral contraception. The aim of this review article is to evaluate the effectiveness of oral contraception on the women who undergo bariatric surgery.

Method: We have conducted a systematic review of the literature from TRIP Database, Cochrane Library, DARE, Bandolier, National Guideline Clearing House, NeLH Guidelines Finder and Medlin, from January 2002 to January 2012, in English, Spanish and Portuguese.

Keywords:

Bariatric surgery
Oral contraceptives
Gastric bypass
Biliopancreatic diversion

* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: lsa_ats@hotmail.com (I. Sousa).

Results: From 12 articles, three met review inclusion criteria: one review article (evidence level 2a), one cohort study (evidence level 2b) and a classic review (evidence level 4). The review article found no substantial decrease in the effectiveness of oral contraception. The cohort study favored the use of any other birth control besides the oral ones. The classic review concludes that there is a flaw of oral contraception after bariatric surgery and that there is a diminished absorption capacity after the surgery. **Discussion:** Evidence on this subject is quite limited to a few studies. We could not conclude that there is a decrease in the effectiveness of the oral contraception from available studies. Oral contraception use after bariatric surgery as a strength of recommendation C.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introdução

A obesidade representa um dos maiores desafios do século XXI. Segundo um estudo de Macedo et al.¹, em 2007 existiam em Portugal 14,8% de mulheres obesas. À medida que a prevalência da obesidade aumenta e a cirurgia minimamente invasiva se torna mais comum, o número de indivíduos que realiza cirurgia bariátrica continua a aumentar². A OMS estima que nos EUA mais de 30% das mulheres em idade fértil sejam obesas (IMC maior que 30 kg/m²)³.

Existe um consenso geral de que a gravidez deve ser desaconselhada 12-24 meses após a cirurgia². Um período de espera de 12 meses até engravidar é aconselhado pela *American College of Obstetricians and Gynecologists*. A gravidez neste período está associada a um crescimento fetal diminuído² e maior incidência de partos pré-termo^{4,5}.

É comum as doentes com obesidade terem ciclos anovulatórios e assumirem que não podem engravidar. Após a redução de peso pela cirurgia bariátrica, os ciclos menstruais das mulheres tornam-se mais regulares⁶, com conseqüente aumento da fertilidade. A redução de 5-10% do peso corporal restabelece a função ovulatória na maior parte das mulheres com síndrome do ovário poliquístico e há uma melhoria dos níveis de insulina, androgénios e de *sex hormone binding globulin (SHBG)*³. É importante que as mulheres em idade fértil e que foram submetidas a cirurgia bariátrica sejam adequadamente aconselhadas sobre a necessidade de uma contraceção eficaz durante o primeiro ano após a cirurgia.

O resultado da perda de peso é mais consistente com os procedimentos de *bypass* gástrico⁷. Este procedimento mal absorvivo condiciona uma absorção diminuída dos nutrientes e calorías pelo encurtamento do tamanho funcional do intestino delgado, podendo interferir com a efetividade da ação dos contraceptivos orais.

Por não haver orientações nesta área sobre qual a conduta ideal, realizou-se uma revisão baseada na evidência sobre a efetividade dos contraceptivos orais nas mulheres submetidas a cirurgia bariátrica.

Métodos

Foi realizada uma pesquisa sistemática nas bases de dados *TRIP Database*, *Cochrane Library*, *DARE*, *Bandolier*, *National Guideline Clearing House*, *NeLH Guidelines Finder* e *Medline*, de normas de orientação clínica, revisões sistemáticas, meta-análises e estudos originais, publicados entre janeiro de 2002 e janeiro de 2012, em inglês, espanhol e português, utilizando os termos *MeSH bariatric surgery*, *oral contraceptives*, *gastric bypass* e *biliopancreatic diversion*.

Os critérios definidos para inclusão de artigos nesta revisão foram: a) População: mulheres em idade fértil, submetidas a cirurgia bariátrica; b) Intervenção: uso de contraceptivos orais; c) Comparação: utilização de outros métodos contraceptivos; d) Resultado: a falência do método contraceptivo. Artigos repetidos e discordância com o objetivo da revisão foram critérios de exclusão. Para avaliar a qualidade dos estudos e posterior atribuição do nível de evidência (NE) e forças de recomendação (FR) foi utilizada a

Tabela 1

Níveis de evidência (Oxford Center for Evidence-based Medicine)

NE	Significado
1a	Revisões sistemáticas (com homogeneidade) de ECA
1b	ECA individuais (com intervalo de confiança estreito)
1c	«Tudo ou nada»
2a	Revisões sistemáticas (com homogeneidade) de estudos cohort
2b	Estudos cohort individuais (incluindo ECA fraca qualidade)
2c	Pesquisa de «outcome»; estudos ecológicos
3a	Revisões sistemáticas (com homogeneidade) de estudos caso-controlo
3b	Estudos individuais de caso-controlo
4	Série de casos (e estudos cohort e caso-controlo de fraca qualidade)
5	Opinião de peritos sem comentário crítico explícito ou baseada na fisiologia ou em pesquisa de fraca qualidade

Tabela 2

Forças de recomendação (Oxford Center for Evidence-based Medicine)

FR	Significado
A	Estudos consistentes de nível 1
B	Estudos consistentes de nível 2 ou 3 ou extrapolações de estudos de nível 1
C	Estudos de nível 4 ou extrapolações de estudos nível 2 ou 3
D	Estudos de nível 5 ou estudos inconclusivos ou inconsistentes de qualquer nível

escala *Oxford center for evidence based medicine – Levels of evidence*. Esta taxonomia subdivide a qualidade do estudo em 5 NE (tabela 1) e em 4 graus de FR (tabela 2).

Resultados

Da pesquisa inicial obtiveram-se 12 artigos. Destes foram excluídos os artigos em que se verificou discordância com o objetivo da revisão, aqueles que não cumpriam os critérios de inclusão e os artigos repetidos.

Foram selecionados 3 artigos: uma revisão clássica, uma revisão sistemática e um estudo de cohort. A descrição e resultados destes estudos encontram-se explanados na tabela 3.

Discussão

Na revisão sistemática de Paulen, et al.⁸ incluíram-se 5 estudos (sendo 2 destes farmacocinéticos, um estudo prospetivo, um retrospectivo e um relato de caso) de pouco rigor metodológico. No estudo de Gerrits et al., a amostra utilizada era de pequenas dimensões; as mulheres que foram submetidas a derivação biliopancreática e que se encontravam a fazer CO e engravidaram tiveram complicações pós-operatórias (diarreia e vômitos) pelo que não se pode extrapolar que isso tenha ocorrido pela inefetividade do CO. Weiss et al. estudam uma população que foi submetida a banda gástrica, não tendo ocorrido gravidez. Não sendo um procedimento mal absorvivo, a efetividade do CO não diminui e nesta população não ocorreu

Tabela 3
Resultados

Autor/ano	Objetivo	Desenho do estudo	População	Resultados	Conclusões
Paulen. et al. <i>Contraception</i> 82 (2010) 86-94 ⁸	Revisão sistemática da literatura sobre a segurança e efetividade da contraceção usada entre mulheres submetidas a cirurgia bariátrica	<i>Gerrits et al., 2003</i> <i>Weiss et al., 2001</i> <i>Victor et al., 1987</i> <i>Andersen et al., 1982</i> <i>Choi and Scarborough, 2004</i>	40 ♀ idade fértil, submetidas a derivação biliopancreática 215 ♀ idade fértil que usavam CO após banda gástrica Ambos analisaram os níveis hormonais após uma dose única de CO em ♀ submetidas a cirurgia <i>bypass</i> jejunoileal ♀ de 18 anos, obesa com história de depressão, abuso de tabaco, uso de CO e drogas recreativas e esteatohepatite submetida a <i>bypass</i> gástrico	2 das 9 ♀ que usavam CO engravidaram. Tiveram episódios de diarreia Não se observou gravidez nas ♀ que tomavam CO ↓ níveis plasmáticos de noretisterona e levonogestrel Não houve ↓ dos níveis de estradiol e levonogestrel após cirurgia. Admite-se relação da obesidade com níveis de esteroides AVC isquémico durante o uso de CO, 11 semanas após cirurgia	NE 2a
Gerrits et al., <i>Obesity Surgery</i> ; 13, (2003). 378-382 ⁹	Avaliar as mudanças na fertilidade, risco na gravidez e efetividade dos CO após derivação biliopancreática	Estudo cohort	40 ♀ entre os 16-44 anos, submetidas a <i>bypass</i> gástrico com IMC médio de 39,3 kg/m ²	4 ♀ engravidaram (2 usavam CO, 2 não usavam nenhum método) 2 das 9 que utilizavam CO engravidaram no 1.º ano após cirurgia e ambas têm registo de episódios de diarreia e uma tem registo de anemia	NE 2b
Murthy, Semin <i>Reprod Med</i> 2010; 28 (2) 156-63 ³	Rever os artigos existentes sobre a efetividade e os riscos do uso da contraceção oral em mulheres obesas	Revisão clássica	Utiliza estudos referidos na tabela: <i>Victor et al., 1987</i> <i>Gerrits et al., 2003</i>	Será prudente considerar a utilização de métodos contraceptivos que evitem a via oral	NE 4

AVC: acidente vascular cerebral; CO: contraceptivo oral; IMC: índice de massa corporal; NE: nível de evidência.

gravidez. Dois dos outros estudos incluídos na revisão sistemática (estudos farmacocinéticos) estudaram mulheres submetidas a cirurgias que já não são utilizadas, pelo que estes resultados são de pouco valor.

Esta revisão admite que, potencialmente, a cirurgia mal absorptiva possa diminuir a efetividade dos CO, no entanto, tal não pôde ser demonstrado nos resultados obtidos. A efetividade pode ser diminuída também por complicações pós-operatórias. Há uma preocupação com o risco acrescido de complicações trombóticas associadas a procedimentos cirúrgicos e o potencial dos estrogénios de aumentar o risco trombótico.

Atribuiu-se um NE 2a.

Um dos estudos incluídos na nossa revisão, o estudo de *Gerrits et al.*⁹, é igualmente um dos estudos anteriormente discutidos e que consta na revisão sistemática⁸. Atribuiu-se um NE 2b. De referir que apresenta um viés de informação (questionário de auto preenchimento), amostra de pequenas dimensões, *follow-up* curto e os fatores confundidores não são referidos.

A revisão clássica de *Murthy*³ foi classificada com NE 4. Esta revisão apresenta qualidade metodológica pouco rigorosa, um pequeno número de estudos de amostras pequenas. Conclui que será prudente utilizar meios contraceptivos que evitem a via oral.

Os estudos existentes não investigam os compostos farmacológicos que mais comumente integram a composição dos CO, não sendo possível extrapolar conclusões a partir dos estudos disponíveis. Comparam técnicas cirúrgicas que se encontram em desuso como a derivação gastroduodenal, sendo necessário investigação que incida sobre o *bypass* gástrico, procedimento mal absorptivo que poderá interferir na absorção dos CO. Existem poucos estudos que comparem o uso de CO com outros métodos contraceptivos, nomeadamente o dispositivo intrauterino, implante subcutâneo ou anel vaginal.

É importante salientar que a cirurgia de *bypass* gástrico está muitas vezes associada a náuseas e vômitos no período pós-operatório, que poderão diminuir a efetividade da pílula.

Numa grande parte dos estudos, as amostras utilizadas são pequenas e desconhece-se a intenção da mulher em engravidar. Não é controlada a toma da pílula, os esquecimentos eventuais, o

não cumprimento de horário, as outras intercorrências médicas ou uso de outros fármacos.

Em conclusão e de acordo com os dados obtidos, não existe evidência suficiente para recomendar ou desaconselhar a utilização de contraceptivos orais após cirurgia bariátrica (FR C).

No futuro, serão necessários mais estudos cientificamente rigorosos, mais próximos da prática clínica real, com metodologia mais homogênea e maior poder estatístico.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer à Professora Doutora Paula Freitas pela motivação que nos deu para a redação do artigo e pela sua constante disponibilidade e ajuda.

Bibliografia

- Macedo ME, Lima MJ, Silva AO, Alcântara P, Ramalhinho V, Carmona J. Prevalência, conhecimento, tratamento e controlo da hipertensão em Portugal. *Estudo PAP. Rev Port Cardiol.* 2007;26:21–39.
- Mody SK, Hacker MR, Dodge LE, Thornton K, Schneider B, Haider S. Contraceptive counseling for women who undergo bariatric surgery. *J Womens Health (Larchmt).* 2011;20:1785–8.
- Murthy AS. Obesity and contraception: Emerging issues. *Semin Reprod Med.* 2010;28:156–63.
- Guelinckx I, Devlieger R, Vansant G. Reproductive outcome after bariatric surgery: A critical review. *Hum Reprod Update.* 2009;15:189–201.
- Patel JA, Patel NA, Thomas RL, Nelms JK, Colella JJ. Pregnancy outcomes after laparoscopic Roux-en-Y gastric by-pass. *Surg Obes Rel Dis.* 2008;4:39–45.
- Teitelman M, Grottegut CA, Williams NN, Lweis JD. The impact of bariatric surgery on menstrual patterns. *Obes Surg.* 2006;16:1457–63.
- Tice JA, Karliner L, Walsh J, Petersen AJ, Feldman MD. Gastric banding or bypass? A systematic review comparing the two most popular bariatric procedures. *Am J Med.* 2008;121:885–93.
- Paulen ME, Zapata LB, Cansino C, Curtis KM, Jamieson DJ. Contraceptive use among women with a history of bariatric surgery: A systematic review. *Contraception.* 2010;82:86–94.
- Gerrits EG, Ceulemans R, van Hee R, Hendrickx L, Totte E. Contraceptive treatment after biliopancreatic diversion needs consensus. *Obes Surg.* 2003;13:378–82.



Artigo Original

Padrão terapêutico numa população de diabéticos tipo 2: relação com o tempo de doença e nível de cuidados de saúde



Maria Joana Santos^{a,*}, Margarida Monteiro^b, Pedro Pereira^c, Mário Freitas^d e Olinda Marques^e

^a Serviço de Endocrinologia, Hospital de Braga, Braga, Portugal

^b Serviço de Medicina Interna, Hospital de Braga, Braga, Portugal

^c Unidade de Saúde Pública de Braga, Braga, Portugal

^d Unidade de Saúde Pública e Medicina do Trabalho, Unidade de Saúde Pública de Braga, Braga, Portugal

^e Serviço de Endocrinologia, Hospital de Braga, Braga, Portugal

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Historial do artigo:

Recebido a 16 de setembro de 2013

Aceite a 25 de fevereiro de 2014

On-line a 5 de julho de 2014

Palavras-chave:

Diabetes mellitus tipo 2
Terapêutica farmacológica
Hemoglobina glicosilada
Internamento hospitalar
Cuidados de saúde

R E S U M O

Introdução: A diabetes mellitus tipo 2 (DM2) exige alterações terapêuticas constantes e cuidados de saúde diferenciados ao longo da sua evolução.

Objetivo: caracterizar uma população de DM2 internados quanto ao tempo de evolução, seguimento médico, tratamento, HbA1c, motivo e tempo de internamento.

Materiais e métodos: Estudo transversal baseado nos processos clínicos dos doentes com DM2 internados no Serviço de Medicina Interna do Hospital de Braga, entre 3 de junho e 11 de novembro de 2011. Variáveis estudadas: idade, sexo, tempo e motivo de internamento, nível de cuidados de saúde, tempo de evolução, HbA1c, tratamento. Considerou-se um nível de significância de 5%.

Resultados: Identificaram-se 286 internamentos de doentes com DM2 (27,1%), obtendo-se dados em 179 doentes. Idade mediana de 78,0 anos; 53,6% mulheres; tempo de internamento 9,0 dias; tempo de evolução da DM2: 21,8% (<5 anos) e 24,6% (>20 anos); 71,5% vigiados nos cuidados de saúde primários (CSP), 22,9% nos secundários (CSS); 66,5% medicados com ADO, 12,3% com ADO e insulina e 16,8% apenas com insulina; HbA1c mediana de 6,8%. Os doentes com maior tempo de evolução apresentaram pior controlo metabólico ($p=0,006$) e maior taxa de insulinização ($p=0,001$). Relativamente aos CSP, os doentes dos CSS tinham idade inferior ($p=0,001$), maior tempo de evolução ($p<0,001$), maior taxa de insulinização ($p<0,001$) e pior controlo metabólico ($p=0,031$).

Conclusão: A população estudada era envelhecida, seguida predominantemente nos CSP, com baixa percentagem de insulinização, mas com bom controlo metabólico. Encontraram-se diferenças entre os doentes dos CSP e CSS, decorrentes da natural evolução da doença.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

Therapeutic pattern in a population of type 2 diabetics: Relationship with disease duration and type of health care

A B S T R A C T

Introduction: Type 2 diabetes (DM2) demands constant therapeutic adjustments and specialized healthcare.

Aims: to analyse an inpatient population of type 2 diabetics regarding duration of disease, healthcare, therapy, HbA1c, cause and duration of hospital stay.

Materials and methods: Cross-sectional study based on the clinical files of the type 2 diabetic patients admitted to the Internal Medicine department of Hospital de Braga from 3.6.2011 to 11.11.2011. Included variables: age, gender, cause and duration of hospital stay, type of health care, duration of disease, HbA1c and drug therapy.

Results: We identified 286 hospitalizations of type 2 diabetic patients (27.1%) and had access to complete data in 179 patients. Their median age was 78.0 years; 53.6% were female; duration of hospital stay was 9.0 days; duration of diabetes: 21.8% (<5 years) and 24.6% (>20 years); 71.5% were treated in primary care

Keywords:

Type 2 diabetes mellitus
Drug therapy
Glycosylated hemoglobin
Hospitalization
Delivery of health care

* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: mjoanasantos@hotmail.com (M.J. Santos).

and 22.9% in hospital care; 66.5% were treated with oral drugs, 12.3% with oral drugs and insulin and 16.8% only with insulin. Median HbA1c was 6.8%. Patients with longer duration of disease had worse metabolic control ($p=0.006$) and were more insulinized ($p=0.001$). Patients treated in hospital care were younger ($p=0.001$), more insulinized ($p<0.001$), had longer duration of disease ($p<0.001$) and worse metabolic control ($p=0.031$) than primary care patients.

Conclusion: Our study population was very old, mainly treated in primary care, had low insulinization levels, but a good metabolic control. We found differences between patients followed in primary and hospital care that were related to the natural course of disease.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introdução

A diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é uma doença crónica multisistémica, caracterizada por um estado de hiperglicemia crónica, resultante do aumento da resistência periférica à insulina, da disfunção da célula beta pancreática com diminuição da secreção de insulina e do aumento da produção hepática de glicose¹. Nos últimos anos, a alteração dos hábitos alimentares, a adoção de estilos de vida mais sedentários e o envelhecimento das populações levaram ao aumento exponencial da prevalência da doença, que é atualmente considerada um problema de saúde pública.

Estimativas da *International Diabetes Federation* (IDF) para a prevalência de diabetes mellitus (DM) na população geral em Portugal para 2012 (12,8%) e 2030 (15,2%), mostram o seu crescimento sustentado e o seu impacto na população entre os 20-79 anos, principalmente nos indivíduos mais idosos (estimativa para 2013: mais de 700.000 doentes entre os 60-79 anos)². Também o Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes apontava para que, em 2011, a prevalência global de DM em Portugal fosse de 12,7%, estando apenas diagnosticada em 56,7% dos doentes³.

A importância do diagnóstico precoce da DM2 e do atingimento dos objetivos terapêuticos, quanto ao controlo metabólico e controlo dos outros fatores de risco cardiovasculares, reside na necessidade de tentar atrasar ou impedir o aparecimento das suas complicações micro e macrovasculares, fundamentais na qualidade de vida, morbidade e mortalidade dos doentes.

Os antidiabéticos orais (ADO) são os fármacos de primeira linha, existindo várias classes farmacológicas que permitem uma abordagem terapêutica complexa, diversificada e adaptada a cada doente. No entanto, com a evolução da doença, os ADO tornam-se menos eficazes e atingir um bom controlo glicémico implica, quase sempre, terapêutica suplementar com insulina⁴.

O controlo metabólico e o valor de hemoglobina glicosilada (HbA1c) ideal num diabético tipo 2 devem ser individualizados de acordo com o estado geral de saúde do doente, a esperança de vida, a existência de complicações micro e macrovasculares, o benefício obtido na sua prevenção, o risco de hipoglicemia e o tempo de evolução da doença^{5,6}. O objetivo para a maioria dos doentes é HbA1c < 7,0%, mas em indivíduos idosos, com comorbilidades, risco de hipoglicemia, esperança de vida menor que 10 anos ou elevado tempo de evolução, este poderá ser HbA1c \leq 8,0%^{5,6}.

Apesar de estar estabelecida a importância das estratégias de prevenção, seguimento e tratamento da doença, vários estudos estimam que a maioria dos doentes diabéticos tipo 2 não recebam tratamento e seguimento adequados e não atinjam os objetivos terapêuticos propostos⁷.

A DM2 está também associada a elevados gastos em saúde, tanto por complicações diretas da doença, como pelo elevado risco cardiovascular destes doentes⁷. Nos hospitais portugueses, mais do que um motivo direto de internamento, a DM2 assume especial relevância por ser uma das principais comorbilidades dos doentes internados, com um crescimento significativo nos últimos anos e pelo facto de esta população apresentar

tempos médios de internamento superiores à população não diabética³.

Este trabalho tem como objetivo caracterizar uma população de DM2 internados num serviço de medicina interna quanto à evolução da sua doença, seguimento médico regular, tipo de tratamento, controlo metabólico, motivo e tempo de internamento.

Material e métodos

Realizámos um estudo transversal, em que analisámos os processos clínicos eletrónicos de todos os doentes internados no Serviço de Medicina Interna do Hospital de Braga, entre 3 de junho e 11 de novembro de 2011. A partir dos registos existentes, identificámos os doentes com diagnóstico prévio de DM2 e excluímos aqueles em que houve impossibilidade de recolha de dados por falta de informação.

Obtivemos dados relativos às seguintes variáveis: características sociodemográficas (idade, sexo); tempo de internamento; motivo de internamento (complicação aguda da DM2: cetoacidose diabética [CAD], síndrome hiperosmolar hiperglicémica [SHH], hipoglicemia; outros motivos: acidente vascular cerebral [AVC], infeção, outro motivo não infeccioso); nível de cuidados de saúde (seguimento médico regular nos cuidados de saúde primários [CSP], onde se incluíram a medicina geral e familiar e o seguimento por médico em lar de idosos; seguimento médico regular nos cuidados de saúde secundários [CSS], englobando-se nesta categoria as especialidades hospitalares; ou sem seguimento médico regular); tempo de evolução da doença (0-5 anos; 6-10 anos; 11-15 anos; 16-20 anos; >20 anos); valor de HbA1c determinado durante o internamento; tipo de tratamento da DM2 (sem medicação; apenas ADO; insulina e ADO; apenas insulina). Nos indivíduos com mais de um internamento durante o período do estudo, considerámos os dados relativos ao primeiro internamento e apenas analisámos o motivo de internamento nos restantes internamentos.

Excluímos as determinações de HbA1c em indivíduos com anemia hemolítica, hemorragia aguda ou transfusão recentes, tratamento com eritropoietina ou hemodiálise. Excluímos as medições de HbA1c determinadas após longos períodos de internamento.

Executámos a análise e tratamento estatístico dos dados com recurso aos programas informáticos Excel^R e Statistical Package for the Social Sciences (SPSS^R) versão 20.0. Na análise descritiva, para as variáveis quantitativas, calculámos medidas de tendência central e medidas de dispersão. Para as variáveis qualitativas, apresentamos números absolutos e percentagens. Procurámos associações entre variáveis qualitativas com o teste de correlação de Spearman, entre variáveis quantitativas com o teste de correlação de Pearson e usámos os testes Mann-Whitney e Kruskal-Wallis para comparação de médias de uma variável quantitativa com distribuição não normal entre diferentes categorias de uma variável qualitativa. Os doentes não medicados ($n=7$) e os doentes sem seguimento médico regular ($n=6$) não foram tidos em conta na análise inferencial atendendo ao seu reduzido número. Considerou-se haver significância estatística quando $p<0,05$.

Questões éticas

Durante todas as fases de elaboração do estudo epidemiológico foram respeitados os princípios éticos e deontológicos referentes à boa prática de recolha e análise estatística dos dados. O protocolo do trabalho de investigação foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital de Braga, de acordo com a declaração de Helsínquia.

Resultados

Durante o período estudado houve 1054 internamentos no Serviço de Medicina Interna do Hospital de Braga, dos quais 286 (27,1%) foram de doentes identificados como tendo DM2. Excluímos 66 internamentos por não ter sido possível obter informação. Quarenta e um internamentos corresponderam a reinternamentos de 35 doentes diferentes.

Obtivemos dados completos no primeiro internamento de 179 doentes diferentes, sendo 96 (53,6%) do sexo feminino e 83 (46,4%) do sexo masculino. A sua idade mediana foi de 78,0 anos (amplitude interquartis [AIQ]: 13; mínimo 44; máximo 91), tendo 136 doentes (76%) idade igual ou superior a 70 anos.

As complicações agudas da diabetes foram responsáveis pelo internamento de 17 doentes (9,5%), verificando-se 7 hipoglicemias (3,9%), 2 CAD (1,1%) e 8 SHH (4,5%). Os restantes 162 doentes foram internados por outros motivos: 16 por AVC (8,9%), 76 por intercorrências infecciosas (42,5%) e 70 por outras causas não infecciosas (39,1%). O tempo de internamento mediano foi de 9,0 dias (AIQ: 8; mínimo 2; máximo 99).

Relativamente aos motivos de reinternamento nos 41 casos encontrados, verificou-se que apenas 2 (4,9%) se deveram a complicações agudas da diabetes (2 episódios de hipoglicemia no mesmo doente).

Quanto ao tempo de evolução da doença, 39 doentes (21,8%) tinham diagnóstico há 0-5 anos, 45 (25,1%) há 6-10 anos, 28 (15,6%) há 11-15 anos, 17 (9,5%) há 16-20 anos e 44 (24,6%) há mais de 20 anos. Em 6 doentes (3,4%), não foi possível obter esta informação.

Relativamente ao nível de cuidados de saúde, 6 doentes (3,4%) não tinham seguimento médico regular, 128 (71,5%) eram acompanhados nos CSP e 41 (22,9%) nos CSS. Em 4 doentes (2,2%) não foi possível obter esta informação.

Cento e dezanove doentes (66,5%) estavam medicados apenas com ADO, 22 (12,3%) com ADO e insulina, 30 (16,8%) apenas com insulina e 7 (3,9%) não estavam medicados. Não foi possível obter informação quanto à medicação de um doente.

Foi avaliada a HbA1c em 165 doentes (92,2%), mas apenas considerámos válidas 148 determinações (excluímos 2 por hemorragia aguda, 13 por transfusão recente e 2 por medição após um longo período de internamento). O valor mediano de HbA1c foi de 6,8% (AIQ: 2,0%; mínimo 4,6%; máximo 15,2%). A figura 1 mostra a distribuição da HbA1c por intervalos.

Tempo de evolução, tipo de tratamento e controlo metabólico

A tabela 1 mostra a distribuição da idade e da HbA1c nos diferentes grupos de tratamento.

Tabela 1

Distribuição da idade e da HbA1c nos diferentes grupos de tratamento

	Sem tratamento	ADO	ADO e insulina	Insulina
Idade (anos)	84,0 (25,0)	79,0 (12,0)	76,0 (15,0)	77,5 (11,0)
Md (AIQ) [mín-máx]	(58-88)	(48-91)	(44-88)	(48-91)
HbA1c (%)	5,5 (1,1)	6,6 (1,4)	8,2 (2,3)	7,2 (3,4)
Md (AIQ) [mín-máx]	(4,6-6,6)	(4,7-15,2)	(5,1-12,5)	(5,3-11,5)
Número (%) de doentes com HbA1c < 6,5%	6 (85,7) n = 7	43 (43,4) n = 99	3 (15) n = 20	7 (33,3) n = 21

* AIQ – amplitude interquartil; máx: valor máximo; Md: mediana; mín: valor mínimo.

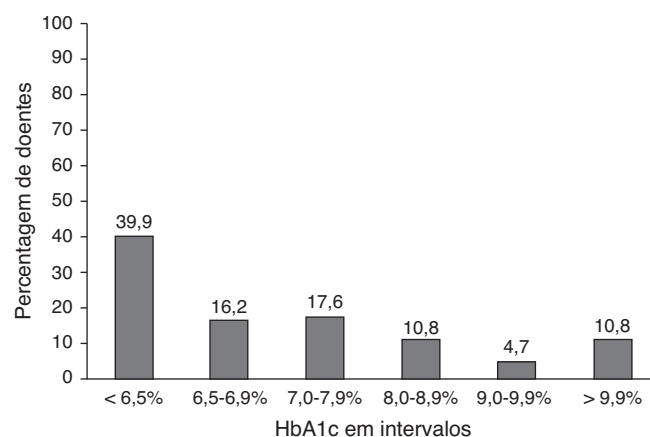


Figura 1. Distribuição da HbA1c por intervalos.

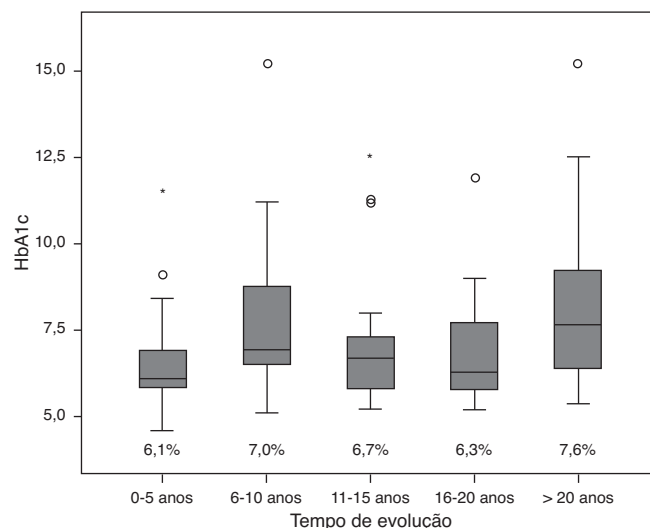


Figura 2. Distribuição da HbA1c de acordo com o tempo de evolução da doença.

Não se encontraram diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes grupos de tratamento quanto à idade ($p = 0,403$). Apenas se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre o valor de HbA1c dos doentes tratados com ADO e dos medicados com ADO e insulina ($p = 0,006$). Dos 7 doentes sem medicação, apenas um doente tinha HbA1c $\geq 6,5\%$. Não foi encontrada associação estatisticamente significativa entre as variáveis idade e HbA1c (correlação Pearson $r = -0,143$, $p = 0,083$).

A distribuição da HbA1c nos diferentes grupos de tempo de evolução encontra-se descrita na figura 2. Apenas se encontrou diferença estatisticamente significativa entre o valor de HbA1c dos grupos 0-5 anos e mais de 20 anos ($p = 0,006$).

A figura 3 mostra a distribuição do tipo de tratamento por grupos de tempo de evolução da doença. Encontrámos uma associação

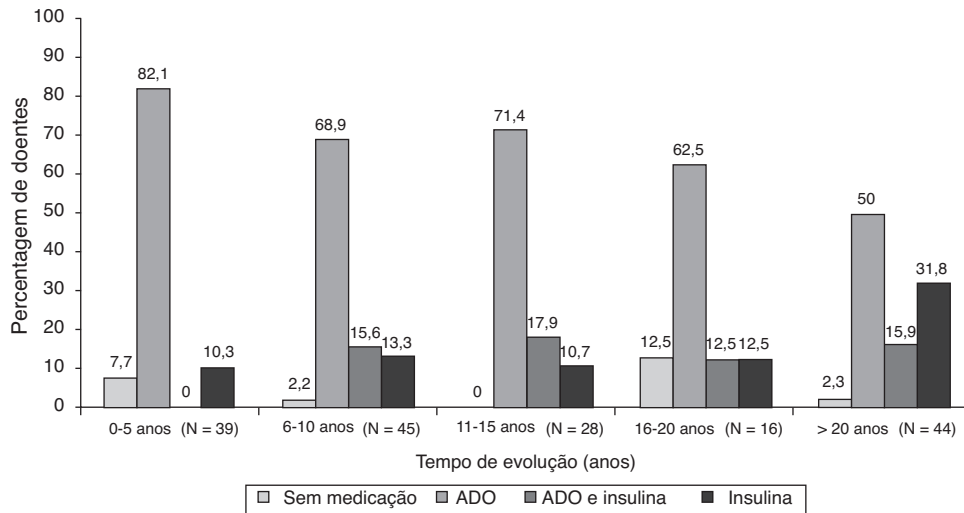


Figura 3. Tempo de evolução e tipo de tratamento.

positiva entre o tempo de evolução da doença e o tipo de tratamento da DM2, ou seja, quanto maior o tempo de evolução da doença, maior a percentagem de doentes insulino-tratados (coeficiente de Spearman $r = 0,255$; $p = 0,001$).

Nível de cuidados de saúde

A idade média dos doentes não vigiados ($n = 6$) foi de $65,3 \pm 12,3$ anos, dos doentes seguidos nos CSP ($n = 128$) de $77,7 \pm 9,4$ anos e nos CSS ($n = 41$) de $71,5 \pm 10,8$ anos, havendo evidência de diferenças estatisticamente significativas entre a idade de doentes dos CSP e CSS ($p = 0,001$).

Obtivemos os seguintes valores medianos de HbA1c nos diferentes grupos de vigilância: sem vigilância HbA1c = 7,0% (AIQ 3,7; mínimo 5,9; máximo 11,5) ($n = 6$); seguidos nos CSP HbA1c = 6,7% (AIQ 1,7; mínimo 4,6; máximo 15,2) ($n = 106$); CSS HbA1c = 7,6% (AIQ 2,5; mínimo 5,4; máximo 12,5) ($n = 33$). Encontramos evidência de diferenças estatisticamente significativas entre a HbA1c dos doentes seguidos nos CSP e CSS ($p = 0,031$).

A distribuição do nível de cuidados de saúde e tempo de evolução da doença encontra-se descrita na figura 4. Verificou-se

a existência de uma associação positiva entre o tempo de evolução da doença e o nível de cuidados de saúde, ou seja, quanto maior o tempo de evolução da doença, maior a percentagem de doentes seguidos nos CSS e menor a percentagem de doentes nos CSP (coeficiente de Spearman = 0,272, $p < 0,001$).

A figura 5 mostra a distribuição do tipo de tratamento de acordo com o seguimento nos CSP ($n = 127$) ou nos CSS ($n = 41$). Encontramos uma associação positiva entre o nível de cuidados de saúde e o tipo de tratamento instituído, ou seja, nos CSS há uma maior percentagem de doentes insulino-tratados, enquanto que nos CSP predominam os doentes medicados com ADO (coeficiente de Spearman = 0,448; $p < 0,001$).

Discussão

Prevalência da diabetes mellitus tipo 2 no serviço de medicina interna

Os doentes com DM2 previamente diagnosticada representaram mais de um quarto dos doentes internados no Serviço de Medicina Interna do Hospital de Braga (27,1%). Não encontramos

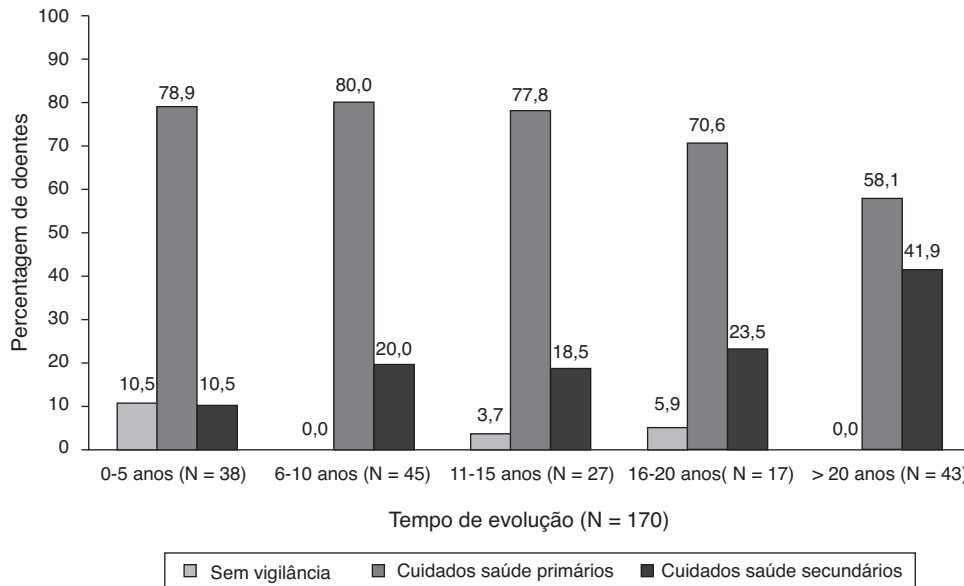


Figura 4. Tempo de evolução e nível de cuidados de saúde.

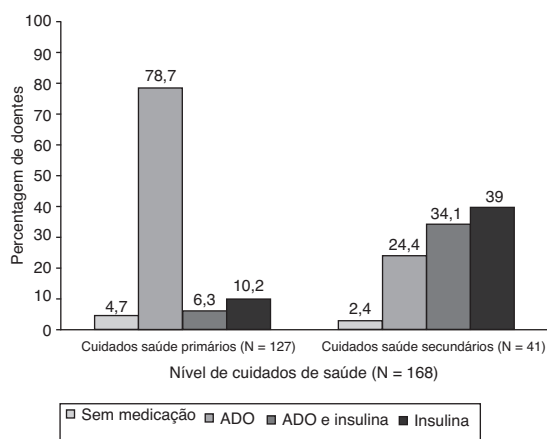


Figura 5. Tipo de tratamento e nível de cuidados de saúde.

dados publicados relativos à prevalência dos doentes diabéticos tipo 2 em internamento hospitalar, nem num serviço de medicina interna em Portugal. Num estudo japonês multicêntrico⁸, estimou-se que a prevalência da DM2 em meio hospitalar seria de 11,4% (9,9% como diagnóstico secundário e 1,5% como diagnóstico principal). Nesse trabalho, a prevalência de DM2 nos doentes internados com mais de 50 anos foi de 28,2% no sexo masculino e 21,4% no sexo feminino (14,8 e 10,1% respetivamente no subgrupo dos doentes com mais de 70 anos). A população do nosso estudo é bastante envelhecida, o que está de acordo com o aumento da DM2 com a idade e contribuirá para a elevada prevalência de DM2 que encontramos nos doentes internados.

Motivo e duração do internamento

Como seria de esperar, na nossa população, a DM2 foi maioritariamente um diagnóstico associado e não o principal motivo de internamento. Estes resultados são semelhantes aos do Relatório do Observatório Nacional da Diabetes de 2012 (89,1% dos internamentos por motivos não relacionados com a DM e 10,9% com DM como diagnóstico principal) e aos do referido estudo japonês multicêntrico que avaliou motivos de internamento dos doentes diabéticos (87% dos internamentos por outros motivos; DM como diagnóstico principal em 13% dos internamentos)^{3,8}.

O tempo de internamento mediano foi de 9,0 dias, ligeiramente superior à mediana nacional estimada para 2012 nos doentes diabéticos (7 dias)³.

Estes números confirmam a importância que os diabéticos tipo 2 têm no internamento hospitalar, não só pelo elevado número de doentes, mas pela maior duração dos seus internamentos, mesmo que não diretamente relacionados com a doença.

Tempo de evolução, tipo de tratamento e controlo metabólico

Na população em estudo, mais de metade dos doentes (51%) tinha DM2 diagnosticada há mais de 10 anos e cerca de 25% há mais de 20 anos. Vinte e nove por cento dos doentes eram insulino-tratados (isoladamente ou em associação com ADO), percentagem superior à estimativa para a população portuguesa em geral do Relatório do Observatório Nacional da Diabetes de 2010 (10,6%)⁹ e do estudo VALSIM (11%)¹⁰, mas inferior às estimativas para a população de doentes da Rede Nacional de Cuidados Continuados (RNCCI) (37%)³. A maior aproximação dos nossos dados com os da RNCCI poder-se-á dever a uma maior semelhança entre as populações de doentes, nomeadamente na sua idade e presença de comorbilidades.

Nos EUA as estimativas para o tratamento da diabetes na população em geral¹¹, em 2010, apontam para uma taxa de

insulinização na ordem dos 26%, com 12% dos diabéticos medicados com insulina em monoterapia e um estudo em idosos verificou que 10,1-45,4% dos doentes tomavam insulina em monoterapia ou associação, dependendo do tempo de evolução da doença¹², valores semelhantes aos que encontramos. Consideramos que, perante o tempo de evolução de doença na nossa população, a percentagem de diabéticos tratados com insulina é relativamente baixa. O receio de hipoglicemias e de aumento de peso, a preocupação quanto à limitação do estilo de vida ou a perceção de agravamento da doença aquando do início de insulinoterapia, a idade avançada, a presença de comorbilidades, assim como diferentes atitudes face à insulinoterapia e ao momento do seu início poderão justificar a menor insulinização encontrada na população em estudo¹³.

A nossa população apresentou, na sua maioria, um bom controlo metabólico, com um valor mediano de HbA1c de 6,8% e uma elevada percentagem de doentes com HbA1c inferior a 7 e a 8%, valores aconselhados para a população de diabéticos em geral e para doentes idosos com comorbilidades, respetivamente^{5,6}. No entanto, mais de um quarto tinha HbA1c > 8,0%. Estudos na população diabética em geral apresentam dados semelhantes, mas com menor taxa de doentes com mau controlo metabólico^{3,10,11}. Contudo, num outro estudo americano em diabéticos com mais de 65 anos verificou-se uma maior percentagem de doentes com HbA1c elevada (41,6-59,9% com HbA1c > 7,0% e 20,2-27,9% com HbA1c > 8,0%)¹².

Verificámos que os doentes com DM2 há mais de 20 anos apresentavam um pior controlo metabólico relativamente àqueles com diagnóstico há menos de 5 anos. O agravamento do controlo metabólico com o aumento do tempo de evolução da doença é expectável e pode dever-se à diminuição da adesão do doente em relação a modificação do estilo de vida e regime terapêutico, evolução da doença com disfunção progressiva da célula beta e inércia clínica no ajuste da medicação antidiabética¹⁴⁻¹⁶. Todos estes fatores levam à necessidade de adotar esquemas de tratamento cada mais complexos, com associação de ADO e introdução de insulinoterapia à medida que aumenta o tempo de evolução da doença¹⁵. No nosso estudo encontramos uma associação positiva entre o tempo de evolução da doença e o tipo de tratamento da DM2. No entanto, consideramos que, embora a insulina tenha sido introduzida precocemente (principalmente a partir dos 6-10 anos), só atingiu valores mais expressivos após os 20 anos de diagnóstico de doença, o que contribuiu para o pior controlo nos doentes com maior tempo de evolução.

No nosso trabalho, 7 doentes (3,9%) não se encontravam medicados para a diabetes, sendo que 6 tinham HbA1c < 6,5%, o que levanta a possibilidade de, embora identificados como tal, não serem diabéticos. A ausência de medicação no sétimo doente, poder-se-á justificar pelo facto de o doente estar controlado apenas com a modificação do estilo de vida. A percentagem de indivíduos diabéticos sem tratamento dirigido foi inferior à estimada em outras populações^{10,11}, o que traduz um bom acompanhamento dos doentes incluídos no nosso estudo.

Verificámos ainda que, em todos os grupos de tratamento, havia indivíduos com HbA1c < 6,5%, nomeadamente nos doentes medicados apenas com ADO e apenas com insulina. Não dispomos de dados sobre o tipo de ADO usados, nomeadamente sulfonilureias, o grupo mais frequentemente responsável por este fenómeno. Em ambos os grupos de tratamento a ocorrência de hipoglicemias deve ser cuidadosamente avaliada e, nomeadamente nos mais idosos, ser tida em conta na escolha do objetivo de controlo metabólico e no ajuste do esquema terapêutico. A existência de um controlo metabólico «demasiado bom» deve ser analisada com cuidado e atitude crítica, pois pode significar a ocorrência frequente de hipoglicemias, muitas vezes assintomáticas, principalmente em doentes idosos e com comorbilidades como a insuficiência renal crónica, devendo ser evitada.

Nível de cuidados de saúde

Quanto ao nível de cuidados de saúde e como seria de esperar, a maioria dos nossos doentes era seguida nos CSP (71,5%). Comparando com estatísticas nacionais de 2011 (78,3% dos DM seguidos nos CSP)³ e internacionais (82% nos EUA)⁴, obtivemos uma percentagem de doentes seguidos nos CSP ligeiramente inferior e um maior número de doentes seguidos nos CSS.

Verificámos que os doentes seguidos nos CSS eram tendencialmente mais novos do que os doentes seguidos nos CSP e que os CSS aumentaram a sua preponderância à medida que aumentou o tempo de evolução da doença, sendo responsáveis pelo seguimento de 42% dos doentes com mais de 20 anos de doença. Estes dados são expectáveis e concordantes com outros estudos¹⁷.

Verificámos que quanto mais diferenciados os cuidados de saúde, maior era a probabilidade de serem usados esquemas com insulino-terapia, havendo uma taxa de insulino-terapia nos CSP de 16,5% e nos CSS de 73%. Estes dados são concordantes com vários estudos internacionais^{17,18} e podem dever-se ao facto de os doentes nos CSS terem maior tempo de evolução de doença e a diferentes atitudes face ao início de insulino-terapia. De facto, um estudo multi-nacional analisou atitudes de médicos generalistas versus médicos especialistas quanto a início de insulino-terapia em DM2 e concluiu existir um menor atraso no início de insulina nos especialistas e líderes de opinião e naqueles que acreditam na eficácia da insulina, relativamente aos médicos generalistas¹³.

Encontrou-se uma diferença estatisticamente significativa entre a HbA1c dos doentes seguidos nos CSP e nos CSS. Uma vez que são também doentes com maior tempo de evolução de doença e maior taxa de insulino-terapia, a diferença na HbA1c poderá indicar que os doentes seguidos nos CSS são doentes mais complexos e mais difíceis de tratar, não atingindo tão bons resultados no controlo metabólico. No entanto, outros estudos não demonstraram esta diferença¹⁷. Comparando os nossos dados com os do Relatório Nacional do Observatório de Diabetes 2012, verificamos que o grupo de doentes da nossa população seguido nos CSP apresentou um valor de HbA1c muito semelhante (6,7 vs. 6,6%)³.

Limitações e pontos fortes do trabalho

Com este trabalho tentámos contribuir para um maior conhecimento da situação da DM2 em Portugal e, mais concretamente, na região do Minho. O internamento hospitalar foi aproveitado como uma oportunidade de recolha de dados. No entanto, esta opção metodológica está associada a algumas limitações: a nossa população de doentes foi selecionada previamente por motivos clínicos que justificaram o seu internamento num serviço hospitalar específico, é uma população envelhecida e com múltiplas comorbilidades, não representativa da população diabética em geral. No entanto, uma vez que a incidência da DM2 aumenta com a idade, pensamos que o serviço de medicina interna, sendo um dos maiores do nosso hospital e tendo uma população envelhecida, será aquele que, em meio hospitalar, terá uma maior representatividade da população de DM2. Apesar de existir a evidência empírica de que esta população de doentes seria muito prevalente no internamento hospitalar em geral e no de medicina interna em particular, pensamos não existirem, até à data, dados a nível local ou regional que o demonstrassem. Ao basearmos a recolha de dados no processo clínico dos doentes e não apenas nos registos de codificação hospitalar, tentámos conseguir uma perceção mais exata da real prevalência de DM2 diagnosticada nestes doentes.

Conclusão

A crescente prevalência da DM2 na população portuguesa nas últimas décadas torna esta patologia num problema grave. No

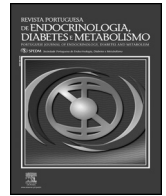
entanto, não existem muitos estudos sobre a vigilância, o controlo e o tratamento dos doentes diabéticos no nosso país. A população do nosso estudo é uma população envelhecida, com seguimento médico regular, predominantemente nos CSP, maioritariamente medicada com ADO e com baixa percentagem de insulino-terapia. Apesar disso, encontra-se em vigilância e com adequação de cuidados, com controlo metabólico próximo dos objetivos estabelecidos pelas recomendações internacionais. Mostrámos também que existem diferenças entre a população de diabéticos seguidos nos CSP e nos CSS, decorrentes da natural evolução da doença. Por outro lado, com este trabalho, pretendemos reafirmar a relevância que a população diabética tem no internamento hospitalar, com os custos que lhe são inerentes, o que poderá levar a uma maior consciencialização e sensibilização para a especificidade do tratamento destes doentes e à melhoria dos cuidados que lhes são prestados.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

- McCulloch DK, Robertson RP. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. UpToDate. [consultado 12 Feb 2013]. Disponível em: <http://www.uptodate.com/contents/pathogenesis-of-type-2-diabetes-mellitus>
- International Diabetes Federation. Diabetes Atlas 5th Edition 2012 Update. [consultado 17 Mai 2013]. Disponível em: <http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/Update2012>
- Sociedade Portuguesa de Diabetologia. Diabetes: Factos e Números 2012 - Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes. [consultado 10 Abr 2013]. Disponível em: <http://www.spd.pt/index.php/observatorio-mainmenu-330>
- DeWitt DE, Hirsch IB. Outpatient insulin therapy in type 1 and type 2 diabetes mellitus: Scientific review. JAMA. 2003;289(17):2254–64.
- Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: A patient-centered approach: Position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). Diabetes Care. 2012;35:1364–79.
- Luo L, Li T. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes – 2013. Diabetes Care. 2013;36 Supplement 1:S11–66.
- McCulloch DK. Overview of medical care in adults with diabetes mellitus. UpToDate. [consultado 16 Jan 2013]. Disponível em: <http://www.uptodate.com/contents/overview-of-medical-care-in-adults-with-diabetes-mellitus>
- Kubo T, Fujino Y, Murata A, Ichimiya Y, Kuwabara K, Fujimori K, et al. Prevalence of Type 2 Diabetes among acute inpatients and its impact on length of hospital stay in Japan. Intern Med. 2011;50:405–11.
- Sociedade Portuguesa de Diabetologia. Diabetes: Factos e Números 2010 - Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes. [consultado 10 Abr 2013]. Disponível em: <http://www.spd.pt/index.php/observatorio-mainmenu-330>
- Cortez-Dias N, Martins S, Belo A, Fiuza M. Prevalência, tratamento e controlo da diabetes mellitus e dos factores de risco associados nos cuidados de saúde primários em Portugal. Rev Port Cardiol. 2010;29(04):509–37.
- Centers for Disease Control and Prevention. Diabetes Data & Trends. [consultado 20 Feb 2013]. Disponível em: <http://apps.nccd.cdc.gov/DDTSTRS/default.aspx>
- Selvin E, Coresh J, Brancati FL. The burden and treatment of diabetes in elderly individuals in the U.S. Diabetes Care. 2006;29(11):2415–9.
- Peyrot M, Rubin RR, Lauritzen T, Skovlund SE, Snoek FJ, Matthews DR, et al. Resistance to insulin therapy among patients and providers: Results of the cross-national Diabetes Attitudes, Wishes, and Needs (DAWN) study. Diabetes Care. 2005;28:2673–9.
- Shan BR, Hux JE, Laupacis A, Zinman B, Walraven CV. Clinical inertia in response to inadequate glycemic control: Do specialists differ from primary care physicians? Diabetes Care. 2005;28:600–6.
- Turner RC, Cull CA, Frighi V, Holman RR. Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: Progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. JAMA. 1999;282(21):2005–12.
- Brown JB, Nichols GA, Perry A. The burden of treatment failure in type 2 diabetes. Diabetes Care. 2004;27:1535–40.
- Berardis G, Pellegrini F, Franciosi M, Belfiglio M, Nardo BD, Greenfield S, et al. Quality of care and outcomes in type 2 diabetic patients: A comparison between general practice and diabetes clinics. Diabetes Care. 2004;27:398–406.
- McAlister FA, Majumdar SR, Eurich DT, Johnson JA. The effect of specialist care within the first year on subsequent outcomes in 24 232 adults with new-onset diabetes mellitus: Population-based cohort study. Qual Saf Health Care. 2007;16:6–11.



Artigo original

Prevalência da diabetes mellitus no internamento de um hospital central



Ana Maia Silva*, Cláudia Freitas, Jorge Dores e Fátima Borges

Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Hospital de Santo António, Centro Hospitalar do Porto (CHP), Porto, Portugal

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Historial do artigo:

Recebido a 21 de maio de 2013

Aceite a 3 de fevereiro de 2014

On-line a 18 de junho de 2014

Palavras-chave:

Diabetes mellitus

Hiperglicemia

Internamento

RESUMO

Introdução: A diabetes mellitus (DM) é uma patologia com prevalência crescente na população, mas frequentemente subvalorizada em ambiente hospitalar.

Objetivos: Determinar a prevalência da DM num hospital central e caracterizar o perfil glicémico dos doentes de acordo com o diagnóstico principal e tempo de internamento.

Material e métodos: Foi feita uma avaliação transversal no dia 13/12/2011 nas enfermarias de adultos do CHP, excetuando Obstetrícia. Os doentes com diabetes foram definidos pelo historial/registos clínicos ou pela presunção do diagnóstico (2 valores de glicemia plasmática ≥ 200 mg/dl). O controlo glicémico foi avaliado pelas glicemias capilares mínima e máxima na véspera do estudo, categorizadas em hipoglicemia (< 70 mg/dl), normoglicemia (70–179 mg/dl) e hiperglicemia (≥ 180 mg/dl). Foi classificado o diagnóstico principal em infeção/não infeção e a duração do internamento até ao dia do estudo em grupos: A 1-3 dias, B 4-7 dias, C 8-14 dias, D 15-30 dias e E mais de 30 dias.

Resultados: Entre 523 doentes avaliados, 145 tinham DM (27,7%), a maioria do tipo 2 (92,4%). Apenas 21,9% dos doentes se encontravam normoglicémicos e o *sliding scale* foi o tratamento hipoglicémico mais prescrito (49,6%). As glicemias mínimas foram significativamente diferentes entre grupos de tempos de internamento (superiores para o grupo B e progressivamente menores para doentes com internamentos mais prolongados, $p = 0,002$). O grupo com maior tempo de internamento registou maior taxa de insulínização relativamente ao grupo B (57,1 vs. 19,4%, $p = 0,02$). A taxa de insulínização foi menor no grupo «infeção» ($p = 0,01$).

Discussão e conclusão: Apesar da grande prevalência da diabetes nos doentes internados, apenas uma minoria parece estar bem controlada ou sob um esquema insulínico basal. O pior controlo metabólico e a menor taxa de insulínização ocorreram no final da primeira semana de internamento e em doentes com diagnóstico de infeção. Os autores alertam para a importância do controlo metabólico dos doentes, principalmente em contexto infeccioso.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

The prevalence of inpatient diabetes mellitus in a general hospital

A B S T R A C T

Keywords:

Diabetes mellitus

Hyperglycemia

Hospitalization

Background: Diabetes mellitus (DM) is a growing condition, although frequently underestimated in the hospital setting.

Aim: To determine the prevalence of DM in a general hospital, as well as the glycemic profile of patients with diabetes according to main diagnosis and length-of-stay (LOS).

Material and methods: A cross-sectional analysis was performed in adult wards of CHP except Obstetrics' on the 13th December 2011. Patients with diabetes were defined by the previous history or clinical registry of DM and; those with 2 or more venous glycemia ≥ 200 mg/dl were also assumed to have DM. Glycemic control was estimated by capillary glycemia in the day before evaluation 2 and categorized in hypoglycemia (< 70 mg/dl), normoglycemia (70–179 mg/dl) or hyperglycemia (≥ 180 mg/dl). Main diagnosis was categorized in infection/non-infection and the duration of hospitalization until the study day in groups A:1-3 days, B:4-7 days, C:8-14 days, D:15-30 days or E:more than 30 days.

* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: anamaiasilva@gmail.com (A. Maia Silva).

Results: 523 patients were analysed, 145 were diabetic (27.7%), mostly type 2. Only 21.9% had normoglycaemic control and most of them were under sliding scale treatment. Comparison between groups showed that mean minimal glycemia was significantly different between them (highest in group B and decreasing from B to E, $p = 0.002$). Group E had higher insulin treatment rate than group B (57.1% vs 19.4%, $p = 0.02$). Patients at the "infection" group were less frequently under basal insulin regimen than the non-infection one ($p = 0.01$).

Discussion and conclusion: Despite the high prevalence of diabetes among hospitalized patients, only a minority seemed to be normoglycemic. The worst metabolic control and lowest insulin treatment rate was seen at the end of first week and in those patients at the "infection" category. The authors emphasize the relevance to achieve good inpatient metabolic control, especially in infected subjects.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introdução

A diabetes mellitus (DM) é uma doença metabólica crónica com uma frequência crescente na população, sendo estimado que em 2030 serão cerca de 366 milhões os indivíduos com diabetes em todo o mundo¹. Atinge atualmente mais de 8,3% da população mundial, estando Portugal entre os países da Europa com uma taxa mais elevada de doença².

O relatório anual, relativo a 2012, do Observatório Nacional da Diabetes aponta para uma prevalência de 12,7% do total de adultos da população portuguesa entre os 20-79 anos com diabetes e 39,2% com diabetes ou hiperglicemia intermédia, tendo-se notado um aumento de 80% na incidência da doença nos últimos 10 anos³. No estudo Prevadiab, em 2009 a prevalência era de 11,7%⁴.

A nível hospitalar, tem sido reconhecido que os doentes com diabetes têm o dobro da probabilidade de serem hospitalizados e que permanecem o dobro do tempo internados relativamente aos restantes indivíduos⁵.

Em Portugal, embora o número de doentes com alta hospitalar que apresentam a diabetes como diagnóstico principal tenha estabelecido entre 2002-2010, há evidência de um aumento do total de casos em que a DM surge como um diagnóstico associado³. Apesar do elevado peso deste diagnóstico entre os doentes internados, na prática clínica há a percepção de que a DM é subvalorizada, quer durante a abordagem do doente na fase aguda de internamento quer na codificação das patologias após a alta.

O objetivo principal do presente estudo foi determinar a prevalência da DM, a qualidade do controlo metabólico e o tratamento antidiabético em curso entre os doentes com diabetes internados num hospital central. O objetivo secundário foi relacionar o perfil glicémico dos indivíduos com diabetes internados de acordo com o seu diagnóstico principal e o tempo de internamento no momento do estudo.

Material e métodos

No dia 13 de dezembro de 2011 foi realizado um estudo de corte transversal no Hospital de Santo António, Centro Hospitalar do Porto (CHP), um centro hospitalar central, geral e universitário de referência em Portugal. Foram analisados todos os doentes internados e selecionados os indivíduos adultos com diabetes com um mínimo de 24 horas de internamento em enfermarias de cuidados não críticos. Foram excluídas as enfermarias do serviço de Obstetrícia. O diagnóstico de DM foi assumido de acordo com o historial clínico prévio do doente ou pela presença de pelo menos 2 valores de glicemia venosa aleatória ≥ 200 mg/dl. Através de entrevista individual aos doentes com diabetes ou por consulta do seu processo clínico em papel ou informatizado, foi ainda recolhida informação relativa à idade, género, tipo de DM (quando diagnosticada previamente ao internamento), presença de monitorização de glicemia capilar no internamento, valores mínimo e máximo de glicemia capilar registados nas 24 horas precedentes ao dia do

Tabela 1

Descrição da amostra estudada

Total de indivíduos com diabetes: 145	
Género n (%)	
F:	62 (42,8)
M:	83 (57,2)
Idade (anos) Média \pm DP (mín-máx)	
	71,3 \pm 11,5 (18-98)
Tipo 1:	2 (1,4)
Tipo de DM n (%)	
Tipo 2:	134 (92,4)
Outros:	5 (3,4)
Não esclarecido:	4 (2,8)

estudo, tipo de tratamento antidiabético em curso e tempo de internamento até ao dia do estudo. A qualidade do controlo glicémico foi avaliada pelo cálculo das médias das glicemias capilares mínimas e máximas e os valores foram classificados em normoglicemia (70-179 mg/dl), hipoglicemia (< 70 mg/dl) e hiperglicemia (≥ 180 mg/dl) de acordo com as recomendações de 2011 da *American Diabetes Association*⁶. Após a alta hospitalar dos doentes e retrospectivamente, foi ainda feita a análise dos diagnósticos principais codificados segundo a classificação ICD-9, agrupados em 2 categorias: «infeção» ($n = 30$) e «não infeção» ($n = 111$). A duração do internamento foi dividida em 5 categorias: A 1-3 dias ($n = 27$), B 4-7 dias ($n = 36$), C 8-14 dias ($n = 30$), D 15-30 dias ($n = 34$) e E mais de 30 dias ($n = 14$). O tratamento de dados foi feito através dos programas Excel[®] 2007 e SPSS[®] versão 20.0, com recurso aos testes estatísticos de One-Way Anova para análise multivariada, *t-Student* para análise intergrupos (variáveis contínuas) e de Qui-quadrado (variáveis categóricas). Foi assumido o nível de significância estatística para $p < 0,05$. A apresentação dos dados é feita de forma descritiva (média \pm desvio-padrão, mínimo-máximo) e percentagem.

Resultados

Foram avaliados 523 doentes internados, correspondendo a uma taxa de ocupação hospitalar de 95,8%. Entre estes, 145 tinham diabetes (27,7%), com média de idades de $71,3 \pm 11,5$ anos (18-98), predominantemente do sexo masculino (57,2%) e, de acordo com os registos, com DM do tipo 2 (92,4%) – tabela 1.

Foi possível questionar diretamente 121 doentes dos 145 avaliados (24 doentes estavam ausentes do serviço no momento do estudo ou impossibilitados de comunicar). Entre esses, 110 (90,9%) tinham conhecimento prévio de que tinham DM.

A monitorização da glicemia capilar nas 24 horas precedentes foi efetuada em 137 indivíduos (94,5%), dos quais 30 (21,9%) apresentaram valores de glicemia mínima e máxima dentro do intervalo da normoglicemia. Em 10 doentes (7,3%) houve pelo menos um registo de hipoglicemia e em 107 doentes (78,1%) pelo menos um registo de hiperglicemia (nomeadamente ≥ 300 mg/dl em 32,7%

Tabela 2

Comparação entre doentes com o diagnóstico principal de infeção e os restantes

Condição	Infeção (n = 30)	Não infeção (n = 111)	p
Glicemia mínima (mg/dl)	125,0 ± 59,1 (51-356)	121,8 ± 41,6 (40-220)	0,62 ^a
Glicemia máxima (mg/dl)	254,2 ± 74,4 (120-385)	235,6 ± 81,4 (110-440)	0,42 ^a
Insulinoterapia	10,7%	36,0%	0,01 ^b
Antidiabéticos orais	21,4%	15,3%	0,4 ^b

^a t-Student.^b Qui-quadrado.

desses doentes). Vinte e um doentes (15,3%) tiveram sempre valores de hiperglicemia nas 24 horas anteriores ao estudo.

Constatou-se que apenas 133 doentes (91,7%) tinham algum tipo de tratamento antidiabético prescrito. De entre os tratamentos efetuados, o *sliding scale* foi o mais frequente (49,6%). A insulinoterapia basal subcutânea (com ou sem bólus prandiais de insulina ou análogo rápido) foi instituída a 28,6% indivíduos e a perfusão endovenosa de insulina a 4,5%. Vinte e três doentes (17,3%) tinham apenas antidiabéticos orais prescritos.

Retrospectivamente foram reavaliadas 141 das 145 pessoas com diabetes relativamente ao tempo de internamento até ao dia do estudo e tipo de diagnóstico principal. Nesta subanálise foram excluídos 4 doentes por inacessibilidade aos dados clínicos.

Trinta doentes (21,3%) tinham como diagnóstico principal uma infeção e 111 (78,7) tinham outro diagnóstico. As médias de glicemias mínimas e máximas foram superiores no grupo «infeção» (125,0/254,2 mg/dl) relativamente ao «não infeção» (121,8/235,6 mg/dl), embora sem significado estatístico – tabela 2.

No que respeita ao controlo metabólico entre grupos de tempo de internamento no dia do estudo, as glicemias mínimas foram significativamente diferentes entre os grupos ($p < 0,002$), tendo sido superiores para o grupo de doentes internados entre 4-7 dias e progressivamente menores para internamentos mais longos – tabela 3. Houve tendência para haver uma distribuição semelhante das glicemias máximas, mas sem significado estatístico – tabela 3.

Analisando o tipo de tratamento efetuado, verificou-se que a taxa de insulinização foi significativamente menor nos doentes do grupo «infeção» (10,7%) relativamente aos restantes (36,0%, $p = 0,01$). A maior taxa de tratamento exclusivo com antidiabéticos orais no grupo «infeção» relativamente ao «não infeção» (21,40 vs. 15,3%, respetivamente, $p = 0,4$) não teve significado estatístico – tabela 2.

A insulinização também foi tendencialmente diferente entre os vários grupos de tempos de internamento: A:22,2%, B:19,4%, C:30,0%, D:35,2%, E:57,1%. Uma comparação direta entre os vários grupos permitiu constatar diferenças significativas entre a taxa de insulinização de doentes com mais de 30 dias de internamento relativamente àqueles com 4-7 dias (57,1% vs. 19,4%, respetivamente, $p = 0,02$).

Discussão

No presente estudo foi identificada uma prevalência de DM entre doentes internados de 27,7%, significando que mais de um em cada 4 indivíduos adultos hospitalizados tinha diabetes. Na literatura são descritas prevalências de 12-24% em internamentos nos EUA, um valor um pouco inferior ao encontrado no presente estudo, embora igualmente relevante⁵.

Tabela 3

Comparação do controlo glicémico entre os vários grupos de tempos de internamento

Condição	Grupo A (n = 27)	Grupo B (n = 36)	Grupo C (n = 30)	Grupo D (n = 34)	Grupo E (n = 14)	p
Glicemia mínima (mg/dl)	134,5 ± 45,1 (42-235)	158,6 ± 65,4 (40-356)	122,5 ± 39,6 (51-223)	115,4 ± 38,5 (52-203)	99,3 ± 30,5 (53-179)	0,002 ^a
Glicemia máxima (mg/dl)	210,7 ± 78,3 (90-442)	268,1 ± 89,3 (116-436)	261,4 ± 73,1 (140-444)	238,5 ± 79,0 (120-424)	239 ± 66,1 (123-369)	0,085 ^a

^a One-Way Anova.

Contra a recomendação da *Endocrine Society*⁷, de monitorização capilar diária e tratamento insulínico a todos os doentes com diabetes internados, em 5,5% dos indivíduos estudados não estava a ser feita monitorização glicémica e apenas 91,7% do total de doentes tinha algum tipo de tratamento antidiabético prescrito. Para além disso, a opção exclusiva pelo esquema *sliding scale* (correção das hiperglicemias com insulina de ação rápida e sem instituição de um esquema basal de insulina) foi a mais frequentemente identificada (49,6%). A sobreutilização deste esquema em regime hospitalar é um dos possíveis fatores associados a mau controlo glicémico, tal como o são a ausência de objetivos terapêuticos individualizados, a falta de ajuste terapêutico e a omissão de tomas de insulina pelo medo de provocar hipoglicemias com um esquema insulínico basal.

A reduzida taxa de insulinização basal dos indivíduos com diabetes e o elevado número de doentes sob tratamento antidiabético oral identificados neste estudo podem ter justificado o aparente descontrolo metabólico detetado. De facto, apenas 21,9% dos indivíduos apresentaram valores de glicemia capilar de normoglicemia no dia anterior ao estudo e mais de 75% dos doentes tiveram pelo menos um valor de hiperglicemia, sendo que 15,3% apresentaram sempre hiperglicemias em todas as pesquisas realizadas.

A importância do controlo metabólico no prognóstico dos doentes foi já previamente evidenciada, tanto a nível cardiovascular como infeccioso ou mesmo em termos de mortalidade. Assim, por exemplo, em situações de enfarte agudo de miocárdio, a hiperglicemia associa-se a aumento do risco de insuficiência cardíaca congestiva, choque cardiogénico ou mesmo mortalidade intra-hospitalar⁸; as hiperglicemias à admissão hospitalar associam-se a aumento de risco de desfecho desfavorável em doentes com pneumonias adquiridas na comunidade⁹ e em contexto de cirurgia coronária, a hiperglicemia pós-operatória é fator de risco independente para o desenvolvimento de complicações infecciosas¹⁰.

Em Portugal, em 2011, 22,6% da letalidade intra-hospitalar no Sistema Nacional de Saúde (SNS) ocorreu na população com diabetes, a maior parte por doenças infecciosas (mais frequentemente pneumonia pneumocócica), do aparelho respiratório ou neoplasias³.

No presente estudo, entre indivíduos cujo diagnóstico principal foi um processo infeccioso, houve uma tendência para pior controlo metabólico (a ausência de significado estatístico poderá dever-se ao reduzido número da amostra), mas a taxa de insulinização foi significativamente menor. Estes achados sugerem que deveremos investir numa maior sensibilização dos profissionais de saúde e na divulgação de informação respeitante à abordagem terapêutica da DM. Não obstante a importância que o controlo glicémico tem no prognóstico dos doentes, este é muitas vezes preterido ao tratamento do diagnóstico primário que motiva o internamento. Para tal,

pode contribuir a falta de atenção dedicada à DM, frequentemente verificada entre profissionais.

Foi demonstrado também neste estudo que doentes com tempo de internamento superior (grupo E) apresentaram taxas de insulino-terapia significativamente mais elevadas que aqueles no final da primeira semana de internamento (grupo B). Estes resultados poderão ser explicados pela consultoria de Endocrinologia que mais frequentemente é solicitada para doentes com tempos de internamento superiores, principalmente após o controlo do problema que motiva o internamento hospitalar.

Mais ainda, para doentes no final da primeira semana de internamento, o controlo metabólico foi pior que o daqueles com tempos de internamento superiores, a avaliar pelo perfil de glicemias mínimas significativamente superiores para esses doentes e pela tendência das glicemias máximas para uma distribuição semelhante. Geralmente na fase dos 4-7 dias de internamento os doentes deixam de estar sob o efeito, muitas vezes prolongado, do tratamento hipoglicemiante de ambulatório, apresentam ainda descompensação aguda do fator que motivou o internamento e o controlo metabólico muitas vezes ainda não se assumiu como uma abordagem prioritária para muitos profissionais de saúde.

Algumas limitações foram identificadas no presente estudo, que condicionam a interpretação dos resultados. Por um lado, o facto de ser um estudo transversal impede a avaliação contínua dos doentes ao longo do seu tempo total de internamento e a avaliação dos efeitos das alterações terapêuticas no controlo metabólico. Por outro lado, para os casos de glicemia venosa aleatória ≥ 200 mg/dl assumidos como de DM, não foi feita a avaliação metabólica posterior, após a alta hospitalar, o que permitiria diferenciar, com maior rigor, as situações de DM não previamente identificadas das hiperglicemias de stress. Não obstante, corresponderam a um número reduzido de casos de DM (aproximadamente 6%) e, da experiência de consultoria a doentes com diabetes hospitalizados e seguimento posterior em consulta externa, a maioria dos doentes tem de facto diabetes não previamente diagnosticada.

Conclusão

Neste estudo foi demonstrado que mais de um em cada 4 doentes internados tinha diabetes.

A monitorização da glicemia capilar não era uma prática em todos os doentes e, entre aqueles com vigilância glicémica, apenas 21,9% apresentava um controlo metabólico dentro dos objetivos da normoglicemia, tendo sido elevada a taxa de hiperglicemia.

Relativamente ao tratamento antidiabético, uma minoria dos doentes encontrava-se insulinizada com um esquema de insulina basal subcutânea ou endovenosa e o tratamento farmacológico oral exclusivo foi uma opção em mais de 15% dos doentes. A utilização

do tratamento insulínico em *sliding scale* foi o principal tratamento prescrito.

Ocorreu pior controlo metabólico no final da primeira semana de internamento e, tendencialmente, em doentes com diagnóstico principal de infeção. Nessas situações, houve também menor taxa de insulino-terapia relativamente a tempos de internamento superiores e uma tendência para maior número de doentes tratados em exclusivo com antidiabéticos orais.

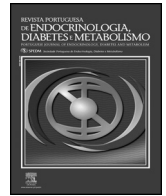
Com o presente trabalho, os autores confirmam a elevada prevalência da DM no ambiente hospitalar e alertam para a importância de alcançar um bom controlo metabólico, através do tratamento insulínico adequado. Realçam, em particular, o mau controlo dos doentes em contexto infeccioso e incentivam, por um lado, à instituição de insulino-terapia, de forma a contribuir para uma evolução clínica mais favorável e, por outro, à formação em diabetes dos profissionais de saúde a nível hospitalar, para que esta doença assuma uma importância maior durante o internamento.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

1. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: Estimates for the year 2000 and projection for 2030. *Diabetes Care*. 2004;27:1047-53.
2. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas 2012 [acessado 2 Mai 2013]. Disponível em: <http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/Update2012>
3. Diabetes: Factos e Números 2012. Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes 2/2013 – Sociedade Portuguesa de Diabetes [acessado 10 Mai 2013]. Disponível em: http://www.portugal.gov.pt/media/871173/20130219_relatorioanualdiabetes.2012.pdf
4. Gardete-Correia L, Boavida JM, Raposo JF, Mesquita AC, Fona C, Carvalho R, et al. First diabetes prevalence study in Portugal: PREVADIAB study. *Diabet Med*. 2010;27(8):879-81.
5. Fitzsimons B, Wilton L, Lamont T, McCulloch L, Boyce J. The Audit Commission review of diabetes services in England and Wales, 1998-2001. *Diabet Med*. 2002;19 Suppl 4:73-8.
6. Anderson J, Buse J, Funnell M, Gabbay R, Inzucchi S, Kadohiro J, et al. American Diabetes Association - standards of medical care in diabetes - 2011. *Diabetes Care*. 2011;34 Supplement 1:S11-61.
7. Umpierrez GE, Hellman R, Korytkowski MT, Kosiborod M, Maynard GA, Montori VM, et al. Management of hyperglycemia in hospitalized patients in non-critical care setting: An endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97:16-38.
8. Capes SE, Hunt D, Malmberg K, Gerstein HC. Stress hyperglycaemia and increased risk of death after myocardial infarction in patients with and without diabetes: A systematic overview. *Lancet*. 2000;355(9206):773-8.
9. McAlister FA, Majumdar SR, Blitz S, Rowe BH, Romney J, Marrie TJ. The relation between hyperglycemia and outcomes in 2,471 patients admitted to the hospital with community-acquired pneumonia. *Diabetes Care*. 2005;28:810-5.
10. Golden SH, Peart-Vigilance C, Kao WHL, Brancati FL. Perioperative glycemic control and the risk of infectious complications in a cohort of adults with diabetes. *Diabetes Care*. 1999;22:1408-14.



Original article

Assessment of macroprolactinemia by polyethylene glycol precipitation method



Ana Maia Silva^{a,*}, Paula Martins da Costa^b, Ana Pacheco^b, José Carlos Oliveira^b, Cláudia Freitas^a

^a Department of Endocrinology, Diabetes and Metabolism, Hospital Santo António, Centro Hospitalar do Porto, Portugal

^b Department of Clinical Chemistry, Hospital de Santo António, Centro Hospitalar do Porto, Portugal

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 November 2013

Accepted 3 March 2014

Available online 27 June 2014

Keywords:

Macroprolactin

Prolactin

Polyethylene glycol precipitation

ABSTRACT

Background: Macroprolactin is a molecule that results from association between monomeric prolactin (PRL) and immunoglobulin G (IgG). It has longer half-life and is considered biologically inactive, although it retains immunoreactivity, being detected in most available immunoassays.

Objective: To evaluate polyethylene glycol (PEG) precipitation method in routine detection of macroprolactin.

Methods: During 4 months a prospective study was performed in our hospital. Serum samples of PRL ≥ 30 ng/ml were collected and pre-treated with PEG. Initial PRL and post-PEG PRL (in the supernatant) were detected by electrochemiluminescence – Cobas e170[®]. Samples were classified as having a predominance of macroprolactin if recovery rate (RR) of PRL was $<40\%$ and an indeterminate result for the predominance of macroprolactin if RR was 40–65%.

Results: Ninety-six samples were enrolled, with median PRL 56.1 ng/ml (30.7–3667). PEG precipitation produced a decrease in PRL values in all of the cases (mean reduction of 22%). Two cases of macroprolactin predominance were detected (RR 4.9% and 16.1%) and 2 cases were indeterminate (RR 45.1% and 63.7%).

Discussion: PEG precipitation method is a simple and low-cost laboratory technique that can be routinely used in clinical practice. Macroprolactin accounting for hyperprolactinemia is a common cause of misdiagnosis. Screening for macroprolactin in hyperprolactinemic patients may avoid unnecessary investigation and inappropriate treatment.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Avaliação de macroprolactina pelo método de precipitação com polietilenoglicol

RESUMO

Introdução: A macroprolactina é uma molécula que resulta da associação entre a prolactina (PRL) monomérica e a imunoglobulina G (IgG). Tem uma semi-vida superior e é considerada biologicamente inativa, apesar de ter imunorreatividade e ser detectada pela maior parte dos imunoensaios laboratoriais actualmente utilizados.

Objectivo: Avaliar o método de precipitação com polietilenoglicol (PEG) na avaliação laboratorial da macroprolactina.

Métodos: Foi elaborado no nosso hospital um estudo prospectivo com 4 meses de duração. Foram colhidas e pré-tratadas com PEG amostras de PRL sérica ≥ 30 ng/ml. Os valores de PRL inicial e de PRL pós-PEG (no sobrenadante) foram obtidos por electroquimioluminescência – Cobas e170[®]. As amostras foram classificadas como tendo domínio de macroprolactina se a taxa de recuperação (RR) da PRL fosse $<40\%$ e como tendo um resultado indeterminado se a RR estivesse entre 40 e 65%.

Resultados: Noventa e seis amostras foram analisadas, com PRL mediana de 56.1 ng/ml (30.7–3667). A precipitação com PEG resultou numa diminuição no valor da PRL em todos os casos (redução média de 22%). Foram detectados 2 casos de domínio de macroprolactina (RR 4.9% e 16.1%) e 2 casos com resultado indeterminado (RR 45.1% e 63.7%).

Palavras-chave:

Macroprolactina

Prolactina

Precipitação com Polietilenoglicol

* Corresponding author.

E-mail address: anamaiasilva@gmail.com (A.M. Silva).

Discussão: A precipitação com PEG é um método laboratorial simples e barato que pode ser utilizado por rotina na prática clínica. A macroprolactina é uma causa relativamente frequente de hiperprolactinemia que, quando detectada, pode permitir evitar custos adicionais com exames radiológicos ou tratamentos inapropriados.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

Introduction

Prolactin (PRL) is a hormone produced by lactotroph cells in anterior pituitary gland and its action is essential for human species survival. The main functions of PRL are exerted during pregnancy, enabling breast development, milk production and lactation. It has also reproductive and metabolic effects, like stimulation of immune response. PRL receptors are, therefore, expressed in several tissues, like breast, pituitary, adrenal cortex, prostate, gonads, liver and other essential ones.¹

The PRL molecule presents great heterogeneity with respect to molecular mass. Most human circulating PRL (about 85–95%) exist in a monomeric form of 23 kDa but high molecular mass isoforms including big-PRL, a dimer of 50 kDa and big-big-PRL or macroprolactin, a variant of 150–170 kDa, may also be present. These high-molecular weight forms have been described either in healthy subjects or in hyperprolactinemic patients.

Hyperprolactinemia refers to a state of elevated serum levels of PRL and may be caused, among others, by a prolactinoma, an autonomous PRL secreting pituitary adenoma, or by a loss of inhibitory effect of dopamine by other kinds of pituitary or sellar tumours. In some situations, however, no cause for elevated levels of PRL can be identified and patients are assumed to have idiopathic hyperprolactinemia.¹

Macroprolactinemia is another source of hyperprolactinemia. It accounts for a variable amount of all reported cases of hyperprolactinemia (10–46%), depending on the immunoassay used for laboratory determination.^{2–5}

Macroprolactin is most frequently a complex formed by a monomeric PRL and an immunoglobulin G molecule but post-translational modification of pituitary PRL with varying glycosylation and phosphorylation degrees have also been described.^{6,7}

This tertiary structure modification of PRL, responsible for retention in vascular tree and reduced tissue availability, contributes to its clinical inactivity. However, as the PRL part of PRL-IgG complex still preserves immunoreactivity in most available immunoassays used nowadays and as it has lower clearance rate and augmented half-life, it may cause high PRL levels in routine tests.

Sometimes, most of the circulating PRL may be in the macroprolactin form, leading, in those circumstances, hyperprolactinemia to be called macroprolactinemia.

The gold standard test to determine the presence of macroprolactinemia is gel filtration chromatography, but more available and less expensive alternatives have been described, like precipitation with polyethylene glycol (PEG).⁸

The aim of this study was to evaluate PEG precipitation method in routine detection of macroprolactin in a central hospital.

Materials and methods

Starting in August 2012, a 4-month prospective study was performed in our hospital, which consisted on collecting serum samples with high PRL levels (PRL \geq 30 ng/ml; reference range: ♀ 4.79–23.3 ng/ml and ♂ 4.04–15.2 ng/ml) from individuals independently of their sex, diagnosis or treatment till then. Twenty-five

grams of PEG 6000 (Merck® ref. 807491) was dissolved in 60 ml of distilled water at room temperature (18–25 °C) and mixed at vortex, with volume fulfilled till 100 ml of solution. Two hundred and fifty microliters of that 25% PEG solution were added at room temperature (20–25 °C) to equal volume of patients' sera. After thorough vortex mixing and 30 min stabilization, the solution was centrifuged at 9500 \times g for 10 min. Initial-PRL (pre-PEG) and supernatant-PRL (post-PEG) were detected by electrochemiluminescence – Cobas e170®. PRL recovery rate (RR) was determined by the ratio: supernatant-PRL/initial-PRL \times 100, after correction of post-PEG PRL result for PEG dilution factor of 2. Samples were classified as having a predominant macroprolactin form if RR of PRL was <40%. RR > 65% indicated monomeric PRL predominance and RR 40–65% was were classified as indeterminate. Positive control for macroprolactin (RR 37%) was obtained by UK NEQAS® – the United Kingdom National External Quality Assurance Scheme, sample G970.

Results

Among a total of 678 samples of PRL analyzed in our laboratory over 4 months of study, 96 consecutive samples of PRL \geq 30 ng/ml were identified (14.2%), with median initial-PRL 56.1 ng/ml (30.7–3667) and median post-PEG PRL 43.1 ng/ml (2–2966).

Two cases of macroprolactin predominance (2.1%) were detected in this study, with RR of 4.9% (pre-PEG/post-PEG prolactin 40.8/2.0 ng/ml, respectively) and RR of 16.1% (pre-PEG/post-PEG prolactin 57.4/9.26 ng/ml, respectively). Two cases were indeterminate, with RR of 45.1% (pre-PEG/post-PEG prolactin 37.96/17.12 ng/ml, respectively) and RR of 63.7% (pre-PEG/post-PEG prolactin 33.2/21.16 ng/ml, respectively). The remaining 92 cases showed RR between 69.1% and 93.5%.

After initial results, a second analysis was performed in two patients who were able to cooperate (one case of positive result and one case indeterminate). Second/first RR were similar: 15.6/16.1% and 41.6/45.1%, respectively).

Treatment with PEG produced a decrease in PRL values in all sera, with mean reduction of 22% (or 20% considering only the 92 cases of monomeric PRL predominance).

Macroprolactin positive cases are now being reviewed by their endocrinologists and a brief description is made as follows:

Case 1

Female, aged 40 years, sent to the endocrinology department because of mild galactorrhea and persistent hyperprolactinemia (PRL 142 ng/ml, reference range 4.79–23.3), but with regular menses and no infertility background. Sellar magnetic resonance imaging (MRI) showed an irregular area of 4 mm, with contrast enhancement, probably a pituitary microadenoma, according to previous clinical information of hyperprolactinemia. She started on dopamine agonist (DA) treatment with prolactinemia reduction but it never normalized (PRL 40.6 ng/ml under 5 mg of bromocriptine). After PEG precipitation, final PRL was 2 ng/ml (RR 4.9%).

Case 2

Female, aged 38 years, being followed in the endocrinology department for the last 18 years because of obesity (BMI 30.3 kg/m²) and irregular menses. She had no galactorrhea. PRL was 155.2 ng/ml (reference range 4.79–23.3) but no abnormal lesion was seen in the pituitary imaging study. She started on bromocriptine with PRL normalization but oligomenorrhea persisted and hyperprolactinemia recurred after DA withdrawal (PRL 57.4 ng/ml). No significant weight reduction was seen during follow-up time. After PEG precipitation, final PRL was 9.3 ng/ml (RR 16.1%).

The case of indeterminate result that was confirmed as inconclusive in this study referred to a 32-year-old female patient observed in the endocrinology department because of mild hyperprolactinemia, confirmed in subsequent analysis (PRL 37.93 ng/ml). She had oligomenorrhea but no galactorrhea and no abnormal images in cerebral computerized tomography (CT). She was diagnosed with autoimmune thyroiditis with subclinical hypothyroidism and is now medicated with levothyroxine 75 µg/day but in the last year she had some irregular menses, PRL 37.98 ng/ml and borderline TSH results (TSH 3.9–6.2 µUI/ml, reference range 0.27–4.2 µUI/ml).

Discussion and conclusions

Macroprolactin is a high-molecular weight molecule that was first described in 1981 by Wittaker et al.⁹ It is a PRL-IgG immunocomplex in which endogenous IgG molecule is directed against epitopes on N- and C-terminal residues of monomeric PRL.¹⁰

The likelihood that current immunoassays will detect macroprolactin depends on the previous binding of PRL to endogenous immunoglobulin and the availability of PRL epitopes to bind the assays' antibody. Whenever the assay's antibody binds an available epitope in PRL molecule, it is accounted as monomeric PRL and contributes to total PRL levels. That is what determines the immunoassay's sensitivity to differentiate monomeric PRL from macroprolactin.

Treatment of sera with high concentrations of PEG may overcome this problem. PEG precipitates out high-molecular weight compounds including immunoglobulin. As it can precipitate macroprolactin, leaving reduced levels in the supernatant, it has been applied to assess cases of elevated PRL due to macroprolactin predominance. This method is cheap, reproducible and easily performed and it seems the one that most tightly correlates with concentrations measured by gel filtration chromatography (GFC), the gold standard for macroprolactin assessment.^{4,11} GFC is not feasible to use in routine laboratory practice as it is too expensive and technically demanding.⁴

Monomeric PRL may also precipitate during technical processing with PEG, reducing post-PEG PRL values in all serum samples.⁴ This lack of specificity, responsible for 5–44% reduction in final PRL even in normoprolactinemic sera,¹² was also demonstrated in the present study, with mean 20% reduction in all 92 cases of monomeric PRL predominance. To minimize this gap, new reference intervals for PRL could be obtained after PEG precipitation of PRL in normoprolactinemic individuals' sera¹² or new calibration curves could be obtained after treating assay calibrators by the same PEG procedure.¹³

In the present study, we used the classic approach of macroprolactin assessment by PEG precipitation, establishing a particular cut-off for RR of PRL.¹⁴ Some authors have taken into account the macroprolactin-specific RR that was achieved after PEG precipitation of positive macroprolactin samples in GFC,^{15,16} others use RR previously validated, like in the present study. Most frequently, results of RR <30%¹⁴ or RR <40%^{5,17,18} have been published. In this

study, RR <40% was considered positive for macroprolactinemia, as it seemed the more reliable and agreed criterion. More variety has been described in literature in what concerns to the interval for indeterminate presence of macroprolactin, although the upper limit of that interval seems frequently an arbitrary option. Consensually, indeterminate results would imply GFC confirmation.

Some situations of hyperprolactinemia can represent simultaneous macroprolactinemia and elevated pituitary PRL secretion (because final PRL result, even if macroprolactinemia is present, may still be above the upper limit of normal).¹⁹ These cases imply the same clinical approach than isolated true hyperprolactinemia, in order to diagnose organic lesion responsible for it.

The incidence of macroprolactinemia depends on the nature of the study centre, as some receive samples of elevated prolactinemia for macroprolactin confirmation. In the present study, macroprolactinemia was present in a lower rate than usually reported (2.1% vs 10–46%).^{5,11,18,20–22} The fact that all hyperprolactinemic samples were collected independently of DA treatment or the presence of pituitary macroadenomas may have contributed to it.

Bioactivity of macroprolactin molecule has been questioned but it is still a confusing area of discussion. Its high molecular mass confines it to the intravascular space probably limiting its bioavailability and biological activity but intermittent dissociation of macroprolactin from IgG molecule has been suggested.²³ Although macroprolactinemic patients may have symptoms similar to those with true hyperprolactinemia, as symptoms are themselves the motive for serum PRL evaluation, they are sometimes nonspecific and are also seen in general population. Galactorrhea, irregular menses, headache or infertility have been identified in macroprolactinemic and true hyperprolactinemic subjects but seems significantly less common in the former group.^{5,12,24} Clinical features alone may not reliably distinguish macroprolactinemic patients from patients with true hyperprolactinemia.

Sellar imaging studies are frequently performed in patients with retrospectively identified macroprolactinemia. Pituitary microadenomas have been described in this population but its true clinical relevance is unclear, as pituitary incidentalomas are also found in about 10–20% of the general population at autopsy.^{2,5,12}

The beneficial effect of DA in macroprolactinemic patients has been described and seems more evident for patients with associated galactorrhea^{12,25}; although spontaneous improvement of symptoms may also occur in those patients.²⁴

In conclusion, macroprolactinemia is a misdiagnosed cause of hyperprolactinemia. Its identification may lead clinicians to reconsider the likelihood of requesting sophisticated and expensive imaging studies, even in apparently symptomatic patients.

Applying PEG precipitation to hyperprolactinemic sera is an easy and reliable method of screening for macroprolactin that we validated in our institution.

In the present study, we validated this technique and found two cases of macroprolactinemia predominance, with RR of 4.9% and 16.1% and two cases of indeterminate results, needing GFC confirmation.

We understand that screening for macroprolactinemia may be very important in daily clinical practice, especially in clarifying persistent hyperprolactinemia in apparently healthy individuals. Being so, in our hospital we are now able to measure macroprolactin by PEG precipitation whenever appropriate, preferentially before any investigation or pharmacologic therapy is initiated.

Ethical disclosures

Protection of human and animal subjects. The authors declare that no experiments were performed on humans or animals for this study.

Confidentiality of data. The authors declare that they have followed the protocols of their work centre on the publication of patient data and that all the patients included in the study received sufficient information and gave their written informed consent to participate in the study.

Right to privacy and informed consent. The authors declare that no patient data appear in this article.

Conflicts of interest

The authors have no conflicts of interest to declare.

References

- Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR. Anterior pituitary. In: Williams textbook of endocrinology. Canada: Saunders Elsevier; 2008. p. 155–261.
- Gibney J, Smith T, McKenna TJ. Clinical relevance of macroprolactin. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005;62:633–43.
- Amadori P, Dilberis C, Marcolla A. All the studies on hyperprolactinemia should not forget to consider the possible presence of macroprolactinemia. *Eur J Endocrinol*. 2004;150:93–4.
- Kavanagh L, McKenna TJ, Fahie-Wilson M, Gibney J, Smith TP. Specificity and clinical utility of methods for the detection of macroprolactinemia. *Clin Chem*. 2006;52:1366–72.
- Leslie H, Courtney CH, Bell PM, Hadden DR, McCance DR, Ellis PK, et al. Laboratory and clinical experience in 55 patients with macroprolactinemia identified by a simple polyethylene glycol precipitation method. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:2743–6.
- Hattori N. The frequency of macroprolactinemia in pregnant women and the heterogeneity of its aetiology. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:586–90.
- Freeman ME, Kanyicska B, Lerant A, Nagy G. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiol Rev*. 2000;80:1523–631.
- Fahie-Wilson MN, Soule SG. Macroprolactinaemia: contribution to hyperprolactinemia in a district general hospital and evaluation of a screening test based on precipitation with polyethylene glycol. *Ann Clin Biochem*. 1997;34:252–8.
- Wittaker PG, Wilcox T, Lind T. Maintained fertility in a patient with hyperprolactinemia due to big, big prolactin. *J Clin Endocrinol Metab*. 1981;53(4):863–6.
- Hattori N, Nakayama Y, Kitagawa K, et al. Anti-prolactin (PRL) autoantibody-binding sites (epitopes) on PRL molecule in macroprolactinemia. *J Endocrinol*. 2006;190(2):287–93.
- Smith TP, Suliman AM, Fahie-Wilson MN, McKenna TJ. Gross variability in the detection of prolactin in sera containing big-big prolactin (macroprolactin) by commercial immunoassays. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:5410–5.
- Suliman AM, Smith TP, Gibney J, McKenna TJ. Frequent misdiagnosis and mismanagement of hyperprolactinemic patients before the introduction of macroprolactin screening: application of a new strict laboratory definition of macroprolactinemia. *Clin Chem*. 2003;49(9):1504–9.
- Li W, Sustarsic D, Fahie-Wilson M, Vankrieken L, Walker K, Del Rosario I, et al. Matrix effect of PEG precipitation in detection of Macroprolactin in Immulite® and Immulite® 2000 Prolactin assays, Scientific Poster No. B-75. In: AACC Annual Meeting. 2002.
- Veloza A, Prazeres S. Prolactina e o laboratório. *Acta Med Port*. 2011;24(S4):1029–34.
- Vieira JGH, Tachibana TT, Obara LH, Maciel RMB. Extensive experience and validation of polyethylene glycol precipitation as a screening method for macroprolactinemia. *Clin Chem*. 1998;44(8):1758–9.
- Fahie-Wilson MN. Polyethylene glycol precipitation as a screening method for macroprolactinemia. *Clin Chem* 1999;45:436–7.
- Beltran L, Fahie-Wilson M, McKenna TJ, Kavanagh L, Smith TP. Serum total prolactin and monomeric prolactin reference intervals determined by precipitation with polyethylene glycol: evaluation and validation on common immunoassays platforms. *Clin Chem*. 2008;54:1673–81.
- Olukoga AO, Kane JW. Macroprolactinemia validation and application of the polyethylene glycol precipitation test and clinical characterization of the condition. *Clin Endocrinol*. 1999;51:119–26.
- Glezer A, D'Alva CB, Bronstein MD, Vieira JGH. Macroprolactina e incidentaloma hipofisário. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2002;46:45–50.
- Valette-Kasic S, Morange-Ramos I, Selim A, Gunz G, Morange S, Enjalbert A, et al. Macroprolactinemia revisited: a study on 106 patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:581–8.
- Sanchez-Eixeres MR, Mauri M, Alfayate R, Graells ML, Miralles C, Lopez A, et al. Prevalence of macroprolactin detected by Elecsys 2010. *Horm Res*. 2001;56:87–92.
- Vieira JGH, Tachibana TT, Ferrer CM, Sá J, Biscolla RP, Hoff AO, et al. Hyperprolactinemia: new assay more specific for the monomeric form does not eliminate screening for macroprolactin with polyethylene glycol precipitation. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2010;54/9:856–7.
- Hattori N, Inagaki C. Anti-prolactin (PRL) autoantibodies cause asymptomatic hyperprolactinemia: bioassay and clearance studies of PRL-immunoglobulin G complex. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:3107–10.
- Lu C-C, Hsieh C-J. The importance of measuring macroprolactin in the differential diagnosis of hyperprolactinemic patients. *Kaohsiung J Med Sci*. 2012;28:94–9.
- Padilla SL, Person GK, McDonough PG, Reindollar RH. The efficacy of bromocriptine in patients with ovulatory dysfunction and normoprolactinemic galactorrhea. *Fertil Steril*. 1986;46:1026–31.



Revisão

A genética dos feocromocitomas e paragangliomas



Marta Almeida Ferreira* e Joana Vilaverde

Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Hospital de Santo António, Centro Hospitalar do Porto, Porto, Portugal

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Historial do artigo:

Recebido a 26 de agosto de 2013

Aceite a 24 de março de 2014

On-line a 18 de junho de 2014

Palavras-chave:

Feocromocitoma

Paraganglioma

Estudo genético

Keywords:

Pheochromocytoma

Paraganglioma

Genetic testing

R E S U M O

Os feocromocitomas e paragangliomas são tumores raros com origem nas células derivadas da crista neural. Os primeiros têm localização na medula da suprarrenal e os últimos no sistema nervoso simpático e parassimpático. As suas manifestações clínicas dependem da localização, do perfil secretor e do potencial maligno do tumor. Alguns surgem no contexto de síndromes familiares, outros esporadicamente. Os recentes avanços da genética têm demonstrado que cerca de 1/3 desses tumores tem origem familiar. Isso significa que pelo menos alguns doentes com tumores aparentemente esporádicos (e respetivos familiares) beneficiam da identificação da mutação responsável pela doença, nomeadamente quando se trata de doentes jovens, com feocromocitoma maligno, multifocal ou bilateral ou com paragangliomas. Assim, poder-se-á fazer uma vigilância mais adequada, diagnósticos mais precoces e terapêuticas atempadas.

Este artigo pretende focar as características dos tumores provocados pelas mutações até agora identificadas, bem como considerar aspetos a ter em conta perante a possibilidade de pedir estudo genético em doentes com feocromocitoma ou paraganglioma aparentemente esporádico.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

Genetics of pheochromocytomas and paragangliomas

A B S T R A C T

Pheochromocytoma and paraganglioma are rare tumors with origin in the cells derived from the neural crest. The former are adrenal medulla tumors and the later are tumors of sympathetic and parasympathetic nervous system. Their clinical presentation depends on its location, secretory profile and malignant potential. Some of them belong to familiar syndromes others arise sporadically. Recent advances in genetics have shown that about one third of these tumors are familiar. This means that some patients with apparently sporadic tumors and their families will benefit with the identification of the mutated gene, particularly those who are young, those who have malignant, bilateral or multifocal pheochromocytoma or paragangliomas. This could help us to do a better surveillance, an earlier diagnosis and timely treatment of the affected patients.

This article aims to address the characteristics of tumors due to the mutations identified so far, focusing on the information that can help us in the decision of performing a genetic test in patients with apparently sporadic pheochromocytoma or paraganglioma.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introdução

Os feocromocitomas (FEO) e paragangliomas (PGL) são tumores com origem em células derivadas da crista neural. São muitas

as classificações existentes, mas segundo a da Organização Mundial de Saúde (OMS) FEO é um tumor situado na medula da glândula suprarrenal, enquanto PGL é um tumor com localização extra-adrenal: no sistema nervoso parassimpático (em células não cromafins, ao longo dos nervos cranianos), habitualmente na cabeça e pescoço, sendo que apenas 5% são funcionantes, ou no sistema nervoso simpático (em células cromafins do tórax, abdómen ou pélvis), secretando em regra catecolaminas^{1,2}. É a classificação da OMS que vai ser utilizada ao longo do texto.

* Autor para correspondência.

Correios eletrónicos: martaffagferreira@hotmail.com, martafagferreira@gmail.com (M. Almeida Ferreira).

Tabela 1
Características clínicas da neurofibromatose tipo 1

Critérios de diagnóstico (≥ 2)	Outros tumores associados
Manchas café com leite ≥ 6	Carcinoma medular da tiroide
Neurofibromas cutâneos ≥ 2 ou neurofibroma plexiforme, inguinal ou axilar	Tumores carcinoides do duodeno
Hamartomas da íris (nódulos de Lish) ≥ 2	Tumores das paratiroides
Glioma do nervo ótico ≥ 1	Tumores das bainhas dos nervos periféricos
Displasia do esfenóide ou pseudoartrose	Leucemias (leucemia mieloide crónica)
Familiar de 1.º grau afetado ≥ 1	

Estes tumores são raros, com uma incidência entre 2-8 casos por milhão por ano³, sendo maior entre os 50-60 anos¹, não existindo diferenças entre os sexos⁴. Até 1999 acreditava-se que apenas cerca de 10% destes tumores eram familiares⁵. Desde então, muitos estudos têm vindo a ser feitos, com o objetivo de compreender melhor a genética dos mesmos e, graças aos resultados obtidos, acredita-se que cerca de 1/3 tenham uma origem familiar³. Perante este facto, é necessário repensar as estratégias de estudo dos FEO e PGL, tendo em conta que isso pode ter implicações no tratamento, prognóstico e vigilância dos doentes e dos seus familiares³.

Síndromes familiares de feocromocitomas e paragangliomas

Cerca de 10% dos doentes com FEO ou PGL têm história familiar da doença, ou seja, têm formas sindrómicas com história familiar positiva³. Até cerca de 30% dos doentes com formas aparentemente esporádicas da doença apresentam mutações herdadas dos seus progenitores³. Isto significa que existem formas genéticas que podem passar despercebidas, devendo-se isso a vários fatores: algumas mutações identificadas têm *imprinting* materno (o gene fica inativo ao passar pelo progenitor feminino), outras têm penetrância incompleta ou expressão variável e ainda podem surgir mutações *de novo*⁶.

Neurofibromatose tipo 1

A neurofibromatose tipo 1 (NF1) ou doença de Von Recklinghausen é uma doença autossómica dominante que ocorre em 1:3.000 indivíduos^{4,7}. Deve-se a mutações inativadoras no gene da neurofibromina, um supressor tumoral, localizado no cromossoma 17q11.2^{6,7}. Caracteriza-se pela presença de múltiplos tumores (critérios de diagnóstico na tabela 1), entre os quais FEO/PGL, que podem surgir em 0,1-5,7% dos casos⁶⁻⁸. Se considerarmos os doentes com NF1 hipertensos, essa percentagem ascende aos 50%⁶⁻⁸.

Nesta síndrome, o diagnóstico de FEO/PGL é feito na quinta década de vida (idade média: 42 anos), a mesma que na população em geral^{6,7}, assemelhando-se assim aos casos esporádicos na forma de apresentação⁷. Na maioria dos casos os tumores são FEO benignos e unilaterais (84%), seguidos de FEO bilaterais (10%), sendo os PGL do sistema nervoso simpático os mais raros (6%)⁶⁻⁸. Os casos de malignidade surgem em cerca de 12%, coincidindo também com a população em geral⁶. Os FEO/PGL funcionantes da NF1 produzem sobretudo noradrenalina, pelo que a hipertensão e os sintomas adrenérgicos dominam o quadro clínico⁶⁻⁸. Apesar disso, 22% dos casos surgem sem esses sintomas⁷. Uma vez que os doentes apresentam desde cedo as típicas manchas café com leite na pele, o diagnóstico é pouco provável em casos de FEO/PGL esporádicos^{6,7}.

As mutações que originam esta doença são habitualmente *de novo*, o que dificulta o estudo genético. No entanto, as suas características fenotípicas (tabela 1) tornam-no dispensável³.

Doença de Von Hippel-Lindau

A doença de Von Hippel-Lindau (VHL) é uma doença autossómica dominante, com expressão variável e penetrância relacionada com a idade (>90% aos 60 anos)³. Tem uma incidência de 1:36.000 nascimentos⁷. É causada por mutações no gene supressor tumoral VHL, localizado no cromossoma 3p25.5⁶, que codifica a proteína pVHL envolvida na angiogénese, através da regulação da atividade do fator 1 alfa induzido pela hipoxia (HIF-1 α)^{6,7}. A perda de função desta proteína leva à manifestação clínica da doença, caracterizada pela presença de tumores benignos e malignos (tabela 2)⁶. Já foram identificadas mais de 300 mutações neste gene e 20% das famílias apresentam mutações *de novo*⁶. Assim, é uma das mutações prováveis nos casos de FEO/PGL aparentemente esporádicos⁶.

Os FEO da doença de VHL surgem em cerca de 10-20% dos doentes, com idade média de 30 anos⁶. Os doentes com VHL tipo 1 apresentam perda de função da pVHL devido a deleções do seu gene, desenvolvendo hemangioblastomas do sistema nervoso central ou da retina, bem como carcinoma de células renais, mas não apresentam risco de FEO (tabela 2)⁸. Os doentes com VHL tipo 2 têm mutações específicas *missense* do gene VHL, podendo desenvolver hemangioblastomas e FEO, com elevado (tipo 2 A) ou baixo (tipo 2B) risco de carcinoma de células renais⁸. Uma pequena percentagem de doentes (tipo 2C) desenvolvem apenas FEO⁸. Neste tipo de doença as mutações *missense* que ocorrem não acarretam perda de função da pVHL de forma significativa, pelo que os outros tumores típicos da doença não se manifestam, mesmo em casos de homozigotia⁸. Assim, a identificação da mutação em causa tem vantagens em termos de prognóstico e seguimento dos doentes e da sua família^{3,8}.

Nesta síndrome, os tumores mais frequentes são os FEO, habitualmente bilaterais e múltiplos (mais de 50%), no entanto, PGL funcionantes e não funcionantes também podem surgir (menos de 10%)⁶. Menos de 5% dos doentes têm formas malignas⁶ e habitualmente são PGL do sistema nervoso simpático⁸. Produzem apenas noradrenalina devido à baixa expressão da feniletanolamina-N-metiltransferase (PNMT), pelo que o seu diagnóstico bioquímico se baseia na deteção de elevados níveis de normetanefrina no plasma ou na urina⁶.

Neoplasias endócrinas múltiplas tipo 1 e tipo 2

Neoplasia endócrina múltipla tipo 1 (MEN 1) é uma síndrome autossómica dominante, com uma incidência de 1:30.000 nascimentos⁷. É causada por mutações que envolvem o gene supressor tumoral, codificador da proteína *menin*, localizado no cromossoma 11q13. É caracterizada por hiperparatiroidismo primário, que surge em 95% dos doentes afetados, associado a tumores da hipófise (em 30-40% dos doentes, sendo o prolactinoma o mais frequente) e do pâncreas (em 30-70% dos doentes, sendo o gastrinoma o mais habitual)⁹.

Nesta síndrome, a suprarrenal também pode apresentar patologia, frequentemente através da presença de adenomas não funcionantes do córtex (em 40% dos doentes), surgindo FEO em menos de 1% dos casos⁹. De facto, apenas foram identificados 10 casos de FEO nesta síndrome, todos unilaterais, raramente malignos, produtores de noradrenalina, manifestando-se assim com hipertensão⁷. Em nenhum deles o FEO/PGL foi a primeira manifestação de doença⁷. Esta não é por isso uma síndrome a considerar nos casos esporádicos⁷.

Neoplasia endócrina múltipla tipo 2 (MEN 2) é uma doença autossómica dominante causada por mutações no proto-oncogene RET, localizado no cromossoma 10q11.2, que codifica um receptor transmembranar tirosina cinase envolvido na regulação da proliferação celular e apoptose. Existem 3 subtipos de doença:

Tabela 2

Características clínicas da doença de Von Hippel-Lindau

VHL tipo 1 Sem FEO	VHL tipo 2		
	Com FEO		
	VHL 2A	VHL 2B	VHL 2C
Angiomas da retina Hemangioblastoma do SNC Carcinoma de células renais Tumores dos ilhéus pancreáticos Tumores do saco endolinfático Quistos e cistadenomas do rim, pâncreas, epidídimo	Sem carcinoma de células renais Com outros tumores do VHL 1 (raros)	Carcinoma de células renais e restantes tumores do VHL 1	Apenas FEO (8% dos doentes com FEO aparentemente esporádico, apresentam a mutação VHL)

MEN 2A, em que 95% dos doentes apresenta carcinoma medular da tireoide, 50% apresentam FEO e 15-30% desenvolvem hiperparatiroidismo primário devido a adenoma ou carcinoma das paratiroides; MEN 2B, em que todos os doentes desenvolvem carcinoma medular da tireoide, 50% apresentam FEO, surgindo estes tumores associados a ganglioneuromas múltiplos das mucosas e a um fenótipo marfanóide; um terceiro subtipo caracterizado por carcinoma medular da tireoide isoladamente^{6,10}. Aproximadamente 90% dos doentes com MEN têm o subtipo 2A e cerca de 85% desses apresenta mutação do codão 634, exão 11⁶. Noventa e cinco por cento dos casos de MEN 2B são devidos a mutação do codão 918, exão 16 do gene RET⁶. Raros tumores apresentam mutações noutros codões⁷. Mutações *missense* no domínio intracelular da tirosina cinase (Met918Thr) estão associadas ao subtipo MEN 2B (a doença manifesta-se em idade mais precoce que no subtipo MEN 2A)³. Mutações *missense* no domínio extracelular que causa dimerização anormal e auto-ativação das proteínas mutantes estão associadas ao subtipo MEN 2A³.

Os tumores produtores de catecolaminas que surgem no MEN 2 são sobretudo FEO, benignos e bilaterais em mais de 50% dos doentes⁶. Menos de 5% são malignos, sendo o risco maior em crianças com MEN 2B⁶, e se os tumores tiverem grandes dimensões⁷. O diagnóstico é feito habitualmente entre os 30-40 anos⁶, após o de carcinoma medular da tireoide, pelo que não é de esperar encontrar esta síndrome em casos de FEO/PGL aparentemente esporádicos³. No entanto, detetou-se mutação no gene RET em cerca de 5% desses tumores³. Apresentam sobre-expressão da enzima PNMT, que converte a noradrenalina em adrenalina, pelo que o seu diagnóstico bioquímico se baseia na identificação de níveis elevados de adrenalina ou metanefrina no plasma ou urina^{6,7}. Clinicamente, caracterizam-se por paroxismos de palpitações, ansiedade e cefaleias, mais do que hipertensão^{6,7}.

O complexo succinato desidrogenase

A succinato desidrogenase (SDH) é uma enzima mitocondrial (complexo mitocondrial II), que intervém nos processos de geração de energia (fig. 1). Está ancorada à membrana mitocondrial interna e é constituída por 4 subunidades: A, B, C e D. A SDHA é uma flavoproteína hidrofílica que serve de local de ligação ao substrato e, juntamente com a proteína também hidrofílica SDHB, forma o local catalítico da enzima. As subunidades SDHC e SDHD são hidrofóbicas e constituem a zona de ancoragem à membrana mitocondrial interna, bem como o local de ligação à ubiquinona. Este complexo enzimático é diferente de todos os outros da cadeia respiratória: não é transmembranar, não transfere hidrogeniões para o espaço transmembranar através da membrana mitocondrial interna e intervém no ciclo de Krebs (catalisa a conversão de succinato em fumarato)^{2,3}.

Múltiplas mutações que envolvem várias proteínas que constituem o complexo SHD têm vindo a ser associadas a formas familiares de FEO/PGL^{2-4,11-14}. Muito se tem especulado acerca da razão pela qual as referidas mutações causam este tipo de tumores².

Acredita-se que a via da tumorigénese destas mutações esteja relacionada com a angiogénese². As diferenças de fenótipo entre as síndromes derivadas das várias mutações também não estão bem esclarecidas – é provável que as mutações que envolvem as subunidades catalíticas acarretem perda total de função, originando assim formas mais agressivas da doença, ao contrário das mutações nas subunidades de ancoragem².

Síndrome de paragangliomas familiares tipo 1

As mutações do gene codificador da subunidade SDHD, localizado no cromossoma 11q23, foram as primeiras a ser identificadas^{2,7}. Têm *imprinting* materno e penetrância relacionada com a idade (50% aos 31 anos e 80% aos 50)^{3,4,7}. Dão origem a PGL benignos e multifocais da cabeça e do pescoço (cadeias nervosas parassimpáticas), mais frequentemente a nível da bifurcação da carótida e raramente no glomo timpânico^{2,11,12}. Apesar de raros, podem surgir PGL das cadeias simpáticas e FEO^{2,7}, habitualmente bilaterais e multifocais^{4,11}, bem como doença metastática (menos de 5% dos casos)^{2,4}. Por vezes são recorrentes⁶. O diagnóstico é feito habitualmente na terceira e quarta década de vida (idade média de diagnóstico: 35 anos)^{3,6,12}. Produzem habitualmente noradrenalina⁴.

Existe uma correlação entre o genótipo e o fenótipo: mutações *nonsense* e *splicing* estão associadas a diagnóstico em idades mais precoces e à presença de FEO e PGL da cabeça e pescoço, provavelmente por originarem proteínas truncadas ou ausência da proteína codificada, enquanto que mutações *missense* dão origem a proteínas ainda com alguma função².

Síndrome de paragangliomas familiares tipo 2

Esta síndrome é muito rara e autossómica dominante^{6,7}. Resulta da mutação do gene localizado no cromossoma 11q13.1⁷, que codifica a proteína SDHAF2, enzima envolvida na flavinação da subunidade SDHA (adição do dinucleótido flavina-adenina, grupo prostético da subunidade), tornando-a ativa e permitindo a funcionalidade de todo o complexo SDH^{2,11}. Até à atualidade foram identificadas 2 famílias com esta síndrome, apresentando uma mutação *missense*, p.Gly78Arg, com *imprinting* materno e elevada penetrância: dos 42 portadores, 37 já manifestaram a doença^{2,6,7,11}. Todos os doentes, com idades inferiores a 45 anos, têm apenas PGL da cabeça e do pescoço¹¹.

Síndrome de paragangliomas familiares tipo 3

Esta síndrome rara é autossómica dominante e deve-se a mutações no gene que codifica a SDHC, localizada no cromossoma 1.q21^{4,6,7}. Não tem *imprinting* materno^{6,7}. É caracterizado por PGL parassimpáticos da cabeça e pescoço, não funcionantes, benignos (menos de 5% são malignos) e raramente multifocais^{4,7}. PGL funcionantes e FEO são extremamente raros, mas já foram descritos^{2,3}. A idade média de diagnóstico é 38 anos¹².

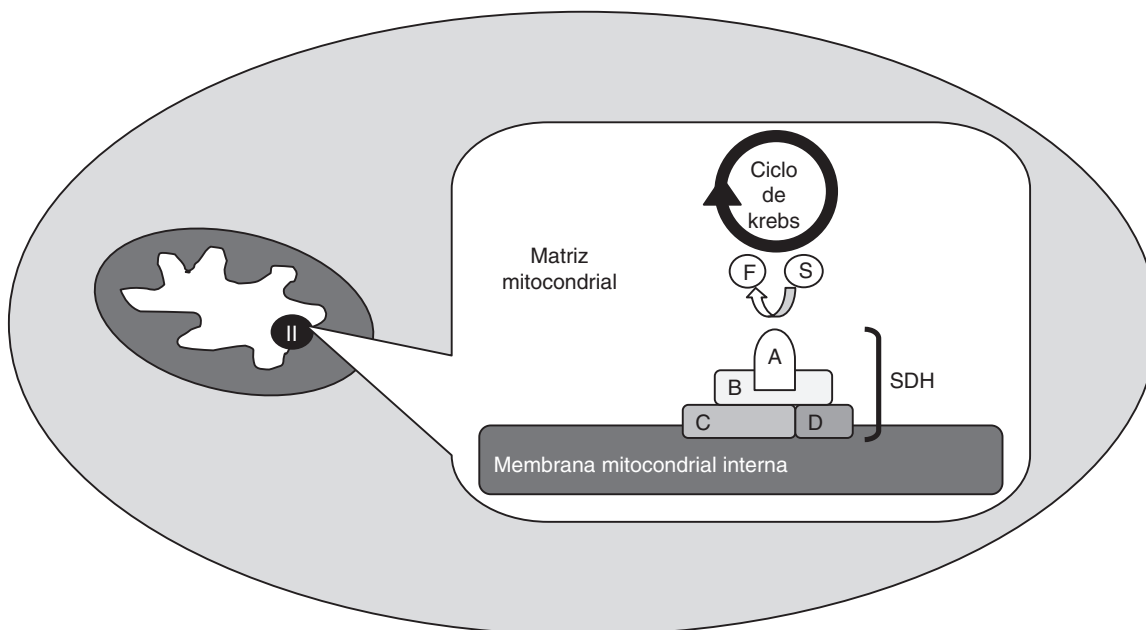


Figura 1. Esquema do complexo succinato desidrogenase (SDH), enzima mitocondrial (complexo mitocondrial II), que está ancorada à membrana mitocondrial interna e é constituída por 4 subunidades: A, B, C e D. Intervém nos processos de geração de energia e é uma das enzimas que intervém nas reações do ciclo de Krebs, catalisando a transformação de succinato (S) em fumarato (F).

Síndrome de paragangliomas familiares tipo 4

A síndrome de PGL familiares tipo 4 deve-se a mutações inativadoras do gene localizado no cromossoma 1p36.1-35, que codifica a subunidade SDHB, causando destabilização do complexo SDH e ativando vias que culminam na angiogénese, desencadeadas pela hipoxia⁷.

Nesta síndrome os tumores são sobretudo malignos: as taxas de malignidade variam entre 34-70%^{2,6,8}. Um FEO maligno tem uma probabilidade de 50% de ter mutação do gene SDHB². A maioria dos tumores produz catecolaminas, especialmente noradrenalina⁴, embora cerca de 10% sejam bioquimicamente silenciosos ou produzem apenas dopamina². Apesar disso, os sintomas de apresentação não são típicos, o que atrasa o diagnóstico – muitos deles surgem apenas com a metastização ou efeito de massa^{2,6,14}. Em termos globais, os PGL simpáticos secretores malignos são os mais frequentes, seguidos dos FEO e dos PGL benignos da cabeça e pescoço^{2,4,6,14}. Cerca de 2/3 dos doentes apresentam-se com PGL toracoabdominais e 1/3 tem doença multifocal². Não há uma relação clara entre o genótipo e o fenótipo, no entanto, há vários fatores que parecem relacionar-se com pior prognóstico: idade jovem à data do diagnóstico, tumores de grandes dimensões, secretores de dopamina e com mutações *missense*². A própria mutação tem valor prognóstico, já que se relaciona com maior mortalidade¹³.

A idade média de diagnóstico é 30 anos^{2,6}. A penetrância é elevada e relaciona-se com a idade: 45% aos 40 anos, 77% aos 50 anos^{2,7,13,14}. Assim, perante doença metastática, mesmo com história familiar negativa, a pesquisa da mutação do gene SDHB deve ser uma preocupação^{6,8}.

Esta síndrome parece relacionar-se com um risco aumentado de carcinoma de células renais, tumores do estroma gastrointestinal (GIST), carcinoma papilar da tiroide e da mama^{3,6-8}.

Mutações raras

Apesar de codificar a maior subunidade do complexo SDH, as mutações no gene da SDHA não se têm associado com frequência a síndromes de PGL¹¹. Inicialmente apenas surgia como a mutação subjacente a uma doença neurodegenerativa conhecida

como síndrome de Leigh⁶. No entanto, recentemente foi identificada a primeira mutação (c.1765C>T, p.Arg589Trp – exão 13) num doente com um PGL abdominal secretor de catecolaminas, sem história familiar, estando também presente em 4,5% de um grupo de 202 doentes com FEO e PGL¹⁵. A razão para o facto de ser a única subunidade que menos tem estado ligada a síndromes de PGL não é conhecida. Especula-se que possa estar relacionada com reduzida penetrância ou ao facto dessas mutações induzirem alterações tão graves que sejam incompatíveis com a vida¹¹.

O gene TMEM127 codifica uma proteína transmembranar com 3 domínios que atua como supressor tumoral e localiza-se no gene 2q11.2¹¹. Ainda não é clara a sua função, mas pode relacionar-se com o transporte de proteínas entre a membrana citoplasmática e alguns organelos, como o complexo de Golgi e os lisossomas, bem como nas vias de sinalização da mTOR¹¹. Mutações neste gene têm estado envolvidos no desenvolvimento de FEO habitualmente bilaterais e benignos, com uma transmissão autossómica dominante³. A idade média de diagnóstico é 41,5 anos, portanto mais tardiamente que nos doentes com mutações dos genes VHL e SDHB³. Nos estudos efetuados, apenas foi identificado em cerca de 2% dos doentes com FEO ou PGL³.

Mutações do gene MAX, supressor tumoral localizado no cromossoma 14q23, também têm vindo a ser identificadas em doentes com FEO e PGL¹⁶. Parecem ser responsáveis por 1,12% dos doentes com esta patologia¹⁶. Este gene codifica a proteína max, envolvida na proliferação e diferenciação celular^{3,16}. A doença só é manifesta se a mutação tiver transmissão paterna (tem *imprinting* materno)^{3,16}. Pelos estudos existentes, que ainda são escassos, os casos devidos a esta mutação parecem não ter grande potencial de malignidade e produzem sobretudo noradrenalina, apesar de terem alguma capacidade de produção de adrenalina¹⁶. Existem tumores bilaterais ou múltiplos em cerca de 30% dos casos e a idade de diagnóstico é menor que os casos esporádicos sem esta mutação (idade média de 34 anos)¹⁶. PGL toracoabdominais são tão comuns como nos casos causados por mutações nos genes SDHB e SDHD, mas grande parte dos doentes portadores destes tumores têm também FEO que habitualmente é diagnosticado antes e pode ser multifocal ou bilateral¹⁶.

Existem ainda outras mutações muito raras. Uma diz respeito ao gene KIF1B, que foi identificada em poucas famílias³. Outra refere-se à mutação no gene PHD2, identificada apenas numa família³. Existe ainda uma outra, mais recentemente documentada em doentes com policitemia congénita, que depois vieram a desenvolver FEO ou PGL: mutação no gene HIF2A¹⁷. Estes genes não são por isso pesquisados na prática clínica³.

Vias da tumorigénese

Os estudos de expressão genética dos genes envolvidos nas síndromes associadas a FEO/PGL permitem a sua divisão em 2 categorias, tendo em conta os mecanismos que levam ao desenvolvimento tumoral¹¹. As síndromes devidas a mutações de SDH e VHL estão associadas a angiogénese, hipoxia, reforço da matriz extracelular e redução da expressão de componentes da resposta oxidativa e do ciclo de Krebs¹¹. Os tumores ligados à NF1 ou a mutações no gene RET mostram uma desregulação do metabolismo adrenérgico, síntese proteica e via de sinalização da cinase^{3,11}. Tendencialmente, os FEO e PGL com mutações nos genes VHL e SDH produzem sobretudo noradrenalina, enquanto os que apresentam os genes da NF 1 e RET mutados são sobretudo adrenérgicos³.

Indicações para testes genéticos

Síndrome familiar suspeita ou confirmada

Há pelo menos 2 razões para se realizar estudo genético em doentes com síndrome familiar suspeita ou confirmada. Primeiro porque as síndromes associadas a FEO/PGL acarretam risco de surgirem outros tumores e, identificando-se os doentes portadores das mutações, pode realizar-se uma vigilância clínica mais adequada, obtendo-se diagnósticos mais precoces, de forma a instituir tratamento mais cedo^{3,5,6}. Depois, porque estas síndromes genéticas se associam a formas múltiplas, recorrentes e por vezes malignas de FEO e PGL, pelo que uma vigilância apertada destes doentes permite melhorar-lhes o prognóstico, acontecendo o mesmo com os seus familiares⁶.

O primeiro passo para identificar estes doentes é a realização de uma história clínica e exame físico adequados⁶. Deste modo, se forem identificados dados que façam suspeitar de síndromes familiares o teste genético deve ser efetuado⁶. Esses dados dizem respeito a história familiar positiva, a história pessoal de características relativas às várias síndromes anteriormente descritas, bem como alterações ao exame objetivo (tabela 3)^{6,7}. As mutações são encontradas em 100% dos doentes síndrómicos e em 41-64% dos doentes não síndrómicos, mas com história familiar positiva⁶. Uma vez detetada a mutação, outras neoplasias habitualmente associadas à respetiva síndrome devem ser investigadas no doente⁶. Deve pesquisar-se a mutação nos familiares de primeiro grau, pois isso permite identificar indivíduos assintomáticos em risco de desenvolver a doença, para que se possa iniciar uma vigilância bioquímica e radiológica adequada, de forma a diminuir a sua mortalidade e morbilidade⁶.

Feocromocitomas e paragangliomas aparentemente esporádicos

A maioria dos FEO/PGL surgem em doentes sem história familiar nem com outras características que façam pensar, desde início, numa das síndromes até agora descritas. No entanto, como já foi referido, muitas mutações surgem *de novo*, têm penetrância incompleta e *imprinting* materno, o que pode levar a uma expressão variável da doença em cada família⁶. Os estudos apresentam percentagens cada vez mais elevadas de doentes com mutações^{3,18,19}, podendo mesmo ascender aos 39%²⁰. A frequência de cada mutação

Tabela 3

Características clínicas suspeitas de FEO/PGL hereditário

Características Clínicas
Feocromocitoma
Morte súbita (especialmente em idade jovem)
Hipertensão arterial, enfarte agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca, acidente vascular cerebral, especialmente se em idade jovem ou durante a gravidez
Crise hipertensiva durante procedimentos ou anestesia
VHL
Quistos ou carcinomas renais ou pancreáticos
Massas testiculares em crianças
Surdez ou cegueira instalada em idade jovem
Tumores do sistema nervoso central
MEN 2
Carcinoma da tiroide ou bócio
Hipercalcemia e outras características associadas a hiperparatiroidismo primário (como litíase renal)
Ganglioneuromas da mucosa ou hábito marfanoide
PGL 1 e PGL 4
Tumores da cabeça e pescoço ou abdominais (extra-adrenais), torácicos e pélvicos, com sinais e sintomas sobretudo relacionados com efeito de massa (e não com excesso de catecolaminas)

é variável (VHL 3,5-27%; RET 0,4-5%; SDHD 0,8-10%; SDHB 1,5-10%⁶) e existem diferenças entre as várias áreas geográficas^{7,21}. Assim, a questão do estudo genético nos doentes com FEO/PGL aparentemente esporádicos coloca-se, de forma pertinente, havendo mesmo autores que defendam que todos os doentes o devem fazer²². No entanto, a pesquisa de mutações em todos os doentes e de todos os genes envolvidos é dispendiosa, pelo que é necessário encontrar uma forma racional de o fazer e analisar caso a caso, pesquisando os genes por ordem decrescente de prioridade^{3,4,23}. Há situações em que o estudo genético é indiscutível: doentes com diagnóstico em idade jovem (menos de 45 anos), já que nos casos familiares a doença tende a manifestar-se mais cedo; doença bilateral, multifocal, recorrente ou maligna; todos os PGL, especialmente os da cabeça e pescoço^{3,5,6,21}.

A NF 1 tem alterações muito típicas, pelo que, se forem reunidos os critérios de diagnóstico (tabela 1), o teste genético não é necessário⁶. A pesquisa dos restantes genes tem de ser baseada nas características de cada doente, no perfil bioquímico da doença (tabela 2) e nas características histológicas do tumor⁶.

Doentes com FEO e PGL malignos apresentam principalmente mutações no gene SDHB, ao contrário dos doentes com mutações nos genes SDHD e SDHC, em que menos de 5% apresentam características de malignidade^{13,14,18}. Na NF 1 identificou-se uma percentagem de FEO maligno semelhante à da população com doença esporádica⁶. Os doentes com FEO ligados às síndromes VHL e MEN 2 apresentam menos risco de doença maligna que a população com doença esporádica. Deve ressaltar-se, no entanto, que as crianças com MEN 2B tem maior risco de doença maligna em relação aos que têm MEN 2A^{6,24,25}.

Assim, à luz de tudo o que foi descrito, parece vantajoso pesquisar as mutações nos genes SDHB, VHL e SDHD em doentes com FEO maligno ou com PGL³. Nos doentes com FEO, a realização do teste genético deve ser ditada pela idade do doente à data de diagnóstico³. Se o doente tiver menos de 45 anos devem pesquisar-se mutações nos genes VHL, RET, SDHB e depois SDHD³. Na figura 2 está exposta uma forma de hierarquização do teste genético mais adequado em cada caso (tabela 4).

Muitos estudos estão em curso com o objetivo de encontrar formas de encontrar mais mutações e métodos mais baratos de realizar os estudos genéticos mais adequados³. Por imuno-histoquímica já é possível distinguir os FEO/PGL com mutações ligadas aos genes do complexo SDH e outras síndromes familiares (MEN 2,

Tabela 4

Características dos vários FEO/PGL, de acordo com a sua localização e perfil bioquímico, referindo-se as mutações mais vezes envolvidas em cada um dos casos, de forma decrescente de probabilidade (entre parêntesis então as menos frequentes)

Mutações mais frequentes, aliando a localização do tumor ao seu perfil de secreção hormonal		
Localização	Perfil de produção hormonal	Genes mais frequentemente envolvidos
FEO	Produção de adrenalina Produção de noradrenalina Produção de dopamina	RET (NF1) VHL (SDHB) SDHB, SDHD (SDHC)
PGL do tórax, abdómen e pélvis	Produção de adrenalina Produção de noradrenalina Produção de dopamina	RET (NF1) VHL (SDHB) SDHB, SDHD (SDHC, SDHA)
PGL da cabeça e pescoço	Produção de noradrenalina Produção de dopamina	VHL (SDHB) SDHD, SDHB, SDHC (SDHAF2)

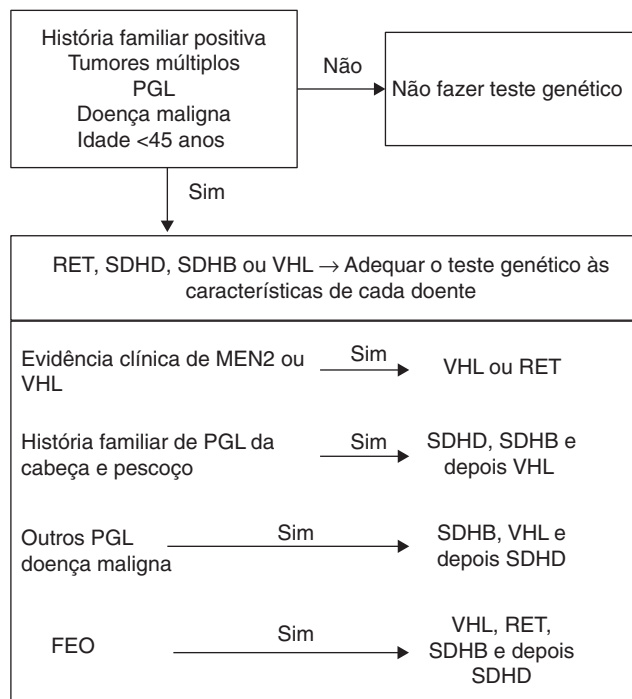


Figura 2. Hierarquização das mutações a pesquisar de acordo com as características do doente.

VHL, NF 1) dos tumores esporádicos com elevada sensibilidade e especificidade^{6,26}. Assim, devido aos constantes avanços da ciência, pode ser vantajoso o armazenamento do DNA do doente para futuros estudos³.

Conclusão

Os avanços recentes na genética revelaram uma nova problemática no que diz respeito aos FEO e aos PGL. Muitas mutações têm vindo a ser identificadas, fazendo aumentar a percentagem de casos familiares, sendo que grande parte deles existe nos doentes com tumores aparentemente esporádicos. Isto traz vantagens pois ao identificar a mutação pode-se adequar a vigilância e o tratamento dos doentes, bem como a vigilância, diagnóstico precoce e tratamento atempado dos seus familiares. No entanto, fica ainda por encontrar a forma mais adequada de vigiar os indivíduos portadores da mutação, já que o facto de a terem não significa a certeza de que doença se vai manifestar.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

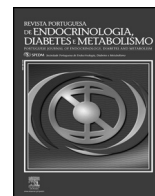
Agradecimentos

Os autores agradecem a Ana Saraiva, António Esteves e Luísa Marques pela colaboração na elaboração dos desenhos presentes neste artigo.

Referências

- Eric Z, Neumann HP. Familial pheochromocytoma. *Hormones*. 2009;8:29–38.
- Kantorovich V, King KS, Pacak K. SDH-related pheochromocytoma and paraganglioma. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2010;24:415–24.
- Jafri M, Maher ER. The genetics of pheochromocytoma: Using clinical features to guide genetic testing. *Eur J Endocrinol*. 2012;166:151–8.
- Adler JT, Meyer-Rochow GY, Chen H, Benn DE, Robinson BG, Sippel RS, et al. Pheochromocytoma: Current approaches and future directions. *Oncologist*. 2008;13:779–93.
- Pigny P, Cardot-Bauters C, do Cao C, Vantyghem MC, Carnaille B, Pattou F, et al. Should genetic testing be performed in each patient with sporadic pheochromocytoma at presentation? *Eur J Endocrinol*. 2009;160:227–31.
- Karasek D, Fryszak Z, Pacak K. Genetic testing for pheochromocytoma. *Curr Hypertens Rep*. 2010;12:456–64.
- Jimenez C, Cote G, Arnold A, Gagel RF. Review: Should patients with apparently sporadic pheochromocytomas or paragangliomas be screened for hereditary syndromes? *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:2851–8.
- Karagiannis A, Mikhailidis DP, Athyros VG, Harsoulis F. Pheochromocytoma: An update on genetics and management. *Endocr Relat Cancer*. 2007;14:935–56.
- Thakker RV, Newey PJ, Walls GV, Bilezikian J, Dralle H, Ebeling PR, et al. Clinical practice guidelines for multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97:2990–3011.
- Fernandez-Cruz L, Puig-Domingo M, Halperin I, Sesmil G. Pheochromocytoma. *Scand J Surg*. 2004;93:302–9.
- Hensen EF, Bayley JP. Recent advances in the genetics of SDH-related paraganglioma and pheochromocytoma. *Fam Cancer*. 2011;10:355–63.
- Pasini B, Stratakis CA. SDH mutations in tumorigenesis and inherited endocrine tumours: Lesson from the pheochromocytoma-paraganglioma syndromes. *J Intern Med*. 2009;266:19–42.
- Timmers HJ, Gimenez-Roqueplo AP, Mannelli M, Pacak K. Clinical aspects of SDHx-related pheochromocytoma and paraganglioma. *Endocr Relat Cancer*. 2009;16:391–400.
- Timmers HJ, Kozupa A, Eisenhofer G, Raygada M, Adams KT, Solis D, et al. Clinical presentations, biochemical phenotypes, and genotype-phenotype correlations in patients with succinate dehydrogenase subunit B-associated pheochromocytomas and paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:779–86.
- Burnichon N, Briere JJ, Libe R, Vescovo L, Riviere J, Tissier F, et al. SDHA is a tumor suppressor gene causing paraganglioma. *Hum Mol Genet*. 2010;19:3011–20.
- Burnichon N, Cascon A, Schiavi F, Morales NP, Comino-Mendez I, Abermil N, et al. MAX mutations cause hereditary and sporadic pheochromocytoma and paraganglioma. *Clin Cancer Res*. 2012;18:2828–37.
- Lorenzo F, Yang C, Ng Tang Fui M, Vankayalapati H, Zhuang Z, Huynh T, et al. A novel EPAS1/HIF2A germline mutation in a congenital polycythemia with paraganglioma. *J Mol Med*. 2013;91:507–12.
- Eric Z, Rybicki L, Peczkowska M, Golcher H, Kann PH, Brauckhoff M, et al. Clinical predictors and algorithm for the genetic diagnosis of pheochromocytoma patients. *Clin Cancer Res*. 2009;15:6378–85.
- Cascon A, Pita G, Burnichon N, Landa I, Lopez-Jimenez E, Montero-Conde C, et al. Genetics of pheochromocytoma and paraganglioma in Spanish patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:1701–5.
- Mannelli M, Castellano M, Schiavi F, Filetti S, Giacche M, Mori L, et al. Clinically guided genetic screening in a large cohort of Italian patients with pheochromocytomas and/or functional or nonfunctional paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:1541–7.

21. Neumann HP, Erlic Z, Boedeker CC, Rybicki LA, Robledo M, Hermsen M, et al. Clinical predictors for germline mutations in head and neck paraganglioma patients: Cost reduction strategy in genetic diagnostic process as fall-out. *Cancer Res.* 2009;69:3650–6.
22. Krawczyk A, Hasse-Lazar K, Pawlaczek A, Szpak-Ulczo S, Krajewska J, Paliczka-Cieslak E, et al. Germinal mutations of RET, SDHB, SDHD, and VHL genes in patients with apparently sporadic pheochromocytomas and paragangliomas. *Endokrynol Pol.* 2010;61:43–8.
23. Korpershoek E, Petri BJ, van Nederveen FH, Dinjens WN, Verhofstad AA, de Herder WW, et al. Candidate gene mutation analysis in bilateral adrenal pheochromocytoma and sympathetic paraganglioma. *Endocr Relat Cancer.* 2007;14:453–62.
24. Lenders JW, Pacak K, Walther MM, Linehan WM, Mannelli M, Friberg P, et al. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: Which test is best? *JAMA.* 2002;287:1427–34.
25. Pacak K, Eisenhofer G, Ahlman H, Bornstein SR, Gimenez-Roqueplo AP, Grossman AB, et al. Pheochromocytoma: Recommendations for clinical practice from the First International Symposium, October 2005. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2007;3:92–102.
26. Van Nederveen FH, Gaal J, Favier J, Korpershoek E, Oldenburg RA, de Bruyn EM, et al. An immunohistochemical procedure to detect patients with paraganglioma and phaeochromocytoma with germline SDHB, SDHC, or SDHD gene mutations: A retrospective and prospective analysis. *Lancet Oncol.* 2009;10:764–71.



Revisão

A leptina e o seu impacto metabólico nas lipodistrofias

Eva Lau^{a,b,*}, Paula Freitas^{a,b}, Ana Isabel Oliveira^{a,b} e Davide Carvalho^{a,b}^a Departamento de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Centro Hospitalar São João, EPE, Porto, Portugal^b Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto, Portugal

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Historial do artigo:

Recebido a 3 de dezembro de 2013

Aceite a 25 de março de 2014

On-line a 2 de julho de 2014

Palavras-chave:

Leptina
Lipodistrofia
Obesidade
Metabólico

Keywords:

Leptin
Lipodystrophy
Obesity
Metabolic

RESUMO

A leptina é uma hormona produzida, predominantemente pelo adipócito, sendo fundamental na regulação da homeostasia energética. Atua como sinalizadora da massa gorda existente no organismo, estando envolvida no controlo e balanço dos lípidos nos tecidos não adiposos, na ingestão alimentar e termogénese, com subseqüentes implicações metabólicas.

O tratamento de substituição com administração de leptina constitui um avanço na compreensão e tratamento das várias síndromes lipodistróficas conhecidas, caracterizadas por um estado de hipoleptinemia. O tratamento com a formulação recombinante de metreleptina está associado a melhoria da hiperinsulinemia, insulinoresistência, hipertrigliceridemia e anomalias neuroendócrinas, sem aparentes efeitos adversos significativos, o que constitui a base fisiopatológica que apoia o tratamento destes doentes com metreleptina.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

Leptin and its metabolic impact on lipodystrophy

ABSTRACT

Leptin is a hormone produced predominantly by adipocytes, essential in energy homeostasis regulation. It acts as a sensor of body fat mass stores, being involved in lipids control in non adipose tissues, food intake and thermogenesis with subsequent metabolic implications.

Leptin administration in replacement doses constitutes an important step forward in the understanding and treatment of various lipodystrophic syndromes, conditions characterized by a hypoleptinemic state. Particularly, recombinant methionyl leptin administration in patients with lipodystrophy exhibiting severe hypoleptinemia ameliorated hyperinsulinemia, insulin resistance, hyperglycemia, hypertriglyceridemia, and neuroendocrine abnormalities without significant adverse effects, providing the rationale for metreleptin treatment in these patients.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

A leptina e a lipodistrofia – conceitos gerais

Em 1994, Zhang et al. identificaram o gene *ob*, localizado no cromossoma 7 (7q31.3), e o seu produto, a leptina¹. Desde a sua caracterização a leptina tem adquirido importância crescente como molécula fundamental na regulação do balanço energético. A leptina é uma hormona produzida, predominantemente pelo adipócito, atuando como um sinalizador da quantidade de energia

acumulada e de massa gorda existente no organismo. A leptina é também uma hormona liporeguladora que controla a homeostasia dos lípidos nos tecidos não adiposos, especialmente durante os períodos de sobrealimentação². Deste modo, os seus níveis circulantes correlacionam-se estreitamente com as reservas de tecido adiposo, ou seja, o aumento da adiposidade conduz a um aumento da produção de leptina, enquanto uma diminuição de massa gorda está associada a uma redução da sua expressão³. A leptina possui recetores próprios (ObR, LEPR), conhecendo-se 6 isoformas. No homem são expressas apenas 4 destas isoformas por espaçamento alternativo⁴, destacando-se a isoforma B por ser a mais importante⁵. Ao atuar através destes recetores localizados

* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: Evalau.med@gmail.com (E. Lau).

no hipotálamo, a leptina é genericamente responsável pela inibição da ingestão alimentar e aumento da termogênese, o que contribui para a manutenção de adequadas reservas lipídicas e manutenção do peso corporal⁶. A sua secreção é pulsátil, sendo caracterizada por um ritmo circadiano, com níveis menores ao início e meio da tarde e mais elevados entre o meio da noite e manhã cedo⁷. A pulsabilidade da leptina parece não ser diferente em indivíduos magros e obesos. No entanto, os obesos possuem pulsos de maior amplitude⁷. No que concerne ao género, as mulheres apresentam níveis mais elevados do que os homens, o que se revela independente do índice de massa corporal e se atribui a diferenças na massa gorda e sua distribuição e às hormonas sexuais^{8,9}.

As lipodistrofias são um grupo raro e heterogêneo de doenças associado a uma deposição anormal de tecido adiposo. São caracterizadas pela perda seletiva de gordura subcutânea e visceral, existindo formas parciais ou completas, genéticas ou adquiridas¹⁰, associadas ou não a hipertrofia do tecido adiposo noutra localização¹¹. Existe uma considerável heterogeneidade relacionada com o padrão e extensão de perda de massa gorda entre os diversos tipos de lipodistrofia, o que torna o diagnóstico desafiante. Nas mulheres, as lipodistrofias parecem ser mais facilmente reconhecidas, comparativamente aos homens, nos quais uma aparência atlética é mais frequente, diminuindo o limiar de suspeição¹¹. Na presença de um homem com estrutura muscular proeminente e baixa atividade física, deverá suspeitar-se de uma lipodistrofia.

A lipodistrofia é frequentemente associada a um amplo espectro de anomalias metabólicas, tais como resistência à insulina, diabetes tipo 2, hipertrigliceridemia, esteatose hepática, síndrome de ovários poliquísticos e acantose *nigricans*^{12,13}. A gravidade destas complicações metabólicas, quando presentes, correlaciona-se com a extensão da perda de gordura¹⁴. Apesar dos progressos verificados na última década e da leptina poder assumir um papel relevante na base fisiopatológica das complicações metabólicas associadas às lipodistrofias, muitos dos mecanismos permanecem ainda pouco claros.

Alterações metabólicas na lipodistrofia

Os mecanismos envolvidos na insulinoresistência e desregulação metabólica, presente nos doentes com lipodistrofia, permanecem controversos. Inicialmente estes distúrbios comuns às lipodistrofias foram apenas relacionados com a deposição anormal de tecido adiposo, o que condicionava uma acumulação anormal de triglicéridos no fígado, músculo e células β -pancreáticas, originando resistência à ação da insulina e posterior desenvolvimento de diabetes^{15,16}. Isto era explicado com base na acumulação intracelular de derivados de ácidos gordos, o que resultava na ativação da proteína cinase C e, consequentemente, na ativação da cascata serina/tirosina e aumento da fosforilação em serina do substrato 1 do recetor da insulina (IRS-1). A diminuição da capacidade do recetor se fosforilar em tirosina, após estímulo da insulina, conduziria a uma diminuição da ativação da fosfatidilinositol-3 cinase, enzima chave na translocação do transportador de glicose tipo 4 (GLUT4) no músculoquelético^{15,16}. Estas alterações na transdução de sinal culminavam, por fim, num estado caracterizado por resistência à insulina. De modo semelhante, seria explicada a insulinoresistência a nível hepático, conjuntamente com o aumento da neoglicogénese hepática, associada ao aumento de ácidos gordos circulantes¹⁷.

No entanto, estudos recentes apontam para mecanismos bem mais complexos na génese de insulinoresistência e distúrbios metabólicos associados. Em primeiro lugar, o tecido adiposo subcutâneo funciona como um reservatório onde se acumulam triglicéridos. Na lipodistrofia, a sua atrofia, elimina um potencial reservatório, passando a verificar-se o depósito ectópico noutras

locais. Neste sentido, o transplante de gordura de ratos normais para roedores com lipodistrofia congénita conduziu a uma franca melhoria da sensibilidade à insulina, diferente do que ocorreu quando se efetuou transplante de gordura de ratos com deficiência de leptina para roedores lipodistróficos, em que não foi possível reverter as anomalias metabólicas¹⁸. Estas observações evidenciam o papel ativo da leptina na regulação do balanço energético em doentes com lipodistrofia.

Para além disso, constatou-se que os doentes com lipodistrofia apresentavam tendencialmente níveis mais baixos de leptina¹⁴, o que poderá condicionar hiperfagia nestes indivíduos. Assim, alguns autores defendem que as baixas concentrações de leptina são responsáveis pela insuficiente inibição dos centros regulares do apetite localizados no hipotálamo, o que determina aumento da libertação de hormonas orexigénicas e inibição da libertação de fatores anorexigénicos⁶. Em modelos animais, a administração de leptina está associada à alteração da secreção de neuropeptídeos orexigénicos e anorexigénicos e sinaliza a supressão do apetite¹⁹. Ao ser libertada na circulação sanguínea, a leptina atravessa a barreira hematoencefálica e liga-se aos seus recetores no hipotálamo. Aqui, é responsável pela regulação de peptídeos orexigénicos, suprimindo a expressão do neuropeptídeo Y, do peptídeo relacionado com a proteína agouti, da hormona que concentra a melanina, da galanina, do peptídeo relacionado com a galanina e da orexina (fig. 1). Simultaneamente, promove a libertação de hormonas anorexigénicas, tais como a pró-opiomelanocortina, reguladores da transcrição da cocaína e anfetamina, a hormona libertadora da corticotrofina (CRH) e o fator neurotrófico derivado do cérebro, o que inibe o apetite^{6,20-22}. Em consonância, verificou-se também que a administração de leptina a humanos portadores de mutações homocigóticas inativadoras do seu gene, era responsável pela diminuição do aporte energético numa refeição²³. Neste contexto, e assumindo que a lipodistrofia está associada a um estado de hipoleptinemia, surge o interesse na utilização da leptina como potencial forma de tratamento nas lipodistrofias, nomeadamente no que diz respeito ao seu efeito no controle do apetite, regulação e homeostasia energética e consequentemente reversão das anormalidades metabólicas. São já alguns os autores que procuraram estabelecer os benefícios do uso de leptina no tratamento destes doentes. Num estudo realizado por Petersen et al. verificou-se que a reposição da leptina para os seus níveis fisiológicos aumentava cerca de 2 vezes a supressão de produção hepática de glicose e aumentava 2 vezes a captação de glicose mediada pela insulina, a nível periférico²⁴. Num outro estudo, levado a cabo por Chong et al., 48 doentes com lipodistrofia foram tratados com leptina observando-se melhoria do equilíbrio glicémico e da dislipidemia²⁵. Alguns dados sugerem também que a leptina, além de reverter a insulinoresistência, poderá ser uma importante opção terapêutica na melhoria da esteatose hepática frequentemente associada²⁶. Os efeitos da leptina no que concerne a saciedade e saciação são ainda pouco conhecidos. Importa compreender estes 2 conceitos: a saciedade determina o intervalo entre 2 refeições; a saciação corresponde ao ponto em que o indivíduo deixa de ter fome durante uma refeição, culminando no término da ingestão. Mc Duffie et al. procuraram estabelecer, de forma pioneira, a relação da leptina com o comportamento alimentar e com o controle do apetite, num grupo de 8 mulheres com lipodistrofia²⁶. Este estudo demonstrou que o tratamento com leptina em doentes com lipodistrofia resultava numa diminuição da duração do tempo de saciação, diminuição do aporte calórico e aumento do tempo de saciedade. Observaram ainda diminuição das concentrações de grelina, hormona responsável pelo aumento do apetite, o que reforçou a importância da leptina no controle da saciedade. Pelo contrário, não se verificaram alterações no peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1). Apesar destas observações terem aberto portas para outros estudos sobre os efeitos da leptina no domínio do comportamento

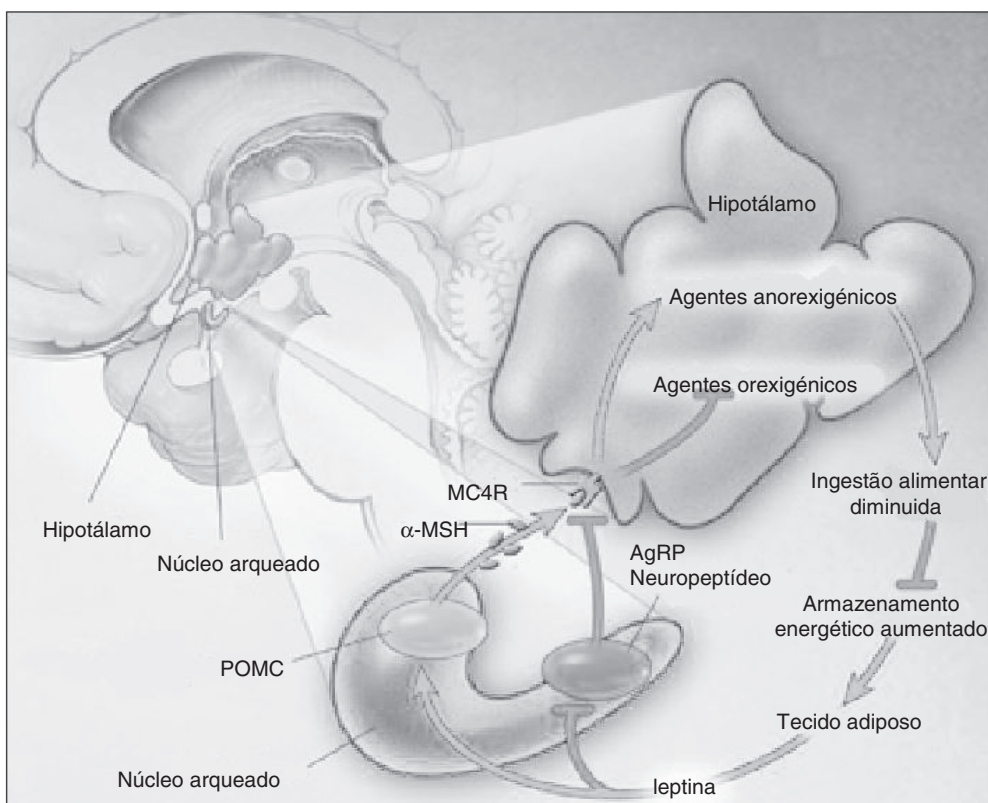


Figura 1. Esquema simplificado dos sistemas de regulação central do apetite.

alimentar, é importante ressaltar algumas limitações da análise efetuada, nomeadamente pelo reduzido tamanho e heterogeneidade da amostra, uma vez que nem todos os doentes possuíam o mesmo tipo de lipodistrofia, além da inexistência de um grupo controle tratado com placebo. Num outro grupo de 15 doentes com formas graves de lipodistrofia o tratamento com leptina durante um ano reduziu substancialmente o apetite e aumentou a saciedade, o que se traduziu em redução ponderal²⁷. São, no entanto, necessários estudos adicionais que clarifiquem o hipotético papel do tratamento da leptina no controlo do apetite.

Tratamento com leptina

A leptina está disponível para utilização na formulação de metreleptina (MetHuLeptin), produzida por engenharia genética usando *Escherichia coli*. A metreleptina foi aprovada para o tratamento das lipodistrofias no Japão. A U.S. Food and Drug Administration (FDA) e o Endocrinologic and Metabolic Drugs Advisory Committee (EMDAC) anunciaram em 12/2013 a recomendação do uso da metreleptina no tratamento de doentes pediátricos e adultos com lipodistrofia generalizada, com base na evidência substancial de que os benefícios excedem os riscos. A EMDAC, no entanto, não recomenda o tratamento com metreleptina em doentes com formas de lipodistrofias parciais. A posição da EMDAC não é vinculativa, aguardando-se para breve a posição oficial da FDA.

Num estado de deficiência de leptina, a atividade do córtex frontopolar parece ser responsável pelo autocontrolo cognitivo no processamento de estímulos alimentares. Estudos de RM funcional permitiram demonstrar que a terapêutica com leptina em indivíduos com carência de leptina causam uma redução da atividade do córtex frontopolar ao longo do tempo, o que parece estar associado com a diminuição da necessidade de autocontrolo em relação à ingestão alimentar^{28,29}. Deste modo, o tratamento com leptina parece promover a perda de peso, sem, no entanto, promover

efeitos inibitórios a nível cognitivo. A elevação dos níveis de leptina, além do seu efeito no processamento cognitivo de estímulos alimentares, poderá contribuir para reduzir ainda a lipotoxicidade, minimizando a acumulação ectópica de lípidos em tecidos não adipocitários através da oxidação de ácidos gordos induzida pela leptina. Adicionalmente, o tratamento com leptina, apesar dos ainda escassos dados e estudos existentes, poderá contribuir para a redução da ingestão alimentar e perda de peso^{27,30}. No entanto, a perda de peso induzida por restrição alimentar em ratinhos lipodistróficos transgênicos não resulta em modificações das concentrações de insulina e glicose, o que sugere que os efeitos benéficos da leptina são independentes dos seus efeitos no peso³⁰.

Importa ainda ressaltar que a eficácia da terapêutica parece depender dos níveis basais de leptina. Nas hipolipetinemias graves (leptinas em jejum inferiores a 4-5 ng/mL) associadas a vários tipos de lipodistrofias humanas a terapêutica de substituição melhora marcadamente a dislipidemia, a insulinosensibilidade e reduz os níveis de HbA1C e o conteúdo de gordura intra-hepático^{31,32}. Além disso, verificou-se redução marcada dos níveis de glicemia em jejum e HbA1C, mesmo em doentes não controlados com as outras terapêuticas antidiabéticas ou insulina em altas doses. A magnitude do seu impacto no controlo metabólico reflete-se, adicionalmente, pelo facto de alguns doentes com diabetes lipoatrófica tratados com leptina durante 12 meses deixarem de necessitar de toda a terapêutica antidiabética anteriormente instituída²⁷. Em consonância, em estudo de clamp hiperinsulinémico-euglicémico foi possível demonstrar uma marcada melhoria da insulinosensibilidade³³. Estes efeitos metabólicos foram observados quer na insulinosensibilidade hepática quer a nível corporal total. Constatou-se, ainda, uma redução de 86% no conteúdo de triglicéridos a nível intra-hepático e de 33% no compartimento intramuscular³³.

A eficácia do tratamento com leptina estende-se aos diversos tipos de lipodistrofia – genéticas e adquiridas –, mantendo-se ao longo de 8 anos de terapêutica³².

Numa análise de mais de 100 doentes com lipodistrofia grave provenientes de vários ensaios, o tratamento com leptina demonstrou melhoria em diversos parâmetros metabólicos, incluindo o controlo glicémico, a insulinosensibilidade, os triglicéridos plasmáticos, a ingestão calórica, o volume e conteúdo lipídico hepático, e os lípidos intramiocelulares³⁴.

Alguns autores consideram, no entanto, que em doentes com moderada hipoleptinemia a terapêutica com leptina melhora o perfil lipídico, mas é pouco eficaz no controlo glicídico³⁵.

É importante sublinhar que estes dados provêm de ensaios abertos e não controlados, pelo que devem ser interpretados de forma cautelosa. São necessários estudos bem desenhados, cruzados, aleatorizados e controlados com placebo, de forma a possibilitarem não só a avaliação dos benefícios, mas também de possíveis efeitos adversos da leptina. Em indivíduos lipodistróficos tratados com leptina foram descritos deterioração da função renal e desenvolvimento de linfomas^{35–37}, o que apoia a necessidade de maior investigação nesta área em crescente domínio.

Lipodistrofia por vírus de imunodeficiência humana

No homem existem cerca de 1.000 casos de síndrome de lipodistrofia congénita descritos, sendo atualmente a forma de lipodistrofia ligada a infeção pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH [forma adquirida]) a causa mais frequente de lipodistrofia, inclusivamente no nosso país³⁸.

Na lipodistrofia VIH observa-se uma alteração da cinética dos lípidos: lipólise acelerada, diminuição da oxidação da gordura e aumento da reesterificação hepática dos ácidos gordos.

Em doentes com lipodistrofia do VIH, em ensaio aleatorizado, cruzado controlado com placebo, a leptina em doses fisiológicas melhora os distúrbios metabólicos³⁹, sendo responsável pela diminuição da massa gorda central em 15%, melhoria significativa da insulinosensibilidade e dos níveis de glicose e insulina, apesar de não ter efeitos nos lípidos colesterol e triglicéridos³⁹. Num outro ensaio de 6 meses comprovaram-se estes resultados, tendo, no entanto, ocorrido melhoria do perfil lipídico: diminuição do colesterol LDL, não HDL e aumento do HDL⁴⁰. A melhoria da insulinosensibilidade foi fundamentalmente a nível hepático, mas não a nível muscular⁴⁰. Estes resultados sugerem que a terapêutica com leptina é eficaz na lipodistrofia do VIH, sendo a sua eficácia dependente do tempo de tratamento.

Num pequeno ensaio recente, aleatorizado, duplamente cego, controlado com placebo, a administração de leptina melhorou os parâmetros glicídicos e os níveis de colesterol não HDL, no entanto, não alterou a cinética dos lípidos, o que reflete a discrepância entre ensaios⁴¹.

Em animais, a administração de adiponectina demonstrou melhorar a insulinosensibilidade e a dislipidemia^{42,43}. A terapêutica combinada de leptina e adiponectina parece normalizar completamente a insulinosensibilidade⁴². A adiponectina não está ainda disponível, pelo que foram ensaiadas terapêuticas que aumentam os níveis de adiponectina como as gliatizonas. Comparativamente à administração de pioglitazona isolada, a terapêutica combinada da leptina com um estimulador dos níveis de adiponectina – a pioglitazona –, reduziu os níveis de insulina, aumentou os níveis de adiponectina, melhorou a insulinoresistência e diminuiu a hiperglicemia pós-prandial após uma refeição padrão, em doentes com infeção VIH⁴⁴.

Conclusão

A descoberta da leptina, como se pode constatar, revolucionou o papel atribuído ao tecido adiposo, atualmente considerado órgão endócrino fulcral no balanço energético. Apesar das evidências atuais serem unânimes quanto à importância da leptina como

interveniente na base fisiopatológica das lipodistrofias, são ainda necessários estudos que comprovem os seus efeitos na modulação do comportamento alimentar. É imperiosa a realização estudos a curto prazo que determinem a eficácia e segurança do uso da leptina recombinante no tratamento das lipodistrofias.

Referências

- Zhang Y, Proença R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372:425–32.
- Unger RH. Lipotoxic diseases. *Annu Rev Med*. 2002;53:319–36.
- Considine RV, Sina MK, Heiman ML, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*. 1996;334(5):292–5.
- Peelman F, Couturier C, Dam J, et al. Techniques: new pharmacological perspectives for the leptin receptor. *Trends Pharmacol Sci*. 2006;27:218–25.
- Myers MG Jr, Heymsfield SB, Haft C, et al. Defining Clinical Leptin Resistance - Challenges and Opportunities. *Cell Metab*. 2012;15:150–6.
- Jéquier E. Leptin signaling, adiposity and energy balance. *Ann NY Acad Sci*. 2002;967:379–88.
- Minocci A, Savia G, Lucantoni R, et al. Leptin plasma concentrations are dependent on body fat distribution in obese patients. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000;24:1139.
- Muller TD, Focker M, Holtkamp K, et al. Leptin-mediated neuroendocrine alterations in anorexia nervosa: somatic and behavioral implications. *Child Adolesc Psychiatr Clin North Am*. 2009;18:117–29.
- Leshan RL, Bjornholm M, Munzberg H, et al. Leptin receptor signaling and action in the central nervous system. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14:208–12.
- Garg A. Lipodystrophies: genetic and acquired body fat disorders. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(11):3313–25.
- Vantighem MC, Balavoine AS, Douillard C, et al. How to diagnose a lipodystrophy syndrome. *Ann Endocrinol*. 2012;73(3):170–89.
- Garg A, Misra A. Lipodystrophies: rare disorders causing metabolic syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2004;33:305–31.
- Garg A, Agarwal AK. Lipodystrophies: Disorders of adipose tissue biology. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1791(6):507–13.
- Haque W, Shimomura I, Matsuzawa Y, et al. Serum adiponectin and leptin levels in patients with lipodystrophies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(5):2395–8.
- Dresner A, Laurent D, Marcucci MJ, et al. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J Clin Invest*. 1999;103:253–9.
- Griffin ME, Marcucci MJ, Cline GW, et al. Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the Insulin Signaling Cascade. *Diabetes*. 1999;48:1270–4.
- Chen X, Iqbal N, Boden G. The effects of free fatty acids on gluconeogenesis and glycogenolysis in normal subjects. *J Clin Invest*. 1999;103:365–72.
- Gavrilova O, Marcus-Samuels B, Graham D, et al. Surgical implantation of adipose tissue reverses diabetes in lipotrophic mice. *J Clin Invest*. 2000;105:271–8.
- Hallas JL, Gajiwala KS, Maffei M, et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by obese gene. *Science*. 1995;269:543–6.
- Friedman J, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*. 1998;395:763–70.
- Klok MD, Jakobsdottir, Drent ML. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. *Obes Rev*. 2007;8:21–34.
- Ahima R, Osei SY. Editorial: Leptin and appetite control in lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(9):4254–7.
- Farooqi IS, Matarese G, Lord GM. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest*. 2002;110:1093–103.
- Petersen KF, Oral EA, Dufour, et al. Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy. *J Clin Invest*. 2002;109:1345–50.
- Chong AY, Lupsa BC, Cochran EK, et al. Efficacy of leptin therapy in the different forms of human lipodystrophy. *Diabetologia*. 2010;53:27–35.
- McDuffie J, Riggs P, Calis K, et al. Effects of exogenous leptin on satiety and satiation in patients with lipodystrophy and leptin insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(9):4258–63.
- Javor ED, Cochran EK, Musso C, et al. Long-term efficacy of leptin replacement in patients with generalized lipodystrophy. *Diabetes*. 2005;54:1994–2002.
- Frank S, Heni M, Moss A, et al. Leptin therapy in a congenital leptin-deficient patient leads to acute and long-term changes in homeostatic, reward, and food-related brain areas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:1283–7.
- Frank S, Heni M, Moss A, et al. Long-term stabilization effects of leptin on brain functions in a leptin-deficient patient. *PLoS ONE*. 2013;8(6):e6589.
- Shimomura I, Hammer RE, Ikemoto S, et al. Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with congenital lipodystrophy. *Nature*. 1999;401:73–6.
- Oral EA, Simha V, Ruiz E, et al. Leptin-replacement therapy for lipodystrophy. *N Engl J Med*. 2002;346:570–8.
- Chong AY, Lupsa BC, Cochran EK, et al. Efficacy of leptin therapy in the different forms of human lipodystrophy. *Diabetologia*. 2010;53:27–35.
- Petersen KF, Oral EA, Dufour S, et al. Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy. *J Clin Invest*. 2002;109:1345–50.
- Oral EA, Chan JL. Rationale for leptin-replacement therapy for severe lipodystrophy. *Endocr Pract*. 2010;16:324–33.

35. Simha V, Subramanyam L, Szczepaniak L, et al. Comparison of efficacy and safety of leptin replacement therapy in moderately and severely hypoleptinemic patients with familial partial lipodystrophy of the Dunnigan variety. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:785–92.
36. Leow MK, Addy CL, Mantzoros CS. Human immunodeficiency virus/highly active antiretroviral therapy-associated metabolic syndrome: clinical presentation, pathophysiology, and therapeutic strategies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:1961–76.
37. Jacobson DL, Knox T, Spiegelman D, et al. Prevalence of evolution and risk factors for fat atrophy and fat deposition in a cohort of HIV-infected men and women. *Clin Infect Dis.* 2005;40:1837–45.
38. Freitas P, Carvalho D, Souto S, Sarmiento A, Medina JL. Lipodystrophy: The metabolic link of HIV infection with insulin-resistance syndrome. *Current Perspectives in HIV Infection.* Ed. Shailendra K. Saxena. 2013. ISBN 978-953-51-1057-6, InTech, DOI: 10.5772/52685.
39. Lee JH, Chan JL, Sourlas E, et al. Recombinant methionyl human leptin therapy in replacement doses improves insulin resistance and metabolic profile in patients with lipoatrophy and metabolic syndrome induced by the highly active antiretroviral therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:2605–11.
40. Mulligan K, Khatami H, Schwarz JM, et al. The effects of recombinant human leptin on visceral fat, dyslipidemia, and insulin resistance in patients with human immunodeficiency virus-associated lipoatrophy and hypoleptinemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94:1137–44.
41. Sekhar RV, Jahoor F, Lyer D, et al. Leptin replacement therapy does not improve the abnormal lipid kinetics of hypoleptinemic patients with HIV-associated lipodystrophy syndrome. *Metabolism.* 2012;61:1395–403.
42. Duntas LH, Popovic V, Panotopoulos G. Adiponectin: novelties in metabolism and hormonal regulation. *Nutr Neurosci.* 2004;7:195–200.
43. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med.* 2001;7:941–6.
44. Magkos F, Brennan A, Sweeney L, et al. Leptin replacement improves postprandial glycemia and insulin sensitivity in human immunodeficiency virus-infected lipoatrophic men treated with pioglitazone: a pilot study. *Metab Clin Exp.* 2011;60:1045–9.



Revisão

Hipotiroidismo congénito



Ana Luísa Rodrigues^{a,*}, Ana Carvalho^{a,1}, Carlos Pereira Duarte^a, Rui César^b e João Anselmo^b

^a Departamento de Pediatria, Hospital Divino Espírito Santo EPE, Ponta Delgada, Açores, Portugal

^b Serviço de Endocrinologia e Nutrição, Hospital Divino Espírito Santo EPE, Ponta Delgada, Açores, Portugal

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Historial do artigo:

Recebido a 1 de julho de 2013

Aceite a 12 de janeiro de 2014

On-line a 18 de junho de 2014

Palavras-chave:

Disgenesia tiroideia

Dishormonogénese

Hipotiroidismo congénito

R E S U M O

Introdução: O hipotiroidismo congénito (HC) é a doença endócrina congénita mais frequente. Em Portugal, o rastreio universal teve início em 1981/82, através do doseamento de TSH a todos os recém-nascidos entre o 3.º e o 6.º dias de vida. Valores de TSH inferiores a 10 mU/L são considerados normais e entre 10–20 mU/L são considerados suspeitos, pelo que exigem a determinação da T4 na mesma amostra; se a T4 for inferior a 6,5 µg/dl confirma-se a suspeita de HC e o recém-nascido deverá ser referenciado.

Objetivo: Pretendeu-se realizar uma revisão bibliográfica no sentido de apurar o *estado da arte*, nomeadamente em relação às atitudes de diagnóstico e terapêutica da doença. Propomos um esquema de follow-up destes doentes que permita uma abordagem mais uniforme na prática clínica.

Métodos: Pesquisa sistemática nas bases de dados eletrónicas Medline e Pubmed com a palavra-chave *congenital hypothyroidism*, incluindo estudos publicados até dezembro de 2012.

Conclusão: As mutações genéticas responsáveis pelo HC dividem-se em 2 grandes grupos: a grande maioria (85–90%) causam alterações estruturais da tiróide, designando-se no seu conjunto por disgenesia tiroideia e são maioritariamente esporádicas; as restantes, correspondendo a 10–15% dos casos, causam alterações funcionais no processo de síntese das hormonas tiroideias (hormonogénese) e são transmitidas de forma autossómica recessiva.

A suspeita de HC deve ser confirmada através da avaliação da função tiroideia pelos métodos convencionais. A terapêutica com levotiroxina deve ser iniciada o mais precocemente possível, com o objetivo de normalizar a T4 em duas semanas e a TSH em quatro semanas. O seguimento dos recém-nascidos com HC deve ser feito de 3 em 3 meses durante os primeiros 3 anos de vida.

Em suma, o diagnóstico precoce e tratamento imediato são de extrema importância evitando-se desta forma as sequelas cognitivas graves do HC.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier Espanha, S.L. Todos os direitos reservados.

Congenital hypothyroidism

A B S T R A C T

Keywords:

Thyroid dysgenesis

Dyshormonogenesis

Congenital hypothyroidism

Introduction: Congenital hypothyroidism (CH) is the most frequent endocrine congenital disorder. In Portugal, the universal screening was started in 1981/82, by TSH assay performed between the 3th and 6th day of life. Values under 10mU/L are considered normal, and between 10–20 mU/L are suspicious, and it is necessary to determine T4 in the same sample. If T4 is less than 6,5 µg/dl, the suspicion is confirmed and the newborn is then recalled.

Purpose: To review the related literature in order to establish the *state of the art* of CH, particularly in relation to diagnosis and treatment approach. We propose a follow up scheme for these patients to allow a more uniform approach to clinical practice.

Methodology: Systematic research in the electronic databases Medline and Pubmed with the keyword: congenital hypothyroidism, including studies published up to December 2012.

Conclusion: Genetic mutations responsible for CH are divided in two major groups. One group accounting for 85–90% of the cases is related to structural changes of the thyroid gland, known under the common designation of thyroid dysgenesis and occurring mainly sporadically; the other group of patients with CH

* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: luisagrodrigues@hotmail.com (A.L. Rodrigues).

¹ Ambos os autores contribuíram igualmente na realização do trabalho.

suffer of functional changes in the synthesis of the thyroid hormones (hormonogenesis), which altogether represents 10-15% of the cases and are transmitted in an autosomal recessive manner.

The diagnosis should be confirmed by conventional thyroid function tests. Levothyroxine must be started as soon as possible, with the goal of achieving normal T4 in two weeks and normal TSH in one month. The follow-up should be done at regular intervals of three months during the first 3 years of life.

In conclusion, it is extremely important to diagnose CH during the first days of live. Treatment should be started immediately in order to avoid an impairment of the cognitive development.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introdução

As hormonas tiroideias desempenham um papel fundamental no desenvolvimento e maturação do sistema nervoso central desde os seus estádios mais precoces, isto é, ainda durante a vida fetal e ao longo de toda a infância até a idade adulta^{1,2}. A carência de hormonas tiroideias, particularmente nas formas severas de hipotiroidismo congénito (HC), pode ter consequências severas no desenvolvimento intelectual das crianças^{3,4}. O diagnóstico precoce e o tratamento com levotiroxina permitem evitar as sequelas graves da doença, em particular as suas repercussões neurológicas⁵. Na década de 60, Robert Guthrie desenvolveu um método laboratorial fácil e acessível para medição da fenilalanina numa amostra de sangue total colhida em papel de filtro⁶. Este método conhecido inicialmente por «teste de Guthrie» foi posteriormente popularizado sob a designação de «teste do pezinho» atendendo a que o sangue é obtido através da punção cutânea do calcanhar. Começou por ser utilizado no rastreio da fenilcetonúria, mas poucos anos depois foi também adaptado ao rastreio do HC, que é cerca de 3-4 vezes mais frequente do que a fenilcetonúria⁷. Ao longo da década de 70 a maioria dos países ocidentais adotou esta metodologia no rastreio universal dos recém-nascidos^{8,9}. Em 1982 todo o território nacional estava coberto pelo programa de rastreio do HC^{10,11}. O sucesso obtido na erradicação do atraso mental grave, também conhecido por «cretinismo», contribuiu para que hoje o «teste do pezinho» seja utilizado no rastreio, não só do HC e da fenilcetonúria, mas também de outras 3 dezenas de doenças congénitas endócrinas e metabólicas.

Num levantamento por nós efetuado dos casos de HC diagnosticados nos últimos 30 anos nas ilhas de São Miguel e Santa Maria (Açores), obteve-se uma incidência de 1:3420 recém-nascidos, sobreponível aos dados nacionais. Estudos recentes apontam para um aumento na incidência mundial (1:2000-1:3000 recém nascidos).

Ainda durante o curso deste levantamento casuístico foi identificada uma família com 3 gerações afetadas por HC. O estudo genético revelou uma nova mutação do gene que codifica o fator de transcrição PAX8 (c.74C>G) (Paired box 8). Para além do HC, os doentes afetados por esta mutação apresentavam malformações genitourinárias (Thyroid, in press)

A controvérsia sobre a metodologia do rastreio neonatal do HC, a investigação da sua etiologia e o estudo das malformações associadas exigem um conhecimento profundo dos mecanismos fisiopatológicos subjacentes à doença. Outra questão também pertinente é sobre o seguimento destes doentes: qual o intervalo mais apropriado? Que exames pedir e quando?

Com este trabalho pretende-se uma revisão atualizada dos conhecimentos sobre HC, pelo que se procedeu a uma pesquisa bibliográfica sobre o tema e que serviu de base à elaboração do presente artigo.

Metodologia

Foi realizada uma pesquisa sistemática da literatura, utilizando-se para o efeito as bases de dados eletrónicas Medline e PubMed. Os

critérios de procura incluíram os estudos publicados até dezembro de 2012 obtidos através das palavras-chave: *congenital hypothyroidism*. Só foram tomados em consideração os artigos em português ou inglês aos quais foi possível um acesso integral. Só em casos excecionais foram utilizados sites de referência, cuja informação não estava disponível sob outra forma.

Critérios de diagnóstico

A estratégia de diagnóstico do HC, incluindo os parâmetros utilizados e os seus valores de referência, têm-se alterado ao longo dos anos. Em quase todos os países da Europa, no Japão, Canadá e em parte dos Estados Unidos utiliza-se a determinação do Thyroid Stimulating Hormone (TSH) como parâmetro inicial e o T4 (tiroxina) em segunda linha. Em outros países, particularmente na Holanda, o rastreio do HC tem por base a determinação inicial de T4 com a do TSH em segunda linha. Esta última abordagem tem a vantagem de poder diagnosticar os HC de causa central que cursam com hipotiroxinemia e TSH normal ou baixo. Apesar das discussões suscitadas, os diferentes algoritmos parecem equivaler-se em termos de sensibilidade e especificidade, e ambos têm uma percentagem de referenciação de 0,05%, isto é, aproximadamente um falso positivo por cada caso diagnosticado¹². Inicialmente a colheita de sangue era efetuada entre o 6.º e o 10.º dias de vida, mas como a permanência das puérperas no hospital é cada vez mais curta, a colheita tem vindo a ser efetuada mais precocemente, isto é, entre o 3.º e 6.º dia de vida e ocasionalmente mais cedo, o que tem aumentado o número de falsos positivos^{13,14}. Nunca é de mais referir que os falsos positivos representam um esforço suplementar no número de testes efetuados, bem como um motivo de preocupação para os pais, pelo que a colheita da amostra deve ser sempre realizada nas melhores condições e no intervalo de tempo recomendado. A necessidade de antecipar a data da colheita para o intervalo entre o 3.º e o 6.º dia está também relacionada com o facto de estar demonstrado que quanto mais precoce é o início da terapêutica menor é o risco de sequelas da doença¹⁴. No nosso país o valor limite do TSH era de 40 mU/L até 2005, ano em que foi atualizado para os atuais 20 mU/L¹⁵. Acima deste valor de TSH a suspeita de HC é elevada e o recém-nascido é imediatamente referenciado. Por sua vez, valores de TSH abaixo de 10 mU/L são considerados normais. Um TSH entre 10-20 mU/L é considerado suspeito e exige a determinação da T4 total na mesma amostra. Se o T4 for inferior a 6,5 µg/dl confirma-se a suspeita de hipotiroidismo e o recém-nascido é então referenciado (fig. 1).

Exames complementares

Perante a suspeita de HC o recém-nascido deve ser referenciado a uma consulta de endocrinologia pediátrica.

A primeira atitude é obter uma amostra de sangue venoso e avaliar a função tiroideia pelos métodos convencionais (TSH e T4 livre). Uma vez confirmada a suspeita, o tratamento com levotiroxina deve ser instituído de imediato, tendo em conta que a precocidade no início da terapêutica tem um impacto importante no prognóstico da

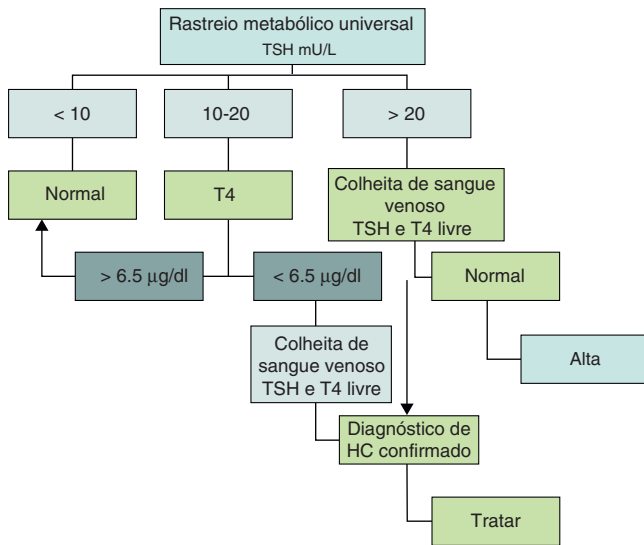


Figura 1. Rastreio do hipotiroidismo congénito. Algoritmo utilizado em Portugal desde 2005 (TSH: Thyroid Stimulating Hormone; T4: tiroxina).

doença. É neste contexto que a investigação da etiologia do HC deve ser sempre que possível adiada.

Não menos importante é a necessidade de proteger o recém-nascido da agressividade dos meios complementares de diagnóstico. No entanto, estes pressupostos não invalidam a obtenção de uma anamnese cuidada e a realização de um exame objetivo pormenorizado. Uma história de consanguinidade paterna pode alertar-nos para um defeito de dishormonogénese, cuja transmissão é quase sempre recessiva.

Por sua vez, a existência de múltiplos casos na família é a favor de uma situação de disgenesia da tiroideia. Uma história materna de doença de Graves alerta-nos para a possibilidade de um HC transitório provocado por anticorpos que atingem o feto por via transplacentar e que bloqueiam o recetor TSH fetal. No exame objetivo podemos estar perante um recém-nascido com poucos ou nenhuns sinais de hipotiroidismo ou pelo contrário, apresentar-se icterício, com macroglossia, hérnia umbilical e choro rouco, evidenciando um quadro clínico de HC grave. A presença de bócio, particularmente quando volumoso, é a favor de dishormonogénese. A existência de fenda palatina está associada a situações de disgenesia.

Entre os exames complementares a ecografia ocupa um lugar privilegiado. É um exame inócuo e facilmente acessível, tem ganho uma maior precisão com a utilização simultânea do doppler^{16,17}. Permite definir com maior exatidão a localização, bem como as dimensões e características da tiroideia, nem sempre possíveis de avaliar pela simples palpação, em particular no recém-nascido. A ausência de tecido tiroideu na sua localização habitual é sugestiva de atireose ou de ectopia, uma situação por vezes só possível de diferenciar pela cintigrafia. Mas a ecografia permite ainda confirmar ou excluir a existência de malformações renais ou cardíacas, frequentemente associadas a situações de disgenesia.

Sempre que a cintigrafia da tiroideia se torne imprescindível na avaliação da etiologia do HC, a sua realização é habitualmente realizada após os 2 anos de idade. Em primeiro lugar porque exige na maioria das situações a suspensão temporária da terapêutica com levotiroxina. Em segundo lugar, porque requer uma maior participação do doente. Finalmente, não sendo um exame acessível em todos os centros, a sua realização obriga a deslocações prolongadas sempre difíceis para um recém-nascido. As informações obtidas pela cintigrafia são não só morfológicas, mas também de carácter funcional. Permitem o diagnóstico diferencial definitivo entre a atireose e a ectopia da glândula. Quando associada ao

teste do perclorato pode dar-nos informações sobre os défices de organificação do iodo.

De salientar a importância do doseamento da tiroglobulina (TG) que em conjunto com os achados ecográficos pode desempenhar um papel importante no estudo da etiologia do HC. A ausência de glândula tiroideia na sua topografia habitual em simultâneo com níveis baixos ou indoseáveis de TG apontam para uma situação de agenesia, tornando assim pouco provável a possibilidade de ectopia ou hipoplasia da glândula. Por sua vez, na presença de uma glândula normal ou aumentada associada a níveis circulantes de TG baixos ou indoseáveis, os defeitos da síntese de TG são a hipótese mais provável. Finalmente, valores elevados de TG ocorrem em situações de dishormonogénese.

Nunca é demais salientar que mais de 80% dos casos de HC ocorrem de forma esporádica. Nestas circunstâncias a investigação dos defeitos genéticos subjacentes à doença é completamente inconsequente. Os testes genéticos devem ser solicitados em situações em que a incidência familiar da doença é particularmente evidente. A identificação de uma mutação genética associada à transmissão da doença pode ter um papel importante no aconselhamento dos doentes e seus familiares. Pode ainda condicionar a abordagem terapêutica. De facto e como adiante discutiremos, existem circunstâncias em que a simples suplementação de iodo pode ser suficiente para corrigir algumas formas hereditárias de HC.

Causas de hipotiroidismo congénito

Numa perspetiva global, a causa mais frequente de hipotiroidismo, incluindo a sua forma congénita, é a carência de iodo que atinge cerca de 1/3 da população mundial¹⁸. A diminuição do aporte de iodo, particularmente durante a gravidez, impede a formação de hormonas tiroideias em quantidades adequadas para suprir as necessidades acrescidas da unidade feto-materna. Mesmo que o défice hormonal seja modesto as suas consequências neurológicas não são desprezíveis e preocupam de sobremaneira as autoridades sanitárias em todo o mundo. Por sua vez, o HC na sua variante não endémica atinge 1:3.000/4.000 nados vivos¹⁹, sendo por isso a doença endócrina congénita mais comum. As alterações do desenvolvimento embrionário da tiroideia (agenesia, ectopia ou hipoplasia), designadas no seu conjunto por disgenesia, são responsáveis por cerca de 85-90% dos casos²⁰. Nos restantes 10-15%, a insuficiência de produção de hormonas tiroideias está relacionada com defeitos enzimáticos que afetam direta ou indiretamente a disponibilidade intracelular de iodo, bem como a sua organificação, eventos cruciais no processo de síntese das hormonas tiroideias (hormonogénese)²¹. Os defeitos da hormonogénese cursam habitualmente com glândulas tiroideias aumentadas de volume e que podem atingir dimensões consideráveis se não forem tratados a tempo. Mais raramente, em cerca de 1:10.000 ou 20.000 nados vivos a causa do HC é de origem central, isto é, por doença hipofisária ou hipotalâmica (hipotiroidismo secundário e terciário, respetivamente) e coexistem com uma tiroide estrutural e funcionalmente íntegra^{22,23}. Estas formas de HC, que são muitas vezes transitórias, decorrem de uma deficiente estimulação da glândula tiroideia por uma produção inadequada de TSH muitas vezes associada à imaturidade do eixo hipotálamo-hipófise-tiroideia como por vezes acontece nos recém-nascidos prematuros.

A disgenesia da tiroideia é tradicionalmente considerada uma doença esporádica, com uma incidência cerca de 2 vezes superior no sexo feminino. De facto, cerca de 90% dos gémeos homocigóticos são discordantes em relação à doença²⁴ e em apenas 2% dos casos foi demonstrada a coexistência da doença em familiares do primeiro grau²⁵. No seu conjunto, estes achados parecem constituir argumentos suficientes para excluir uma transmissão genética

Tabela 1
Causas monogénicas de disgenesia da tiroideia

Gene	Localização cromossómica	Número Exões	Número de nucleótidos	Número de aminoácidos	Fenótipo	Transmissão genética
Recetor do TSH	14q31	10	2295	764	Glândula normal/atireose	AR
PAX8 (paired box gene 8A)	2q12-14	12	1353	450	Glândula normal/hipoplasia	AD
Thyroid Transcription Factor 1 (TTF-1; T1F1, NKX2, T/EBP)	14q13	3	1206	401	Glândula normal/atireose S. dificuldade respiratória Hipotonia/ataxia/coreoatetose	De novo De novo AD
Thyroid Transcription Factor 2 (TTF2; TITF2, FOXE1 or FKHL15)	9q22	1	1122	373	Atireose verdadeira Cabelo espetado Atresia anal Fenda palatina Epiglote bifida	AR
GLIS3	9p24.3-p23	10	2328	775	Atireose aparente Diabetes neonatal Glaucoma Rins poliquísticos	AR
NKX2.5	5q34	2	975	324	Ectopia da glândula Defeitos do septo cardíaco	AD

segundo um modelo mendeliano clássico. No entanto, cerca de 7% destes doentes apresentam anomalias congénitas extratiroideas, uma prevalência elevada quando comparada com a observada na população em geral, que não ultrapassa os 2,5%^{26,27}. Para além disto, cerca de 1,5% dos casos de HC são também portadores de pequenas aberrações cromossómicas^{28,29}. Finalmente, estudos populacionais recentes demonstraram que a probabilidade de ocorrência de disgenesia em familiares em primeiro grau é cerca de 15 vezes maior do que aquela que seria esperada se a sua distribuição fosse aleatória³⁰. Numa tentativa de integrar estas observações aparentemente contraditórias, várias hipóteses têm sido formuladas. Em primeiro lugar, admite-se que a existência de mutações pós-zigóticas epigenéticas possam, por si só, justificar uma parte considerável dos casos da doença^{31,32}. Por sua vez, um modelo de «dupla agressão» permitiria conciliar alguns aspetos contraditórios como a discordância entre gémeos homocigóticos e uma frequência maior do que a esperada em familiares de primeiro grau³³. Neste modelo patogénico e tal como tem sido admitido no retinoblastoma ou no MEN1, o primeiro golpe seria uma alteração de natureza genética, enquanto o segundo golpe resultaria da ação mutagénica de fatores extrínsecos capaz de inativar o locus contralateral (homocigotia) ou um outro locus, criando assim uma dupla heterocigotia (heterocigóticos compostos). Parece-nos assim admissível que na etiologia da disgenesia tiroideia possam participar fatores genéticos de carácter mendeliano, isto é, inscritos no DNA e fatores epigenéticos, provavelmente modulados pelo género e por outras circunstâncias intrínsecas ou extrínsecas. Pelo contrário, na maioria dos casos de dishormonogénese tem sido possível estabelecer um padrão de transmissão autossómico recessivo²¹.

Nos cerca de 2-3% dos casos em que a ocorrência familiar da disgenesia obedece a um padrão mendeliano clássico, a identificação dos genes envolvidos na transmissão da doença tem permitido clarificar aspetos importantes no desenvolvimento embrionário da glândula, particularmente na sua migração desde a base da língua até à sua localização habitual (fig. 2), bem como maturação funcional da glândula ao longo da gravidez (fig. 3). Da mesma forma, a caracterização molecular das mutações causadoras de dishormonogénese tem contribuído para o esclarecimento de muitos aspetos funcionais da glândula tiroideia, que por sua vez permitiram uma melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos responsáveis pelo HC e pelas doenças da tiroideia em geral.

Migração e desenvolvimento da tiroideia Envolvimento dos fatores de transcrição

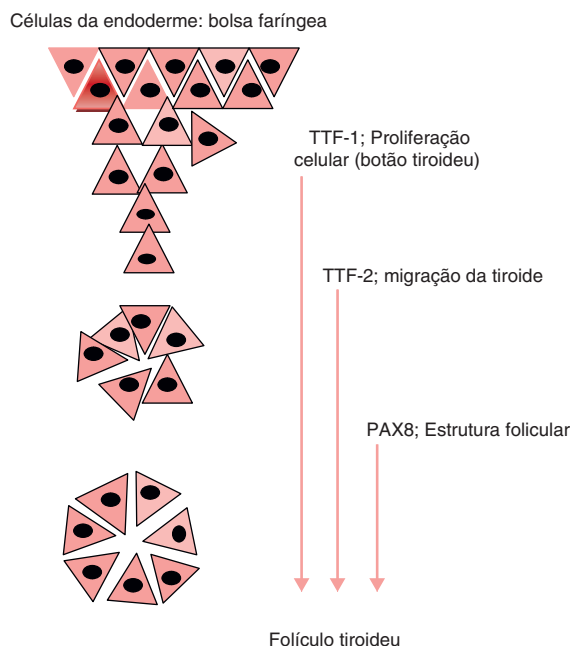


Figura 2. Principais genes envolvidos no desenvolvimento e migração da glândula tiroideia. A partir do estudo de doentes afetados por mutações destes genes de fatores de transcrição foi possível estabelecer a sua influência em cada um dos eventos representados. O Thyroid Transcription Factor 1 (TTF-1) participa nos estádios iniciais da organogénese da glândula tiroideia, inibindo a apoptose e controlando a sobrevivência das células precursoras. O Thyroid Transcription Factor 2 (TTF-2) promove a migração destas células. O Paired box 8 gene (PAX8) possui um papel fundamental na cascata reguladora da diferenciação funcional das células foliculares tiroideas.

As mutações genéticas responsáveis pelo HC dividem-se assim em 2 grandes grupos:

- 1) As que produzem alterações estruturais da glândula tiroideia e que no seu conjunto se designam por disgenesia da tiroideia (agenesia, ectopia ou hipoplasia): (tabela 1)

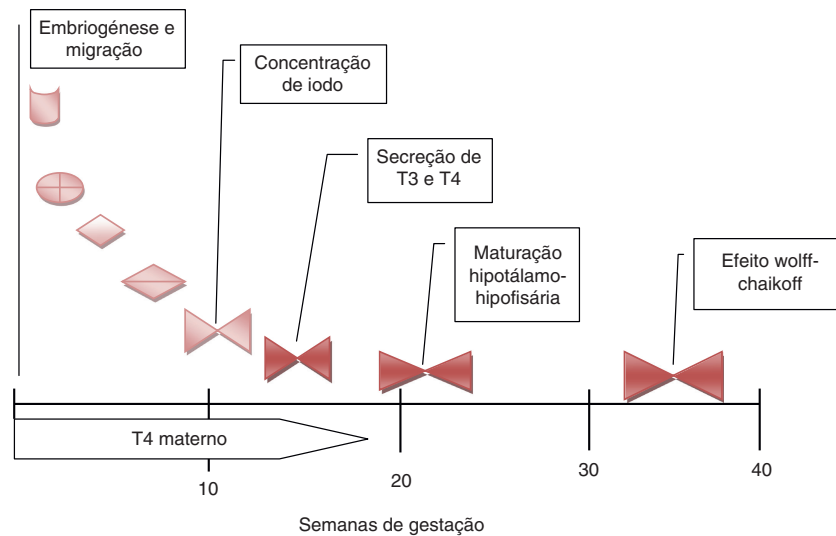


Figura 3. Desenvolvimento e maturação da tireoide fetal durante a gravidez. De salientar a importância das hormonas tiroideas maternas durante o primeiro trimestre da gravidez. A maturação do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide só está completa por volta das 20 semanas. Só muito tardiamente a glândula tiroideia fetal é afetada pela sobrecarga de iodo (T4: tiroxina; T3: triiodotiroxina).

2) As que causam alterações funcionais no processo de síntese das hormonas tiroideas nomeadamente na organificação do iodo (hormonogénese): (tabela 2).

Causas monogénicas de disgenesia da tireoideia

Fazem parte deste grupo os genes que codificam o recetor do TSH e 3 fatores de transcrição, a saber: Thyroid Transcription Factor 1 (TTF-1); Thyroid Transcription Factor 2 (TTF-2) e o fator de transcrição denominado PAX8.

O gene do recetor de TSH codifica uma proteína que ocupa a superfície das células foliculares da tireoideia, mergulhando no interior da membrana até ao citoplasma através de uma estrutura helicoidal. Esta estrutura é responsável não só pela ancoragem da proteína, mas também pela transmissão do sinal da superfície celular para o citoplasma. Do ponto de vista estrutural, o recetor do TSH pertence a uma subfamília de proteínas G que têm em comum a mesma estrutura, isto é, 7 segmentos transmembrana, com 3 ansas intracelulares e 3 extracelulares. O seu domínio extracelular é codificado por 9 exões, enquanto a porção embebida na membrana e a porção intracelular são codificadas apenas por um único

exão. A sequência de eventos despoletada pela ligação do TSH ao seu recetor culmina com o aumento dos níveis de AMPc intracelular, bem como de outros mediadores como GMPc e o fosfolípido C (fig. 4). A primeira família com uma mutação do gene do recetor de TSH foi identificada em 1995³⁴. Desde então múltiplas mutações homozigóticas ou heterozigóticas compostas têm sido descritas em famílias que apresentam fenótipos variáveis. De facto, a resistência ao TSH pode manifestar-se sob a forma de uma elevação isolada da tirotrófina na presença de uma glândula tiroideia normal, até ao extremo oposto, isto é, sob a forma de um HC grave no contexto de uma glândula tiroideia atrófica ou apenas vestigial^{35–37}.

A participação dos fatores de transcrição na embriogénese e migração da glândula tiroideia é exercida fundamentalmente através da ativação dos genes da tiroglobulina, tiroperoxidase (TPO) e da proteína de transporte do iodo («sodium/iodo symporter»), bem como pela sua influência na diferenciação e manutenção das células foliculares da tireoideia, embora esta última ação ocorra através de um mecanismo ainda mal esclarecido³⁸. Estão nestas circunstâncias os fatores de transcrição TTF-1, TTF-2 e o PAX8 (fig. 2).

O TTF-1 faz parte de uma família de fatores de transcrição caracterizada pela existência de um domínio «homeobox» comum a todos

Tabela 2
Causas monogénicas de dishormonogénese

Gene	Localização cromossómica	Número Exões	Número de aminoácidos	Fenótipo	Transmissão genética
SLC5A5 Sodium/Iodo symporter (NIS)	19p13.11	15	643	Hipotiroidismo ligeiro a moderado Bócio nem sempre presente	AR
SLC26A4 (Pendrina)	7q22.3	21	780	Surdez, Bócio	AR
TG (Tiroglobulina)	8q24.2-q24.3	42	2749	Raramente hipotiroidismo Hipotiroidismo congénito Bócio volumoso	AR, D
TPO Tiroperoxidase	2p25.3	17	933	Hipotiroidismo congénito, Bócio	AR
DUOX2 (THOX2) NADPH-oxidase	15q15.3	35	1551	Hipotiroidismo congénito permanente ou transitório nos casos de heterozigotia	AR, D
DUOXA2 (factor de maturação DUOX2)	15q21.1	6	320	Hipotiroidismo congénito, Bócio	AR
IYD (DEHAL1)	6q25.1	5	289	Hipotiroidismo nos primeiros anos de vida Bócio	AR

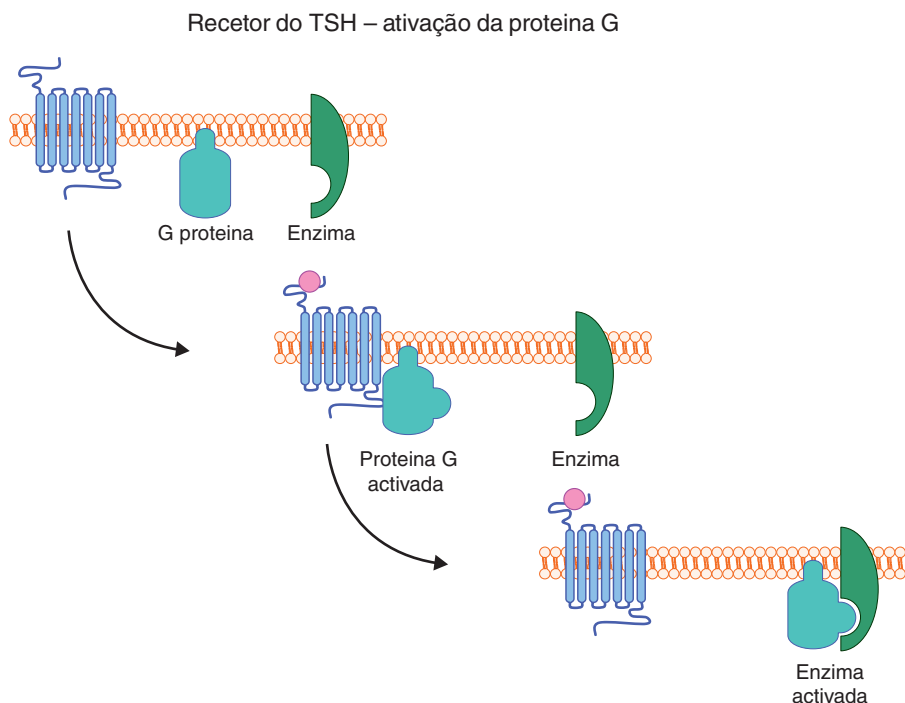


Figura 4. O recetor do TSH uma vez ativado liga-se à proteína G, que por sua vez ativa a cascata enzimática que culmina com o aumento dos níveis intracelulares de AMPc, bem como de fosfolípidos. O TSH influencia não só a produção de hormonas tiroideias, mas também o crescimento e diferenciação da glândula (TSH: Thyroid Stimulating Hormone).

os membros da família. É através deste domínio conservador que os fatores de transcrição desta família se ligam a elementos específicos do DNA³⁹. Na glândula tiroideia o TTF-1 regula a transcrição dos genes da TG e da TPO. Para além da tiroide, a sua expressão tem sido documentada nas células epiteliais do pulmão onde é responsável pela transcrição da proteína do surfatante, bem como no cérebro onde desempenha um importante papel no desenvolvimento do diencefalo⁴⁰. A sua mutação de novo ou transmitida de forma autossómica dominante está associada à síndrome de dificuldade respiratória neonatal por défice de surfatante pulmonar que em simultâneo com as manifestações neurológicas como a hipotonia, disartria, ataxia, coreoatetose e microcefalia fazem parte da trilogia «cérebro-tiroide-pulmão» característica das mutações deste gene⁴¹. Entre estes 3 componentes, as alterações da tiroideia são as menos graves. As lesões mais graves são as pulmonares que podem conduzir à morte por agenesia do pulmão. Por sua vez as manifestações neurológicas são habitualmente ligeiras a moderadas.

O NKX2.5 é outro fator de transcrição que pertence a uma super-família de fatores de transcrição caracterizada pela presença de um domínio «homeobox» na estrutura tridimensional da proteína. Está sobretudo envolvido na embriogénese da tiroide e do miocárdio. Trata-se assim de um forte candidato em casos de HC associado a defeitos cardíacos²⁰.

O TTF-2 é uma fosfolipoproteína pertencente a uma família de fatores de transcrição que inclui na sua estrutura um domínio em cabeça de garfo (ou hélix alada). É através deste domínio que o TTF-2 se liga a sequências específicas do DNA, regulando a transcrição dos genes da TG e da TPO⁴². Até à presente data, são conhecidas apenas 3 mutações, todas elas homocigóticas. As mutações descritas são responsáveis por um quadro clínico florido no qual se incluem a agenesia da tiroideia, fenda palatina, epiglote bifida, cabelo eriçado e atresia das coanas (síndrome de Bamforth-Lazarus)^{43,44}.

O PAX8 é um dos 9 membros de uma família de fatores de transcrição que incluem na sua estrutura um domínio emparelhado através do qual se liga ao DNA^{45,46}. A maioria das mutações até

agora descritas situam-se na região mais conservadora do domínio emparelhado e têm como consequência uma incapacidade de ligação do fator de transcrição ao DNA⁴⁷. O PAX8 promove a transcrição dos genes da TPO, da TG e do transportador de sódio/iodo⁴⁸. Diversos estudos têm demonstrado que a sua ação é imprescindível não só no início da diferenciação das células foliculares da tiroideia, mas também na sua manutenção e proliferação ao longo da vida⁴⁹. Os indivíduos heterocigóticos para mutações do gene PAX8 apresentam habitualmente glândulas tiroideias eutópicas, de dimensões reduzidas ou normais. Em apenas um caso isolado foi sugerida a existência de uma glândula tiroideia ectópica num doente com mutação de PAX8, não tendo, contudo, sido confirmada por cintigrafia⁴⁵. Em outro caso isolado, a glândula tiroideia era normal ao nascer, mas regrediu ao longo dos primeiros anos de vida, dando origem a uma forma de hipotiroidismo não autoimune com início tardio⁵⁰. Em conclusão, as diferentes mutações do gene PAX8 até agora descritas estão associadas a manifestações clínicas muito variáveis, inclusive numa mesma família, sugerindo uma modulação do fenótipo por múltiplos fatores⁵¹. Todos os indivíduos com mutações PAX8 até agora descritos são heterocigóticos para a mutação⁵². Diversas hipóteses têm sido admitidas para justificar a transmissão autossómica dominante da doença em circunstâncias de heterocigotia. A possibilidade da existência de um mecanismo de interação negativa dominante parece pouco provável e foi apenas demonstrado numa mutação⁵³. Estudos de cotransfecção da proteína mutante em simultâneo com a normal não demonstraram qualquer efeito negativo dominante nas restantes mutações já descritas. A expressão monoalélica do gene mutante, associada ou não a um fenómeno de *imprinting* em que subsistem 2 populações diferentes de células tiroideias, é outra alternativa para a qual as evidências laboratoriais existentes são contraditórias⁵⁴. Finalmente, a hipoplasia da tiroideia nos doentes heterocigóticos para mutações PAX8 pode estar relacionada com um fenómeno de dosagem do gene, isto é, o desenvolvimento de uma glândula tiroideia normal, morfológica e funcional requer uma determinada concentração de PAX8⁵⁵.

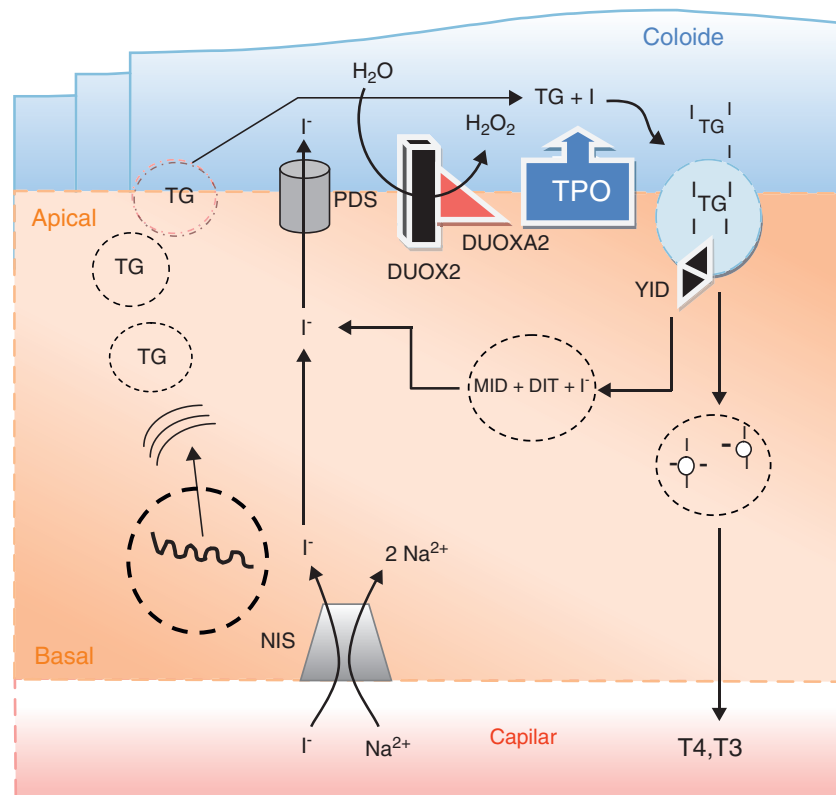


Figura 5. Principais eventos na síntese das hormonas tiroideas e no metabolismo do iodo. O iodo sob a forma de iodeto (I^-) é concentrado ativamente na célula folicular da tiroideia através do transportador sódio/iodo symporter (NIS) localizado na membrana baso-lateral da célula. Uma vez no polo apical da célula, o iodeto passa para o coloide por um processo de difusão facilitada mediado pela pendrina (PDS). A enzima peroxidase (TPO) na presença de peróxido de hidrogénio (H_2O_2) gerado pelo sistema de NADPH-oxidases (DUOX e DUOXA, dual oxidase maturation factors) catalisa a ligação covalente do iodo aos resíduos tirosil da tiroglobulina (TG) e a subsequente formação de mono e diiodotironinas (MIT e DIT). As enzimas lisossomais libertam as hormonas tiroideas ativas T4 (tiroxina) e T3 (triiodotiroxina) da sua matriz. O iodo remanescente é reciclado por ação da desalogenase (YID). A secreção das hormonas tiroideas ativas na circulação dá-se através de um processo de exocitose.

A redução dos níveis de PAX8 por inativação de um dos alelos (haploinsuficiência) produz um desempenho funcional menos eficiente do PAX8 na transcrição dos genes alvo, incluindo os genes envolvidos na proliferação e diferenciação celular das células da tiroideia⁵⁶.

A associação de mutações do PAX8 com agenesia renal unilateral tem sido raramente descrita^{52,57}. A expressão da proteína PAX8 foi demonstrada em fases muito precoces do desenvolvimento embrionário da glândula tiroideia. O mesmo se tem verificado durante o desenvolvimento renal, o que sugere que o PAX8 pode ter um papel relevante na embriogénese renal, tal como o PAX2⁵⁸. Por sua vez, a expressão do PAX8 tem sido documentada em células de tumores de origem renal^{59,60}. Este achado parece indicar que o processo de indiferenciação das células tumorais pode induzir a expressão de proteínas características das células embrionárias, constituindo assim mais uma evidência do papel do PAX8 na embriogénese renal.

As mutações no gene GLIS3 são uma causa rara de diabetes neonatal e HC. Estudos recentes demonstram uma grande variabilidade fenotípica, ocorrendo muitas vezes fibrose hepática, displasia poliúística renal, glaucoma, dismorfismos faciais e alterações esqueléticas. Os mecanismos fisiopatológicos envolvidos no hipotireoidismo ainda não estão bem esclarecidos, no entanto, parecem estar relacionados com uma resistência parcial ou completa ao TSH.

Causas monogénicas de dishormonogénese

A função do eixo hipotálamo-hipofisário-tiroideia é providenciar hormonas tiroideas em quantidades adequadas às necessidades do organismo. Este objetivo pressupõe a plena integridade e funcionalidade de todo o eixo, bem como a existência

de matéria-prima com especial relevância para o iodo. O processo designado por hormonogénese, tem início com o transporte do iodo para o interior das células foliculares da tiroideia e culmina com a libertação de hormonas ativas na circulação (fig. 5).

O iodo, sob a forma de iodeto, é transportado ativamente da corrente sanguínea para as células foliculares da tiroideia em simultâneo com o sódio na proporção de 1:2, isto é, $I^-/2Na^+$. Este processo é mediado por um transportador localizado na membrana basal da célula folicular designado por sódio-iodo «symporter» (NIS). O NIS é uma glicoproteína de 643 aminoácidos codificado pelo gene SLC5A5⁶¹. O processo de transporte utiliza um gradiente eletroquímico gerado pelas Na/K-ATPases. A expressão do transportador é modulada pelo TSH e pelo iodo agindo quer a nível da transcrição do gene quer sobre a sua translação⁶². O TSH via AMPc estimula a expressão de NIS, não estando contudo documentada uma ação reguladora sobre a sua atividade. Por sua vez, o iodo tem um efeito inibitório conhecido por efeito Wolff-Chaikoff que regula a disponibilidade intracelular deste oligoelemento em situações de excesso de oferta. O mecanismo subjacente é complexo e mediado por múltiplos genes, bem como por diversas proteínas existentes no citoplasma da célula folicular^{63,64}. Este efeito inibitório é, no entanto, autolimitado e dá lugar ao chamado fenómeno de escape, 2-3 semanas após o início da sobrecarga iodada. Apesar de ter uma elevada afinidade para o iodo, o NIS pode também transportar outros iões. Cátions de grandes dimensões como o perclorato inibem a concentração de iodo na tiroideia uma vez que competem para o mesmo transportador⁶⁵. Tendo em conta este efeito, o perclorato bem como os tiocianatos foram utilizados no tratamento do hipertireoidismo, mas posteriormente abandonados em virtude da sua elevada toxicidade. O perclorato continua, no entanto, a

ser utilizado em provas funcionais. Na presença de um defeito de organificação de iodo, uma parte substancial do iodo radioativo administrado por via oral ou intravenosa permanece livre na glândula tiroideia. A administração subsequente de perclorato origina uma descarga na corrente sanguínea do iodo não organificado com a consequente diminuição da radioatividade da glândula. Numa tiroideia normal a radioatividade mantém-se estável uma vez que grande parte do iodo administrado é imediatamente organificado. Este é o fundamento do chamado teste de descarga do perclorato usado na avaliação dos défices de organificação do iodo⁶⁶.

A presença de NIS tem sido documentada em muitos outros órgãos para além da tiroideia nomeadamente nas glândulas salivares e na mucosa gástrica, mas a sua existência na glândula mamária é particularmente relevante, uma vez que permite a concentração de iodo no leite materno disponibilizando ao recém-nascido um suplemento adequado deste oligoelemento⁶². A primeira mutação homocigótica deste gene foi descrita em 1977⁶¹. Desde então têm sido descritas muitas outras mutações transmitidas de uma forma autossómica recessiva. Todas elas cursam habitualmente com bócio e hipotiroidismo cuja gravidade é muito variável e nem sempre evidente. A manifestação mais característica nos doentes com mutações deste gene, é a ausência de captação de iodo radioativo na gamagrafia da tiroideia, semelhante ao que acontece na atireose e com a qual pode ser confundida. A existência de um quociente baixo, próximo da unidade, na relação iodo na saliva versus no plasma é outra alteração característica da doença⁶⁷. Em muitos casos de hipotiroidismo provocados pela mutação do gene SLC5A5 a suplementação de iodo pode ser suficiente para a normalização da função tiroideia, pelo que quer o bócio quer o hipotiroidismo são mais comuns nas regiões com carência de iodo⁶⁸.

Quando atinge a zona apical da célula folicular, o iodo ainda sob a forma de iodeto é exportado de forma passiva para o folículo tiroideu através de uma proteína de transporte conhecida por pendrina (PDS). A PDS é uma glicoproteína com 780 aminoácidos codificada pelo gene SLC26A4⁶⁹. Funciona como transportador de iodeto na membrana apical da célula folicular, bem como no ouvido interno e rim. Neste último órgão tem um papel relevante na regulação do metabolismo ácido/base intervindo nas trocas de cloro e bicarbonato⁷⁰. A PDS desempenha também um papel importante na cóclea assegurando a manutenção do pH da endolinfa que é o veículo de transmissão dos potenciais endococleares gerados pelos estímulos sonoros⁷¹. As mutações do gene SLC26A4 cuja incidência, tendo por base estudos efetuados na Inglaterra, é de 1:600.000 nados vivos, originam a síndrome de Pendred descrita pela primeira vez em 1896. A doença é transmitida de forma autossómica recessiva e caracteriza-se pela coexistência de surdez neurosensorial e bócio. Só muito raramente estes doentes são detetados pelo rastreio neonatal do HC, sendo a principal manifestação da doença e aquela que em primeiro lugar chama a atenção médica⁷². De facto, cerca de 10% dos casos de surdez congénita são provocados por mutações da PDS que são no seu conjunto responsáveis por cerca de 80% dos casos de surdez sindromática, isto é, surdez congénita associada a outras alterações morfológicas ou funcionais, nomeadamente da tiroideia⁷³. Caracteristicamente estes doentes exibem uma dilatação do ducto e do saco endolinfático visível nos exames morfológicos, nomeadamente na ressonância magnética. O chamado defeito de Mondini que consiste na substituição dos canais cocleares por uma cavidade única é menos comum^{74,75}. O bócio manifesta-se habitualmente durante a segunda década de vida e pode ser difuso ou nodular. Apesar de apresentarem níveis de TSH no limite superior do normal, raramente estes doentes evoluem para hipotiroidismo, que tal como o bócio é mais frequente nas regiões com carência de iodo. Este efeito modulador do iodo na expressão fenotípica da doença é a explicação mais plausível para o facto de cerca de 50% das mutações do gene SLC26A4 até agora descritas não apresentarem alterações

da tiroideia, manifestando-se apenas por surdez (surdez congénita não sindromática)⁷⁶.

O constituinte mais abundante no coloide é a TG, uma proteína extensa, das mais extensas do organismo humano, sintetizada nos ribossomas da célula folicular sob a forma de uma pré-molécula com 2.749 aminoácidos e que atinge os ácinos através de um processo de exocitose⁷⁷. Cada molécula de TG contém cerca de 120 resíduos de tirosina que uma vez organificados dão origem a 4 a 6 moléculas de hormonas tiroideias, pelo que podemos considerar a TG como um molde no processo de síntese das hormonas tiroideias⁷⁸.

As mutações deste gene manifestam-se por HC com bócios habitualmente volumosos e com níveis circulantes baixos ou indeseáveis de tiroglobulina⁷⁸. Uma particularidade destes doentes é apresentarem níveis de T3 livre proporcionalmente mais elevados que os de T4 livre, o que supostamente depende de uma maior atividade intratiroideia da desidrase tipo 2^{79,80}. A imagem cintigráfica da tiroideia é habitualmente normal uma vez que o processo de organificação do iodo pode, em alternativa à tiroglobulina, utilizar outras proteínas intracelulares ou intrafoliculares, como por exemplo a albumina. As alterações da estrutura tridimensional da molécula provocadas pelas mutações do gene da TG, particularmente aquelas que afetam os resíduos de cisteína, originam a sua retenção sob a forma de agregados no retículo endoplasmático da célula folicular da tiroideia e que do ponto de vista morfológico são em tudo semelhantes a uma doença de acumulação do retículo endoplasmático^{81–83}.

A TPO é uma hemo-proteína glicosilada com 933 aminoácidos ancorada na membrana apical das células foliculares. Esta enzima participa nos processos de oxidação do iodo (conversão de iodeto em iodo), na sua organificação (ligação covalente do iodo aos resíduos tirosil da tiroglobulina) e na fusão das iodotirosinas dando origem às iodotironinas⁸⁴. A primeira mutação foi descrita ainda nos anos 90⁸⁵. Ao longo das últimas 2 décadas muitas outras mutações têm sido detetadas em doentes com HC, o que faz deste gene o principal candidato nos casos de dishormonogénese com défice de organificação de iodo e níveis elevados de TG circulante^{86–88}. Tal como nos anteriores genes, a manifestação da doença requer a inativação de ambos os alelos. Em circunstâncias particulares de HC foi encontrada uma mutação de apenas um alelo, especulando-se que possa existir uma mutação intrónica do alelo contralateral^{89–91}. Não está, contudo, excluída a manifestação da doença em casos de heterozigotia, quer sob a forma efetiva quer aumentado a suscetibilidade para outros fatores, incluindo outras mutações genéticas⁸³.

As NADPH oxidases tiroideias (THIOX1 e 2) são enzimas que participam na formação do peróxido de hidrogénio, imprescindível aos processos de oxidação catalisados pela TPO⁹². Os 2 genes até agora descritos DUOX1 e 2 (dual oxidases) estão separados por um segmento de DNA com 16Kb. A DUOX1 e 2 partilham cerca de 83% dos aminoácidos, no entanto, a DUOX1 parece ter um papel menor na geração de peróxido de hidrogénio na glândula tiroideia. A DUOX2 é uma glicoproteína composta por 1.548 aminoácidos com múltiplos domínios intramembranares na região apical da célula folicular⁹³. Ao contrário da maioria dos casos de dishormonogénese, as mutações heterozigóticas da DUOX2 podem ser suficientes para a manifestação da doença, habitualmente sob a forma de hipotiroidismo transitório neonatal, quando as necessidades de hormonas tiroideias são relativamente elevadas^{94–96}. A reavaliação posterior destes doentes, após suspensão da levotiroxina tem revelado uma função tiroideia consistentemente normal, exceto em situações como a gravidez em que a necessidade de hormonas tiroideias está de novo aumentada. Em circunstâncias de inativação bialélica do gene DUOX2 tem sido demonstrada uma capacidade residual de produção de hormonas tiroideias ativas, pensa-se que por ação da DUOX1. Admite-se

Tabela 3

Abordagem do hipotiroidismo congénito

ABORDAGEM INICIAL IMEDIAMENTE APÓS A REFERENCIAÇÃO História clínica e exame objetivo detalhados Colheita de sangue venoso para determinação de TSH e T4 livre Ecografia
EM CASO DE CONFIRMAÇÃO DO HIPOTIROIDISMO CONGÉNITO Levotiroxina 10–15 µg/kg de peso per os, uma vez por dia
MONITORIZAÇÃO Reavaliar TSH e T4 livre - Às 2 e 4 semanas após o início do tratamento - De 2 em 2 meses nos primeiros 6 meses - De 3 em 3 meses até aos 3 anos - Semestral/Anual até ao final do crescimento
OBJETIVO DA TERAPÊUTICA Normalizar o TSH e manter o T4 livre na metade superior do intervalo de referência

ainda que o iodo possa exercer uma ação moduladora sobre estes genes, pelo que a sua expressão pode ser influenciada por fatores ambientais como a disponibilidade em iodo⁹⁷.

No processo de geração do peróxido de hidrogénio participam ainda 2 cofatores designados por fatores de maturação e que são codificados pelos genes denominados DUOX1 e 2 (dual oxidase maturation factors)⁹⁸. Estes genes ocupam uma posição intermédia entre os genes DUOX 1 e 2 e estão organizados em unidades funcionais com as respetivas oxidases⁹⁵. Codificam uma proteína que intervém no processo de maturação e transição da DUOX1 e 2 do retículo endoplasmático para o complexo Golgi, bem como na sua posterior translocação para a membrana apical. Ao contrário do gene da DUOX 2, a manifestação clínica da doença sob a forma de HC ocorre apenas em situações de inativação bialélica do gene DUOX2⁹⁹.

Através de um processo de pinocitose, a triiodotironina e a tiroxina ainda acopladas à TG penetram no citoplasma da célula folicular onde se fundem com os lisossomas. São as enzimas lisossomais que libertam as hormonas tiroideias da tiroglobulina, sendo de seguida exportadas para a corrente sanguínea através da membrana basal. O iodo remanescente que permanece ligado à TG sob a forma de mono e diiodotirosinas é então reciclado pela ação da enzima IYD (dehalogenase) localizada na membrana apical da célula folicular, bem como na membrana lisossomal¹⁰⁰. O défice desta enzima origina uma excreção urinária aumentada de iodo sob a forma de mono e diiodotirosinas com a consequente depleção de iodo, que se pode manifestar ainda durante os primeiros anos de vida sob forma de hipotiroidismo e bôcio¹⁰¹. Caracteristicamente estes doentes apresentam uma fixação rápida e intensa do iodo radioativo nos cintigramas precoces da tiroideia, mas com um declínio também acelerado, traduzindo um «turnover» aumentado do iodo. As mutações deste gene até agora descritas transmitem-se de forma autossómica recessiva.

Tratamento do hipotiroidismo congénito

Abordagem inicial

Após a confirmação do HC, o recém-nascido deve iniciar de imediato a terapêutica com levotiroxina (tabela 3). O objetivo é normalizar a T4 em 2 semanas e o TSH em um mês¹⁰². A dose inicial de levotiroxina recomendada é de 10–15 µg/kg dependendo da gravidade do HC. A administração «per os» de 50 µg/dia de levotiroxina é suficiente para normalizar a T4 livre em 3 dias e o TSH em cerca de 2 semanas. A normalização do TSH pode eventualmente ser mais demorada, atendendo a que existe uma resistência relativa da hipófise durante os primeiros meses de vida como consequência do hipotiroidismo durante a gravidez. O comprimido de levotiroxina deve ser triturado e dissolvido em alguns ml de leite ou água. Deve

evitar-se a administração simultânea de soja, fibras ou de fármacos como o cálcio e o ferro. A amamentação deve prosseguir normalmente. A T4 livre deve ser mantida no limite superior do normal e o TSH no limite inferior do normal, durante os primeiros 3 anos de tratamento. É fundamental monitorizar a função tiroideia, atendendo a que crianças com níveis de T4 l abaixo do limite inferior normal têm um desenvolvimento psicomotor subótimo. Níveis de T4 acima destes limites estão associados a alterações de comportamento e a casos de craniosinostose. Na maioria dos casos a elevação persistente do TSH é devida a uma fraca adesão à terapêutica. De salientar que 4 ou mais determinações de TSH com valores superiores a 6 mU/L durante os primeiros 6 meses de vida, estão associados a um atraso escolar relevante. Neste sentido, a terapêutica com levotiroxina no recém-nascido deve ser ajustada de uma forma rigorosa e as eventuais causas de má absorção intestinal ou de fraca adesão ao tratamento devem ser discutidas com os progenitores da criança. Fármacos como o ferro ou cálcio, alimentos ricos em fibras e a soja, são as causas mais frequentes de uma deficiente absorção intestinal da levotiroxina. Por sua vez, os anticonvulsivantes aceleram a degradação da levotiroxina. Por este motivo, nas crianças com epilepsia a dose de levotiroxina deve ser mais elevada. Em circunstâncias raras como nos hemangiomas de grandes dimensões em que atividade de desidase da T4 em T3 está aumentada, os valores de T4 podem manter-se baixos, mas com uma T3 livre elevada. Só nestas circunstâncias está indicada a determinação simultânea do T4 e T3 livres na avaliação da terapêutica com levotiroxina no recém-nascido.

Seguimento

O desempenho intelectual e o desenvolvimento físico nos doentes com HC adequadamente tratados são semelhantes ao das outras crianças e adultos¹⁰³. Todos os esforços devem ser feitos no sentido de que este objetivo seja concretizado. A avaliação clínica dos recém-nascidos com HC e a monitorização da função tiroideia deve ser feita às 2 e 4 semanas após o início do tratamento, de 2 em 2 meses até aos 6 meses de idade e a cada 3 meses durante os primeiros 3 anos de vida, altura em que as avaliações periódicas podem ser espaçadas para intervalos de 6 meses até ao final do crescimento. Os intervalos recomendados para a avaliação da função tiroideia estão resumidos no tabela 3. Como referido anteriormente, o HC está associado a uma percentagem muito mais elevada de malformações congénitas do que a população em geral, isto é, cerca de 3 vezes mais. Entre as mais frequentes estão as malformações cardiovasculares incluindo a estenose pulmonar e os defeitos do septo auricular e ventricular. Qualquer suspeita clínica deve ser investigada com recurso aos exames complementares adequados. O estrabismo bem como a surdez neurosensorial são também mais comuns nos doentes com HC e devem ser rastreados logo que possível. As malformações génito-urinárias merecem também particular atenção no contexto dos HC provocados por mutações do gene PAX8.

Avaliação do hipotiroidismo permanente

A presença de uma tiroideia ectópica num recém-nascido garante-nos que o hipotiroidismo é permanente. Quando a causa de HC não é evidente após a realização dos exames morfológicos e os valores de TSH se mantêm normais ao longo de todo o período neonatal, a administração de levotiroxina deve ser suspensa durante um mês, após os 3 anos de idade. Se após um mês sem terapêutica o valor da T4 livre descer para valores abaixo do normal em simultâneo com uma subida do TSH confirma-se a presença de hipotiroidismo permanente e o tratamento com levotiroxina é reiniciado. Se pelo contrário a TSH e a T4 livre se mantiverem normais,

o diagnóstico de hipotireoidismo transitório é então o mais provável e a terapêutica com levotiroxina deve ser suspensa. Nesta última situação é da maior importância que a criança mantenha um seguimento regular e que os testes de função tiroideia sejam repetidos periodicamente. A terapêutica deve ser reinstituída caso seja detetada uma subida do TSH, mesmo que ligeira. Nos casos em que após a suspensão da terapêutica os valores de T4 livre e TSH sejam inconclusivos, a opção é reiniciar o tratamento e reavaliar periodicamente.

Conclusões

Com o advento do rastreio neonatal, o HC é hoje uma doença facilmente diagnosticada e com uma terapêutica eficaz capaz de prevenir as sequelas *major* da doença.

Nunca é de mais realçar que algumas formas HC podem escapar ao diagnóstico precoce. É o caso dos HC de causa central que cursam com hipotireonemia, mas com valores TSH baixos ou indeseáveis. Esta situação é particularmente relevante nos recém-nascidos prematuros, atendendo a que nestas circunstâncias a subida do TSH pode demorar algumas semanas ou até meses. É justamente por isso que tem sido equacionada a necessidade de realização de um segundo teste de rastreio nos recém-nascidos prematuros não referenciados, entre 2–4 semanas após o primeiro. Em conclusão, o facto de um recém-nascido não ter sido referenciado não é uma condição «*sine qua non*» para isentá-lo de patologia tiroideia, pelo que os clínicos devem manter-se atentos para a possibilidade da ocorrência de HC ou de outras formas de hipotireoidismo com início na infância, não necessariamente de origem congénita, em particular na avaliação de situações de má progressão estatural-ponderal e de atraso no desenvolvimento psicomotor.

Uma vez diagnosticado o HC, a terapêutica com levotiroxina, deve ser iniciada o mais precocemente possível, numa dose de 0,10-0,15 mcg/kg/dia, capaz de normalizar a T4 livre e o TSH em 2–4 semanas. A monitorização subsequente da função tiroideia deve ser enquadrada num plano de «*follow-up*» destes doentes com consultas regulares programadas a cada 3 meses, até pelo menos aos 3 anos de idade. Finalmente, uma chamada de atenção para a necessidade do despiste de malformações congénitas nos casos de HC, uma vez que a sua incidência nestes doentes é cerca de 3 vezes superior à da população em geral.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

- Zoeller RT, Rovet J. Timing of thyroid hormone action in the developing brain: Clinical observations and experimental findings. *J Neuroendocrinol*. 2004;16:809–18.
- Porterfield SP, Hendrich CE. The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development—current perspectives. *Endocr Rev*. 1993;14:94–106.
- Cao XY, Jiang XM, Dou ZH, Rokeman MA, Zhang MI, O'Donnell K, et al. Timing of vulnerability of brain to iodine deficiency in endemic cretinism. *N Engl J Med*. 1994;331:1739–44.
- Chan S, Kilby MD. Thyroid hormone and central nervous system development. *J Endocrinol*. 2000;165:1–8.
- Klein RZ, Mitchell ML. Hypotireoidism in infants and children. In: Werner and Ingbar's *The Thyroid: a fundamental and clinical text*. 7th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p. 984–1008.
- Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting PKU in large populations of newborn infants. *Pediatrics*. 1963;32:338–43.
- Klein AH, Agustin AV, Foley TP. Successful laboratory screening for congenital hypothyroidism. *Lancet*. 1974;304:77–9.
- Dussault JH, Coulombe P, Laberge C, Letarse J, Guyda H, Khoury K. Preliminary report on a mass screening program for neonatal hypothyroidism. *J Pediatr*. 1975;86:670–4.
- Fisher DA, Dussault JH, Foley Jr TP, Klein AH, LaFranchi S, Larsen PR, et al. Screening for congenital hypothyroidism: Results of screening one million North American infants. *J Pediatr*. 1979;94:700–5.
- Vaz Osório R, Vilarinho L, Pires Soares J. Rastreio nacional da fenilcetonúria, hipotireoidismo congénito e hiperplasia congénita das suprarrenais. *Acta Med Port*. 1992;5:131–4.
- Vaz Osório R, Vilarinho L, Pires Sousa J, Almeida M, Carmona C, Martins E. Programa Nacional de Diagnóstico Precoce – 20 anos de rastreio neonatal. *Arq Med*. 1999;13:163–8.
- Rose SR, Brown RS. Update of newborn screening and therapy for congenital hypothyroidism. *Pediatrics*. 2006;117:2290–303.
- Dussault JH, Morissette J. Higher sensitivity of primary thyrotropin in screening for congenital hypothyroidism: A myth? *J Clin Endocrinol Metab*. 1983;56:849–52.
- Rapaport R. Congenital hypothyroidism: An evolving common clinical condition. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:4223–5.
- Osório RV, Vilarinho L. Programa nacional de diagnóstico precoce: Relatório de 2010 [acessado 1 Mai 2013]. Disponível em: www.diagnostico precoce.org
- Bubuteishvili L, Garel C, Czernichow P, Leger J. Thyroid abnormalities by ultrasonography in neonates with congenital hypothyroidism. *J Pediatr*. 2003;1:759–64, 43.
- Ohnishi H, Sato H, Noda H, Inomata H, Sasaki N. Color doppler ultrasonography: Diagnosis of ectopic thyroid gland in patients with congenital hypothyroidism caused by thyroid dysgenesis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:5145–9.
- DeLange F, Burgi H, Chen ZP, Dunn JT. World status of monitoring iodine deficiency disorders control programs. *Thyroid*. 2002;12:915–24.
- Olney RS, Grosse SD, Vogt Jr RF. Prevalence of congenital hypothyroidism—current trends and future directions: Workshop summary. *Pediatrics*. 2010;125 Suppl 2:S31–6.
- Park SM, Chatterjee VKK. Genetics of congenital hypothyroidism. *J Med Genet*. 2005;42:379–89.
- Kopp P. Perspective: Genetic defects in the etiology of congenital hypothyroidism. *Endocrinology*. 2002;143:2019–24.
- Gruters A, Biebermann H, Krude H. Neonatal thyroid disorders. *Horm Res*. 2003;59 Suppl 1:24–9.
- Van Wassenae AG, Kok JH, Briet JM, Pijning AM, de Vijlder JJ. Thyroid function in very preterm newborns: Possible implications. *Thyroid*. 1999;9:85–91.
- Perry R, Heinrichs C, Bourdoux P. Discordance of monozygotic twins for thyroid dysgenesis: Implications for screening and for molecular pathophysiology. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:4072–7.
- Grant DB, Smith I. Survey of neonatal screening for primary hypothyroidism in England, Wales, and Northern Ireland 1982–84. *Br Med J*. 1988;296:1355–8.
- Olivieri A, Stazi MA, Mastroiacovo P, Fazzini C, Medda E, Spagnolo A, et al. A population-based study on the frequency of additional congenital malformations in infants with congenital hypothyroidism: Data from Italian Registry for Congenital Hypothyroidism (1991–1998). *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:557–62.
- Law WY, Bradley DM, Lazarus JH, John R, Gregory JW. Congenital hypothyroidism in Wales (1982–1993): Demographic features, clinical presentation and effects on early development. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1988;48:201–7.
- Thorwarth A, Mueller I, Biebermann H, Ropers HH, Grueters A, Krude H, et al. Screening Chromosomal aberrations by array comparative genomic hybridization in 80 patients with congenital hypothyroidism and thyroid dysgenesis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:3446–52.
- Chanoine JP, Bourdoux P, Delange F. Congenital anomalies associated with hypothyroidism. *Arch Disease Children*. 1986;61:1147–8.
- Castanet M, Polak M, Banaiti-Pellie C, Lyonnet S, Czernickow P, Leger J. Nineteen years of national screening for congenital hypothyroidism: Familial cases with thyroid dysgenesis suggest the involvement of genetic factors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:2009–14.
- Devos H, Rodd C, Gagne N. A search for the possible molecular mechanisms of thyroid dysgenesis: Sex ratio and associated malformations. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:2502–6.
- Vassart G, Dumont JE. Thyroid dysgenesis: Multigenic or epigenetic or both? *Endocrinology*. 2005;146:5035–7.
- Deladoey J, Vassart G, van Vliet G. Possible non-Mendelian mechanisms of thyroid dysgenesis. *Endocr Dev*. 2011;21:13–8.
- Sunthornthevarakul T, Gottschalk ME, Hayashi Y, Refetoff S. Brief report: Resistance to thyrotropin caused by mutations in the thyrotropin-receptor gene. *N Engl J Med*. 1995;332:155–60.
- Vassart G, Dumont J. The thyrotropin receptor and regulation and the regulation of thyroid function and growth. *Endocr Rev*. 1992;13:596–611.
- Abramowicz MJ, Duprez L, Parma J, Vassart G, Heinrich C. Familial congenital hypothyroidism due to inactivating mutation of the thyrotropin receptor causing profound hypoplasia of the thyroid gland. *J Clin Invest*. 1977;99:3018–34.
- Alberti L, Proverbio MC, Costagliola S, Romoli R, Boldrighini B, Vigone MC, et al. Germline mutations of TSH receptor gene as cause of nonautoimmune subclinical hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:2549–55.
- De Felice M, di Lauro R. Thyroid development and its disorders: Genetics and molecular mechanisms. *Endocr Rev*. 2004;25:722–46.
- De Felice M, Damante G, Zannini M, Francis-Lang H, di Lauro R. Redundant domains contribute to the transcriptional activity of the thyroid transcription factor 1 (TTF-1). *J Biol Chem*. 1995;270:26649–56.
- Lazzaro D, Price M, Felice M, Lauro R. The transcription factor TTF-1 is expressed at the onset of thyroid and lung morphogenesis and in restricted regions of the fetal brain development. *Development*. 1991;113:1093–104.

41. Willemsen MA, Breedveld S, Wouda S, Otten BJ, Yntema JL, Lammens M, et al. Brain-Thyroid-Lung syndrome: A patient with severe multi-system disorder due to a de novo mutation in the thyroid transcription factor 1 gene. *Eur J Pediatr.* 2005;164:28–30.
42. Zannini M, Avantaggiato V, Biffali E, Arnone MI, Sato K, Pishetola M, et al. TTF-2 a new forkhead protein, shows a temporal expression in the developing thyroid which is consistent with a role in controlling the onset of differentiation. *EMBO J.* 2001;16:3185–97.
43. Doyle, Gonzalez I, Thomas B, Scavina M. Autosomal dominant transmission of congenital hypothyroidism, neonatal distress and ataxia caused by a mutation of NKX2-1. *J Pediatr.* 2004;145:190–3.
44. Krude H, Schutz, Biebermann H, von Moers Schnabel D, Neitzel H, Tonnies H, et al. Choreoathetosis, hypothyroidism and pulmonary alterations due to human NKX2-1 haploinsufficiency. *J Clin Invest.* 2002;109:475–80.
45. Damante G. Thyroid defects due to Pax8 gene mutations. *Eur J Endocrinol.* 1998;139:563–6.
46. Macchia PE, Lapi P, Krude H, Pirro MT, Missero C, Chiovato L, et al. PAX8 mutations associated with congenital hypothyroidism caused by thyroid dysgenesis. *Nat Genet.* 1998;18:83–6.
47. Zannini M, Francis-Lang H, Plachov D, di Lauro L. Pax-8, a paired domain-containing protein, binds to a sequence overlapping the recognition site of a homeodomain and activates transcription from two thyroid-specific promoters. *Mol Cell Biol.* 2004;12:4230–41.
48. Jo W, Ishizu K, Fujieda K, Tajima T. Congenital hypothyroidism caused by a PAX8 gene mutation manifested as sodium/iodide symporter gene defect. *J Thyroid Res.* 2010;619013 (doi:10.4061/2010/619013).
49. Pasca di Magliano M, di Lauro R, Zannini M. Pax8 has a key role in thyroid cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97:13144–9.
50. Gongdon T, Mguyen LQ, Nogueira CR, Habiby RL, Medeiros-Neto G, Kopp P. A novel mutation (Q40P) in PAX8 associated with congenital hypothyroidism and thyroid hypoplasia: Evidence for phenotypic variability in mother and child. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:3962–7.
51. Taji EA, Biebermann H, Limanova Z, Hnikova O, Zikmund J, Dame C, et al. Screening for mutations in transcription factors in a Czech cohort of 170 patients with congenital and early-onset hypothyroidism: Identification of a novel PAX8 mutation in dominantly inherited early-onset non-autoimmune hypothyroidism. *Eur J Endocrinol.* 2007;156:521–9.
52. Meeus L, Gilbert B, Rydlewski C, Parma J, Roussie AL, Abramowicz M, et al. Characterization of a novel loss of function mutation of PAX8 in a familial case of congenital hypothyroidism with in-place, normal-sized thyroid. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:4285–91.
53. Grasberger H, Ringknanont U, LeFrancois P, Abramowicz M, Vassart G, Refetoff S. Thyroid transcription factor 1 rescues PAX8/p300 synergism impaired by a natural PAX8 paired domain with dominant negative activity. *Mol Endocrinol.* 2005;19:1779–91.
54. Vilain C, Rydlewski C, Duprez L, Heinrichs C, Abramowicz M, Malvaux P. Autosomal dominant transmission of congenital thyroid hypoplasia due to loss-of-function mutation of PAX8. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:234–8.
55. Seidman JG, Seidman C. Transcription factor haploinsufficiency: When half a loaf is not enough. *J Clin Invest.* 2002;109:451–5.
56. Narumi S, Araki S, Hori N, Muroya K, Yamamoto Y, Asakura Y, et al. Functional characterization of four novel PAX8 mutations causing congenital hypothyroidism: New evidence for haploinsufficiency as a disease mechanism. *Eur J Endocrinol.* 2012;167:625–32.
57. Krude H, Macchia PE, di Lauro R, Gruters A. Familial hypothyroidism due to thyroid dysgenesis caused by dominant mutations of the PAX8 gene. In: 37th Annual Meeting of the European Society for Pediatric Endocrinology. 1998.
58. Bouchard M, Souabni A, Mandler M, Neubuser A, Busslinger M. Nephric lineage specification by Pax2 and Pax8. *Genes Dev.* 2002;16:2958–70.
59. Tong GX, Memeo L, Colarossi C, Hamele-Bena D, Magi-Galluzzi C, Zhou M, et al. PAX8 and PAX2 immunostaining facilitates the diagnosis of primary epithelial neoplasms of the male genital tract. *Am J Pathol.* 2011;35:1473–83.
60. Knoepp SM, Kunju LP, Roh MH. Utility of PAX8 and PAX2 immunohistochemistry in the identification of renal cell carcinoma in diagnostic. *Cytology.* 2012;40:667–72.
61. Dai G, Levy O, Carrasco N. Cloning and characterization of the thyroid hormone transporter. *Nature.* 1996;379:458–60.
62. Dohan O, de la Vieja A, Paroder V, Riedel C, Artani M, Reed M, et al. The sodium/iodide symporter (NIS): Characterization, regulation, and medical significance. *Endocr Rev.* 2003;24:48–77.
63. Wolff J, Chaikoff IL. Plasma inorganic iodide as a homeostatic regulator of thyroid function. *J Biol Chem.* 1948;174:555–64.
64. Eng PH, Cardona GR, Fang SL, Previti M, Alex S, Carrasco N. Escape from the acute Wolff-Chaikoff effect is associated with a decrease in thyroid sodium/iodide symporter messenger ribonucleic acid and protein. *Endocrinology.* 1999;140:3404–10.
65. Carrasco N. Iodide transport in the thyroid gland. *Biochim Biophys Acta.* 1993;1154:65–82.
66. Baschieri L, Benedetti G, Deluca F, Negri M. Evaluation and limitations of the perchlorate test in the study of thyroid function. *J Clin Endocrinol Metab.* 1963;23:786–91.
67. Grasberger H, Refetoff S. Congenital defects of thyroid hormone synthesis. In: Refetoff S, Weiss R, editors. Genetic diagnosis of endocrine disease, vol. 1. Elsevier; 2014. p. 87–95.
68. Kasugi S, Sato Y, Matsuda A, Ohyama Y, Fujieda K, Inomata H, et al. High prevalence of T354P sodium/iodide symporter gene mutation in Japanese patients with iodide transport defect who have heterogeneous clinical pictures. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:4123–9.
69. Everett LA, Glaser B, Beck JC, Idol JR, Buchs A, Heyman M, et al. Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nat Genet.* 1997;17:411–22.
70. Royaux IE, Wall SM, Karniski LP, Everett LA, Susuki K, Knepper MA, et al. Pendrin, encoded by the Pendred syndrome gene, resides in the apical region of renal intercalated cells and mediates bicarbonate secretion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98:4221–6.
71. Everett LA, Belyantseva IA, Noben-Trauth K, Cantos R, Chen A, Thakkar SI, et al. Targeted disruption of mouse of mouse Pds provides insight about inner-ear defects encountered in Pendred syndrome. *Hum Mol Genet.* 2001;10:153–61.
72. Kopp P, Presce L, Solis SJ. Pendred syndrome and iodide transport in the thyroid. *Trends Endocrinol Metab.* 2008;19:260–8.
73. Reardon W, Trembath RC. Pendred syndrome. *J Med Genet.* 1996;33:1037–40.
74. Reardon W, O'Mahoney CF, Trembath P, Jan H, Phelps PD. Enlarged vestibular aqueduct: A radiological marker of Pendred syndrome and mutation of PDS gene. *QJM.* 2000;93:99–104.
75. Fugazzola L, Mannavola D, Ceruti N, Maghnie M, Pagella F, Bianchi P, et al. Molecular analysis of the Pendred syndrome gene and magnetic resonance imaging studies of the inner ear are essential for the diagnosis of true Pendred' syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2469–75.
76. Reardon W, Coffey R, Phelps PD, Luxon LM, Stephens D, Trembath R. Pendred syndrome – 100 years of under-ascertainment? *QJM.* 1997;90:443–7.
77. Peteiro-Gonzalez D, Lee J, Rodriguez-Fontan J, Castro-Piedras I, Cameselle-Teijeiro J, Beiras A, et al. New insights into thyroglobulin pathophysiology revealed by the study of a family with congenital goiter. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:3522–6.
78. Targovnik HM, Citerio CE, Rivolta CM. Thyroglobulin gene mutations in congenital hypothyroidism. *Horm Res Paediatr.* 2011;75:311–21.
79. Kitanaka S, Takeda A, Sato U, Miki Y, Hishinuma A, Leiri T, et al. A novel compound heterozygous mutation in the thyroglobulin gene resulting in congenital goitrous hypothyroidism with high serum triiodothyronine levels. *J Hum Genet.* 2006;51:379–82.
80. Kanou Y, Hishinuma K, Tsunekawa K, Seki K, Mizuno Y, Fujisawa H, et al. Thyroglobulin gene mutations producing defective intracellular transport of thyroglobulin are associated with increase thyroidal type 2 iodothyronine deiodinase activity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:1451–7.
81. Hishinuma A, Takamatsu J, Ohyama Y, Yokozawa T, Kanno Y, Kuma K, et al. Two novel cysteine substitutions (IC1263R and C1995S) of thyroglobulin cause a defect in intracellular of thyroglobulin in patients with congenital goiter and the variant type of adenomatous goiter. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:1438–44.
82. Medeiros-Neto G, Kim PS, Yoo SE, Vana J, Targovnik H, Camargo R, et al. Congenital hypothyroid goiter with deficient thyroglobulin. Identification of an endoplasmic reticulum storage disease with induction of molecular chaperones. *J Clin Invest.* 1996;98:2838–44.
83. Belfort FS, Miras MB, Olcese MC, Sobrero G, Testa G, Munoz L, et al. Congenital goitrous hypothyroidism: Mutation analysis in the thyroid peroxidase gene. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2012;76:568–76.
84. Nascimento AC, Guedes DR, Santos CS, Knobel M, Rubio IG, Medeiros-Neto G. Thyroperoxidase gene mutations in congenital goitrous hypothyroidism with total and partial iodide organification defect. *Thyroid.* 2003;12:1145–51.
85. Abramowicz MJ, Targovnik V, Varela V, Cochaux P, Krawiec L, Pisarev MA, et al. Identification of a mutation in the coding sequence of the human thyroid peroxidase gene causing congenital goiter. *J Clin Invest.* 1992;90:1200–4.
86. Rodrigues C, Jorge P, Soares JP, Santos I, Salomão R, Madeira M, et al. Mutation screening of the thyroid peroxidase gene in a cohort of 55 Portuguese patients with congenital hypothyroidism. *Eur J Endocrinol.* 2005;152:193–8.
87. Bikker H, Vulsma T, Baas F, de Vijlder JJ. Identification of five novel inactivating mutations in the human thyroid peroxidase gene by denaturing gradient gel electrophoresis. *Hum Mutat.* 1995;6:9–16.
88. Bakker B, Bikker H, Vulsma T, de Randamie JS, Wiedijk BM, de Vijlder JJ. Two decades of screening for congenital hypothyroidism in The Netherlands: TPO gene mutations in total iodide organification defects (an update). *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:3708–12.
89. Endo Y, Onogi S, Umeki K, Yamamoto I, Kotani T, Ohtaki S, et al. Regional localization of the gene for thyroid peroxidase to human chromosome 2p25 and mouse chromosome 12C. *Genomics.* 1995;25:760–1.
90. Fugazzola L, Cerutti N, Mannavola D. Monoallelic expression of mutant thyroid peroxidase allele causing total iodide organification defect. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:3264–71.
91. Kotani T, Umeki K, Yamamoto I, Ohtaki S, Adachi M, Tachibana K. Iodide organification defects resulting from cosegregation of mutated and null thyroid peroxidase alleles. *Mol Cell Endocrinol.* 2001;182:61–8.
92. Ohyle H, Sugawara M. Dual oxidase hydrogen peroxide and thyroid diseases. *Exp Biol Med (Maywood).* 2010;235:424–33, doi:10.1258/ebm 2009.009241.
93. Pachucki J, Wang D, Christophe D, Miot F. Structural and functional characterization of the two human ThOX/Duox genes and their 5'-flanking regions. *Mol Cell Endocrinol.* 2004;214:53–62.
94. Moreno J, Bikker H, Kempers E, van Trotsenburg P, Baas F, de Vijlder M, et al. Inactivating mutations in the gene for thyroid oxidase 2 (THOX2) and congenital hypothyroidism. *N Engl J Med.* 2002;347:95–102.
95. Grasberger J, de Deken X, Miot F, Pohlenz J, Refetoff S. Missense mutations of dual oxidase 2 (DUOX2) implicated in congenital hypothyroidism have

- impaired trafficking in cells reconstituted with DUOX2 maturation factor. *Mol Endocrinol*. 2007;21:1408–21.
96. De Marco G, Agretti P, Montanelli L, di Cosmo C, Bagattini B, de Servi M, et al. Identification and functional analysis of novel dual oxidase 2 (DUOX2) mutations in children with congenital or subclinical hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:E1335–9.
97. Vigone MC, Fugazzola L, Zamproni I, Passoni A, di Candia S, Chiumello G, et al. Persistent mild hypothyroidism associated with novel sequences variants of the DUOX2 gene in two siblings. *Human Mutat*. 2005;26:395.
98. Maruo Y, Takahashi H, Soeda I, Nishikura N, Matsui K, Ota Y, et al. Transient congenital hypothyroidism caused by biallelic mutations of the dual oxidase 2 gene in Japanese patients detected by neonatal screening program. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:4261–7.
99. Zamproni I, Grasberger H, Cortinovis F, Vigone MC, Chiumello G, Mora S, et al. Biallelic inactivation of dual oxidase maturation factor 2 (DUOX2) gene as a novel cause of congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:605–10.
100. Afink G, Kulik W, Overmars H, de Randsdamie J, Veenboer T, van Cruichten A, et al. Molecular characterization of iodotyrosine dehalogenase deficiency in patients with hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:4894–901.
101. Moreno J, Klootwijk H, van Toor H, Pinto G, D'Alessandro M, Leger A, et al. Mutations in the iodotyrosine deiodinase gene and hypothyroidism. *N Engl J Med*. 2008;358:1811–8.
102. Grüters A, Krude H. Detection and treatment of congenital hypothyroidism. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;8:104–13.
103. LaFranchi S. Approach to the diagnosis and treatment of neonatal hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:2959–67.



Revisão

Inibidores da aromatase em adolescentes do sexo masculino com baixa estatura idiopática



Ana Laura Fitas*, Daniela Amaral e Lurdes Lopes

Unidade de Endocrinologia Pediátrica, Hospital de Dona Estefânia, Centro Hospitalar de Lisboa Central – EPE, Lisboa, Portugal

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Historial do artigo:

Recebido a 28 de maio de 2013

Aceite a 22 de abril de 2014

On-line a 18 de junho de 2014

Palavras-chave:

Inibidores da aromatase

Crescimento linear

Baixa estatura idiopática

R E S U M O

Introdução: O efeito dos fármacos inibidores da aromatase (IA) na estatura de jovens do sexo masculino com baixa estatura idiopática (BEI) tem vindo a ser estudado desde que foi evidenciado o papel dos estrogénios na paragem do crescimento linear. Os ensaios clínicos aleatorizados, duplamente cegos, de caso-controlo com letrozol indicam impacto positivo na previsão de estatura final em jovens do sexo masculino com BEI, com ou sem atraso constitucional do crescimento e puberdade. Por persistirem aspetos de segurança a requerer melhor estudo, a sua utilização terapêutica continua a ser *off-label*.

Objetivos: Tendo em vista a implementação de um ensaio clínico sobre a terapêutica com IA em jovens do sexo masculino com BEI procedeu-se a uma revisão sistemática da literatura, na qual se fundamenta a proposta de protocolo apresentada.

Métodos: Pesquisa na base de dados eletrónica *Medline* de revisões sistemáticas, ensaios clínicos aleatorizados controlados e referências bibliográficas dos artigos selecionados, publicados entre janeiro de 2001 e dezembro de 2012.

Conclusões: A terapêutica com um IA de terceira geração (letrozol) poderá ser considerada em jovens do sexo masculino com BEI, altura inferior a pelo menos $-2,0$ SDS para a idade ou previsão de altura final pelo menos $2,0$ SDS abaixo da estatura média parental, desde que já tenha sido iniciada a puberdade e a idade óssea seja inferior a 14 anos. Os principais aspetos de segurança ainda sob discussão na literatura referem-se a potenciais efeitos a nível ósseo. A utilização de medicamentos *off-label* deve obedecer a critérios estritos de prescrição e seguimento das crianças, de forma a minimizar os riscos e obter resultados fiáveis e comparáveis. Apresenta-se proposta de sistematização de monitorização clínica, imagiológica e laboratorial, bem como critérios de término ou suspensão da mesma.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

Aromatase inhibitors in male adolescents with idiopathic short stature

A B S T R A C T

Keywords:

Aromatase inhibitors

Linear growth

Idiopathic short stature

Introduction: The effect of aromatase inhibitors in the height of male adolescents with idiopathic short stature has been studied since the role of estrogen in the finishing of the linear growth has been clarified. Randomized controlled double blind clinical trials comparing letrozol with placebo indicate a positive impact on the predicted adult height of male adolescents with idiopathic short stature, either with or without constitutional growth and puberty delay. As there still remain some security aspects requiring better enlightenment, their therapeutic use is *off-label*.

Objectives: Regarding the development of a clinical trial on the prescription of aromatase inhibitors in male adolescents with idiopathic short stature, a systematic literature review has been performed, which supports the current protocol proposal.

Methods: Research on the electronic database *Medline* for systematic reviews, randomized controlled double blind clinical trials and references from the selected articles, published between January 2001 and December 2012.

* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: ana.laura.fitas@gmail.com (A.L. Fitas).

Conclusions: Prescription of a third generation aromatase inhibitor (letrozol) may be considered in male pubertal adolescents with idiopathic short stature with height below -2.0 SDS for their age or predicted adult height 2.0 SDS lower than midparental height, and bone age under 14 years. Potential effects on bone health are the main safety issues under discussion on the published papers. *Off-label* therapy should comply to strict prescription and follow-up criteria, in order to reduce the risks and to obtain valuable and comparable outcomes. A proposal for the clinical, imaging and laboratory follow up of patients under aromatase inhibition is presented, as well as criteria for ending or suspending the treatment.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introdução

O grau de maturação da placa de crescimento epifisária é o fator determinante do potencial de crescimento de uma criança. O papel crítico dos estrogénios na maturação e encerramento da cartilagem de crescimento foi elucidado a partir dos anos 90, com o estudo de 2 casos de elevada estatura em jovens adultos do sexo masculino, um deles com mutação no gene do recetor de estrogénios¹, outro com mutação no gene da aromatase², tendo em comum a ausência de sinalização estrogénica eficaz. Na tabela 1 encontram-se sistematizadas as características clínico-laboratoriais destes 2 casos paradigmáticos.

A aromatase é uma enzima do grupo do citocromo P450 que catalisa a aromatização dos androgénios em estrogénios, nomeadamente a conversão da testosterona em estradiol e da androstenediona em estrona. Localiza-se no retículo endoplasmático de células produtoras de estrogénios de vários órgãos e tecidos: ovário, mama, cérebro, músculo, fígado, tecido adiposo, testículo e osso, entre outros.

Os fármacos inibidores da atividade da aromatase, inibidores da aromatase (IA), são comercializados primordialmente para a terapêutica da neoplasia da mama com recetores de estrogénios positivos. Todavia, desde que foi clarificado o papel dos estrogénios na paragem do crescimento linear, o seu efeito na estatura de jovens do sexo masculino com baixa estatura idiopática (BEI) tem vindo a ser estudado, tendo o primeiro trabalho sido publicado há 12 anos³. Desde então têm sido reportados vários resultados de eficácia e segurança, que contribuem para o progressivo esclarecimento de algumas incertezas quanto à possibilidade de aplicação terapêutica dos IA neste contexto clínico. No entanto, por ainda persistirem aspetos de segurança a requerer melhor estudo, a sua utilização terapêutica continua a ser *off-label*.

A baixa estatura idiopática define-se auxologicamente por estatura inferior a 2 desvios-padrão em relação à média correspondente para a idade, sexo e grupo populacional, após exclusão de doença sistémica, endócrina, nutricional ou anomalias cromossómicas⁴. Por definição, aplica-se a crianças com normal peso e comprimento ao nascer e sem défice de hormona do crescimento. O conceito de BEI descreve um grupo heterogêneo de crianças sem causa identificada para a baixa estatura e inclui os subgrupos das crianças com baixa estatura familiar e das que têm baixa estatura no contexto de atraso constitucional do crescimento e puberdade (ACCP). Estima-se que 60–80% das crianças com estatura abaixo de $-2,0$ SDS cumpram os critérios de BEI.

Tendo em vista o desenho e futura implementação de um ensaio clínico para avaliar os efeitos da terapêutica com IA em jovens do sexo masculino com BEI, procedeu-se a uma revisão sistemática da literatura, na qual se fundamenta a proposta de protocolo que se apresenta.

Métodos

Foi realizada uma pesquisa de revisões sistemáticas com ou sem metanálises e ensaios clínicos aleatorizados e controlados,

utilizando a base de dados eletrónica *Medline*, e referências bibliográficas dos artigos selecionados, publicados entre janeiro de 2001 e dezembro de 2012, nas línguas portuguesa, inglesa, espanhola e francesa, utilizando as palavras-chave (termos MeSH): *aromatase inhibitors, growth e body height*. Foram selecionados os artigos com enfoque principal na terapêutica com IA em jovens do sexo masculino com BEI. Foram descartadas as publicações não relacionadas, publicações sob a forma de resumo sem acesso integral e estudos de caso. Não foram incluídos dados relativos às restantes áreas de potencial aplicação dos IA em endocrinologia pediátrica, nomeadamente, entidades com hiperestrogenismo, hiperandrogenismo e ginecomastia pubertária.

Fármacos inibidores da atividade da aromatase

Atualmente são utilizados os IA de terceira geração, mais específicos, com maior eficácia de bloqueio enzimático obtida com menores doses de fármaco, menos efeitos secundários e maior duração de ação face aos IA de gerações anteriores⁵. Na tabela 2 apresentam-se os IA de terceira geração, de acordo com a sua classificação.

Sugere-se o letrozol em primeira linha atendendo a que foi o fármaco incluído nos ensaios clínicos aleatorizados e controlados disponíveis na literatura^{3,6,7}.

O letrozol tem absorção rápida e completa, não sendo afetada pela alimentação, pelo que pode ser tomado com ou sem refeições. A metabolização é hepática (CYP3A4 e 2A6) em metabolito carbíno inativo. A excreção é renal (90%), sob a forma de metabolito inativo (75%), outros metabolitos (9%) e fármaco não metabolizado (6%). A semivida plasmática é de 2 dias e atingem-se níveis estáveis após 2–6 semanas de administração diária de 2,5 mg, não se verificando efeito de acumulação⁸. Os dados apresentados referem-se a estudos em adultos, não tendo sido estudadas as diferenças de farmacocinética entre a população adulta e pediátrica.

Nos estudos em crianças não foram reportados efeitos adversos, nomeadamente no que se refere a manifestações de hiperandrogenismo.

Evidência

Eficácia

Os resultados dos 3 ensaios clínicos aleatorizados, duplamente cegos, de caso-controlo contra placebo utilizando o letrozol indicam impacto positivo na previsão de estatura final em casos de BEI⁶, 2 dos quais com grupos de casos com ACCP^{3,7}. Os dados mais relevantes de cada estudo encontram-se resumidos na tabela 3.

O ensaio clínico em adolescentes do sexo masculino com BEI sem outra especificação ($n=31$, idade média de 11 anos, 87% pré-púberes), teve duração de 24 meses⁶. O grupo com letrozol apresentou desaceleração da maturação óssea, com velocidade de crescimento sobreponível à do grupo placebo (5,3 vs. 5,2 cm/ano), mas com incremento da previsão de estatura final em 5,9 vs. 1,1 cm

Tabela 1

Caraterísticas dos 2 casos que contribuíram para elucidar o efeito dos estrogénios na maturação da cartilagem de crescimento

Defeito primário	Défice de recetor- α dos estrogénios (Smith, 1994) ¹	Défice de aromatase (Morishima, 1995) ²
Mutação	Arg157X (exão 2) do gene ER α	Arg376Cys (exão 9) do gene CYP19
Hereditariedade	Autossómica recessiva	Autossómica recessiva
Idade	28 anos	24 anos
Altura; peso	204 cm; 127 Kg	204,7 cm; 135,1 Kg
Caraterísticas acromegaloides	Não	Não
Proporções eunucoides	Sim	Sim
Idade de início da puberdade	Normal	Normal
Virilização	Adequada	Adequada
Volume testicular	Normal	34 mL
Idade óssea	15 anos	14 anos
Osteoporose e aumento do turnover ósseo	Sim	Sim
Virilização da mãe durante a gravidez	Não	Sim
Insulinorresistência	Sim	Sim
Dislipidemia	Sim	Sim
Resposta a terapêutica com estrogénios em dose elevada	Não	Sim

Fonte: adaptado de Geffner et al.⁵**Tabela 2**

Fármacos inibidores da atividade da aromatase

Classe	Mecanismo	Fármaco	Dose	Inibição enzimática %
Não esteroides, reversíveis	Ligação reversível ao componente heme da enzima do citP450	Anastrozol	1 mg, 1 id	97,3
Esteroides, não reversíveis	Derivados da androstenediona; atuam como falsos substratos; ligação irreversível	Letrozol Exemestano	2,5 mg, 1 id 25 mg, 1 id	> 99,1 98

Fonte: adaptado de Geffner et al.⁵

($p < 0,0001$)⁶. Nos resultados de seguimento 6 anos após o estudo inicial não havia diferença estatisticamente significativa na previsão de altura final entre os grupos com letrozol ou placebo⁹. Este ensaio clínico incluiu predominantemente jovens pré-púberes, o que poderá ter contribuído para uma menor expressividade dos resultados após 6 anos, em comparação com o estudo de seguimento do grupo em que foram incluídos predominantemente rapazes púberes¹⁰. Aquando da realização deste ensaio clínico

não tinham sido reportados anteriormente achados vertebrais em crianças pré-púberes tratadas com IA. Não foram publicados até à data resultados de seguimento de altura final.

Não sendo o subgrupo com ACCP a aplicação visada nesta revisão, referem-se os estudos que incluíram jovens com esta entidade porque documentam também o efeito dos IA no aumento do potencial de crescimento na BEI. O estudo pioneiro publicado em 2001 incluiu jovens do sexo masculino com ACCP ($n = 23$, idade média de

Tabela 3

Resumo dos resultados dos 3 ensaios clínicos com letrozol

Características	Wickman et al. ^{3,10}	Hero et al. ^{6,9}	Salehpour et al. ⁷
<i>População (baseline)</i>			
Diagnóstico	Atraso pubertário	BEI	ACCP
Tratamento	Letrozol vs. placebo (+6 meses de testosterona)	Letrozol vs. placebo	Letrozol vs. placebo
Duração (meses)	12	24	24
n	10 vs. 10	16 vs. 14	31 vs. 30
Média de idade (anos)	15,1	11,0	13,5
Idade óssea média (anos)	13,1 vs. 12,6	9,1 vs. 8,9	12,1 vs. 11,7
Estadio pubertário (G)	2 (2-3)	1 (1-3)	1
Estatura (cm)	155,3 vs. 151,9	128,5 vs. 127,5	NA
Estatura (SDS)	-1,8 vs. -2,0	-2,3 vs. -2,4	-2,9 vs. -2,9
Estatura alvo (cm)	177,1 vs. 173,9	175,5 vs. 177,2	174,6 vs. 176,5
Estatura alvo (SDS)	-0,4 vs. -0,5	-0,5 vs. -0,3	NA
Previsão de estatura final (cm)	176,5 vs. 174,9	167,0 vs. 165,8	167,6 vs. 171,9
Previsão de estatura final (SDS)	-0,3 vs. -0,8	-1,8 vs. -2,0	NA
<i>Avaliação</i>			
Tempo após início (meses)	18	24	24
Velocidade de crescimento (cm/ano)	7,6 vs. 7,9	5,3 vs. 5,2	NA
Δ Idade óssea	0,9 vs. 1,7/1,5 anos	1,2 vs. 2,1/2 anos	1,1 vs. 0,5/2 anos
Previsão de estatura final	182,1 vs. 175,2	172,9 vs. 166,9	173,6 vs. 173,3
Δ Previsão de estatura final (cm)	5,1 vs. 0,3	5,9 vs. 1,1	6,1 vs. 1,4
<i>Estudo de seguimento</i>			
Idade (anos)	19,2 vs. 18,2	16,9 vs. 17,3	NA
Idade óssea (anos)	16,9 vs. 16,7	15,8 vs. 16,6	NA
Estatura (cm)	175,8 vs. 169,1	159,1 vs. 161,1	NA
Previsão de estatura final (cm)	NA	166,5 vs. 162,4	NA

ACCP: atraso constitucional do crescimento e puberdade; BEI: baixa estatura idiopática; NA: não avaliado; SDS: *standard deviation score*; vs: *versus*.Fonte: adaptado de Wit et al.¹².

15 anos) em 2 grupos submetidos a terapêutica com testosterona durante 6 meses, associada a 12 meses de letrozol ou placebo³. O grupo com letrozol apresentou desaceleração da maturação óssea, com velocidade de crescimento semelhante ao grupo placebo. A variação da previsão de estatura final oscilou entre -3,5 cm (sendo negativa apenas num caso) e +8,8 cm, com incremento médio de 5,1 vs. 0,3 cm no grupo placebo ($p < 0,05$). Além dos 2 grupos aleatorizados, 10 doentes integraram um grupo sem intervenção terapêutica, 7 dos quais foram avaliados aos 18 meses de estudo, tendo a previsão de estatura final aumentado 2 cm. No estudo de seguimento até idade média de 19,2 anos, o grupo com letrozol teve estatura em média 6,7 cm superior à do grupo placebo, 1,3 cm abaixo da altura alvo, enquanto o grupo placebo teve estatura em média 4,8 cm abaixo da altura alvo¹⁰.

O estudo mais recente envolvendo jovens do sexo masculino com ACCP⁷, com braço letrozol vs. placebo ($n = 61$, idade média de 13,5 anos) documentou aumento da previsão de estatura final em 6,1 vs. 1,4 cm ($p < 0,01$). Foi também reportada diminuição da diferença entre a previsão de estatura final e a estatura alvo, de -7,0 cm para -0,9 cm, pré e pós-tratamento, respetivamente. Contudo, o grupo tratado com letrozol teve aumento da velocidade de crescimento (variação de SDS da velocidade de crescimento +0,5 vs. 0), e avanço de idade óssea (IO) superior ao do grupo placebo (1,1 vs. 0,5 anos), resultados a requerer esclarecimento em estudos subsequentes. Os autores propõem como explicação a supressão incompleta da atividade da aromatase na população em estudo⁷. Este estudo incluiu apenas rapazes pré-púberes, mas é omissivo quanto a achados vertebrais.

As principais limitações dos estudos de referência são o pequeno número de doentes envolvidos e a indisponibilidade de resultados de altura final. A amplitude do intervalo de IO determinada nos estudos de seguimento^{9,10}, entre 15,8-18,0 anos, poderá ter-se traduzido em consideráveis variações na altura final. Por outro lado, a heterogeneidade de desenho dos ensaios clínicos dificulta a comparação direta de resultados, nomeadamente atendendo a que um dos grupos recebeu também terapêutica com testosterona.

As mais recentes revisões sistemáticas concluem haver evidência da eficácia dos IA para desacelerar a progressão da IO e aumentar a previsão da estatura final na idade adulta em jovens do sexo masculino com BEI e ACCP^{11,12}.

A terapêutica com IA na BEI, com ou sem ACCP, tem nível de evidência IB¹², na medida em que estão disponíveis dados de pelo menos um estudo adequadamente aleatorizado e controlado, havendo moderada evidência para apoiar o seu uso. Na prática, a sua utilização *off-label* nas referidas indicações é considerada provavelmente eficaz, havendo, no entanto, aspetos de segurança a requerer precaução na sua utilização.

Segurança

Os principais aspetos de segurança ainda sob discussão na literatura publicada referem-se a potenciais efeitos a nível ósseo.

A densidade mineral óssea foi avaliada em 4 estudos aleatorizados e controlados com IA. Durante o tratamento com letrozol por 1-2 anos em rapazes com BEI^{6,13} e ACCP^{3,7}, a densidade mineral óssea da coluna lombar e colo do fémur aumentou de forma semelhante à do grupo placebo.

Nos jovens sob placebo houve aumento dos marcadores de remodelação óssea, relacionando-se positivamente com a velocidade de crescimento¹³. Por outro lado, nos jovens medicados com letrozol os doseamentos do pró-peptídeo N-terminal do colagénio I (s-PINP) e da fosfatase alcalina mantiveram-se sobreponíveis aos níveis pré-tratamento. Este dado sugere uma baixa taxa de remodelação óssea, possivelmente relacionada com inibição da reabsorção óssea mediada por androgénios, cujos efeitos na resistência do osso ainda não são evidentes^{5,12}.

Foi reportada deformidade vertebral em Cunha ligeira e assintomática em rapazes com BEI no início da puberdade, não havendo diferenças significativas entre o grupo placebo e o grupo tratado com o fármaco⁹. Todavia, a inexistência de estudos prévios ao início da terapêutica dificulta a valorização desse achado. O grupo responsável pelo estudo propõe que alguns rapazes com BEI possam ter um defeito do metabolismo ósseo que comprometa o crescimento e resistência ósseos, resultando em deformidade vertebral em Cunha⁹. O grupo de Mauras avaliou a morfologia vertebral de jovens incluídos alguns anos antes num estudo com terapêutica com anastrozol e hormona de crescimento, contra placebo, observando também achados vertebrais assintomáticos - ligeiro estreitamento do espaço intervertebral e irregularidades da placa terminal¹¹. São necessários estudos subsequentes acerca do impacto da inibição da aromatase na arquitetura óssea e morfologia vertebral.

Quanto aos efeitos dos IA no eixo hipotálamo-hipófise-gónada, importa ter em conta que na fase inicial da puberdade os estrogénios são os principais responsáveis pelo retrocontrolo negativo na secreção de gonadotropinas, pelo que o bloqueio com letrozol faz aumentar os níveis circulantes de hormona luteinizante (LH) e hormona folículo-estimulante (FSH) a intensidade dos pulsos noturnos de LH e a resposta de LH induzida por pela hormona libertadora de gonadotropinas (GnRH), sendo o resultado final o aumento da produção de testosterona testicular. O aumento da testosterona sérica pode potenciar a progressão dos sinais físicos de puberdade⁶. Ainda não é claro se a terapêutica com IA influencia o tempo de início e ritmo de progressão da puberdade. À exceção de eventual policitemia, a monitorizar¹², não se encontram na literatura relatos de efeitos adversos de hiperandrogenismo. Os potenciais efeitos no comportamento não foram sistematicamente estudados. O letrozol induz supressão da atividade da aromatase ligeiramente superior à induzida pelo anastrozol, pelo que se verificam níveis de testosterona plasmáticos mais elevados em jovens tratados com letrozol^{3,6,14}.

Quanto aos efeitos metabólicos, foi reportada diminuição do colesterol-HDL, mantendo-se no intervalo de níveis normais¹⁵. Os níveis de testosterona estão em relação direta com a hemoglobina plasmática e em relação inversa com o colesterol-HDL.

A terapêutica com IA não teve efeito no índice de massa corporal¹⁵.

Parece haver um efeito inibitório dos IA sobre a estimulação pubertária do eixo hormona do crescimento-fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF I), o que é a favor do conceito de que são os estrogénios que induzem esta ativação¹³. No entanto, a velocidade de crescimento em rapazes púberes sob terapêutica com letrozol é semelhante à do grupo de placebo e superior à dos rapazes pré-púberes, o que sugere que na presença de níveis pré-púberes de IGF I e estradiol os androgénios tenham a capacidade de estimular o aumento pubertário da velocidade de crescimento¹⁶. Refira-se que o efeito de diminuição de valores de IGF I não foi identificado no estudo aleatorizado controlado mais recente envolvendo adolescentes do sexo masculino com ACCP⁷. A menor ativação do eixo hormona do crescimento-IGF I é sugerida como mecanismo para a diminuição da insulinoresistência da puberdade identificada num grupo sob terapêutica com letrozol¹⁷. No entanto, tal não foi encontrado em outros estudos, tendo o ambiente hormonal sob terapêutica com IA um efeito predominantemente neutro sobre a sensibilidade à insulina¹⁵.

Não se verificaram alterações da função cognitiva de acordo com o estudo que avaliou este potencial efeito secundário com base nos efeitos documentados de alteração da memória verbal em mulheres sob terapêutica com IA para a neoplasia da mama¹⁸. Quanto aos eventuais efeitos na espermatogénese, não se encontraram diferenças em relação aos controlos¹⁹.

Tabela 4

Ficha de monitorização da terapêutica com IA

	Avaliação inicial	1.º ano						2.º ano			
		1.º mês	2.º mês	3.º mês	2.º trimestre (6.º mês)	3.º trimestre (9.º mês)	4.º trimestre (12.º mês)	1.º trimestre (15.º mês)	2.º trimestre (18.º mês)	3.º trimestre (21.º mês)	4.º trimestre (24.º mês)
Data	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
Avaliação clínica	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
Análises laboratoriais	a	b	b	a	a	a	b	a	a	b	a
Idade óssea	a	b	b	b	a	b	a	b	b	b	a
Radiografia da coluna	a	b	b	b	b	b	a	b	b	b	a
Densitometria óssea	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a

^a Dados a avaliar na consulta correspondente; ^b dados que não necessitam ser avaliados na consulta correspondente.

Indicações

A terapêutica com IA pode ser considerada em jovens do sexo masculino com altura inferior a pelo menos $-2,0$ SDS para a idade e sexo que cumprem critérios de BEI e/ou que têm previsão de altura final pelo menos $2,0$ SDS abaixo da estatura média parental, desde que cumpram 3 critérios de inclusão: (1) puberdade iniciada, isto é, volume testicular superior ou igual a 4 mL; (2) IO inferior a 14 anos; (3) ausência de contra-indicações.

Atendendo ao seu mecanismo de atuação, é razoável admitir que obtenham maior benefício os jovens que já tenham iniciado a puberdade¹¹, o que é também sugerido pelos melhores resultados no estudo de seguimento do grupo em que foram incluídos predominantemente rapazes púberes³, em oposição aos do estudo que incluiu predominantemente rapazes impúberes⁶.

É necessário que haja suficiente imaturidade óssea para permitir incrementar o potencial de crescimento, pelo que se propõe IO abaixo de 14 anos, de acordo com o critério de inclusão de um dos estudos de referência⁶.

Saliente-se que o doseamento de testosterona sérica basal não foi utilizado nos estudos citados como critério de decisão terapêutica.

Contra-indicações

Em relação direta com o mecanismo de atuação, está contra-indicada a utilização dos IA no sexo feminino^{6,11} e em crianças pré-púberes¹¹. Também a frequência de achados vertebrais reforça a contra-indicação ao seu uso na fase pré-pubertária. São ainda contra-indicações a presença de doença primária ou secundária conhecida com envolvimento ósseo¹² e a presença de alterações relevantes na avaliação clínica, laboratorial e imagiológica inicial, merecendo decisão caso a caso.

Prescrição

Salvaguardado o contexto de aplicação, recomenda-se a prescrição de letrozol na dose de $2,5$ mg, uma toma diária por via oral. Sugere-se a toma ao pequeno-almoço para facilitar a adesão à terapêutica. À data da revisão, o fármaco encontra-se comercializado sob a forma de comprimidos revestidos por película, em embalagens de 30 comprimidos.

Quanto à terapêutica coadjuvante com suplementação de vitamina D e cálcio sugerida por alguns autores²⁰, propomos que seja ponderada de acordo respetivamente com o doseamento basal de vitamina D e a avaliação do aporte regular de cálcio na dieta.

Monitorização

Do ponto de vista clínico, devem ser avaliados em todas as consultas os dados de anamnese relativos a eventuais sintomas relacionados com hiperandrogenismo ou musculoesqueléticos, devendo o exame objetivo incluir a avaliação da altura, peso e estágio pubertário. Propõe-se consultas mensais nos primeiros 3 meses de terapêutica, passando posteriormente a trimestrais.

Antes do início da terapêutica sugere-se a realização de radiografia da coluna incluindo projeção lateral, para análise da morfologia vertebral, e densitometria óssea da coluna lombar e fémur. Propõe-se a reavaliação semestral da idade óssea, anual da radiografia da coluna e bianual da densitometria óssea (ou pelo menos uma reavaliação aquando do final da terapêutica).

A avaliação laboratorial deve incluir parâmetros hormonais com interesse no contexto (LH, FSH, testosterona, estradiol e IGF I), metabolismo fosfocálcico (cálcio total e ionizado, fósforo, magnésio, vitamina D) e remodelação óssea (fosfatase alcalina e desoxipiridinolina, *D-pyr*), perfil lipídico (colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL e triglicéridos), glicemia e insulínemia, hemograma, função hepática (proteínas totais, albumina, PT e aPTT) e enzimas hepáticas (AST, ALT e GGT), função renal (ureia e creatinina) e análise sumária de urina. Na ausência de alterações laboratoriais, sugere-se reavaliação trimestral no 1.º ano e posteriormente semestral. A monitorização de valores alterados deverá ser individualizada caso a caso.

Na tabela 4 encontra-se sistematizada uma proposta de ficha de seguimento com a calendarização da monitorização clínica, imagiológica e laboratorial da terapêutica com IA.

Duração da terapêutica e critérios para interrupção

São necessários pelo menos 2-3 anos de tratamento diário para se verificarem efeitos positivos na previsão de estatura final¹¹.

Propõem-se como critérios de paragem da terapêutica: IO superior a 14 anos e/ou o avanço de IO superior ao avanço de idade cronológica (IC), Δ IO/IC superior a 1.

A terapêutica deverá ser interrompida antecipadamente perante inexistência de resposta, traduzida por ausência de desaceleração da idade óssea, ou se ocorrerem efeitos secundários relevantes, implicando decisão caso a caso.

É esperada subida dos níveis de testosterona, em função direta do mecanismo de atuação dos IA. Com base nos estudos citados, não é possível fundamentar um valor limiar de testosterona a partir do qual seja aconselhável suspender o tratamento, diminuir a dose ou substituir o letrozol por anastrozol, que tem menor efeito sobre os níveis de testosterona. No entanto, estas atitudes devem

ser ponderadas caso se verifiquem consequências da elevação da testosterona, nomeadamente policitemia, descida acentuada do colesterol-HDL, acne grave e/ou alterações comportamentais.

Contexto de aplicação

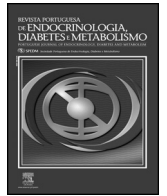
O protocolo proposto deverá ser aplicado preferencialmente para a prescrição *off-label* no contexto de ensaio clínico, a desenhar e implementar a nível institucional. A sua aplicação deverá ser condicionada face às normas éticas válidas para qualquer ensaio clínico. Deverá ser disponibilizada aos pais a informação oral e escrita necessária ao indispensável consentimento informado.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

- Smith EP, Boyd J, Frank GR, Takahashi H, Cohen RM, Specker B, et al. Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *N Engl J Med.* 1994;331:1056–61.
- Morishima A, Grumbach MM, Simpson ER, Fisher C, Qin K. Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80:3689–98.
- Wickman S, Sipilä I, Ankarberg-Lindgren C, Norjavaara E, Dunkel L. A specific aromatase inhibitor and potential increase in adult height in boys with delayed puberty: A randomised controlled trial. *Lancet.* 2001;357:1743–8.
- Cohen P, Rogol AD, Deal CL, Saenger P, Reiter EO, Ross JL. Consensus statement on the diagnosis and treatment of children with idiopathic short stature: A summary of the Growth Hormone Research Society, the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society and the European Society for Paediatric Endocrinology Workshop. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(11):4210–7.
- Geffner ME. Aromatase inhibitors to augment height: Continued caution and study required. *J Clin Res Ped Endo.* 2009;1(6):256–61.
- Hero M, Norjavaara E, Dunkel L. Inhibition of estrogen biosynthesis with a potent aromatase inhibitor increases predicted adult height in boys with idiopathic short stature: a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:6396–402.
- Salehpour S, Alipour P, Razzaghy-Azar M, Ardeshirpour L, Shamshiri A, Monfared MF, et al. A double-blind, placebo-controlled comparison of letrozole to oxandrolone effects upon growth and puberty of children with constitutional delay of puberty and idiopathic short stature. *Horm Res Paediatr.* 2010;74:428–35.
- Letrozole: Drug Information. In: UpToDate, Basow, DS (Ed), UpToDate, Waltham, MA, 2013.
- Hero M, Toiviainen-Salo S, Wickman S, Makitie O, Dunkel L. Vertebral morphology in aromatase inhibitor-treated males with idiopathic short stature or constitutional delay of puberty. *J Bone Miner Res.* 2010;25:1536–43.
- Hero M, Wickman S, Dunkel L. Treatment with the aromatase inhibitor letrozole during adolescence increases near-final height in boys with constitutional delay of puberty. *Clin Endocrinol.* 2006;64:510–3.
- Mauras M. Strategies for maximizing growth in puberty in children with short stature. *Pediatr Clin N Am.* 2011;58:1167–79.
- Wit J, Hero M, Nunez SB. Aromatase inhibitors in pediatrics. *Nat Rev Endocrinol.* 2012;8:135–47.
- Hero M, Mäkitie O, Kröger H, Nousiainen E, Toiviainen-Salo S, Dunkel L. Impact of aromatase inhibitor therapy on bone turnover, cortical bone growth and vertebral morphology in pre- and peripubertal boys with idiopathic short stature. *Horm Res.* 2009;71:290–7.
- Mauras N, Gonzalez-de-Pijem L, Hsiang HY. Anastrozole increases predicted adult height of growth hormone deficient adolescent males treated with growth hormone: A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial for up to three years. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:823–31.
- Hero M, Ankarberg-Lindgren C, Taskinen MR, Dunkel L. Blockade of oestrogen biosynthesis in peripubertal boys: Effects on lipid metabolism, insulin sensitivity, and body composition. *Eur J Endocrinol.* 2006;155:453–60.
- Dunkel L. Treatment of idiopathic short stature: Effects of gonadotropin-releasing hormone analogs. Aromatase inhibitors and anabolic steroids. *Horm Res Paediatr.* 2011;76 suppl 3:27–9.
- Wickman S, Saukkonen T, Dunkel L. The role of sex steroids in the regulation of insulin sensitivity and serum lipid concentrations during male puberty: A prospective study with a P450-aromatase inhibitor. *Eur J Endocrinol.* 2002;146:339–46.
- Hero M, Maury S, Luotoniemi E, Service E, Dunkel L. Cognitive effects of aromatase inhibitor therapy in peripubertal boys. *Eur J Endocrinol.* 2010;163:149–55.
- Mauras N, Bell J, Snow BG, Winslow KL. Sperm analysis in growth hormone-deficient adolescents previously treated with an aromatase inhibitor: Comparison with normal controls. *Fertil Steril.* 2005;84:239–42.
- Diaz-Thomas A, Shulman D. Use of aromatase inhibitors in children and adolescents: What's new? *Curr Opin Pediatr.* 2010;22:501–7.



Revisão

Hiperplasia congénita da suprarrenal não clássica – aspetos relevantes para a prática clínica



Teresa Azevedo^{a,*}, Teresa Martins^a, Manuel Carlos Lemos^{a,b} e Fernando Rodrigues^a

^a Serviço de Endocrinologia do Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil, EPE, Coimbra, Portugal

^b Centro de Investigação em Ciências da Saúde (CICS), Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Historial do artigo:

Recebido a 17 de abril de 2013

Aceite a 17 de dezembro de 2013

On-line a 15 de março de 2014

Palavras-chave:

Hiperplasia congénita suprarrenal não clássica

Deficiência de 21-hidroxilase

Tratamento

R E S U M O

Objetivo: A hiperplasia congénita da suprarrenal não clássica (HCSRNC) é uma das doenças autossómicas recessivas mais frequentes que, na grande maioria dos casos, ocorre por deficiência da enzima 21-hidroxilase (21-OH). Com o presente artigo pretende-se fazer uma revisão sobre os aspetos relevantes desta doença na prática clínica diária, em especial nas áreas da pediatria, endocrinologia e obstetria.

Métodos: Foi efetuada uma revisão bibliográfica através da base de dados eletrónica MEDLINE de artigos publicados entre 1990-2013. Foram utilizadas as palavras-chave: «hiperplasia da suprarrenal não clássica» e «deficiência de 21-hidroxilase».

Conclusões: A apresentação clínica da HCSRNC é variável, desde a ausência completa de sintomas até à existência de um ou vários sintomas relacionados com o excesso de androgénios, como pubarca precoce, hirsutismo, oligomenorreia, acne ou infertilidade. O diagnóstico é confirmado através da prova de estimulação com tetracosactídeo. O tratamento deve ser efetuado apenas se houver sintomatologia, deve ser individualizado e tem como objetivos principais evitar uma puberdade precoce com encerramento epifisário prematuro, regularizar os ciclos menstruais, promover a fertilidade e atenuar o acne e hirsutismo.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

Nonclassical congenital adrenal hyperplasia – relevant aspects for clinical practice

A B S T R A C T

Keywords:

Non classic congenital adrenal hyperplasia

21 Hydroxylase deficiency

Treatment

Aim: Nonclassical congenital adrenal hyperplasia is one of the most common autosomal recessive disorders and, in the majority of cases, is due to 21-hydroxylase (21-OH) enzyme deficiency. With this article we intend to review the relevant aspects of this disease in daily clinical practice, particularly in the areas of pediatrics, endocrinology and obstetrics.

Methods: A bibliographic review was performed through the electronic database MEDLINE, for articles published between 1990 and 2013. The keywords used were “nonclassical adrenal hyperplasia” and “21-hydroxylase deficiency.”

Conclusions: The clinical presentation of nonclassical adrenal hyperplasia is variable: it can be asymptomatic or cause symptoms related to androgen excess as premature pubarche, hirsutism, oligomenorrhea, acne or infertility. The diagnosis is confirmed by a tetracosactide stimulation test. Treatment is reserved for symptomatic individuals, must be individualized and its main goals are to avoid premature pubarch with premature epiphyseal fusion, to regulate the menstrual cycles, to promote fertility and to reduce hirsutism and acne.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: tcmfazevedo@gmail.com (T. Azevedo).

Introdução

A hiperplasia congénita da suprarrenal (HCSR) consiste num grupo de doenças genéticas autossómicas recessivas em que uma ou mais etapas da biossíntese do cortisol estão afetadas, devido a mutações nos genes que codificam as enzimas envolvidas na esteroidogénese¹. Uma síntese insuficiente de cortisol conduz a um aumento de hormona libertadora de corticotropina (CRH) e de hormona adrenocorticotrófica (ACTH), o que provoca estimulação do córtex da suprarrenal, levando à sua hiperplasia². Cerca de 90-95% dos casos são causados por deficiência da enzima 21-hidroxilase (21-OH)³. Esta enzima é responsável pela conversão de 17-hidroxiprogesterona (17-OHP) em 11-desoxicortisol e é codificada pelo gene *CYP21A2*¹. A gravidade da doença depende do tipo de mutação da enzima 21-OH⁴. Verifica-se acumulação dos precursores hormonais a montante do defeito enzimático como é o caso da 17-OHP. Estes precursores são desviados para a via da síntese de androgénios, que não necessita da 21-OH, levando a níveis elevados de androstenediona, testosterona, dihidrotestosterona e estrogénios aromatizados perifericamente^{2,3} (fig. 1). Nas formas mais graves de HCSR, «formas clássicas», há défice de cortisol e de aldosterona em 100 e 75% dos casos, respetivamente,

e o seu diagnóstico é efetuado logo no período neonatal ou na pequena infância com insuficiência suprarrenal. A prevalência global de HCSR clássica é de 1:10.000 a 1:18.000 nascimentos (varia de 1:280 nos esquimós Yupic até 1:28.000 na China)^{1,5}. A incidência é semelhante em homens e mulheres, contudo, nos doentes do sexo masculino o diagnóstico raramente é efetuado à nascença⁴. Nas formas mais leves, «formas não clássicas», a atividade enzimática está diminuída, contudo, é suficiente para manter uma produção glicocorticoide e mineralocorticoide adequadas, ainda que se verifique um aumento de produção de androgénios, o que lhes confere um início mais tardio com sinais de hiperandrogenismo ou podem mesmo ser assintomáticas. A sua prevalência global é de cerca de 1:1.000³.

Epidemiologia

A HCSRNC é uma das doenças autossómicas recessivas mais frequentes, estando sem dúvida subdiagnosticada, especialmente nos homens⁴. A sua prevalência varia de acordo com a raça e etnia, sendo de cerca de 0,1% na população geral, 1% em Nova Iorque, 1-2% nos hispânicos e 3-4% nos judeus Ashkenazi (Europa de Leste)^{1,3,4,6}.

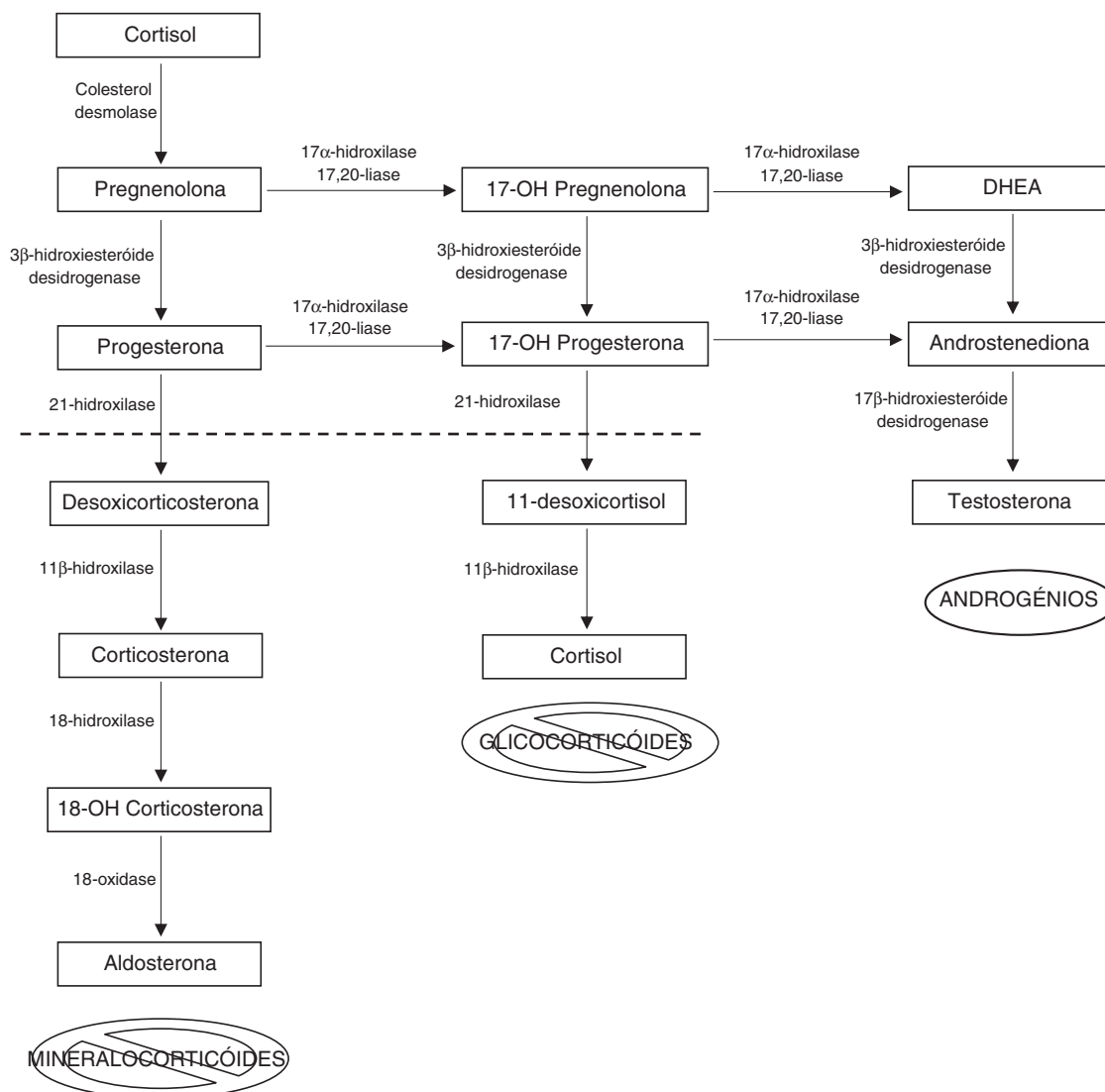


Figura 1. Representação da esteroidogénese, salientando-se que uma deficiência da enzima 21-hidroxilase provoca um défice de mineralocorticóides e de glicocorticóides e um excesso de androgénios. DHEA: dihidroepiandrostenediona.

Nas mulheres com hiperandrogenismo estima-se que a prevalência de HCSRNC seja de cerca de 2%, variando entre 0,6-9,0%, dependendo das séries⁷⁻¹⁰. A percentagem de crianças com puberdade precoce que tem HCSRNC é incerta, com descrição desde prevalências muito baixas até valores de 30% em grupos de alto risco³. Também é desconhecida a prevalência de HCSRNC em homens com oligospermia.

Existe uma elevada frequência de portadores assintomáticos: 10% na forma não clássica e 1,6% na forma clássica^{3,11}.

Devido ao estigma e ansiedade provocados pelo diagnóstico de uma doença genética, alguns autores sugerem que a forma não clássica de HCSR só deve ser catalogada como doença genética no caso de apresentar sinais de excesso de androgénios, caso contrário deve ser encarada como um polimorfismo genético³.

Genética

Os seres humanos têm 2 genes *CYP21A*: um pseudogene não funcional (*CYP21P* ou *CYP21A1*) e um gene ativo (*CYP21* ou *CYP21A2*), ambos localizados no braço curto do cromossoma 6¹². A mutação em causa é que vai condicionar a percentagem de atividade enzimática da 21-OH que, por sua vez, determina a gravidade da doença. Nas formas não clássicas, a 21-OH apresenta cerca de 20-50% da sua atividade^{3,4}. Assim, o fenótipo é variável dependendo do grau de défice enzimático, existindo uma boa correlação entre o genótipo e o fenótipo, documentada em cerca de 98% dos casos^{3,4,12}. Existem muitos polimorfismos no gene *CYP21* com normal função enzimática. A mutação *missense* V281L é a mais frequentemente associada à HCSRNC. Outras mutações associadas a esta patologia são as mutações *missense* P30L, P453S e R339H^{1,4,10}.

A maioria dos doentes são heterozigotos compostos, ou seja, apresentam mutações diferentes em cada um dos alelos, sendo a forma clínica determinada pelo alelo com maior atividade enzimática¹². Os portadores apresentam um alelo normal e um alelo mutado e não têm doença clínica, ainda que possam apresentar alterações bioquímicas discretas³.

O facto de a correlação genótipo-fenótipo não ser a 100% sugere a influência de outros genes e do ambiente no aparecimento de manifestações clínicas. A variação interindividual na biossíntese e sensibilidade aos androgénios também tem importância nas manifestações clínicas da doença³.

Manifestações clínicas

A HCSRNC tem habitualmente um início tardio com aparecimento de sinais de hiperandrogenismo no final da infância, na adolescência ou no início da idade adulta. A sua apresentação clínica é muito variável, desde a ausência completa de sintomas até à evidência de um ou vários sinais de excesso de androgénios⁴. Os sinais que devem alertar o clínico para esta patologia são: pubarca precoce, idade óssea avançada, hirsutismo, acne, oligomenorreia ou infertilidade¹. Não existem alterações hidroeletrólíticas uma vez que não há défice das linhas glicocorticoide e mineralocorticoide¹³.

Nas crianças, podem ocorrer sinais de hiperandrogenismo como pubarca prematura, acne e crescimento acelerado com elevada estatura na infância, com idade óssea avançada (+2,0 desvios-padrão para idade e sexo) com encerramento precoce das epífises, o que vai condicionar baixa estatura na idade adulta^{3,4,14}. Não se verifica ambiguidade sexual.

Nas mulheres, as manifestações clínicas variam de acordo com a idade. Na infância podem ocorrer as manifestações clínicas anteriormente referidas para as crianças. Na adolescência e idade adulta, de acordo com alguns estudos, pode ocorrer hirsutismo (59%), oligomenorreia (54%), acne (33%), infertilidade (13%), clitoromegalia (10%), alopecia (8%) ou amenorreia primária (4%)^{10,15-17}. O risco

de abortamento espontâneo parece ser maior nas mulheres com HCSRNC (26%) do que nas mulheres sem esta patologia¹⁵. Cerca de 50% das mulheres com HCSRNC necessitam de terapêutica glicocorticoide para engravidar^{2,15}. É muitas vezes difícil fazer o diagnóstico diferencial com a síndrome do ovário poliquístico, uma vez que a apresentação clínica pode ser similar⁸.

Nos doentes do sexo masculino os órgãos genitais são normais; pode ocorrer puberdade precoce e acne e verifica-se um crescimento somático muito rápido com maturação precoce do esqueleto, o que pode condicionar baixa estatura final¹. A maioria dos doentes tem função testicular e fertilidade normais, podendo uma pequena percentagem apresentar *testicular adrenal rest tumors* (TART) ou oligospermia com infertilidade associada³.

Não há consenso quanto ao facto de, se um indivíduo ser portador heterozigoto, tal implicar um maior risco de desenvolver sintomas de hiperandrogenismo. Um estudo dinamarquês documentou que a prevalência de portadores heterozigotos era de 8,6% em 252 mulheres com hirsutismo e de 6,3% em 252 mulheres sem hirsutismo¹⁸.

Diagnóstico

Quando há suspeita clínica de HCSRNC deve ser efetuado o doseamento de 17-OHP basal pela manhã (por volta das 8 horas da manhã). Nas mulheres é conveniente efetuar este doseamento no início da fase folicular do ciclo menstrual, uma vez que o corpo lúteo produz 17-OHP podendo originar falsos positivos se a colheita for feita na fase lútea do ciclo⁷. Este rastreio poderá também ter interesse em indivíduos com história familiar de HCSR e em mulheres com elevado risco de doença atendendo à sua etnia⁴. Alguns autores defendem a realização do rastreio de HCSRNC no período pré-conceção em mulheres com sinais de hiperandrogenismo e dificuldade em engravidar, uma vez que é muito mais económico diagnosticar e tratar esta patologia do que efetuar um conjunto de estudos complementares associados à infertilidade e eventualmente realizar algumas técnicas e tratamentos de infertilidade que são muito dispendiosos⁴.

Nos indivíduos com elevação da 17-OHP basal, o diagnóstico de HCSR deve ser confirmado através de um teste de estimulação com tetracosactídeo (ACTH sintética). Assim, valores de 17-OHP pela manhã superiores a 2 ng/mL (6 nmol/L) ou superiores a 0,82 ng/mL (2,5 nmol/L) na infância são sugestivos de existência de doença^{1,3}. Nestes casos deve ser efetuado o teste de estimulação com ACTH, que consiste no doseamento de 17-OHP basal e 60 minutos após injeção endovenosa de 250 µg de ACTH. Valores de 17-OHP aos 60 minutos entre 2-10 ng/mL (6-30 nmol/L) podem corresponder a portadores heterozigotos, valores entre 10-100 ng/mL (30-300 nmol/L) são sugestivos de HCSRNC e valores superiores a 100 ng/mL (300 nmol/L) são sugestivos de forma clássica da doença^{1,3,19} (fig. 2). Podem ainda estar presentes outras alterações analíticas, nomeadamente elevação de progesterona, 17-hidroxipregnenelona, androstenediona, testosterona, assim como excreção urinária aumentada de metabolitos da 17-OHP como o pregnanetriol³.

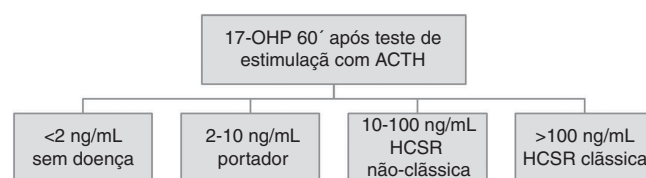


Figura 2. Valores de referência para diagnóstico de hiperplasia congénita suprarrenal através da prova de estimulação com ACTH.

Este ponto de corte de 2 ng/mL (6 nmol/L) de 17-OHP basal, para haver indicação para fazer o teste de estimulação com ACTH, e o valor de corte de 10 ng/dL (30 nmol/L) de 17-OHP após a injeção de ACTH para ser diagnóstico de HCSRNC, foram obtidos antes de haver estudos genéticos e têm sido muito contestados. Um estudo brasileiro sugere que o teste com ACTH deve ser realizado quando a 17-OHP basal for superior a 3,5 ng/mL (10,5 nmol/L), uma vez que este apresenta alta sensibilidade e bom valor preditivo negativo⁷. Com a era dos estudos moleculares verificou-se uma sobreposição entre os níveis de 17-OHP após ACTH encontrada em indivíduos heterozigotos para mutações da forma clássica e doentes com o diagnóstico da forma não clássica¹².

Nas crianças recomenda-se fazer o perfil adrenocortical completo após o teste de estimulação com ACTH para diferenciar a deficiência de 21-OH de outros defeitos enzimáticos¹.

Sugere-se fazer o estudo genético para efeitos de aconselhamento genético e também nos casos em que o teste de estimulação com ACTH é duvidoso, ou seja, quando se verificam respostas «borderline» com valores de 17-OHP entre 10-17 ng/mL (30-51 nmol/L) após estimulação com ACTH, com o objetivo de estes indivíduos não serem falsamente rotulados de HCSRNC, quando podem apenas corresponder a portadores heterozigotos¹². Como o estudo molecular não está disponível em todos os centros, nestes casos difíceis os parâmetros clínicos de excesso de androgénios como avanço de idade óssea, clitoromegalia, hirsutismo acentuado ou infertilidade devem ser tidos em conta para introdução ou não de terapêutica³.

Devido à variação na concentração hormonal condicionada pelo ritmo circadiano, ao fazer apenas o doseamento basal de 17-OHP pode ser perdido o diagnóstico, razão pela qual o teste de estimulação com ACTH deve ser efetuado sempre que haja forte suspeita do diagnóstico, mesmo que o doente apresente valores basais baixos de 17-OHP (inferiores a 2 ng/mL)^{7,19}.

Os indivíduos portadores heterozigotos podem apresentar o mesmo tipo de alterações bioquímicas, mas com valores de 17-OHP menos elevados e pequenas respostas ao teste de estimulação com ACTH (valores 17-OHP aos 60 minutos entre 2-10 ng/mL, ou seja, 6-30 nmol/L)¹.

Tratamento

As crianças com HCSRNC podem beneficiar da terapêutica com glicocorticoides caso se verifique pubarca precoce com idade óssea avançada, com alto risco de fusão epifisária precoce que condicione baixa estatura final^{1,3}. O tratamento consiste em hidrocortisona em baixas doses. Se as crianças são assintomáticas não há indicação para tratamento. A introdução de terapêutica com o intuito de promover o crescimento não é consensual e só poderá, eventualmente, ser efetuada quando a estatura é -2,25 desvios-padrão para idade e sexo¹. Alguns estudos relatam a utilização de hormona do crescimento (GH) e de análogos de LHRH em crianças com HCSRNC com idade óssea avançada, com melhoria na estatura final alcançada em relação à esperada antes de iniciar o tratamento²⁰.

Nas mulheres, são indicações para tratamento a existência de hirsutismo, acne, oligomenorreia ou infertilidade^{1,3}. No período pré-conceção poderá também ser efetuada terapêutica com glicocorticoides uma vez que esta parece estar associada a uma diminuição do risco de abortamento espontâneo^{15,21}. No caso de não se pretender uma gravidez, a terapêutica de 1.ª linha consiste na utilização de estroprogestativo e/ou antiandrogéneo, atendendo aos efeitos laterais dos glicocorticoides e ao facto de o hirsutismo necessitar de um tratamento prolongado^{13,22}. No caso de a fertilidade ser desejada está indicado efetuar terapêutica com glicocorticoide e, se necessário, adicionar citrato de clomifeno ou outras técnicas de reprodução nos casos de oligomenorreia

ou anovulação^{3,15,23}. A terapêutica com glicocorticoides deve ser na menor dose possível para obter resultados¹³, sendo habitualmente 10-20 mg/dia de hidrocortisona em 2 administrações por dia, 0,25-0,75 mg/dia de dexametasona à hora de deitar ou 5-7,5 mg/dia de prednisolona à hora de deitar^{4,15}. Não existe consenso no que diz respeito ao tipo de glicocorticoide a usar nem quanto à sua dose. Cerca de 36% dos endocrinologistas europeus utilizam hidrocortisona, 33% dexametasona (este é o fármaco habitualmente usado na pré-conceção para induzir ovulação) e 14% prednisolona¹. Se a gravidez for obtida sob corticoterapia, a sua manutenção durante a gestação deve ser ponderada caso a caso: poderá ser reduzida gradualmente até à sua suspensão (o que vai diminuir a sua iatrogenia) ou poderá eventualmente ser mantida quando a doente já fazia glicocorticoides previamente à gravidez e não apenas na indução da ovulação. Não deve ser utilizada a dexametasona durante a gravidez uma vez que esta atravessa a placenta, exceto quando se pretende suprimir a função suprarrenal do feto (nos casos de risco de descendência do sexo feminino com forma clássica da doença)¹³. O tratamento com glicocorticoide pode ser interrompido quando a mulher já não pretende novamente engravidar, contudo, se os sintomas de hiperandrogenismo persistirem, a doente pode beneficiar de efetuar um estroprogestativo³. O tempo para regressão dos sintomas pode ser de 3 meses no caso de acne ou irregularidades menstruais, mas pode demorar mais de 2 anos nos casos de hirsutismo^{1,4}. Será também importante associar medidas cosméticas para obter bons resultados no tratamento do hirsutismo^{1,23}. A terapêutica antiandrogénica pode também ser utilizada em casos de alopecia androgénica em doentes do sexo feminino¹⁰.

Nos doentes do sexo masculino o tratamento da HCSRNC é desnecessário, exceto se existir oligospermia e desejo de fertilidade ou se houver evidência de TART, o que é muito raro na forma não clássica^{1,6}. A posologia do tratamento glicocorticoide é similar à descrita para os doentes do sexo feminino, contudo, também não há consenso de qual será o fármaco ideal ou a dose mais adequada, sendo necessários mais estudos. O tratamento pode ser interrompido quando o doente não quiser ter mais filhos.

Monitorização do tratamento nos adultos

Os adultos com HCSRNC devem ser avaliados clínica e analiticamente pelo menos uma vez por ano¹.

Nos doentes do sexo feminino o objetivo é normalizar os níveis de androgénios no sentido de obter uma regularização dos ciclos menstruais e uma diminuição dos sinais e sintomas de hiperandrogenismo. Os objetivos laboratoriais consistem em normalizar os níveis de androstenediona e testosterona^{1,10}; a normalização dos níveis de 17-OHP normalmente significa um excesso de glicocorticoides, exceto nos casos de indução da ovulação¹⁰.

Nos doentes do sexo masculino a monitorização bioquímica do tratamento deve ser efetuada com doseamentos de 17-OHP que deve estar ligeiramente acima do normal ou suprimida se existência de TART, de androstenediona que deve estar ligeiramente elevada, de testosterona e de gonadotrofinas que devem ser normais¹. Os níveis de testosterona refletem predominantemente a função gonadal e não a função suprarrenal, sendo preferível dosear a androstenediona na monitorização do tratamento¹.

Não são necessárias doses de glicocorticoides de stress, exceto se houver supressão iatrogénica do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. É importante vigiar a densidade mineral óssea^{1,10}.

Aconselhamento genético

Será importante efetuar aconselhamento genético quando o casal já teve um filho com HCSR ou quando um dos progenitores apresenta a doença na sua forma clássica ou não clássica¹. Deve

ser explicado que a HCSR é uma doença autossômica recessiva. No caso de o casal já ter tido um filho com HCSR, a probabilidade de ter outro feto com HCSR é de 25% (1/4) e a probabilidade de ter um feto do sexo feminino com HCSR é 12,5% (1/8). No caso de um dos progenitores ter HCSR forma clássica e, considerando uma frequência de portadores de HCSR na população geral de 1,6%, a probabilidade de ter um feto do sexo feminino com HCSR é de 0,4% ([100% de probabilidade de um progenitor ser portador de 2 alelos com mutação clássica] x [1,6% de probabilidade do outro progenitor ser portador de alelo com mutação clássica que é igual à da população em geral] x [50% de probabilidade de progenitor portador transmitir o alelo mutado] x [50% de probabilidade de o feto ser do sexo feminino]). No caso de um dos progenitores ter HCSR forma não clássica, atendendo ao facto de que pelo menos cerca de metade destes doentes apresentam o outro alelo com mutação que causa HCSR clássica^{10,15}, a probabilidade de ter um feto do sexo feminino com HCSR é de 0,1% ([50% de probabilidade de o doente ter o outro alelo com mutação clássica] x [1,6% de probabilidade do outro progenitor ser portador de alelo com mutação clássica que é igual à da população em geral] x [25% de probabilidade de ambos os alelos com mutação clássica serem transmitidos para o feto] x [50% de probabilidade de o feto ser do sexo feminino])³. Nestas 2 últimas situações, seria benéfico efetuar o estudo genético ao outro progenitor²¹.

Diagnóstico pré-natal

O diagnóstico pré-natal de HCSR pode ser efetuado através do estudo genético a partir de tecido das vilosidades coriônicas (obtido por biópsia entre as 9-11 semanas de gestação) ou de células do líquido amniótico (obtidas por amniocentese entre as 15-18 semanas de gestação), contudo, o estudo do gene *CYP21* não deteta todas as mutações e não está sempre disponível^{3,17}. O diagnóstico pré-natal pode ainda ser realizado através do doseamento de 17-OHP no líquido amniótico colhido por amniocentese, contudo, este método não pode ser usado em mães que estejam medicadas com dexametasona por esta suprimir o córtex adrenal do feto, a não ser que este tratamento seja interrompido cerca de 5-7 dias antes da amniocentese³.

Terapêutica pré-natal

Uma vez que a terapêutica pré-natal apresenta risco de malformações do feto e iatrogenia não desprezível na grávida, recomenda-se que esta seja utilizada apenas em situações muito específicas e de acordo com os protocolos de cada centro^{1,24}. Esta terapêutica provoca bloqueio da produção adrenal do feto, estando reservada apenas para gestações com risco de feto com hiperplasia adrenal congénita clássica do sexo feminino com o objetivo de evitar virilização ou ambiguidade genital. Contudo, é importante informar os progenitores de que esta terapêutica não evita a necessidade de efetuar tratamento pós-natal nos bebés com hiperplasia congénita da suprarrenal, ou seja, não evita o aparecimento da doença. O tratamento consiste na administração à grávida de dexametasona, uma vez que esta atravessa a placenta, na dose de 20 µg/kg/dia (de acordo com o peso pré-gestacional), num máximo de 1,5 mg/dia dividida em 3 administrações, devendo ser iniciada antes da 8.^a semana de gestação³. O sucesso é alcançado em 80-85% dos casos¹ e os motivos de insucesso são essencialmente um início tardio do tratamento, a falta de adesão ou a dose subterapêutica. A dexametasona deve ser interrompida quando o feto é do sexo masculino ou quando o diagnóstico pré-natal exclui a forma clássica da doença⁴. Esta terapêutica apresenta riscos para o feto nomeadamente malformações congénitas como hipertrofia dos septos cardíacos ou fendas a nível orofacial¹. Cerca de 10% das

mulheres grávidas submetidas a esta terapêutica podem apresentar síndrome de Cushing iatrogénica, ganho ponderal excessivo, hipertensão arterial ou diabetes gestacional^{1,10}.

Rastreio bioquímico neonatal

O rastreio de HCSR é efetuado através do doseamento de 17-OHP entre as 48-72 horas de vida. A prematuridade, o baixo peso e as patologias neonatais estão associados a falsos positivos e as formas mais leves de HCSR associam-se a falsos negativos como é o caso das formas não clássicas^{1,3}. Está recomendada a utilização de um protocolo com 2 níveis, que consiste num imunoensaio em papel de filtro, seguido de um teste de confirmação no caso de resultados positivos para o primeiro teste²⁵. Este rastreio apresenta cerca de 98% de sensibilidade e apenas 2% de especificidade, sendo os rastreios positivos abordados de acordo com a região. A Sociedade Europeia de Endocrinologia recomenda a realização de rastreio neonatal em todos os recém-nascidos¹, o que iria permitir diagnosticar a forma perdedora de sal que é potencialmente letal, especialmente nos rapazes, uma vez que não apresentam ambiguidade genital e permitir também diagnosticar as formas virilizantes e tratá-las atempadamente. Quando se obtém um rastreio positivo é iniciada terapêutica e o bebé é enviado para observação por uma unidade de endocrinologia pediátrica, uma vez que tem indicação fazer teste de estimulação com ACTH e estudo de outras hormonas para além da 17-OHP, nomeadamente cortisol, desoxicorticosterona, 11-desoxicortisol, 17OH-pregnenolona, DHEA e androstenediona¹. A realização deste rastreio associado ao teste de estimulação com ACTH poderá também ser benéfica nos filhos de mães com HCSRNC uma vez que parece que a prevalência de situações de HCSR será bem superior à estimada matematicamente (2,5 vs 0,2%)¹⁵ e também porque irá permitir o diagnóstico precoce de situações de HCSR clássica e não clássica e assim estar alerta para os seus sinais e sintomas¹.

Conclusão

A HCSRNC é uma doença autossômica recessiva comum e manifesta-se habitualmente na infância tardia, adolescência ou início da vida adulta. Os sintomas típicos são pubarca prematura, hirsutismo, oligomenorreia, acne e infertilidade. Pode também ser assintomática. Apesar de ser uma doença genética, o seu diagnóstico é essencialmente laboratorial através do doseamento basal de 17-OHP e da realização do teste de estimulação com ACTH. O tratamento só é necessário caso haja sintomatologia e deve ser individualizado de acordo com o sexo e idade do doente e também atendendo ao desejo ou não de uma gravidez. Este não se resume apenas à utilização de glicocorticoides, podendo também consistir no uso de uma pílula estroprogestativa, de medicação antiandrogénica ou de medidas cosméticas. O rastreio bioquímico neonatal habitualmente não deteta casos de HCSRNC.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Bibliografia

1. Speiser PW, Azziz R, Baskin LS, Ghizzoni L, Hensle TW, Merke DP, et al. Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency: An endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:4133–60.
2. Rieppel F, Sippel W. Recent advances in diagnosis, treatment, and outcome of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Rev Endoc Metab Disord.* 2007;8:349–63.
3. White PC, Speiser PW. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Rev.* 2000;21:245–91.
4. New MI. Nonclassical 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:4205–14.

5. Merke DP. Genetics and clinical presentation of classic congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. In: UpToDate. 2013.
6. Witchel SF. Nonclassic congenital adrenal hyperplasia. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2012;19:151-8.
7. Taboada GF, Teixeira RJ, Correa FHS, Andrade CR, Dimetz T, Hohleuwerger R. Sensibilidade especificidade e valor preditivo dos níveis basais de 17-hidroxiprogesterona no diagnóstico da forma não-clássica da hiperplasia adrenal congénita por deficiência da 21-hidroxilase. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2003;47:552-7.
8. Escobar-Morreale HF, Sanchón R, Millán JS. A prospective study of the prevalence of nonclassical congenital adrenal hyperplasia among women presenting with hyperandrogenic symptoms and signs. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:527-33.
9. Azziz R, Sanchez A, Knochenhauer ES, Moran C, Lazenby J, Stephens KC, et al. Androgen excess in women: Experience with over 1000 consecutive patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:453-62.
10. Witchel SF, Azziz R. Nonclassical congenital adrenal hyperplasia. *Int J Pediatr Endocrinol.* 2010:1-11.
11. Baumgartner-Parzer SM, Nowotny P, Heinze G, Waldhausl W, Vierhaper H. Carrier frequency of congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency) in a Middle European population. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:775-8.
12. Correa FA, Bachega TS. Avaliação dos critérios diagnósticos hormonais da forma não clássica da deficiência da 21-hidroxilase através do estudo molecular do gene CYP21A2. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2003;5:622-30.
13. Merke DP. Approach to the adult with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:653-60.
14. Leite MV, Mendonça BB, Arnhold IJ, Estefan V, Nunes C, Nicolau W, et al. Identification of nonclassical 21-hydroxylase deficiency in girls with precocious pubarche. *J Endocrinol Invest.* 1991;14:11-5.
15. Moran C, Azziz R, Weintrob N, Witchel SF, Rohmer V, Dewailly D, et al. Reproductive outcome of women with 21-hydroxylase-deficient nonclassic adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:3451-6.
16. Nieman LK. Genetics and clinical presentation of nonclassical (late-onset) congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. In: UpToDate. 2012.
17. Vieira A, Paiva S, Baptista C, Ruas L, Silva J, Gonçalves J, et al. Hiperplasia congénita da supra-renal de expressão tardia por deficiência de 21-hidroxilase revisão da literatura e estudo genético preconcepção de cinco casais. *Acta Med Port.* 2011;24:99-110.
18. Glinborg D, Hermann AP, Brusgaard K, Hangaard J, Hagen C, Andersen M. Significantly higher adrenocorticotropin-stimulated cortisol and 17-hydroxyprogesterone levels in 337 consecutive, premenopausal, caucasian hirsute patients compared with healthy controls. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:1347-53.
19. Kashimada K, Ono M, Onishi T, Koyama S, Toyoura T, Imai K, et al. Clinical Course of patients with nonclassical 21-hydroxylase deficiency (21-OHD) diagnosed in infancy childhood. *Endocr J.* 2008;55:397-404.
20. Lin-Su K, Vogiatzi MG, Marshall I, Harbison MD, Macapagal MC, Betensky B, et al. Treatment with growth hormone and luteinizing hormone releasing hormone analog improves final adult height in children with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:3318-25.
21. Bidet M, Bellanné-Chantelot C, Galand-Portier MB, Golmard JL, Tardy V, Morel Y, et al. Fertility in women with nonclassical congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:1182-90.
22. Kelestimir F. Non-classical congenital adrenal hyperplasia. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2006;3:451-4.
23. Matthews D, Cheetham T. What is the best approach to the teenage patient presenting with nonclassical congenital adrenal hyperplasia: Should we always treat with glucocorticóides? *Clin Endocrinol.* 2013;78:338-41.
24. Witchel SF, Miller WL. Prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia – not standard of care. *J Genetic Counsel.* 2012;21:615-24.
25. Therrell BL, Berenbaum SA, Manter-Kapanke V, Simmank J, Korman K, Prentice L, et al. Results of screening 1.9 million texas newborns for 21-hydroxylase-deficient congenital adrenal hyperplasia. *Pediatrics.* 1998;101:583-90.



Revisão

Assessment of methods and indexes of insulin sensitivity



Rita S. Patarrão^{a,*}, Wilford Wayne Lutt^b, Maria Paula Macedo^{c,d}

^a CEDOC, Área de Ensino e Investigação de Medicina Celular e Molecular, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa, 1169-056 Lisboa, Portugal

^b Department of Pharmacology and Therapeutics, Faculty of Medicine, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba R3E 0W3, Canada

^c CEDOC, Departamento de Fisiologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa, 1169-056 Lisboa, Portugal

^d APDP-ERC Portuguese Diabetes Association Education and Research Center, Rua do Salitre, 118-120, 1250-203 Lisbon, Portugal

ARTICLE INFO

Article history:

Received 5 September 2012

Accepted 22 October 2013

Available online 14 March 2014

Keywords:

Hyperinsulinemic Euglycemic Glucose Clamp

Oral Glucose Tolerance Test

Meal Tolerance Test

Rapid Insulin Sensitivity Test

Homeostasis Model Assessment

Oral Glucose Insulin Sensitivity

ABSTRACT

Insulin resistance contributes to the pathophysiology of diabetes and is a hallmark of obesity, metabolic syndrome, and many cardiovascular diseases. Therefore, quantifying insulin sensitivity/resistance in humans and animal models is of great importance.

Various methods are used to assess insulin sensitivity both in individuals and in study populations. Validity, reproducibility, cost, and degree of subject burden are important factors for both clinicians and researchers to consider when weighing the merits of a particular method. Some methods rely on steady-state analysis of glucose and insulin, whereas others rely on dynamic testing. Each of these methods has distinct advantages and limitations. Thus, optimal choice and employment of a specific method depend on the nature of the studies being performed. Established direct methods for measuring insulin sensitivity *in vivo* are relatively complex. Finally, simple surrogate indexes for insulin sensitivity/resistance are available that are derived from blood insulin and glucose concentrations under fasting conditions (steady state) or in the postprandial state (dynamic). This article highlights merits, limitations, and appropriate use of current *in vivo* measures of insulin sensitivity/resistance and presents the advantages and disadvantages of each.

© 2012 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Métodos de avaliação e índices de sensibilidade à insulina

RESUMO

A resistência à insulina contribui para a fisiopatologia da diabetes e é uma característica marcante da obesidade, da síndrome metabólica, e de doenças cardiovasculares. Assim, quantificar a sensibilidade à insulina vs resistência à insulina em humanos e em modelos animais é de grande importância.

Existem vários métodos para avaliar a sensibilidade à insulina, tanto em indivíduos, como em populações de estudo. A validade, reprodutibilidade, custo e envolvimento dos indivíduos são fatores importantes a considerar para os clínicos e investigadores aquando da escolha de um determinado método de avaliação da sensibilidade e/ou resistência à insulina. Alguns métodos dependem da quantificação dos níveis de glucose e de insulina no estado estacionário, embora outros métodos possam ser utilizados no estado dinâmico. Cada um destes métodos tem vantagens e limitações distintas. Assim, a escolha e a aplicabilidade correta de um método específico depende da natureza dos estudos a serem realizados. O desenho de métodos diretos para medir a sensibilidade à insulina *in vivo* é relativamente complexo. Existem alguns índices simples para avaliar a sensibilidade e/ou resistência à insulina, que resultam da avaliação das concentrações de insulina e glucose em jejum (estado estacionário) ou no estado pós-prandial (estado dinâmico). Este artigo destaca as limitações e a utilização adequada dos atuais métodos de avaliação de sensibilidade e/ou resistência à insulina e apresenta as vantagens e desvantagens de cada um dos métodos.

© 2012 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

Palavras-chave:

Clamp de glucose hiperinsulinémico e euglicémico

Teste oral de tolerância à glucose

Teste de tolerância à refeição

Teste rápido de sensibilidade à insulina

Avaliação do modelo de homeostase

Glucose oral e sensibilidade à insulina

* Corresponding author.

E-mail address: rita.patarrao@fcm.unl.pt (R.S. Patarrão).

Introduction

Measurements of insulin sensitivity provide clinicians and researchers with excellent instruments to objectively evaluate the efficiency of both current and potentially useful interventional tools.

It is of great importance to develop tools for quantifying insulin sensitivity/resistance in humans, which may be used to appropriately investigate the epidemiology, pathophysiological mechanisms, outcomes of therapeutic interventions, and clinical course of patients with insulin resistance.

Methods of insulin sensitivity/resistance assessment

Hyperinsulinemic Euglycemic Glucose Clamp

The Hyperinsulinemic Euglycemic Clamp (HIEC), originally developed by DeFronzo, is widely accepted as the “gold standard” for directly determining metabolic insulin sensitivity in humans.¹ After an overnight fast, insulin is infused intravenously at a constant rate that may range from 5 to 120 mU/m²/min (dose per body surface area per minute, during 180 min). This constant insulin infusion results in a new steady-state insulin level that is above the fasting level (hyperinsulinemic). Consequently, glucose disposal in skeletal muscle and adipose tissue is increased while hepatic glucose production (HGP) is suppressed. Under these conditions, a glucose analyzer is used to frequently monitor blood glucose levels at 5–10 min intervals, while 20% dextrose is given intravenously at a variable rate in order to “clamp” blood glucose concentrations in the normal range (euglycemic). After several hours of constant insulin infusion, steady-state conditions are typically achieved for plasma insulin, blood glucose, and the glucose infusion rate (GIR). Assuming that the hyperinsulinemic state is sufficient to completely suppress HGP, and since there is no net change in blood glucose concentrations under steady-state clamp conditions, the GIR must be equal to the glucose disposal rate (M). Thus, whole body glucose disposal at a given level of hyperinsulinemia can be directly determined. M is typically normalized to body weight or fat-free mass to generate an estimate of insulin sensitivity. Alternatively, an insulin sensitivity index (SI) derived from clamp data can be defined as $SI_{Clamp} = \frac{M}{G \times \Delta I}$, where M is normalized for G (steady-state blood glucose concentration) and ΔI (difference between fasting and steady-state plasma insulin concentrations).²

The validity of glucose clamp measurements of insulin sensitivity depends on achieving steady-state conditions. “Steady-state” is often defined as a period greater than 30 min (at least 1 h after initiation of insulin infusion) during which the coefficients of variation for blood glucose, plasma insulin, and GIR are less than 5%.² It is possible to use a radiolabeled glucose tracer under clamp conditions to estimate hepatic glucose production, so that appropriate corrections can be made to M in the event HGP is not completely suppressed.^{3–5} An alternative approach is to use an insulin infusion rate sufficiently high to completely suppress HGP according to the insulin sensitivity/resistance of the population to be studied.

M is routinely obtained at only a single insulin infusion rate, and therefore comparisons between M or SI_{Clamp} among different subjects is valid only if the same insulin infusion rate is used for all subjects.

The principal advantage of the glucose clamp in humans is that it directly measures whole body glucose disposal at a given level of insulinemia under steady-state conditions. Conceptually, the approach is straightforward but there is a limited number of assumptions that are clearly defined. In research settings where assessing insulin sensitivity/resistance is of primary interest and

feasibility is not an issue, it is appropriate to use the glucose clamp technique.

The main limitations of the HIEC approach are that it is time-consuming, labor intensive, expensive, and requires an experienced operator to manage technical difficulties. Another limitation is that the clamp utilizes steady-state insulin levels that may be supraphysiological. This results in a reversal of the normal portal to peripheral insulin gradient. Thus, the glucose clamp may not accurately reflect insulin action and glucose dynamics under physiological conditions that a dynamic test, such as, an oral meal or oral glucose load may determine. Further, in the HIEC insulin sensitivity is measured only under a steady-state condition, and therefore, the test does not realistically portray dynamic conditions such as those occurring after normal meals. Because HIEC is dependent on steady-state conditions, insulin infusion is continuous for ≈ 3 h, and the subjects are in the fasted state. The results of the HIEC may be limited by these restraints, because insulin release is pulsatile,^{6–8} and insulin action is sensitized in the postprandial state.⁹ Nevertheless, it should be remembered that the HIEC measures insulin-stimulated glucose disposal only at insulin levels in the upper physiological range; information on the effects of insulin on glucose uptake and production in the basal condition, which is physiologically very important, is not provided (unless tracers are used).¹⁰

Insulin Tolerance Test

The Insulin Tolerance Test (ITT) was one of the first methods developed to assess insulin sensitivity *in vivo*.¹¹ In this method, a fixed bolus of regular insulin (0.1 IU/kg bw) is given iv after an 8–10 h fast. Blood samples are collected at 15 and 5 min before and 3, 6, 9, 12, 15, 20 and 30 min after insulin injection, and the plasma glucose decrement is then measured. Glucose is injected at 30 min to stop the fall in plasma glucose.^{12,13} The faster the decline in glucose concentration, the more insulin sensitive the subject is. The slope of the linear decline in plasma glucose (K_{ITT}) can be calculated by dividing 0.693 by the plasma glucose half-time (50% from baseline):

$$K_{ITT} = \frac{0.693}{t_{1/2}} \times 100$$

where $t_{1/2}$ represents the half-life of plasma glucose decrease, and is calculated from the slope of least square analysis of the plasma glucose concentrations from 3 to 15 min after iv insulin injection, when the plasma glucose concentration declined linearly. Normal K_{ITT} is $>2.0\%/min$ and values $<1.5\%/min$ are considered abnormal. This method gives an indirect estimate of overall insulin sensitivity.

The advantages of the ITT include its simplicity, rapidity and the use of a bolus injection of insulin. The bolus injection of insulin mimics the physiological pulsatile release of insulin.⁶ Furthermore, because glucose tolerance after a meal is dependent on insulin sensitivity, measuring insulin sensitivity in the prandial state is physiologically relevant.

Some of the drawbacks of this method include the supraphysiological insulin dose used, and also the fact that the test does not differentiate peripheral vs hepatic insulin resistance.¹⁴ Another major limitation of this test is the risk of hypoglycemia. Hypoglycemia triggers hormonal responses, which may interfere with insulin sensitivity and in turn slows the disappearance rate of glucose from plasma.¹⁵ In this view, the fall in plasma glucose concentration would be a function of the interplay between insulin, on the one hand, and glucagon, catecholamines, growth hormone and cortisol, on the other. Given that, the counterregulatory response occurs only 15–20 min after insulin injection. The glucose fall occurring in the first 15 min after iv insulin administration is probably a

function of insulin-stimulated glucose uptake by tissues as well as insulin ability to suppress glucose output by the liver.¹⁶

A lower insulin dose method of 0.05 IU/kg bw, or shortening the test to 15 min was suggested as an attempt to decrease the risk of hypoglycemia.^{14,17} The shorter version^{12,16} derived from the notion that the counterregulatory hormone response occurs only after 20 min of the insulin infusion.¹⁸

The ITT has been shown to correlate with the HIEC in several studies.^{12,16} However, arterialization of blood is essential in the ITT, as data from standard venous blood measurements showed no significant relationship with HIEC-derived glucose disposal.¹⁶

In conclusion, the ITT should be used with great caution in insulin sensitive individuals because of the increased risk of hypoglycemia, even when the smaller dose version of the test is used. The shorter ITT is a valid test in large-scale studies, especially when the site of resistance is not of importance.

Insulin Suppression Test

The insulin-suppression test (IST), another method that directly measures metabolic insulin sensitivity/resistance, was introduced by Shen et al. in 1970 and subsequently modified by Harano et al.^{19,20} After an overnight fast, somatostatin (250 µg/h) or the somatostatin analog octreotide (25 µg bolus, followed by 0.5 µg/min)²¹ is intravenously infused, to suppress endogenous secretion of insulin and glucagon. Simultaneously, insulin (25 mU/m²/min) and glucose (240 mg/m²/min) are intravenously infused over 3 h. Blood samples for glucose and insulin determinations are taken every 30 min for 2.5 h, and then at 10 min intervals from 150 to 180 min of the IST. The constant infusions of insulin and glucose determine steady-state plasma insulin (SSPI) and glucose (SSPG) concentrations. The steady-state period is assumed to be from 150 to 180 min after initiation of the IST. SSPI concentrations are generally similar among subjects. Therefore, the SSPG concentration will be higher in insulin resistant subjects and lower in insulin sensitive subjects, *i.e.*, SSPG values are inversely related to insulin sensitivity. The IST provides a direct measure (through SSPG) of the ability of exogenous insulin to mediate disposal of an iv glucose load, under steady-state conditions, where endogenous insulin secretion is suppressed.²²

The SSPG is a highly reproducible direct measure of metabolic actions of insulin, that is, less labor intensive and less technically demanding than HIEC. Indeed, since there are no variable infusions with the IST, steady-state conditions are more easily achieved with the IST than with HIEC. In research settings, the IST can be used for larger populations that may pose difficulties for application of HIEC. ELIMINAR esta frase.

Many of the limitations of the IST are similar to those described for HIEC (with the exception that the IST is less technically demanding). Thus, it is impractical to apply the IST in large epidemiological studies or in the clinical care setting. SSPG under ideal conditions determines primarily skeletal muscle insulin sensitivity, and is not designed to reflect hepatic insulin sensitivity.²²

Continuous infusion of glucose with model assessment

The continuous infusion of glucose with model assessment (CIGMA) is a procedure that assesses insulin sensitivity through the evaluation of the near steady-state glucose and insulin concentrations after a continuous infusion of glucose, with model assessment.²³ This method mimics postprandial glucose and insulin concentrations. CIGMA not only provides information about glucose tolerance and insulin sensitivity, but also about β-cell function. Using a mathematic model of glucose homeostasis, glucose and insulin values are compared with known physiologic data of glucose, and insulin kinetics in response to glucose infusion, which

are derived from healthy lean subjects with no family history of diabetes.²³

The glucose and insulin values used for CIGMA are obtained during the last 15 min of the 60 min continuous glucose infusion (5 mg glucose/kg bw/min). Samples are collected at 5 min intervals and the average is then compared with predicted values from the computer model. The median value for normal subjects is 1.35, and for diabetic patients with mild hyperglycemia is 4.0.²³

There are two main advantages of CIGMA over Homeostasis Model Assessment (HOMA). First, the insulin values that are measured in CIGMA are much higher than those in HOMA owing to the glucose stimulus and second, higher insulin concentration in CIGMA stimulates peripheral glucose uptake producing a steady-state glucose concentration, which is a better reflection of the peripheral insulin sensitivity.¹⁸

Although CIGMA is more practical, cheaper and less invasive than the frequently sampled intravenous glucose tolerance test (FSIVGTT) and HIEC procedure, the model incorrectly assumes that levels of insulin resistance at the liver and peripheral tissues are equal. Furthermore, in insulin-deficient subjects, where the insulin response is insufficient to stimulate glucose uptake, the interpretation of CIGMA is difficult.

Minimal model analysis of frequently sampled intravenous glucose tolerance test

The minimal model, developed by Bergman, Cobelli and colleagues in 1979, provides an indirect measure of metabolic insulin sensitivity/resistance based on glucose and insulin data obtained during a frequently sampled intravenous glucose tolerance test (FSIVGTT).²⁴ After an overnight fast, an intravenous bolus of glucose (0.3 g/kg bw) is infused over 2 min starting at time 0.

Currently, a modified FSIVGTT is used, where exogenous insulin (4 mU/kg/min) is also infused over 5 min beginning 20 min after the iv glucose bolus.^{25,26} Some studies use tolbutamide (a potassium channel blocker) instead of insulin in the modified FSIVGTT, to stimulate endogenous insulin secretion.^{27,28}

Blood samples are taken for plasma glucose and insulin measurements at different time points, before and 180 min after glucose infusion. The data obtained are then subjected to minimal model analysis using the computer program MINMOD (minimal model approach – MINMOD), to generate an index of insulin sensitivity (S_I).

The MINMOD is defined by two coupled differential equations with four model parameters (Fig. 1). The first equation describes plasma glucose dynamics in a single compartment. The second equation describes insulin dynamics in a “remote compartment”. The structure of the MINMOD allows it to uniquely identify model parameters, which determine a best fit to glucose disappearance during the modified FSIVGTT. S_I is calculated from two of these model parameters, and is defined as fractional glucose disappearance *per* insulin concentration unit.²⁹

In addition to S_I , other minimal model parameters may be used to estimate a “glucose effectiveness” index (S_G). S_G is defined as the ability of glucose *per se* to promote its own disposal and inhibit hepatic glucose production (HGP) in the absence of an incremental insulin effect (*i.e.*, when insulin is at basal levels).

$$\frac{dG(t)}{dt} = -[p_1 + X(t)]G(t) + p_1 G_b \quad (1)$$

$$\frac{dX(t)}{dt} = -p_2 X(t) + p_3 [I(t) - i_b] \quad (2)$$

Minimal model analysis of the modified FSIVGTT is easier than HIEC method because it is slightly less labor intensive, steady-state conditions are not required, and there are no iv infusions that require constant adjustment. Unlike HIEC or IST, information about

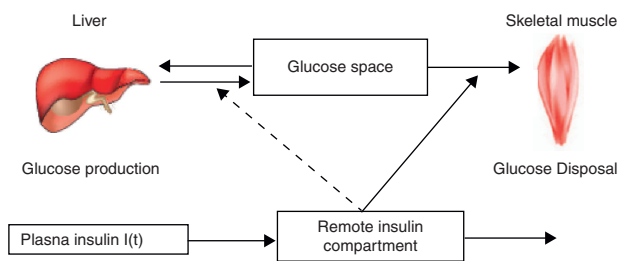


Fig. 1. Schematic equations and parameters for the minimal model of glucose metabolism. Differential equations describing glucose dynamics $[G(t)]$ in a mono-compartmental “glucose space” and insulin dynamics in a “remote compartment” $[X(t)]$ are shown at the top. Glucose leaves or enters its space at a rate proportional to the difference between plasma glucose level, $G(t)$ and the basal fasting level, G_b . In addition, glucose also disappears from its compartment at a rate proportional to insulin levels in the “remote” compartment $[X(t)]$. In this model, t – time; $G(t)$ – plasma glucose at time t ; $I(t)$ – plasma insulin concentration at time t ; $X(t)$ – insulin concentration in “remote” compartment at time t ; G_b – basal plasma glucose concentration; I_b – basal plasma insulin concentration; $G(0) - G_0$ (assuming instantaneous mixing of the iv glucose load); p_1, p_2, p_3 and G_0 – unknown parameters in the model that are uniquely identifiable from FSIVGTT; glucose effectiveness (S_C) – p_1 and insulin sensitivity – p_3/p_2 . Adapted from Ref. 29.

insulin sensitivity, glucose effectiveness, and β -cell function can be derived from a single dynamic test. The minimal model generates excellent predictions of glucose disappearance during the FSIVGTT.

In research settings, where assessing insulin sensitivity along with glucose effectiveness and β -cell function is of interest, minimal model analysis of the insulin-modified FSIVGTT may be appropriate. The minimal model approach is simpler than direct methods for determining insulin sensitivity. Nevertheless, it still involves iv infusions with multiple blood sampling over a 3 h period, that is, nearly as labor intensive as the HIEC or IST. In addition, many limitations of minimal model analysis stem from the fact that the model oversimplifies the physiology of glucose homeostasis.²⁹

Another oversimplification of the minimal model involves lumping together effects of insulin to promote peripheral glucose utilization and suppress HGP. As insulin sensitivity/resistance varies, the relative contribution of HGP to S_I may vary significantly. Since the minimal model relies on a dynamic test to evaluate insulin sensitivity, estimates of S_I are much less reliable in individuals with impaired insulin secretion and/or significant insulin resistance (when compared with healthy subjects). Under these conditions, the minimal model may overestimate S_C to accurately predict the disappearance of glucose during the FSIVGTT. Indeed, estimates of S_C are spuriously affected by differences in insulin secretory capacity.^{26,30} Moreover, for similar reasons, minimal model analysis often generates senseless negative values for S_I in a substantial proportion of subjects with diabetes, who have minimal insulin secretory capacity and significant insulin resistance.^{2,30} These non-systematic errors inherent in the minimal model approach are highlighted by calibration model analysis, demonstrating that some simple surrogate indexes of insulin sensitivity have better absolute accuracy for predicting $S_{I,Clamp}$ than the minimal model-derived S_I .³¹

Oral Glucose Tolerance Test

The Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) is a simple test, widely used in clinical practice to diagnose glucose intolerance and type 2 diabetes.^{18,32,33} After an overnight fast, blood samples for determinations of glucose and insulin concentrations are taken at 0, 30, 60, and 120 min following a standard oral glucose load (75 g).³³ A diagnosis of diabetes is conferred if an individual has a plasma glucose level ≥ 200 mg/dl (11 mmol/l) as measured 2 h after the

ingestion of a 75 g glucose load. If an individual has a value in the range of 140–199 mg/dl (7.7–11 mmol/l) 2 h post-glucose load, it is designated as having impaired glucose tolerance.³³ Oral glucose tolerance reflects the efficiency with which the body handles glucose after an oral glucose load.

The OGTT mimics the glucose and insulin dynamics of physiological conditions more closely than conditions of the HIEC, IST or frequently sample intravenous glucose tolerance test (FSIVGTT).³⁴ However, it is important to recognize that glucose tolerance and insulin sensitivity are not equivalent concepts. In addition to metabolic actions of insulin, insulin secretion, incretin effects, and other factors contribute importantly to glucose tolerance. Thus, the OGTT, by itself, provides useful information about glucose tolerance but not insulin sensitivity/resistance *per se*.^{35,36} During the OGTT, the use of a glucose tracer and both insulin and C-peptide plasma measurements at specific time points, allows the calculation of glucose clearance.

The OGTT is technically quite simple to perform and certainly lower in cost than HIEC or FSIVGTT. These considerations have made the OGTT the glucose challenge test of choice in clinical situations.³⁷ However, there are some problems with the OGTT that make it less desirable for use in research situations. First, there is variability in the rate of gastric emptying and glucose absorption from the gastrointestinal tract, causing some imprecision from the start. This variability can partially account for poorly reproducible results even within the same individual.³⁸ Second, glucose measurements in the standard OGTT do not give adequate information regarding the dynamics of glucose and insulin action.³³

The OGTT is a relatively crude measure of glucose tolerance. It does not measure the components of insulin sensitivity and insulin secretion. In light of this limitation, attempts have been made to obtain indices from OGTT data that might better reflect β -cell function and insulin sensitivity.^{39,40}

Meal Tolerance Test

In an attempt to study the ability to regulate blood glucose in a more physiological situation than the OGTT, some authors measure the glycemic profile in response to the ingestion of a mixed meal containing carbohydrates, fat and proteins; the Meal Tolerance Test (MTT).

The experimental procedure for the MTT is similar to the OGTT, that is, after an overnight fast (10–12 h), a mixed meal (liquid or solid) is given and the glycemic profile is measured throughout 2 h; usually the insulin profile is also determined during the same period of time.^{34,36}

The MTT is a “physiologic” variant of OGTT⁴¹ offering several advantages: (a) lack of artifactual postload hypoglycemia, thus making this test suitable for the study of postprandial hypoglycemia, a situation which is frequently due to high values of insulin sensitivity, but also to hyperinsulinism in a context of insulin resistance⁴²; (b) use of a physiologic stimulus triggering a cephalic phase proportional to palatability scores⁴³; (c) possibility to measure insulin sensitivity with a modified algorithm based on the minimal model³⁶ as well as glucose effectiveness and insulin secretion; (d) potential for evaluating the physiologic effects of incretins.⁴⁴

The MTT can represent a simple procedure, less unpleasant for the patient than the standard OGTT, and providing both a physiologic picture of glucoregulation, and a sophisticated and precise analysis of this glucoregulation, in terms of insulin sensitivity, glucose effectiveness, and insulin secretion.⁴¹

The β -cell response is stronger after a mixed meal than after an OGTT with equal carbohydrate quantity, both for classical and model-based parameters. The higher response was mostly

explained by higher β -cell sensitivity during the meal, which may lead to lower glucose excursions.⁴⁵

Several factors may contribute to differences in insulin secretion following an MTT compared with the OGTT. The MTT has a lower glycemic index than the OGTT, which may lead to lower glucose excursions.⁴⁶ Moreover, slower gastric emptying following the MTT due to larger volume,⁴⁷ solid character,⁴⁸ and fat content⁴⁹ will lead to a slower entry of nutrients into the circulation.

The MTT might be considered as an additional tool for the assessment of metabolic abnormalities, in glucose-intolerant and insulin-resistant states.³⁴

Thus, the MTT is a more physiological test than the OGTT, in regard to human diet, and is potentially able to give useful information concerning islet β -cell function in the different categories of glucose intolerance,⁵⁰ but not insulin sensitivity/resistance *per se*.³⁶

As any other method that measures glucose tolerance, the MTT does not assess insulin sensitivity directly and may not be repeated in the same subject or animal on the same day.

Rapid Insulin Sensitivity Test

A new method for insulin sensitivity quantification, called the Rapid Insulin Sensitivity Test (RIST), was described and evaluated for use in rats,^{51,52} cats^{53,54} mice⁵⁵ and humans.⁵⁶ The standard dynamic profile for the RIST in fed and fasted humans as well as the RIST insulin sensitivity index is shown in Fig. 2.

The RIST is an euglycemic test and is carried out after establishing the glycemic baseline, which is done by taking arterialized venous blood samples at 5 min intervals until three consecutive measurements are stable. An insulin infusion is commenced (50 mIU/kg administered over 5 min) and, after 1 min, glucose samples are taken at 2 min intervals, and glucose is infused intravenously at a variable rate to maintain euglycemia. The test is completed when no more glucose is required. At the standard test dose of insulin of 50 mIU/kg, the RIST in the fasted state is complete within approximately 40 min. The RIST index, the insulin sensitivity parameter, is simply the amount of glucose that had to be administered in order to maintain euglycemia after the bolus administration of insulin.⁵²

The majority of the insulin sensitivity tests are done in the fasted state, when insulin sensitivity would be logically anticipated to be at its lowest level. Studies performed by Patarrão et al. and Lutt et al. indicated that the fasted state results in a very low insulin responsiveness. It is reasonable that insulin sensitivity should be under a regulatory mechanism such that in the fasted state insulin effect would be minimized, and inappropriate release of insulin would not, therefore, lead to life-threatening hypoglycemia. The RIST can be carried out in the fed state.^{9,56} Furthermore, the RIST allows insulin sensitivity assessment before and after a meal, making it possible to test both meal and drug effects on insulin sensitivity.^{56,57}

The RIST is extremely sensitive and can be shown to generate dose-response relationships to insulin, which makes the RIST the most advantageous method in the determination of small differences in insulin sensitivity. This method is able to be carried out more than one time in the same subject with high reproducibility, and is sufficiently versatile to permit paired experimental designs, in the same subjects and on the same day. Both the accuracy and precision of the test can be assessed from determination of the deviation from the ideal euglycemic target.⁵²

Insulin release normally occurs in a pulsatile manner, and hormones released in a pulsatile manner are best studied by pulsatile administration.⁵⁸ Based on this assumption, the intravenous insulin bolus administered at the beginning of the RIST mimics the physiological insulin action. It also avoids the vagal withdrawal

and sympathetic activation induced by sustained hyperinsulinemia, during the HIEC^{55,59} and the hypoglycemia caused by the acute ITT.⁵⁹ It does not alter levels of counter-regulatory hormones, such as catecholamines, somatostatin or glucagon.⁵⁴ Moreover, both insulinemia and glycemia return to basal levels after each RIST.

One methodological issue relates to the basal glucose concentration determined before and after the RIST. Previous studies demonstrate clearly that there is no mean change in basal blood glucose levels used as the euglycemic target when, for example, compared before and after denervation of the hepatic plexus in rats⁶⁰ or atropine.⁶¹ In addition, we have also determined that there is no correlation between the magnitude of the RIST index and basal glucose levels when compared using a large number of data points.⁵² Of more concern is the importance that glucose uptake or output should not change during the RIST. Whatever stimulus is used, including either ablation or stimulation protocols, the stimulus is administered prior to conducting the RIST, and a new stable glycemic baseline must be demonstrated. In addition, at the conclusion of the RIST index, the re-established baseline must not be significantly altered. In the event that such alteration occurs, it suggests that glucose output either increased or decreased during the test. This is usually obvious by comparing the shape of normal RIST curves with that obtained in the presence of the altered baseline. In such situations, the data must be excluded, and the RIST repeated.

None of the available methods available to estimate insulin sensitivity/resistance proved to be a reliable way to assess insulin sensitivity/resistance since most of them have non-physiological continuous infusion of insulin and/or glucose, which interfere with peripheral insulin sensitivity/resistance; take a long time to be performed; could not avoid counter-regulatory responses to the hypoglycemia that follows an insulin bolus; could not allow the assessment of insulin sensitivity in different conditions in the same subject, and in the same day; and they only evaluate insulin sensitivity/resistance in the fasted state. Based on all of these drawbacks, it was necessary to develop another method for assessing insulin sensitivity/resistance.

To summarize, the RIST is a quick method to evaluate insulin sensitivity, reproducible in the same subject and on the same day, utilizes a bolus of insulin to mimic pulsatile insulin release, and can be performed in the fed or fasting state. In addition, since the RIST is an euglycemic test, avoids hypoglycemia and prevents the activation of counter-regulatory hormones. The RIST provides a new powerful tool to dissect insulin action in the fasted and fed state, and may provide a means to detect the pre-diabetic state, where early insulin resistance can be detected well before the impairment of the direct effect of insulin at a time when lifestyle interventions can be readily tested.

Simple surrogate indexes for insulin sensitivity/resistance

Homeostasis Model Assessment

The Homeostasis Model Assessment (HOMA), developed in 1985, is a model of interactions between glucose and insulin dynamics, that is then used to predict fasting steady-state glucose and insulin concentrations, for a wide range of possible combinations of insulin resistance and β -cell function.⁶² The model assumes a feedback loop between the liver and β -cell^{62,63}; and glucose concentrations are regulated by insulin-dependent hepatic glucose production, while insulin levels depend on the pancreatic β -cell response to glucose concentrations. Thus, a diminished response to glucose-stimulated insulin secretion reflects deficient β -cell function. Likewise, insulin resistance is reflected by diminished suppressive effect of insulin on hepatic glucose production.

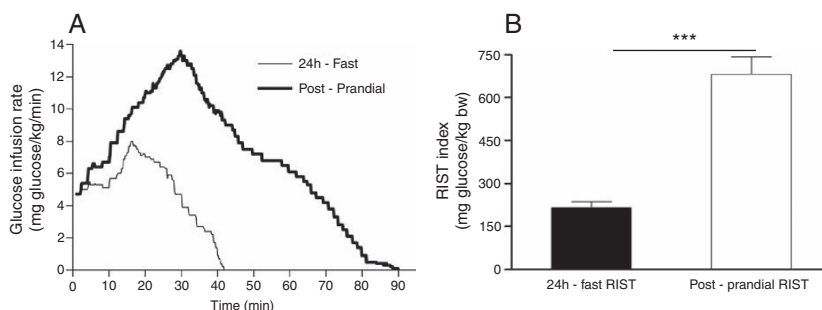


Fig. 2. (A) Mean profile using the dynamic analysis of the pattern of glucose infusion during the Rapid Insulin Sensitivity Test (RIST). The mean RIST curves were obtained by averaging glucose infusion rates at 0.1-min intervals throughout the test (Postprandial RIST (bold line) and the RIST obtained after 24 h-fast (simple line)). (B) Calculation of the area under the curve during the 24 h-fast and postprandial RIST, that corresponds to the total amount of glucose infused to maintain euglycemia over the test period, which is terminated when no further glucose infusion is required (RIST index).⁵⁶

HOMA model describes this glucose-insulin homeostasis by a set of empirically derived non-linear equations. The model predicts fasting steady-state levels of plasma glucose and insulin for any given combination of pancreatic β -cell function (HOMA%B) and insulin sensitivity (HOMA%S).

In practical terms, most studies using HOMA employ an approximation described by a simple equation to determine a surrogate index of insulin resistance. This is defined by the product of the fasting glucose and fasting insulin, divided by a constant. The formula for the HOMA model is:

$$\text{HOMA} = \frac{\text{Fasting Insulin } (\mu\text{IU/ml}) \times \text{Fasting Glucose (mmol/l)}}{22.5}$$

The denominator of 22.5 is a normalizing factor, *i.e.*, the product of normal fasting plasma insulin of 5 $\mu\text{IU/ml}$ and normal fasting plasma glucose of 4.5 mmol/l obtained from an “ideal and normal” individual.⁶² Therefore, for an individual with normal insulin sensitivity, HOMA=1. It is important to note that, over wide ranges of insulin sensitivity/resistance, log (HOMA) transforms the skewed distribution of fasting insulin values to determine a much stronger linear correlation with HIEC estimates of insulin sensitivity.²

HOMA or log (HOMA) is extensively used in large epidemiological studies, prospective clinical trials, and research studies. In research settings where assessing insulin sensitivity/resistance is of secondary interest or feasibility issues preclude the use of direct measures by HIEC, it may be appropriate to use log (HOMA).⁶³

Quantitative insulin sensitivity check index

Quantitative insulin sensitivity check index (QUICKI) is an empirically derived mathematical transformation that uses fasting blood glucose and plasma insulin concentrations. It provides a reliable, reproducible, and accurate index of insulin sensitivity with excellent positive predictive power.^{2,64} Since fasting insulin levels have a non-normal skewed distribution, log transformation improves its linear correlation with reference standard glucose clamp (SI_{Clamp}). However, as with $1/(\text{fasting insulin})$ and the glucose/insulin ratio, this correlation is not maintained in diabetic subjects with fasting hyperglycemia and impaired β -cell function that is insufficient to maintain euglycemia. To accommodate these clinically important circumstances where fasting glucose is inappropriately high, insulin is inappropriately low, application of logarithm to both fasting glucose, and fasting insulin provides a reasonable correction such that the linear correlation with SI_{Clamp} is maintained, in both diabetic and non-diabetic subjects. The reciprocal of this sum results in further transformation of the data generating an insulin sensitivity index that has a positive

correlation with SI_{Clamp} . Thus, QUICKI is defined by the following formula:

QUICKI

$$= \frac{1}{\log(\text{fasting insulin, } \mu\text{IU/ml}) + \log(\text{fasting glucose, mg/dl})}$$

QUICKI is among the most thoroughly evaluated and validated surrogate index for insulin sensitivity. As a simple, useful, inexpensive, and minimally invasive surrogate for HIEC-derived measures of insulin sensitivity, QUICKI is appropriate and effective for use in large epidemiological or clinical research studies, to follow changes after therapeutic interventions, and for use in studies where evaluation of insulin sensitivity is not of primary interest.^{2,65}

QUICKI and HOMA were derived in a completely different conceptual fashion. Nevertheless, these two surrogate indexes are mathematically related, *i.e.*, QUICKI is proportional to $1/\log$ (HOMA).

The major advantage of both the QUICKI and HOMA models is that they both require only one blood draw from a fasting patient. They thus do not require extensive technical expertise, and constitute a much lower cost *per* subject when compared with the HIEC or the FSIVGTT, making the QUICKI and HOMA models much more practical for use in large-scale epidemiologic studies, and for clinical situations.⁶³

However, the major disadvantage is that both of these methods fail to provide information about the stimulated glucose and insulin systems. Essentially, they provide information only about what is occurring with homeostatic mechanisms in the fasting state, largely reflecting insulin's effect on hepatic glucose production and not on peripheral glucose uptake, which is the more relevant aspect concerning insulin action/resistance.

Insulin sensitivity indexes

Cederholm and Wibell index

The insulin sensitivity index proposed by Cederholm and Wibell represents mainly peripheral insulin sensitivity and muscular glucose uptake, due to the dominant role of peripheral tissues in glucose disposal after an oral glucose load.⁴⁰

The formula for the Cederholm index is:

$$SI_{\text{Cederholm}} = \frac{75000 + (G_0 - G_{120}) \times 1.15 \times 180 \times 0.19 \times m}{120 \times G_{\text{mean}} \times \log(I_{\text{mean}})}$$

where 75,000 – oral glucose load in an OGTT in mg, G_0 – fasting plasma glucose concentration (mmol/l), G_{120} – plasma glucose concentration in the 120th min of OGTT (mmol/l), 1.15 – factor transforming whole venous blood glucose to plasma values

(not necessary, if glucose concentration is estimated in plasma), 180 – conversion factor to transform plasma glucose concentration from mmol/l into mg/dl, 0.19 – glucose space in liter per kg of body weight, m – body weight (kg), 120 – duration of OGTT (min), I_{mean} – mean plasma insulin concentration during OGTT (mIU/l) and G_{mean} – mean plasma glucose concentration during OGTT (mmol/l).

Values found in normal non-obese individuals were reported to be about $79 \pm 14 \text{ mg l}^2/\text{mmol/mIU/min}$, lower in obese individuals, in subjects with impaired glucose tolerance and in patients with type 2 diabetes.⁴⁰

Gutt et al. index

The $ISI_{0,120}$ was adapted from the Cederholm insulin sensitivity index, by omitting the constant terms, and using the plasma glucose and insulin concentration from fasting (0 min) and 120 min samples from the OGTT.⁶⁶

The $ISI_{0,120}$ index is defined as:

$$ISI_{0,120} = \frac{75,000 + (G_0 - G_{120}) \times 0.19 \times m}{120 \times G_{\text{mean}} \times \log(I_{\text{mean}})}$$

where 75,000 – oral glucose load in an OGTT in mg, G_0 – fasting plasma glucose concentration (mg/dl), G_{120} – plasma glucose concentration in the 120th min of OGTT (mg/dl), 0.19 – glucose space in l/kg of body weight, m – body weight (kg), 120 – duration of OGTT (min), I_{mean} – mean plasma insulin concentration during OGTT (mIU/l) and G_{mean} – mean plasma glucose concentration during OGTT (mmol/l).

The reference range for lean controls was 89 ± 39 , for obese 58 ± 23 and for diabetic patients $23 \pm 19 \text{ mg l}^2/\text{mmol/mIU/min}$.¹⁸

Avignon et al. index

Avignon⁶⁷ proposed 3 insulin sensitivity indices: Sib (derived from fasting plasma insulin and glucose concentrations), Si2h (derived from plasma insulin and glucose concentrations in the 120th min of OGTT) and SiM (derived by averaging Sib and Si2h after balancing Sib by a coefficient of 0.137 to give the same weight to both indices):

$$Sib = \frac{10^8}{I_0 \times G_0 \times VD} \quad Si2h = \frac{10^8}{I_{120} \times G_{120} \times VD}$$

$$SiM = \frac{(0.137 \times Sib) + Si2h}{2}$$

where I and G represent the plasma concentrations of insulin (mIU/l) and glucose (mmol/l), respectively and, VD is the glucose distribution volume calculated using a monocompartmental model: $VD = 150 \text{ ml/kg}$ of body weight.²⁸

Matsuda et al. index

Originally proposed by Matsuda and DeFronzo,³⁹ insulin sensitivity index-Matsuda (ISI_{Matsuda}) is an whole body insulin sensitivity index that reflects a composite estimate of hepatic and muscle insulin sensitivity. This index is calculated from plasma glucose (mg/dl) and insulin (mIU/l) concentrations in fasting state and during OGTT.

The formula for the Matsuda index is:

$$ISI_{\text{Matsuda}} = \frac{10,000}{\sqrt{G_0 \times I_0 \times G_{\text{mean}} \times I_{\text{mean}}}}$$

where 10,000 – simplifying constant to get numbers from 0 to 12, $\sqrt{\quad}$ – correction of the nonlinear values distribution, G_0 – fasting plasma glucose concentration (mg/dl), I_0 – fasting plasma insulin concentration (mIU/l), G_{mean} – mean plasma glucose concentration during OGTT (mg/dl), from 0 to 120 min and I_{mean} – mean plasma insulin concentration during OGTT (mIU/l), from 0 to 120 min.

The insulin secretion/insulin resistance (disposition) index calculated as the product of insulin secretion measured with ($\Delta I_{0-30}/\Delta G_{0-30}$ or $\Delta I_{0-120}/\Delta G_{0-120}$) and ISI_{Matsuda} (or modified ISI_{Matsuda}) using plasma glucose and insulin concentrations at 30 min during the OGTT), had excellent power to predict onset of type 2 diabetes.⁶⁸

Belfiore et al. index

The condition for calculation of the Belfiore formula is the definition of the normal value for basal glucose and insulin concentrations, and for mean normal value for glucose and insulin areas during OGTT.¹⁸ The main point of the Belfiore formula is the comparison of insulin and glucose values measured (fasting, 0–1–2 h areas or 0–2 h areas) with the defined normal reference values.

The ISI_{Belfiore} index is defined as:

$$ISI_{\text{Belfiore}} = \frac{2}{(G_S/G_N) \times (I_S/I_N) + 1}$$

where G_S , G_N – plasma glucose concentrations expressed as fasting values or as areas obtained during a standard OGTT at 0 and 2 h (0–2 h areas are equal to $G_{S,N} = G_0 + G_{120}$) or at 0, 1 and 2 h (0–1–2 h areas equal to $G_{S,N} = \frac{1}{2}G_0 + G_{60} + G_{120}$), I_S , I_N – plasma insulin concentrations expressed as fasting values or as areas obtained during a standard OGTT at 0 and 2 h (0–2 h areas are equal to $I_{S,N} = I_0 + I_{120}$) or at 0, 1 and 2 h (0–1–2 h areas equal to $I_{S,N} = \frac{1}{2}I_0 + I_{60} + I_{120}$). The subscripts S and N refer to “subjects” and “normal reference values”, respectively.

Insulin sensitivity calculated using these formulas can achieve only values between 0 and 2. In subjects with normal insulin sensitivity is it around 1; in overweight subjects, in subjects with impaired glucose tolerance, and with type 2 diabetes this value is below 1.^{69,70}

Stumvoll et al. index

Stumvoll proposed a series of indices calculated from plasma glucose (mmol/l) and insulin (pmol/l) concentrations during OGTT.⁷⁰ The equations were generated using the multiple linear regression analysis and adapted to the availabilities of sampling times during OGTT, and of demographic parameters (BMI, age).

An example equation could be the index of insulin sensitivity calculated from data obtained in 0, 60 and 120 min of OGTT either with or without demographic data:

$$ISI_{\text{Stumvoll}} = 0.222 - 0.00333 \times \text{BMI} - 0.0000779 \times I_{120} - 0.000422 \times \text{age}$$

$$ISI_{\text{Stumvoll}} = 0.156 - 0.0000459 \times I_{120} - 0.000321 \times I_0 - 0.00541 \times G_{120}$$

McAuley et al. index

The authors proposed a formula for predicting insulin resistance in normoglycemic individuals.⁷¹ Regression analysis was used to estimate the cut-off points and the importance of various data for insulin resistance (fasting concentrations of insulin, triglycerides, aspartate aminotransferase, BMI, waist circumference). A bootstrap procedure was used to find an index most strongly correlating with insulin sensitivity index, corrected for fat-free mass obtained by HIEC ($\frac{\text{Mffm}}{I}$).¹

An insulin sensitivity index obtained from HIEC of ≤ 6.3 (expressed as glucose disposal rate in mg/kg/min divided by average plasma insulin concentration in mIU/l) was seen as a cut-off for individuals with insulin resistance. The combination of fasting insulin (mIU/l) and triglycerides (TAG, mmol/l) showed the best prediction of insulin resistance as follows:

$$\left(\frac{\text{Mffm}}{I}\right) = e^{2.63 - 0.28 \ln(I_0) - 0.31 \ln(\text{TAG}_0)}$$

where I_0 – fasting plasma insulin concentration (mIU/l) and TAG_0 – fasting plasma triglycerides concentration (mmol/l).

Oral Glucose Insulin Sensitivity

The Oral Glucose Insulin Sensitivity (OGIS) is a method for the assessment of insulin sensitivity from the OGTT. OGIS provides an index that correlates to the index of insulin sensitivity obtained from the HIEC.

This method calculates insulin sensitivity with a model-derived equation of the form:

$$OGIS = f(G_0, G_{90}, G_{120}, I_0, I_{90}, I_{120}, D_0)$$

where G and I are glucose and insulin concentrations (subscripts represent time instant) and D_0 is the oral glucose dose (g/m² body surface area).

The function f is complex, but can be easily programmed on a spreadsheet (see <http://www.isib.cnr.it/bioing/ogis/home.html>, where a web-based calculator is also available). The expression of f contains some parameters, chosen to maximize the agreement with the HIEC. Glucose and insulin can be given in either common or international units (with appropriate parameters, see table 2 in⁷²).

OGIS is a predictor of the HIEC insulin sensitivity, expressed as glucose clearance M/G, normalized to body surface area. The units of OGIS are thus ml/min/m² of body surface area. OGIS has been validated against an 120 mU/min/m² insulin infusion HIEC (by direct comparison of the glucose clearance values), instead of the more standard 40 mU/min/m² used in the previous methods. Formulas for a 3 h and 2 h OGTT are also available.⁷²

OGIS exploits the known quantitative relationships between the observed data and the HIEC insulin sensitivity to attempt a genuine insulin sensitivity prediction. However, this advantage is limited by the necessity to use empirical assumptions, and to calculate parameters from regression.⁷²

Rapid Insulin Sensitivity Test index

The RIST index is the parameter used to evaluate insulin sensitivity that represents the total amount of glucose infused during the Rapid Insulin Sensitivity Test (RIST), in order to maintain euglycemia after the exogenous bolus administration of insulin. It corresponds to the area under the curve (AUC) of total glucose infused (mg glucose/kg bw) throughout the test⁵²:

$$RIST\ Index = AUC\ of\ Glucose$$

Conclusions

This paper has examined a wide variety of methods currently available for estimating insulin sensitivity/resistance and also introduces a new method – the RIST. The methods range from complex, time-consuming, labor-intensive, invasive procedures to simple tests involving a single fasting blood sample. It is important to understand the concepts underlying each method so that relative merits and limitations are appropriately matched to proposed applications. Developing valid, reliable, cost-effective methods of assessing insulin sensitivity is a major scientific challenge. Dynamic tests are useful if information about both insulin secretion and insulin action are needed. As with all measurement techniques, correct interpretation of data from different methods for measuring insulin sensitivity requires a complete understanding of the technique.

Funding

This study was supported by Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) grants FCT/POCI/SAU-OBS/56716/2004 and PIC/IC/82956/2007 and by the Portuguese Diabetes Society (SPD).

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

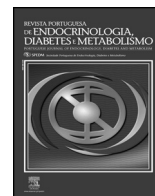
Acknowledgements

We thank Fernandes AB, Afonso RA, Ribeiro RT and Inês S. Lima for helpful scientific discussions.

References

- DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol.* 1979;237:E214–23.
- Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2402–10.
- Radziuk J, Pye S. Quantitation of basal endogenous glucose production in Type II diabetes: importance of the volume of distribution. *Diabetologia.* 2002;45:1053–84.
- Finegood DT, Bergman RN, Vranic M. Estimation of endogenous glucose production during hyperinsulinemic-euglycemic glucose clamps. Comparison of unlabeled and labeled exogenous glucose infusates. *Diabetes.* 1987;36:914–24.
- McMahon MM, Schwenk WF, Haymond MW, Rizza RA. Underestimation of glucose turnover measured with [6-3H]- and [6,6-2H]- but not [6-14C]glucose during hyperinsulinemia in humans. *Diabetes.* 1989;38:97–107.
- Porksen N, Munn S, Steers J, Veldhuis JD, Butler PC. Effects of glucose ingestion versus infusion on pulsatile insulin secretion. The incretin effect is achieved by amplification of insulin secretory burst mass. *Diabetes.* 1996;45:1317–23.
- Lang DA, Matthews DR, Burnett M, Ward GM, Turner RC. Pulsatile, synchronous basal insulin and glucagon secretion in man. *Diabetes.* 1982;31:22–6.
- Hansen BC, Jen KC, Belbez Pek S, Wolfe RA. Rapid oscillations in plasma insulin, glucagon, and glucose in obese and normal weight humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982;54:785–92.
- Lautt WW, Macedo MP, Sadri P, Takayama S, Duarte Ramos F, Legare DJ. Hepatic parasympathetic (HISS) control of insulin sensitivity determined by feeding and fasting. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001;281:G29–36.
- Uwaifo GI, Parikh SJ, Keil M, Elberg J, Chin J, Yanovski JA. Comparison of insulin sensitivity, clearance, and secretion estimates using euglycemic and hyperglycemic clamps in children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:2899–905.
- Horgaard A, Thyssen TH. Clinical investigation into the effect of the intravenous injection of insulin. *Acta Med Scand.* 1929;72:92–5.
- Bonora E, Moghetti P, Zaccaro C, Cigolini M, Querena M, Cacciatori V, et al. Estimates of in vivo insulin action in man: comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989;68:374–8.
- Young RP, Critchley JA, Anderson PJ, Lau MS, Lee KK, Chan JC. The short insulin tolerance test: feasibility study using venous sampling. *Diabet Med.* 1996;13:429–33.
- Hirst S, Phillips DI, Vines SK, Clark PM, Hales CN. Reproducibility of the short insulin tolerance test. *Diabet Med.* 1993;10:839–42.
- Reaven GM. Insulin resistance in noninsulin-dependent diabetes mellitus. Does it exist and can it be measured? *Am J Med.* 1983;74:3–17.
- Akinmoku A, Selby PL, Ramaiya K, Alberti KG. The short insulin tolerance test for determination of insulin sensitivity: a comparison with the euglycaemic clamp. *Diabet Med.* 1992;9:432–7.
- Chen CC, Wang TY, Hsu SY, Chen RH, Chang CT, Chen SJ. Is the short insulin tolerance test safe and reproducible? *Diabet Med.* 1998;15:924–7.
- Monzillo LU, Hamdy O. Evaluation of insulin sensitivity in clinical practice and in research settings. *Nutr Rev.* 2003;61:397–412.
- Shen SW, Reaven GM, Farquhar JW. Comparison of impedance to insulin-mediated glucose uptake in normal subjects and in subjects with latent diabetes. *J Clin Invest.* 1970;49:2151–60.
- Harano Y, Hidaka H, Takatsuki K, Ohgaku S, Haneda M, Motoi S, et al. Glucose, insulin, and somatostatin infusion for the determination of insulin sensitivity in vivo. *Metabolism.* 1978;27 Suppl. 1:1449–52.
- Pei D, Jones CN, Bhargava R, Chen YD, Reaven GM. Evaluation of octreotide to assess insulin-mediated glucose disposal by the insulin suppression test. *Diabetologia.* 1994;37:843–5.
- Greenfield MS, Doberne L, Kraemer F, Tobey T, Reaven G. Assessment of insulin resistance with the insulin suppression test and the euglycemic clamp. *Diabetes.* 1981;30:387–92.
- Hosker JP, Matthews DR, Rudenski AS, Burnett MA, Darling P, Bown EG, et al. Continuous infusion of glucose with model assessment: measurement of insulin resistance and beta-cell function in man. *Diabetologia.* 1985;28:401–11.

24. Bergman RN, Ider YZ, Bowden CR, Cobelli C. Quantitative estimation of insulin sensitivity. *Am J Physiol.* 1979;236:E667–77.
25. Finegood DT, Hramiak IM, Dupre J. A modified protocol for estimation of insulin sensitivity with the minimal model of glucose kinetics in patients with insulin-dependent diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;70:1538–49.
26. Quon MJ, Cochran C, Taylor SI, Eastman RC. Direct comparison of standard and insulin modified protocols for minimal model estimation of insulin sensitivity in normal subjects. *Diabetes Res.* 1994;25:139–49.
27. Saad MF, Steil GM, Kades WW, Ayad MF, Elsewafy WA, Boyadjian R, et al. Differences between the tolbutamide-boosted and the insulin-modified minimal model protocols. *Diabetes.* 1997;46:1167–71.
28. Bergman RN, Prager R, Volund A, Olefsky JM. Equivalence of the insulin sensitivity index in man derived by the minimal model method and the euglycemic glucose clamp. *J Clin Invest.* 1987;79:790–800.
29. Bergman RN. Minimal model: perspective from 2005. *Horm Res.* 2005;64 Suppl. 3:8–15.
30. Finegood DT, Tzur D. Reduced glucose effectiveness associated with reduced insulin release: an artifact of the minimal-model method. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 1996;271:E485–95.
31. Chen H, Sullivan G, Quon MJ. Assessing the predictive accuracy of QUICKI as a surrogate index for insulin sensitivity using a calibration model. *Diabetes.* 2005;54:1914–25.
32. Sievenpiper JL, Jenkins DJA, Josse RG, Vuksan V. Dilution of the 75-g oral glucose tolerance test increases postprandial glycemia: implications for diagnostic criteria. *CMAJ.* 2000;162:993–6.
33. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2010;33 Suppl. 1:S62–9.
34. Berthiaume N, Zinker BA. Metabolic responses in a model of insulin resistance: comparison between oral glucose and meal tolerance tests. *Metabolism.* 2002;51:595–8.
35. Steil GM, Hwu C-m, Janowski R, Hariri F, Jinagouda S, Darwin C, et al. Evaluation of insulin sensitivity and β -cell function indexes obtained from minimal model analysis of a meal tolerance test. *Diabetes.* 2004;53:1201–7.
36. Caumo A, Bergman RN, Cobelli C. Insulin sensitivity from meal tolerance tests in normal subjects: a minimal model index. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:4396–402.
37. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2007;30 Suppl. 1:S42–7.
38. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care.* 2010;33 Suppl. 1:S11–61.
39. Matsuda M, DeFronzo R. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care.* 1999;22:1462–70.
40. Cederholm J, Wibell L. Insulin release and peripheral sensitivity at the oral glucose tolerance test. *Diabetes Res Clin Pract.* 1990;10:167–75.
41. Lefebvre PJ, Luyckx AS. The breakfast tolerance test: a return to physiology. *Diabetes Metab.* 1976;2:15–9.
42. Brun JF, Fedou C, Mercier J. Postprandial reactive hypoglycemia. *Diabetes Metab.* 2000;26:337–51.
43. Raynaud E, Brun JF, Perez-Martin A, Sagnes C, Boullard AM, Fedou C, et al. Serum leptin is associated with the perception of palatability during a standardized high-carbohydrate breakfast test. *Clin Sci (Lond).* 1999;96:343–8.
44. Rijkkelijkhuizen JM, McQuarrie K, Girman CJ, Stein PP, Mari A, Holst JJ, et al. Effects of meal size and composition on incretin, α -cell, and β -cell responses. *Metabolism.* 2010;59:502–11.
45. Rijkkelijkhuizen JM, Girman CJ, Mari A, Alsema M, Rhodes T, Nijpels G, et al. Classical and model-based estimates of β -cell function during a mixed meal vs. an OGTT in a population-based cohort. *Diabetes Res Clin Pract.* 2009;83:280–8.
46. Wolever TM, Yang M, Zeng XY, Atkinson F, Brand-Miller JC. Food glycemic index, as given in glycemic index tables, is a significant determinant of glycemic responses elicited by composite breakfast meals. *Am J Clin Nutr.* 2006;83:1306–12.
47. Doran S, Jones KL, Andrews JM, Horowitz M. Effects of meal volume and posture on gastric emptying of solids and appetite. *Am J Physiol.* 1998;275 Pt 2:R1712–8.
48. Achour L, Meance S, Briand A. Comparison of gastric emptying of a solid and a liquid nutritional rehabilitation food. *Eur J Clin Nutr.* 2001;55:769–72.
49. Cunningham KM, Read NW. The effect of incorporating fat into different components of a meal on gastric emptying and postprandial blood glucose and insulin responses. *Br J Nutr.* 1989;61:285–90.
50. Marena S, Montegrosso G, De Michieli F, Pisu E, Pagano G. Comparison of the metabolic effects of mixed meal and standard oral glucose tolerance test on glucose, insulin and C-peptide response in healthy, impaired glucose tolerance, mild and severe non-insulin-dependent diabetic subjects. *Acta Diabetol.* 1992;29:29–33.
51. Xie H, Lutt WW. Insulin resistance caused by hepatic cholinergic interruption and reversed by acetylcholine administration. *Am J Physiol.* 1996;271(Pt. 1):E587–92.
52. Lutt WW, Wang X, Sadri P, Legare DJ, Macedo MP. Rapid insulin sensitivity test (RIST). *Can J Physiol Pharmacol.* 1998;76:1080–6.
53. Xie H, Zhu L, Zhang YL, Legare DJ, Lutt WW. Insulin sensitivity tested with a modified euglycemic technique in cats and rats. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 1996;35:77–82.
54. Xie H, Lutt WW. Induction of insulin resistance by cholinergic blockade with atropine in the cat. *J Auton Pharmacol.* 1995;15:361–9.
55. Latour MG, Chan CC. A rapid insulin sensitivity test (RIST) in the anesthetized mice. *Diabetes.* 2002;51 Suppl. 2:A422 (Abstract).
56. Patarrão RS, Lutt WW, Afonso RA, Ribeiro RT, Guarino MP, Fernandes AB, et al. Meal-induced insulin sensitization and its parasympathetic regulation in humans. *Can J Physiol Pharmacol.* 2008;86:880–8.
57. Sadri P, Reid MA, Afonso RA, Schafer J, Legare DJ, Macedo MP, et al. Meal-induced insulin sensitization in conscious and anaesthetized rat models comparing liquid mixed meal with glucose and sucrose. *Br J Nutr.* 2006;95:288–95.
58. Lutt WW. Insulin sensitivity in skeletal muscle regulated by a hepatic hormone. *HSS Can J Appl Physiol.* 2005;30:304–12.
59. Reid MA, Latour MG, Legare DJ, Rong N, Lutt WW. Comparison of the rapid insulin sensitivity test (RIST), the insulin tolerance test (ITT), and the hyperinsulinemic euglycemic clamp (HEC) to measure insulin action in rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 2002;80:811–8.
60. Latour MG, Lutt WW. The hepatic vagus nerve in the control of insulin sensitivity in the rat. *Auton Neurosci.* 2002;95:125–30.
61. Xie H, Lutt WW. Insulin resistance of skeletal muscle produced by hepatic parasympathetic interruption. *Am J Physiol.* 1996;270 Pt 1:E858–63.
62. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28:412–9.
63. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care.* 2004;27:1487–95.
64. Mather KJ, Hunt AE, Steinberg HO, Paradisi G, Hook G, Katz A, et al. Repeatability characteristics of simple indices of insulin resistance: implications for research applications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:5457–64.
65. Abbasi F, Reaven GM. Evaluation of the quantitative insulin sensitivity check index as an estimate of insulin sensitivity in humans. *Metabolism.* 2002;51:235–7.
66. Gutt M, Davis CL, Spitzer SB, Llabre MM, Kumar M, Czarnecki EM, et al. Validation of the insulin sensitivity index (ISI(0,120)): comparison with other measures. *Diabetes Res Clin Pract.* 2000;47:177–84.
67. Cobelli C, Mari A, Ferrannini E. Non-steady state: error analysis of Steele's model and developments for glucose kinetics. *Am J Physiol.* 1987;252 Pt 1:E679–89.
68. Belfiore F, Iannello S, Camuto M, Fagone S, Cavaleri A. Insulin sensitivity of blood glucose versus insulin sensitivity of blood free fatty acids in normal, obese, and obese-diabetic subjects. *Metabolism.* 2001;50:573–82.
69. Stumvoll M, Mitrakou A, Pimenta W, Jenssen T, Yki-Jarvinen H, Van Haefen T, et al. Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes Care.* 2000;23:295–301.
70. Stumvoll M, Van Haefen T, Fritsche A, Gerich J. Oral glucose tolerance test indexes for insulin sensitivity and secretion based on various availabilities of sampling times. *Diabetes Care.* 2001;24:796–7.
71. McAuley KA, Williams SM, Mann JI, Walker RJ, Lewis-Barned NJ, Temple LA, et al. Diagnosing insulin resistance in the general population. *Diabetes Care.* 2001;24:460–4.
72. Mari A, Pacini G, Murphy E, Ludvik B, Nolan JJ. A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care.* 2001;24:539–48.



Revisão

Sobrecarga de ferro e diabetes *mellitus*

Sofia Gouveia*, Cristina Ribeiro e Francisco Carrilho



Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Hospitais da Universidade de Coimbra – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, E.P.E, Coimbra, Portugal

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Historial do artigo:

Recebido a 18 de abril de 2013

Aceite a 10 de março de 2014

On-line a 18 de junho de 2014

Palavras-chave:

Sobrecarga de ferro

Hemocromatose hereditária

Diabetes *mellitus*

Secreção de insulina

Insulinorresistência

R E S U M O

A sobrecarga de ferro pode ser atribuível a causas hereditárias ou secundárias.

A hemocromatose hereditária é a doença genética mais comum entre Caucásianos. Em Portugal, à semelhança da Europa, é mais frequente na região Norte.

A diabetes *mellitus* secundária à hemocromatose hereditária parece resultar da associação entre a diminuição da secreção de insulina e o agravamento da insulinorresistência. Não existe consenso relativamente ao mecanismo primordial.

Aporte de ferro elevado, saturações de transferrina aumentadas e homozigotia para a mutação C282Y associam-se a aumento de risco para a diabetes *mellitus* tipo 1.

É recomendável que as reservas de ferro sejam avaliadas em doentes com diabetes *mellitus*, na medida em que o diagnóstico precoce de sobrecarga de ferro poderá evitar as complicações subsequentes.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

Iron overload and diabetes *mellitus*

A B S T R A C T

Iron overload might be ascribable to hereditary or secondary causes.

Hereditary hemochromatosis is the most common genetic disorder among Caucasians. In Portugal, likewise in Europe, it is more frequent in the North.

Diabetes due to hereditary hemochromatosis seems to result from a decrease in insulin secretion and increase in insulin resistance. No consensus was reached on what concerns to the main mechanism.

High iron intake, increased transferrin saturation and C282Y homozygosity are associated with increased risk for type 1 diabetes *mellitus*.

It is advisable to assess iron stores in patients with diabetes *mellitus*, as long as an early diagnosis of iron overload may prevent subsequent complications.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Iron overload

Hereditary hemochromatosis

Diabetes *mellitus*

Insulin secretion

Insulin resistance

Introdução

A hemocromatose hereditária é a causa genética mais comum de sobrecarga de ferro. Ainda que a penetrância seja reduzida, a morbimortalidade nos indivíduos afetados é significativa^{1–5}.

Alguns estudos sustentam que a hemocromatose hereditária e outras formas de sobrecarga de ferro podem constituir um fator de risco para a diabetes *mellitus* tipo 1 (DMT1)^{6–8}.

Os autores pretendem caracterizar a hemocromatose hereditária e o impacto da doença em Portugal, bem como rever a evidência científica relativa à fisiopatologia da diabetes *mellitus* secundária à hemocromatose e à associação entre hemocromatose e DMT1.

Etiologia da sobrecarga de ferro. Causas hereditárias e adquiridas

A hemocromatose hereditária ligada ao gene HFE é a causa genética mais comum de sobrecarga de ferro. Considerando indivíduos de ascendência norte-europeia, verificou-se que em 85–90% dos casos hereditários de sobrecarga de ferro está implicada a

* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: sofiamgouveia@gmail.com (S. Gouveia).

homozigotia para a mutação C282Y do gene HFE; os heterozigotos compostos C282Y/H63D (3-5% dos casos) e C282Y/S65C são minoritários. Os restantes 10 a 15% de casos de sobrecarga de ferro primária são consequência de mutações dos genes que codificam a hemojuvelina (HJV), a hepcidina (HAMP), o recetor 2 de transferrina (TFR2) e a ferroportina (SLC40A1), configurando formas de hemocromatose hereditária não atribuíveis ao gene HFE^{1,2,4,6,9}.

Consoante a mutação implicada, a hemocromatose hereditária pode ser classificada em tipo 1 (gene HFE), 2A (gene HJV), 2B (gene HAMP), 3 (gene TFR2) e 4 (gene SLC40A1). Todas as formas são de transmissão autossómica recessiva, à exceção da hemocromatose hereditária tipo 4 (autossómica dominante)⁹⁻¹¹.

Apesar dos órgãos-alvo da acumulação de ferro serem comuns a qualquer tipo de hemocromatose hereditária, o fenótipo inicial é determinado pela mutação implicada e inerente magnitude da sobrecarga. O coração e as glândulas endócrinas têm maior concentração de mitocôndrias e menor capacidade antioxidante do que o fígado, sendo por isso mais suscetíveis a lesões mediadas pela sobrecarga de ferro a curto/médio prazo³.

Nas formas de hemocromatose juvenil (tipo 2; genes HJV e HAMP) verifica-se um aumento súbito e significativo dos níveis de ferro plasmático, o que justifica um quadro de insuficiência cardíaca e endócrina (hipogonadismo, diabetes *mellitus*) antes dos 20-30 anos de idade. Por oposição, a hemocromatose hereditária tipo 1 (gene HFE) caracteriza-se por sobrecarga de ferro gradual e prolongada, o que motivará também lesão hepática e início das manifestações clínicas numa fase mais avançada da vida, entre os 40 e os 50 anos de idade (para o sexo masculino). A hemocromatose hereditária tipo 3 (manifestações clínicas iniciais entre os 30 e os 40 anos) e tipo 4 (faixa etária afetada prolonga-se dos 10 aos 80 anos) condicionam fenótipos intermédios relativamente aos descritos previamente^{3,11}.

As causas de hemocromatose hereditária e de sobrecarga de ferro secundária encontram-se enumeradas na tabela 1^{2,3,9-11}.

Tabela 1
Causas de sobrecarga de ferro

Hemocromatose hereditária
Por mutação do gene HFE
Hemocromatose hereditária tipo 1
Por outro tipo de mutação
Hemocromatose hereditária tipo 2A (gene HJV)
Hemocromatose hereditária tipo 2B (gene HAMP)
Hemocromatose hereditária tipo 3 (gene TFR2)
Hemocromatose hereditária tipo 4 (gene SLC40A1)
Sobrecarga de ferro secundária
<i>Doença hepática crónica</i>
Hepatite B e C
Hepatopatia alcoólica
Esteatose hepática não-alcoólica
Porfiria cutânea tardia
Shunt portocava
<i>Anemia associada a sobrecarga de ferro</i>
Talassemia major
Anemia sideroblástica
Anemia aplásica
Anemia hemolítica crónica
Deficiência de piruvato cinase
<i>Sobrecarga de ferro parentérica</i>
Administração parentérica de ferro
Transfusão de concentrado eritrocitário
Hemodiálise de longa duração
<i>Multifatoriais</i>
Atransferrinemia congénita
Aceruloplasminemia
Sobrecarga de ferro neonatal/hemocromatose aloimune neonatal
Sobrecarga de ferro africana/siderose de Bantu

Hemocromatose hereditária tipo 1

A hemocromatose hereditária é a doença genética mais comum entre Caucasianos; é particularmente frequente em indivíduos com ascendência nórdica ou celta, com uma prevalência estimada de um caso por cada 220-250 pessoas. Esta patologia é menos frequente nos restantes grupos étnicos^{2,3}.

Numa população caucasiana adulta, as frequências alélicas das mutações C282Y, H63D e S65C do gene HFE são respetivamente estimadas em 6,2, 14 e 0,5%. A mutação H63D é a mais comum, sendo a sua frequência relativamente similar nas diferentes populações de origem caucasiana. Por oposição, a frequência alélica da mutação C282Y é maior nas populações do norte da Europa, estando descritas frequências da ordem dos 7,8% na Noruega e 12,75% na Irlanda, muito superiores às registadas em Portugal^{1,9,11,12}.

A homozigotia H63D e a heterozigotia composta C282Y/H63D ou C282Y/S65C associam-se a sobrecarga ligeira de ferro. A heterozigotia C282Y ou H63D não condiciona habitualmente sobrecarga de ferro. Contudo, os indivíduos com os referidos genótipos podem desenvolver manifestações clínicas (nomeadamente hepáticas) caso apresentem outras entidades que se constituam como cofatores de risco para a sobrecarga de ferro (hepatopatia alcoólica, esteatose hepática não-alcoólica, hepatite B ou C, porfiria cutânea tardia, shunt portocava, anemia com sobrecarga de ferro, obesidade)^{1,2,5}.

Como consequência da deposição de ferro em diferentes órgãos, podem surgir manifestações hepáticas (hepatomegalia, insuficiência hepática, cirrose, carcinoma hepatocelular), cardiovasculares (arritmias, miocardiopatia, insuficiência cardíaca), osteoarticulares (condrocalcinose, osteoporose, artrite séptica, poliartrite simétrica com atingimento preferencial da 2.^a e 3.^a articulações metacarpo-falângicas), cutâneas (hiperpigmentação, atrofia cutânea, porfiria cutânea tardia) e endocrinológicas (diabetes *mellitus*, hipogonadismo hipogonadotrófico, hipo ou hipertiroidismo). Os doentes podem ainda referir queixas inespecíficas de astenia e perda de peso. A homozigotia C282Y aparenta associar-se a aumento de risco de cancro colorrectal (ambos os sexos) e cancro da mama (no sexo feminino)^{1-5,9,10}.

Cerca de 70% dos homozigotos C282Y apresentam alterações da cinética de ferro e até 10% desenvolvem uma complicação atribuível à hemocromatose. A probabilidade de um doente desenvolver sintomas é superior em indivíduos com antecedentes de etilismo e do sexo masculino (28% dos homens vs. 1% das mulheres homozigotas C282Y desenvolvem manifestações clínicas). As perdas menstruais (ou as hemorragias de privação) e gestações (um grama de ferro é removido por cada gestação de termo) minimizam a acumulação de ferro e atrasam a progressão da doença no sexo feminino^{1,2,9}.

O algoritmo de diagnóstico proposto pela American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) estabelece que a população-alvo de rastreio para a hemocromatose deve englobar indivíduos com história familiar de hemocromatose, sintomas ou alterações bioquímicas e/ou imagiológicas que sugiram sobrecarga de ferro (p. ex. alterações das provas hepáticas, hepatomegalia, cardiomegalia). Caso apresentem saturação de transferrina igual ou superior a 45% e/ou ferritina elevada devem ser submetidos a estudo do gene HFE (após confirmação da elevação da saturação de transferrina numa avaliação em jejum)².

Em doentes com hemocromatose que ainda não desenvolveram cirrose e/ou diabetes *mellitus* secundária à doença, a taxa de sobrevivência é semelhante à da população geral. Portanto, doentes com hemocromatose hereditária e evidência de sobrecarga de ferro devem ser tratados precocemente com recurso a flebotomias (ou, em caso de intolerância ou contra-indicação, alvo de tratamento com o quelante de ferro desferroxamina), cuja regularidade deve ser adaptada individualmente em função da resposta à terapêutica^{1,2,4,9,10}.

A mortalidade na hemocromatose hereditária está associada primordialmente à insuficiência cardíaca, diabetes *mellitus*, cirrose hepática e carcinoma hepatocelular³⁻⁵.

Hemocromatose hereditária tipo 1 em Portugal. A existência de um gradiente Norte-Sul relativo à mutação C282Y

Num estudo publicado em 2001 comparou-se a frequência das mutações C282Y e H63D nas diferentes regiões geográficas de Portugal (n = 640)¹².

A frequência alélica da mutação C282Y foi de 5,8% no Norte, 4,6% no Centro, 3% em Lisboa e Vale do Tejo, 2,3% no Alentejo e 0,9% no Algarve. Relativamente à frequência alélica da mutação H63D, não se verificou a existência de diferença estatisticamente significativa entre as regiões mencionadas. Foram registadas frequências alélicas de H63D de 19,4% no Norte, 20% no Centro, 15% em Lisboa e Vale do Tejo, 18,2% no Alentejo e 16,8% no Algarve¹².

Os homocigotos C282Y constituíram 0,8% da amostra do norte e centro do país; não foram detetados casos nas restantes regiões. Os heterocigotos compostos C282Y/H63D corresponderam a 2,3% da amostra da região Norte, 3,8% da região Centro, 0,8% da região de Lisboa e Vale do Tejo e do Alentejo e 1,7% do Algarve¹².

No estudo mencionado constatou-se a existência de um gradiente Norte-Sul relativamente à mutação C282Y. Alguns autores sustentam que a mutação H63D é mais antiga do que a C282Y, o que poderia justificar a ausência de disparidades geográficas na frequência alélica da mutação H63D (as diferenças ter-se-iam esbatido ao longo de múltiplas gerações de migrações e cruzamentos). Ao longo dos séculos, os povos que foram invadindo a Península Ibérica dominaram diferentes áreas geográficas por períodos de tempo variáveis, em função das suas sucessivas conquistas e derrotas. Assim, a área de influência geográfica dos Celtas e posteriormente dos Suevos abrangiu maioritariamente o que hoje corresponde à região norte de Portugal, cuja frequência alélica da mutação C282Y é semelhante à das populações do norte da Europa^{12,13}.

O tempo de ocupação pelos Mouros foi superior no sul do país, o que poderia justificar a reduzida frequência da mutação C282Y nesta região. Outra hipótese está relacionada com o facto da incidência de malária ser comparativamente superior no sul de Portugal. A mutação C282Y e a sobrecarga de ferro inerente poderiam constituir uma desvantagem em doentes com malária, pelo que em áreas com maior incidência desta doença a seleção natural tenderia a não favorecer indivíduos com a mutação C282Y^{12,13}.

Num estudo que envolveu 218 indivíduos nascidos na Ilha Terceira (Açores), verificou-se que a frequência alélica das mutações C282Y, H63D e S65C do gene HFE foi de, respetivamente, 2,1, 17,6 e 2,1%. Não foram detetados casos de homocigotia para a mutação C282Y ou heterocigotia C282Y/S65C. Contudo, o genótipo C282Y/H63D estava presente em 0,9% da amostra. O povoamento da ilha foi efetuado por populações com frequências alélicas de C282Y reduzidas comparativamente com o norte da Europa, nomeadamente Portugueses, Flamengos, Espanhóis, Italianos, Berberes e Judeus¹⁴.

Num estudo em que a população era originária da Ilha da Madeira (n = 154), concluiu-se que a frequência alélica da mutação C282Y, H63D e S65C do gene HFE foi de, respetivamente, 0,33, 20,5 e 1%. Os heterocigotos C282Y/H63D constituíam 0,65% da população estudada. Não foram identificados homocigotos C282Y nem heterocigotos C282Y/S65C nesta amostra. Considerando Portugal, e em consonância com o gradiente Norte-Sul relativo à frequência alélica da mutação C282Y, a Madeira é a região com frequência mais reduzida de mutações C282Y e mais elevada de mutações H63D. O pool genético da Ilha da Madeira reflete a povoação por Portugueses e indivíduos de origens europeias distintas (Espanhóis, Italianos, Franceses e Britânicos). A contribuição genética dos escravos de

origem subsariana é significativa e poderá justificar a disparidade da frequência alélica de mutações do gene HFE comparativamente com Portugal Continental e restante Europa¹⁵.

Fisiopatologia da diabetes *mellitus* secundária a hemocromatose

Níveis elevados de ferritina, ainda que contidos dentro do amplo intervalo de referência, podem induzir um efeito deletério sobre a secreção de insulina e insulinoresistência¹⁶.

O excesso de ferro induz a produção de radicais livres de oxigénio. O stress oxidativo pode promover a falência da célula β-pancreática (diminuição da expressão do gene da insulina, com subsequente decréscimo da secreção) e o agravamento da insulinoresistência (hidroxilação dos resíduos de fenilalanina condicionando redução da afinidade da insulina pelo recetor; ausência de inibição da neoglicogénese na presença de insulina). A acumulação de ferro a nível hepático contribui para a insulinoresistência e hiperinsulinismo periférico^{6,7,16,17}.

Relativamente ao mecanismo fisiopatológico primordial subjacente à diabetes *mellitus* secundária à hemocromatose hereditária, os dados apresentados por diferentes estudos são contraditórios.

Alguns autores consideram que a diminuição da secreção de insulina antecede o agravamento da insulinoresistência na progressão para o desenvolvimento de diabetes *mellitus* secundária à hemocromatose hereditária. Esta hipótese é sustentada pelo facto dos doentes com hemocromatose hereditária e *hiperglicemia intermédia* apresentarem um decréscimo da secreção de insulina (reversível pós-flebotomia), mas com um aumento compensatório da insulinoinsensibilidade (fenómeno provavelmente mediado pelo aumento de adiponectina). O diagnóstico de diabetes *mellitus* em doentes com hemocromatose hereditária é maioritariamente estabelecido em indivíduos obesos, em que um estado de insulinoresistência se associa à diminuição da secreção de insulina previamente existente¹⁶.

Por oposição, um estudo de Hatunic et al. defende que a diabetes *mellitus* secundária à hemocromatose hereditária é maioritariamente consequência do agravamento da insulinoresistência. Neste estudo foram incluídos 53 doentes com hemocromatose hereditária recém-diagnosticada, sem cirrose ou diabetes *mellitus* conhecida. Todos os doentes foram submetidos, entre outros procedimentos, a uma prova de tolerância à glicose oral (PTGO) com colheitas para o doseamento de glicose, insulina e peptídeo C em jejum e a cada 30 minutos durante a duração da prova. Deste modo, cada indivíduo foi avaliado relativamente à secreção de insulina (com base na concentração de peptídeo C em contexto de PTGO) e à insulinoinsensibilidade (recorrendo aos índices quantitativos insulin sensitivity check index [QUICKI], em jejum e oral glucose insulin sensitivity [OGIS], em contexto de PTGO). De acordo com os resultados da PTGO, a população estudada foi subdividida em 2 grupos: um com normal tolerância à glicose (n = 38) e outro com hiperglicemia intermédia ou diabetes *mellitus* aparentemente secundária à hemocromatose (n = 15). Concluiu-se que doentes com hiperglicemia intermédia ou diabetes *mellitus* apresentavam maior insulinoresistência, assim como níveis mais elevados de peptídeo C e insulina em jejum¹⁷.

Um outro estudo foi igualmente desenhado com o objetivo de avaliar a secreção de insulina (com base no cálculo do aumento da concentração da insulina plasmática verificado no período entre o 2.º e o 5.º minuto após a administração de um bólus de glicose durante a prova de tolerância à glicose endovenosa) e a insulinoresistência (cálculo efetuado com recurso a programa informático que integra os doseamentos seriados de glicose e insulina plasmáticos obtidos no decorrer da prova supramencionada) em doentes com hemocromatose hereditária. Foram incluídos 10

controles e 17 indivíduos com hemocromatose: 2 com diabetes *mellitus*, 4 com diabetes *mellitus* e cirrose, 4 com cirrose e 7 assintomáticos. Os indivíduos assintomáticos apresentavam insulinosensibilidade preservada e redução da secreção de insulina, com alguma recuperação após terapêutica com recurso a flebotomia. Todos os doentes diabéticos tinham antecedentes familiares desta doença, pelo que a predisposição genética poderá um fator determinante para o desenvolvimento de diabetes *mellitus* em contexto de hemocromatose. Verificou-se que os doentes diabéticos apresentavam redução da secreção de insulina comparativamente com os restantes indivíduos. Nos doentes com diabetes *mellitus* e/ou cirrose a insulinosensibilidade encontrava-se diminuída. Não se obteve correlação estatisticamente significativa entre os níveis de ferritina sérica ou concentração de ferro hepático e a secreção de insulina ou insulinosensibilidade. Com base nestes dados e atendendo à ausência de melhoria da secreção de insulina e insulinoresistência após flebotomia em doentes que já apresentam diabetes *mellitus* e/ou cirrose, os autores avançam com a hipótese de que as alterações do metabolismo glucídico estejam mais relacionadas com a insuficiência hepática e predisposição genética do que com a sobrecarga de ferro *per se*. No entanto, a amostra é demasiado reduzida para que estas conclusões possam ser extrapoladas¹⁸.

Associação entre diabetes *mellitus* tipo 1 e hemocromatose

Num estudo que envolveu população de origem dinamarquesa (716 diabéticos tipo 1 com o diagnóstico estabelecido após os 30 anos e 9.174 controles), a prevalência de homozigotia para a mutação C282Y foi superior em doentes com DMT1 de apresentação tardia (1,26%) comparativamente com a população geral (0,25%) com um perfil genético idêntico (*odds ratio*: 4,6; $p=0,0001$). A frequência de outros genótipos (heterozigotia composta C282Y/H63D, homozigotia H63D, heterozigotia C282Y, heterozigotia H63D, ausência de mutações) não diferiu entre os 2 grupos⁶.

Numa meta-análise (população dinamarquesa) que considerou a associação entre a saturação de transferrina (≥ 50 vs. $<50\%$) e a diabetes, a razão dos produtos cruzados foi de 2,6 para a DMT1 [$p=0,01$] e de 1,7 para a diabetes *mellitus* tipo 2 (DMT2) [$p=0,001$]. A saturação de transferrina pode portanto ser considerada como um marcador de risco para o desenvolvimento de diabetes *mellitus*⁸.

A amamentação aparenta ser um fator de proteção contra o aparecimento da DMT1. Contudo, o mecanismo de proteção subjacente ainda não foi clarificado. O aleitamento materno exclusivo atrasa a introdução de outros alimentos (leite de vaca, cereais) e o contacto com antígenos que poderiam desencadear fenómenos de autoimunidade que eventualmente culminariam com o desenvolvimento de DMT1. Adicionalmente, o leite materno disponibiliza menor quantidade de ferro e contém lactoferrina, que minimiza a formação de radicais livres de oxigénio e a peroxidação lipídica mediadas pelo ferro. A quantidade de ferro disponível é de 0,5 mg/L no leite materno (absorção da ordem dos 50%), 4,6 mg/L nas fórmulas artificiais de baixo teor de ferro e 12 mg/L nas fórmulas artificiais de elevado teor de ferro (absorção média de 19%)⁷.

Um estudo norte-americano demonstrou que um aporte de ferro elevado nos primeiros 4 meses de vida estava associado ao risco de DMT1 diagnosticada antes dos 6 anos de idade. A ingestão mediana de ferro nos primeiros 4 meses de vida foi de 1.159 mg nos doentes (128 crianças com idade igual ou inferior a 10 anos e diagnóstico de DMT1 estabelecido quando tinham entre 1 a 6 anos de idade) e 466 mg nos controles (67 crianças com idade entre 6 e os 10 anos e um irmão com DMT1 diagnosticada antes dos 6 anos de idade; $p < 0,001$). A duração mediana da amamentação foi superior nos controles (12 semanas) comparativamente com os doentes

(4 semanas; $p < 0,05$). Considerando um aumento da ingestão de ferro da ordem de um desvio-padrão (540 mg), a razão dos produtos cruzados foi de 2,01 para o desenvolvimento de DMT1⁷.

Os resultados do estudo Hemochromatosis and Iron Overload Screening (HEIRS) evidenciaram que a concentração da ferritina sérica era mais elevada em mulheres diabéticas (todos os grupos étnicos) e em homens nativo-americanos diabéticos, comparativamente com o grupo de indivíduos do mesmo género e grupo étnico sem diabetes *mellitus* conhecida. Observa-se, contudo, uma exceção: a concentração de ferritina sérica foi mais reduzida em homens asiáticos diabéticos do que não diabéticos. Não se verificou diferença estatisticamente significativa entre os homens diabéticos/não diabéticos dos restantes grupos étnicos (Caucasianos, Negros, Hispânicos e provenientes das ilhas do Pacífico). Verificou-se a existência de uma correlação direta entre os níveis de ferritina e a presença de diabetes para indivíduos caucasianos, negros e hispânicos (ambos os sexos), bem como para mulheres asiáticas. Apesar de englobar um número significativo de participantes ($n=97.470$), o estudo apresenta algumas limitações importantes. A divisão entre diabéticos/não diabéticos baseou-se na informação fornecida pelo participante do estudo e não foi confirmada através da consulta do processo clínico ou realização de estudo laboratorial complementar. Adicionalmente, os doentes não foram agrupados consoante o tipo de diabetes *mellitus*¹⁹.

A European Association for the Study of the Liver sugere que a realização do estudo do gene HFE seja equacionada em doentes com DMT1 (grau de recomendação 2C), mas não com DMT2 (grau de recomendação 1B)¹.

Conclusão

A diabetes *mellitus* é uma manifestação clínica possível em contexto de hemocromatose hereditária. Por outro lado, qualquer forma de sobrecarga de ferro poderá contribuir para o aparecimento de DMT1.

Face a esta associação, justifica-se a avaliação das reservas de ferro em doentes com diabetes *mellitus*. Doentes com saturação de transferrina igual ou superior a 45% e/ou ferritina elevada devem ser submetidos a estudo do gene HFE.

O diagnóstico precoce de hemocromatose hereditária em doentes com diabetes *mellitus* poderá melhorar o seu prognóstico, desde que o tratamento adequado seja instituído. Ao deter a progressão de complicações cardiovasculares e hepáticas (principais causas de mortalidade em doentes com hemocromatose hereditária), evitamos que a qualidade de vida destes doentes (que eventualmente será comprometida pelas complicações micro e/ou macrovasculares) se deteriore.

A prevalência estimada de homozigotia para a mutação C282Y é de 0,8% no norte e centro de Portugal (um caso por cada 125 indivíduos), o que supera a prevalência global estimada de um caso por cada 220-250 Caucasianos. Adicionalmente, a heterozigotia composta C282Y/H63D atingiu uma prevalência máxima de 3,8% no centro do país, sendo que estes doentes podem apresentar sobrecarga de ferro e desenvolver manifestações caso coexista patologia do foro hepático ou hematológico (que são relativamente frequentes na nossa população). Neste contexto, a sobrecarga de ferro não é uma entidade incomum e deve ser avaliada em doentes com diabetes *mellitus* e/ou outras manifestações clínicas sugestivas de hemocromatose.

Responsabilidades éticas

Proteção de pessoas e animais. Os autores declaram que para esta investigação não se realizaram experiências em seres humanos e/ou animais.

Confidencialidade dos dados. Os autores declaram ter seguido os protocolos de seu centro de trabalho acerca da publicação dos dados de pacientes e que todos os pacientes incluídos no estudo receberam informações suficientes e deram o seu consentimento informado por escrito para participar nesse estudo.

Direito à privacidade e consentimento escrito. Os autores declaram que não aparecem dados de pacientes neste artigo.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Bibliografia

1. European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines for HFE hemochromatosis. *J Hepatol.* 2010;53:3-22.
2. Bacon BR, Adams PC, Kowdley KV, Powell LW, Tavill AS. American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2011;54:328-43.
3. Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Gastroenterology.* 2010;139:393-408, 408. e1-2.
4. Gan EK, Powell LW, Olynyk JK. Natural history and management of HFE-hemochromatosis. *Semin Liver Dis.* 2011;31:293-301.
5. Vizinho R, Girones C, Loureiro R, Namora J. Hemocromatose hereditária e álcool: sinergismo patogénico - um caso clínico. *Medicina Interna.* 2009;16:156-60.
6. Ellervik C, Mandrup-Poulsen T, Nordestgaard BG, Larsen LE, Appleyard M, Frandsen M, et al. Prevalence of hereditary haemochromatosis in late-onset type 1 diabetes mellitus: a retrospective study. *Lancet.* 2001;358:1405-9.
7. Ashraf AP, Eason NB, Kabagambe EK, Haritha J, Meleth S, McCormick KL. Dietary iron intake in the first 4 months of infancy and the development of type 1 diabetes: a pilot study. *Diabetol Metab Syndr.* 2010;2:58.
8. Ellervik C, Mandrup-Poulsen T, Andersen HU, Tybjærg-Hansen A, Frandsen M, Birgens H, et al. Elevated transferrin saturation and risk of diabetes: three population-based studies. *Diabetes Care.* 2011;34:2256-8.
9. Siddique A, Kowdley KV. Review article: the iron overload syndromes. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;35:876-93.
10. Santos PC, Cañado RD, Terada CT, Guerra-Shinohara EM. Alterações moleculares associadas à hemocromatose hereditária [Molecular changes associated with hereditary hemochromatosis]. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2009;31:192-202. Portuguese.
11. Santos PC, Krieger JE, Pereira AC. Molecular diagnostic and pathogenesis of hereditary hemochromatosis. *Int J Mol Sci.* 2012;13:1497-511.
12. Cardoso CS, Oliveira P, Porto G, Oberkanins C, Mascarenhas M, Rodrigues P, et al. Comparative study of the two more frequent HFE mutations (C282Y and H63D): significant different allelic frequencies between the North and South of Portugal. *Eur J Hum Genet.* 2001;9:843-8.
13. Saraiva JH. Invasões bárbaras. O Reino Suevo. Os Visigodos. Os Mouros. [Barbarian Invasions. The Kingdom of Swabia. The Visigoths. The Moors]. In: *História de Portugal [History of Portugal]*. 8th edn. Publicações Europa-América: Portuguese; 2011. p. 41-50.
14. Couto AR, Peixoto MJ, Garrett F, Laranjeira F, Cipriano T, Armas JB. Linkage disequilibrium between S65C HFE mutation and HLA A29-B44 haplotype in Terceira Island, Azores. *Hum Immunol.* 2003;64:625-8.
15. Spínola C, Brehm A, Spínola H. Prevalence of H63D, S65C, and C282Y hereditary hemochromatosis gene variants in Madeira Island (Portugal). *Ann Hematol.* 2011;90:29-32.
16. Simcox JA, McClain DA. Iron and diabetes risk. *Cell Metab.* 2013;17:329-41.
17. Hatunic M, Finucane FM, Brennan AM, Norris S, Pacini G, Nolan JJ. Effect of iron overload on glucose metabolism in patients with hereditary hemochromatosis. *Metabolism.* 2010;59:380-4.
18. Hramiak IM, Finegood DT, Adams PC. Factors affecting glucose tolerance in hereditary hemochromatosis. *Clin Invest Med.* 1997;20:110-8.
19. Acton RT, Barton JC, Passmore LV, Adams PC, Speechley MR, Dawkins FW, et al. Relationships of serum ferritin, transferrin saturation, and HFE mutations and self-reported diabetes in the Hemochromatosis and Iron Overload Screening (HEIRS) study. *Diabetes Care.* 2006;29:2084-9.



Caso clínico

Diabetes *mellitus* associada à desnutrição proteica: realidade ou ficção?



Ana Rita Caldas*, André Couto Carvalho, Anabela Giestas, Marta Almeida Ferreira, Cláudia Amaral, Cláudia Freitas e Maria Helena Cardoso

Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Hospital de Santo António, Centro Hospitalar do Porto, Porto, Portugal

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Historial do artigo:

Recebido a 16 de dezembro de 2012

Aceite a 21 de maio de 2014

On-line a 5 de julho de 2014

Palavras-chave:

Diabetes *mellitus*

Desnutrição

Desnutrição proteica

Países em vias de desenvolvimento

Keywords:

Diabetes *mellitus*

Malnutrition

Protein deficiency

Developing countries

R E S U M O

Nas últimas décadas temos observado um aumento da prevalência mundial da diabetes *mellitus* (DM) e com ela o surgimento de formas da doença que não se enquadram nas categorias de DM tradicionalmente reconhecidas. Dados existentes desde o século XX sugerem a existência de uma forma atípica de diabetes juvenil insulino dependente e resistente à cetose, que surge em zonas socialmente mais desfavorecidas do globo e difere dos vários tipos de diabetes incluídos na classificação *atual* da Organização Mundial de Saúde (OMS). Estes casos ocorrem principalmente em jovens com história de desnutrição pré-natal ou infantil. Caracterizam-se por não desenvolverem cetoacidose na ausência de insulino terapia, apresentarem níveis doseáveis mas baixos de peptídeo C, marcadores de autoimunidade presentes apenas num subgrupo e ausência de calcificações pancreáticas.

De seguida descrevemos 2 casos clínicos cujas características clínicas sugerem tratar-se deste tipo de diabetes e tentamos realçar a necessidade de uma definição mais clara dos diferentes fenótipos de diabetes existentes a nível mundial e dos novos mecanismos de disfunção da célula beta (β), com o *objetivo* de sensibilizar para o diagnóstico cuidadoso da doença, nomeadamente no que diz respeito a tipos de DM menos frequentes.

© 2014 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

Diabetes *mellitus* associated to protein malnutrition: Fiction or reality?

A B S T R A C T

The global incidence of diabetes *mellitus* (DM) has been increasing in the last decades and new forms of the disease have appeared, not falling into the traditional categories of DM. Data from the twentieth century suggest that there's an atypical form of diabetes arising in developing countries which requires insulin but is ketosis-resistant, different from the categories of diabetes included in the current classification of the World Health Organization (WHO). This form of DM occurs mostly in young people with prenatal or childhood malnutrition. Usually, they don't develop ketoacidosis in the absence of insulin, have low levels of C-peptide, autoimmunity is only present on some patients and pancreatic calcifications are absent.

In this article we describe two cases with clinical features that resemble malnutrition-related DM. We emphasize the need for a more precise definition of the different existing phenotypes of diabetes and new mechanisms of beta-cell dysfunction (β). Our purpose is to raise awareness for the accurate diagnosis of the disease, particularly for less frequent forms of diabetes.

© 2014 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introdução

O incremento mundial da diabetes *mellitus* (DM) nas últimas décadas tem levado ao reconhecimento de formas da doença que

* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: rita.pgc@gmail.com (A.R. Caldas).

não se enquadram nas categorias tradicionalmente consideradas e descritas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) ou pela *American Diabetes Association* (ADA)¹. A classificação atual em DM tipo 1, DM tipo 2, outros tipos específicos de diabetes (onde se incluem a DM por defeitos genéticos da função da célula β ou da ação da insulina, doenças do pâncreas exócrino, DM induzida por fármacos ou químicos, entre outros) e diabetes gestacional não demonstra a complexidade e heterogeneidade dos diferentes fenótipos de diabetes existentes a nível mundial e da sua fisiopatologia¹. Nas últimas recomendações publicadas a OMS expandiu a definição patofisiológica da DM tipo 2 de forma a incluir todos os casos que vão desde a insulinoresistência com défice relativo de insulina até aos casos em que há um defeito na secreção, com ou sem insulinoresistência². Esta definição incluiu praticamente todos os casos de diabetes observados a nível mundial, pelo que todas as tentativas de caracterização dos vários subtipos desta doença e o seu esclarecimento etiológico foram indiretamente reduzidos em importância e logo em investigação.

Em doentes de origem asiática, africana, latino-americana e de outras zonas mais desfavorecidas do globo existem vários fenótipos descritos que não se encontram na classificação tradicional de diabetes e que acabam por ser enquadrados na categoria da DM tipo 2¹. Dados mais recentes voltaram a sugerir a existência de uma forma atípica de diabetes insulino dependente nas áreas rurais de África (predominantemente África subsaariana), Ásia e América Latina^{3,4} que difere da DM tipo 1 existente nas áreas ocidentalizadas dessas regiões⁴. Segundo diferentes autores, trata-se de uma doença que atinge principalmente adultos jovens normoponderais ou magros e está invariavelmente associada a situações de baixo nível socioeconómico e desnutrição proteico-calórica.

Tendo em conta os padrões de migração global e numa tentativa de alerta para a existência deste tipo de DM mesmo em Portugal, apresentamos 2 casos clínicos de DM em indivíduos de origem asiática, magros, sem patologia pancreática crónica conhecida e com baixo nível socioeconómico que se apresentaram num centro hospitalar universitário (Centro Hospitalar do Porto – CHP) com um quadro clínico arrastado sugestivo de hiperglicemia prolongada sem cetoacidose, mesmo na ausência de terapêutica com insulina.

Com este trabalho pretendemos rever a patogénese da diabetes associada à desnutrição proteica, salientar a importância do seu reconhecimento como subtipo de diabetes – particularmente nos países em vias de desenvolvimento ou desfavorecidos em termos socioeconómicos – e fomentar a discussão acerca da sua inclusão na classificação atual da DM.

Caso 1

Homem de 35 anos, de nacionalidade indiana (estado do *Punjab*), residente em Portugal desde há 2 meses, desempregado. História de desnutrição proteica ao longo da infância/adolescência e sem antecedentes patológicos conhecidos ou história familiar conhecida de DM.

Recorreu ao Serviço de Urgência do CHP em abril de 2011 com um quadro de astenia marcada, polidipsia e vômitos de evolução insidiosa nos últimos meses. Na admissão hospitalar encontrava-se desidratado, emagrecido (índice de massa corporal [IMC] 18 kg/m², com marcada lipoatrofia subcutânea), com tendência hipotensiva (pressão arterial [PA] 88/55 mmHg) e bradicárdico (frequência cardíaca 50 bpm, em ritmo sinusal). Analiticamente com glicemia plasmática de 1.152 mg/dL, sem acidose metabólica e com pesquisa de corpos cetónicos na urina negativa. Apresentava anemia microcítica e hipocrômica e valores diminuídos de lipídeos, ácido úrico e proteínas. Foi feito o diagnóstico de síndrome hiperosmolar hiperglicémica não cetósica no contexto de diabetes inaural, sem

fator precipitante esclarecido e instituída terapêutica adequada com insulina e fluidoterapia endovenosa.

Os marcadores de autoimunidade foram negativos: anticorpos anti-*Glutamic Acid Decarboxylase* (GAD) 0,116 U/mL (N: 0–1,45), anti-*Islet cell Antibodies* (ICA) <0,95 U/mL (n: <0,95) e anti-insulina <0,03 U/mL (n: <0,4). O restante estudo mostrou níveis plasmáticos baixos, mas doseáveis de peptídeo C (0,08 ng/mL; n: 1,1–4,4), HbA1c 18,1% e função tiroideia normal (TSH 2,11 μ UI/mL; n: 0,27–4,2). O estudo com radiografia abdominal simples não mostrou calcificações pancreáticas. perante o perfil hipotensivo e a bradicardia sinusal persistentes foi doseado o cortisol matinal (12,7 mcg/dL; n: 6,2–19,4); a prova de estimulação com tetracosactídeo excluiu insuficiência adrenal primária.

O controlo glicémico foi atingido com 26 unidades (U) diárias de insulina basal humana. O doente foi posteriormente perdido no seguimento.

Caso 2

Mulher de 51 anos, natural e residente habitualmente em Timor Leste (Dili), educadora de infância, com história de desnutrição proteica na infância e adolescência.

Durante uma estadia em Portugal, em julho 2011, foi admitida no CHP por perda ponderal (cerca de 20 kg em um ano), poliúria, polidipsia e astenia marcada com alguns meses de evolução. A doente tinha sido diagnosticada com DM 8 meses antes, em Dili, e encontrava-se medicada com glibenclamida 15 mg/dia desde o diagnóstico, mas manteve perda ponderal, poliúria e polidipsia apesar da terapêutica. Sem episódios de cetoacidose diabética documentados. Sem história de excesso de peso prévia ao diagnóstico de DM e sem história familiar conhecida de DM.

À admissão apresentava-se emagrecida (IMC 14,7 kg/m²) e com lipoatrofia e atrofia muscular generalizadas; PA 98/50 mmHg. Apresentava glicemia plasmática de 560 mg/dL e HbA1c 13%, sem cetonemia ou critérios de cetoacidose diabética. perante o diagnóstico de DM mal controlada, sem resposta à terapêutica com *antidiabéticos* orais, foi instituída terapêutica com insulina. O estudo analítico mostrou peptídeo C baixo, mas doseável (0,41 ng/mL; VR: 1,1–4,4), valores diminuídos de proteínas e função tiroideia normal (TSH 1,16 μ UI/mL; n: 0,27–4,2). Excluída insuficiência adrenal (cortisol matinal 17,6 mcg/dL; n: 6,2–19,4). Apresentava anticorpos anti-GAD fracamente positivos (2,88 U/mL; VR: 0–1,45 U/mL), anticorpos anti-insulina e anti-ICA negativos (<0,4 U/mL e <0,95 U/mL, respetivamente). A radiografia abdominal simples não mostrou calcificações pancreáticas.

O controlo glicémico foi atingido com 16 U diárias de insulina basal humana. A doente não manteve seguimento posterior no CHP dado ter regressado a Timor-Leste.

Discussão

Os 2 casos descritos correspondem a situações de DM que surgiram em indivíduos adultos, com desnutrição proteico-calórica, naturais de regiões economicamente carenciadas do globo e com baixo nível socioeconómico. Apresentavam uma forma de DM insulino dependente cujos sintomas se instalaram insidiosamente. A ausência de tratamento com insulina não originou porém cetoacidose. Os marcadores de autoimunidade estavam ausentes ou em baixo título, com níveis de peptídeo C baixos, mas mensuráveis, e as calcificações pancreáticas inexistentes.

Estes casos assemelham-se a outros que têm vindo a ser descritos na literatura desde a 6.^a década do século XX. Em 1955, após a revisão de vários casos de diabetes diagnosticados de novo na Jamaica durante um ano, foi descrita por Hugh-Jones uma síndrome que diferia dos 2 principais tipos de DM (DM tipo 1

e tipo 2)⁵. O autor denominou este tipo de DM como diabetes «tipo J» ou «insulinorresistência do jovem», que surgia predominantemente no adulto jovem (menos de 40 anos) e cronicamente desnutrido, necessitava de elevadas doses de insulina para o controle glicémico e ponderal, mas na sua ausência não desenvolvia cetoacidose (permitindo distingui-la da DM tipo 1)⁵. Casos semelhantes foram reportados na Índia^{6,7} e África⁸, com graus variáveis de insulinorresistência. Em 1959, Zuidema descreveu uma entidade denominada diabetes «tipo Z» ou diabetes «tropical», caracterizada pela desnutrição crônica desde a infância, presença de calcificações pancreáticas e fibrose e necessidade de elevadas doses de insulina⁹.

Estudos subsequentes mostraram que a distinção entre os vários tipos de DM é complexa: muitos dos doentes que inicialmente preenchiam os critérios de determinado tipo de diabetes já não os preenchiam após seguimento prolongado¹⁰. Apesar disto, foi reconhecido o papel da desnutrição no desenvolvimento de diabetes nas regiões subdesenvolvidas¹¹. A complexidade da classificação dos vários tipos de DM traduz-se pela grande quantidade de nomes dada à(s) doença(s): diabetes tropical, diabetes resistente à cetose, diabetes «tipo J», diabetes «tipo Z», diabetes ligada à desnutrição, diabetes pancreática, diabetes relacionada com o défice proteico, síndrome pancreática endócrina, diabetes juvenil tropical, entre muitos outros¹⁰.

Em 1980, numa tentativa de uniformização, Ahuja et al.¹² sugeriram os seguintes critérios para a diabetes relacionada com a desnutrição, «tipo J» ou «resistente à cetose»: glicemia plasmática esporádica superior a 200 mg/dL, início da doença antes dos 30 anos de idade, IMC inferior a 18 kg/m², ausência de cetose com a suspensão da insulinoterapia, baixo nível socioeconómico ou história de desnutrição infantil, ausência de história familiar da doença e de calcificações pancreáticas, e necessidades superiores a 60 U diárias de insulina (ou superior a 1,5 U kg/dia). Para a diabetes pancreática tropical ou diabetes «tipo Z» as características clínicas são, segundo Mohan, história de desnutrição, dor abdominal recorrente desde a infância, presença de calcificações pancreáticas na radiografia abdominal ou achados típicos na ecografia abdominal e défice glandular exócrino relevante, na ausência de alcoolismo, litíase biliar e hiperparatiroidismo¹³.

Com base nestes estudos, em 1985, o grupo de estudos da OMS subdividiu o grupo da diabetes relacionada com a desnutrição em 2 categorias: diabetes pancreática com défice de proteínas (*protein deficient pancreatic diabetes* – PDPD) e diabetes pancreática fibrocalculosa (*fibro-calculous pancreatic diabetes* – FCPD)¹⁴. A primeira, correspondente à previamente denominada diabetes «tipo J» ou «resistente à cetose», foi entretanto retirada da classificação de diabetes da OMS em 1999, enquanto a segunda, correspondente à diabetes pancreática tropical, se manteve na classificação. De facto, ao contrário da PDPD, a patogénese da FCPD encontra-se melhor estabelecida¹⁵. Apesar de ter sido retirada da classificação, inúmeros relatos de casos sugestivos de PDPD ou diabetes juvenil resistente à cetose/diabetes associada à desnutrição proteica foram entretanto publicados nas últimas décadas^{1,4–6} e apesar de existirem casos de DM tipo 1 e tipo 2 na África subsaariana, dados epidemiológicos sugerem uma elevada prevalência daquele tipo de diabetes^{16,17}. No norte da Índia este parece mesmo ser o segundo tipo mais frequente de diabetes³.

A etiologia da diabetes associada à desnutrição proteica não se encontra totalmente esclarecida e o papel desempenhado pela desnutrição não é claro. Parece pouco provável que a desnutrição por si só possa levar ao grau de hiperglicémia observado nestes doentes¹⁸, mas estudos realizados em animais demonstraram que a desnutrição proteico-calórica na infância pode lesar as células pancreáticas e favorecer o desenvolvimento de diabetes^{19,20}, existindo também evidência humana desta relação¹¹. No decurso do *Kwashiorkor*, uma doença resultante do défice grave de aporte proteico, existe uma tendência para a redução da secreção de insulina

devido à diminuição do número de células β pancreáticas e da sua capacidade de replicação^{21,22}; esta situação parece estar preferencialmente associada ao défice de proteínas, mas o mecanismo subjacente não é claro^{23,24}. Se existem estudos que apontam para a reversibilidade deste mecanismo com a reposição proteica^{25,26}, existem outros que mostram persistência da diminuição da tolerância à glicose e mesmo desenvolvimento de diabetes²⁷. Estudos mais recentes^{28,29} realizados em ratos demonstraram que uma dieta materna subótima em fases precoces do desenvolvimento fetal pode promover alterações na regulação epigenética do gene que codifica o *fator de transcrição HNF-4 α* , conhecido como essencial para a diferenciação da célula β pancreática e a manutenção da homeostase da glicose, e que estas parecem favorecer a supressão epigenética do *locus* do gene do referido *fator* de transcrição.

No entanto, nem sempre se pode excluir a causalidade reversa entre a desnutrição e este tipo de diabetes, ou seja, que as manifestações clínicas da desnutrição sejam consequência da diabetes cronicamente mal controlada e do mau aporte nutricional³⁰; apesar disto, alguns estudos mostram que a desnutrição se apresentou como uma condição prévia ao desenvolvimento de diabetes, não tendo sido encontrada relação entre o grau de desnutrição e a duração conhecida da diabetes⁴. Ainda assim, o baixo IMC dos doentes com este tipo de diabetes pode de facto refletir a associação da desnutrição persistente ao mau controlo metabólico da doença⁴.

A DM associada à desnutrição proteica difere de alguns subtipos menos frequentes de DM tipo 1 com marcadores de autoimunidade negativos. A DM tipo 1 caracteriza-se pelo défice de insulina devido à destruição das células- β pancreáticas e é atualmente classificada em 2 subtipos: tipo 1A (*autoimune* ou clássica), mais prevalente, e tipo 1B (não *autoimune* ou idiopática)³¹. A DM tipo 1B, cuja patogénese não se encontra totalmente compreendida, corresponde de 4-7% dos casos e inclui formas não clássicas, como a diabetes fulminante e a diabetes com tendência à cetose (*Ketosis-prone diabetes mellitus*)³². A DM tipo 1B fulminante foi reportada pela primeira vez no Japão em 2000³³ e inclui como características clínicas a presença de sintomas gripais previamente ao diagnóstico, hiperglicémia grave com cetoacidose precoce, nível de HbA1c normal/baixo, concentrações plasmáticas muito baixas de peptídeo C e dependência completa e permanente da insulinoterapia³⁴. Foi também descrita em indivíduos da África subsaariana e Ásia^{17,35} e, apesar de ser uma entidade heterogénea e não totalmente caracterizada, ocorre principalmente em jovens obesos do sexo masculino com história familiar de diabetes e ausência de marcadores de autoimunidade e consiste num início abrupto dos sintomas (geralmente associado a cetoacidose); a doença evolui lentamente para a insulinodependência com alternância entre períodos de normoglicémia e períodos de hiperglicémia com cetoacidose³⁴. De facto, os casos descritos neste artigo parecem assemelhar-se a outros casos de diabetes associada à desnutrição proteica descritos na literatura, mostrando-se bastante diferentes destes 2 subtipos de DM tipo 1. A sua base genética parece também ser distinta da DM tipo 1, mas não está ainda claramente estabelecida³⁶. Os marcadores de autoimunidade contra a célula β pancreática são detetados com menos frequência do que nos indivíduos com DM tipo 1^{37,38}. Ainda assim, alguns dos indivíduos com diabetes associada à desnutrição podem apresentar positividade *autoimune*³⁹, em particular a positividade isolada dos *autoanticorpos* anti-GAD65 (descarboxilase do ácido glutâmico de 65 kDa)^{3,16,40}. No primeiro caso clínico descrito foi excluída a presença de autoimunidade dirigida à célula β ; já no segundo caso foram detetados títulos positivos baixos apenas para os anticorpos anti-GAD65.

Nestes doentes, os níveis basais de peptídeo C parecem ser intermédios entre os encontrados na DM tipo 1 e tipo 2^{3,16}. Isto pode ser explicado pela menor destruição da célula β na diabetes associada à desnutrição proteica em relação à DM tipo 1, mas que, apesar

de tudo, é relevante, já que o controlo glicémico é atingido apenas com insulina e não com *antidiabéticos* orais¹⁶. Os níveis baixos mas doseáveis de peptídeo C garantem uma secreção residual de insulina suficiente para suprimir a lipólise e impedir o desenvolvimento de cetoacidose, mas revelam-se insuficientes para prevenir a hiperglicemia⁴¹. Nos 2 casos clínicos descritos os níveis de peptídeo C apresentam-se de facto diminuídos, mas doseáveis.

Classicamente, este tipo de diabetes foi descrita como carente de doses elevadas de insulina para atingir um controlo metabólico aceitável, o que inicialmente foi interpretado como consequência de insulinoresistência, mas que hoje é entendido como secundário a um défice marcado da secreção pancreática^{42,43}. Apesar da necessidade de insulina para o controlo da doença, este tipo de doentes pode, na sua ausência, manter uma clínica insidiosa durante meses ou anos sem nunca desenvolver cetoacidose, não só pela produção residual de insulina, mas também pelas características inerentes à própria desnutrição, com escassas reservas corporais de gordura, consequente diminuição da disponibilidade de ácidos gordos livres para a produção de corpos cetónicos e diminuição da resposta cetogénica às catecolaminas⁴⁴. Alguns autores defendem mesmo que a melhoria do estado nutricional destes doentes aumenta a probabilidade de ocorrer cetoacidose numa fase mais avançada da doença. Por outro lado, existirão outros casos que ao fim de alguns anos da doença podem ser controlados sem insulina, o que favorece a possibilidade de a diabetes associada à desnutrição proteica constituir um grupo etiológicamente mais heterogéneo de doenças⁴³. Nos casos apresentados, apesar de uma clínica sugestiva de insulinoarência com meses de evolução, não haviam sido documentados episódios de cetoacidose. As doses de insulina necessárias nestes doentes foram relativamente baixas (cerca de 0,5 U kg/dia) quando comparadas às descritas na literatura para a diabetes associada à desnutrição proteica, o que poderia levantar a suspeita de estarmos perante outro tipo de diabetes, nomeadamente alguns subtipos de *maturity onset diabetes of the young* (MODY). No entanto, a ausência de familiares de primeiro grau *afetados* (apesar de ser um facto referido e não comprovado) torna este facto menos provável. Para além disto, os níveis baixos de peptídeo C no primeiro caso, a má resposta terapêutica às sulfonilureias no segundo e a presença de uma exagerada hiperglicemia em jejum em ambos também os tornam dificilmente enquadráveis dentro deste subtipo de DM⁴⁵. Porém, parece de fato existir um ponto comum entre a etiopatogenia da diabetes associada à desnutrição proteica e a da MODY tipo 1, responsável por cerca de 10% dos casos de MODY⁴⁵. Em ambas a expressão do fator de transcrição *HNF-4α* apresenta-se alterada. Na MODY tipo 1 são as mutações transmitidas de forma autossómica dominante do gene *HNF-4α* (ou do seu promotor P2 na célula β) que justificam a existência de uma perturbação da homeostasia glicémica^{46,47}, enquanto que na diabetes associada à desnutrição proteica a responsabilidade será provavelmente das alterações epigenéticas introduzidas na sua expressão ao nível pancreático²⁹. Este encontro patofisiológico poderá explicar algumas das características partilhadas pelos 2 subtipos de DM e deverá ser alvo de investigação futura.

Conclusões

Apesar de descrito em inúmeras publicações, este tipo de diabetes é pouco reconhecido e não existem dados epidemiológicos concretos, o que é provavelmente explicado pela ausência de critérios de diagnóstico bem definidos. De forma simples, podemos considerar que esta patologia ou grupo de patologias reúnem as seguintes características: contexto socioeconómico desfavorecido, história de desnutrição infantil, manifestação da doença na juventude, evidência clínica de desnutrição, necessidade de insulina para o controlo glicémico, resistência à cetoacidose (mesmo na ausência de insulino-terapia) e ausência de calcificações pancreáticas

visíveis imagiologicamente ou disfunção pancreática exócrina⁴⁴. A desnutrição crónica parece ter um papel modulador na expressão fenotípica da doença, mas a autoimunidade pode também desempenhar um papel importante num subgrupo destes doentes⁴⁴.

Para além dos tipos de DM classicamente reconhecidos, existem outros fenótipos da doença não totalmente esclarecidos nem reconhecidos, particularmente nos países subdesenvolvidos. Torna-se necessária uma investigação mais rigorosa e sistemática das suas características, etiologia, distribuição geográfica e abordagem terapêutica mais adequada, abrindo assim simultaneamente novos caminhos para a investigação dos mecanismos de disfunção da célula β.

Baseados em casos semelhantes aos apresentados, vários autores propõem a reabertura da discussão acerca da diabetes relacionada com a desnutrição. Se de facto se comprovar a relação entre os défices nutricionais graves e este tipo de diabetes, deverão ser desenvolvidas estratégias apropriadas para lidar com a doença, já que esta parece ser uma causa importante de mortalidade e morbidade em muitos países em vias de desenvolvimento.

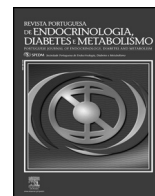
Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Bibliografia

- Balasubramanyam A, Yajnik CS, Tandon N. Non-traditional forms of diabetes worldwide: Implications for translational investigation. *Translational Endocrinology and Metabolism*. 2011;2(1):43–67.
- World Health Organization 1999. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its complications. Report of a WHO Consultation. Geneva: WHO.
- Goswami R, Kochupillai N, Gupta N, Kukreja A, Lan M, Maclaren NK. Islet cell autoimmunity in youth onset diabetes mellitus in Northern India. *Diabetes Res Clin Pract*. 2001;53:47–54.
- Fekadu S, Yizgaw M, Alemu S, Dessie A, Fieldhouse H, Girma T, et al. Insulin-requiring diabetes in Ethiopia: Associations with poverty, early undernutrition and anthropometric disproportion. *Eur J Clin Nutr*. 2010;1–7.
- Hugh-Jones P. Diabetes in Jamaica. *Lancet*. 1955;(1):891–7.
- Tripathy BB, Kar BC. Observations on clinical patterns of diabetes mellitus in India. *Diabetes*. 1965;14:404–12.
- Podolsky S, Viswanathan M. Secondary diabetes – the spectrum of the diabetic syndrome. New-York: Raven Press; 1980. p. 105–16.
- McMillan DE, Geervarghese PH. Dietary cyanide and tropical malnutrition diabetes. *Diabetes Care*. 1979;2:202–8.
- Zuidema PJ. Cirrhosis and disseminated calcification of the pancreas in patients with malnutrition. *Trop Geogr Med*. 1959;11:70–4.
- Abu-Bakare A, Taylor R, Gill GV, Alberti KG. Tropical or malnutrition-related diabetes: A real syndrome? *Lancet*. 1986;3(8490):1135–8.
- Rao RH. The role of undernutrition in the pathogenesis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1984;6:595–601.
- Ahuja MM. Diabetes – special problems in developing countries. *Bull Deliv Health Care Diabetics Devel Countries*. 1980;1:5–6.
- Mohan V, Mohan R, Sushjeela L. Tropical pancreatic diabetes in South India: Heterogeneity in clinical and biochemical profile. *Diabetologia*. 1985;28:229–32.
- WHO Study Group on diabetes mellitus. 1985. WHO Technical Report Series 727.
- Mohan V, Snehalatha C, Ahmed MR. Exocrine pancreatic function in tropical fibrocalculous pancreatic diabetes. *Diabetes Care*. 1989;12:145–7.
- Gill GV, Tekle A, Reja A, Wile D, English PJ, Diver M, et al. Immunological and C-peptide studies of patients with diabetes in northern Ethiopia: Existence of an unusual subgroup possibly related to malnutrition. *Diabetologia*. 2011;54:51–7.
- Levitt NS. Diabetes in Africa: Epidemiology, management and healthcare challenges. *Heart*. 2008;94:1376–82.
- Cook GC. Glucose and starch tolerance after recovery from kwashiorkor. *Metabolism*. 1968;17:1073–83.
- Desai M, Crowther NJ, Ozanne SE, Lucas A, Hales CN. Adult glucose and lipid metabolism may be programmed during fetal life. *Biochem Soc Trans*. 1995;23:331–5.
- Gatford KL, Mohammad SN, Harland ML, de Blasio MJ, Fowden AL, Robinson JS. Impaired beta-cell function and inadequate compensatory increases in beta-cell mass after intra-uterine growth restriction in sheep. *Endocrinology*. 2008;149:5118–27.

21. Huh KB, Lee HC, Kim HM, Cho YW, Kim YL, Lee EJ, et al. Immunogenetic and nutritional profile in insulin-using youth-onset diabetics in Korea. *Diabetes Res Clin Pract.* 1992;16:63–70.
22. Baig HA, Edozien JC. Carbohydrate metabolism in kwashiorkor. *Lancet.* 1965;2:662–5.
23. Hadden DR. Glucose, free fatty acids and insulin interrelations in kwashiorkor and marasmus. *Lancet.* 1967;ii:589–93.
24. Godard C, Zahnd GR. Growth hormone and insulin in severe infantile malnutrition Plasma insulin and growth hormone during intravenous glucose tolerance test. *Helv Pediatr Acta.* 1971;26:276–85.
25. Alberti KG. Tropical pancreatic diabetes, in *Diabetes in Africa*, Gill G, Mbanya JC, Alberti KG. FSG communications 1997: Cambridge.
26. Kajubi SK. The endocrine pancreas after kwashiorkor. *Am J Clin Nutr.* 1972;25:1140–2.
27. Cook GC. Glucose tolerance after kwashiorkor. *Nature.* 1967;215:1295–6.
28. Ozanne SE, Sandovici I, Constância M. Maternal diet, aging and diabetes meet at a chromatin loop. *Aging.* 2011;3(5):548–53.
29. Sandovici I, Smith NH, Nitert MD, Ackers-Johnson M, Uribe-Lewis S, Ito Y, et al. Maternal diet and aging alter the epigenetic control of a promoter-enhancer interaction at the HNF4a gene in rat pancreatic islets. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(13):5449–54.
30. Sobngwi E, Mauvais-Jarvis F, Vexiau P, Mbanya JC, Gautier JF. Diabetes in Africans. *Diabetes Metab.* 2001;27:628–34.
31. Gross JL, Silveiro SP, Camargo JL, Reichelt AJ, Azevedo MJ. Diabetes Mellitus: diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2002;46(1):16–26.
32. Atala S. Heterogeneidade da Diabetes Mellitus Tipo 1. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2008;52(2):205–18.
33. Imagawa A, Hanafusa T, Miyagawa J, Matsuzawa Y. A novel subtype of type 1 diabetes mellitus characterized by a rapid onset and an absence of diabetes-related antibodies. *N Engl J Med.* 2000;342:301–7.
34. Rewers M. Challenges in diagnosing type 1 diabetes in different populations. *Diabetes Metab J.* 2012;36:90–7.
35. Sobngwi E, Vexiau P, Levy V, Lepage V, Mauvais-Jarvis F, Leblanc H, et al. Metabolic and immunogenetic prediction of long-term insulin remission in African patients with atypical diabetes. *Diabet Med.* 2002;19:832–5.
36. Sanjeevi CB, Seshiah V, Moller E, Olerup O. Different genetic backgrounds for malnutrition-related diabetes and type 1 (insulin-dependent) diabetes in South Indians. *Diabetologia.* 1992;35:283–6.
37. McLarty DG, Athaide I, Bottazzo GF, Swai AM, Alberti KG. Islet cell antibodies are not specifically associated with insulin-dependent diabetes in Tanzanian Africans. *Diabetes Res Clin Pract.* 1990;9:219–24.
38. Lutale J, Thordarson H, Holm P, Eide G, Vetvik K. Islet cell autoantibodies in African patients with type 1 and type 2 diabetes in Dar es Salaam Tanzania: A cross sectional study. *J Autoimmune Dis.* 2007;4:4.
39. Dabadgao P, Bhatia E, Bhatia V, Jayaraj K, Colman PG. Islet-cell antibodies in malnutrition-related diabetes mellitus from North India. *Diabetes Res Clin Pract.* 1996;34:73–8.
40. Sanjeevi CB, Kanungo A, Shtauvere A, Samal KC, Tripathi BB. Association of HLA class II alleles with different subgroups of diabetes mellitus in Eastern India identify different associations with IDDM and malnutrition-related diabetes. *Tissue Antigens.* 1999;54:83–7.
41. Alemu S, Dessie A, Seid E, Bard E, Lee PT, Trimble ER, et al. Insulin-requiring diabetes in rural Ethiopia: Should we reopen the case for malnutrition-related diabetes? *Diabetologia.* 2009;52:1842–5.
42. Gill GV, Mbanya JC, Ramaiya KL, Tesfaye S. A sub-saharian African perspective of diabetes. *Diabetologia.* 2009;52:8–16.
43. Abdulkadir J, Mengesha B, Welde Gebriel Z. The clinical and hormonal (C-peptide and glucagon) profile and liability to ketoacidosis during nutritional rehabilitation in Ethiopian patients with malnutrition-related diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1990;33(4):222–7.
44. Abdulkadir J. Malnutrition-related diabetes mellitus in Africa. *Int J Diab Dev Countries.* 1993;13:22–8.
45. Naylor R, Philipson LH. Who should have genetic testing for maturity-onset diabetes of the young? *Clin Endocrinol.* 2011;75(4):422–6.
46. Yamagata K, Furuta H, Oda N, Kalsaki PJ, Menzel S, Cox NJ, et al. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4-alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY1). *Nature.* 1996;384:458–60.
47. Gupta RK, Kaestner KH. HNF-4alpha: From MODY to late-onset type 2 diabetes. *Trends Mol Med.* 2004;10(11):521–4.



Clinical case

The non-recurrent laryngeal nerve: An anatomical “trap”



Sofia Guerreiro*, Marta Lamas, Henrique Candeias, Rosário Eusébio, Vítor Rocha

Department of General Surgery, Hospital de S. Bernardo, Centro Hospitalar de Setúbal, E.P.E., Setúbal, Portugal

ARTICLE INFO

Article history:

Received 15 September 2013

Accepted 8 May 2014

Available online 4 July 2014

Keywords:

Non-recurrent inferior laryngeal nerve

Arteria lusoria

Dysphagia lusoria

ABSTRACT

The non-recurrent inferior laryngeal nerve (NRILN) is a rare anatomic variation associated with subclavian artery abnormalities. In these cases lack of information about this situation increases the risk of iatrogenic damage of the nerve.

This article describes the incidental pre-operative identification of vascular anomaly and therefore the anticipation of the anatomical variant of right RLN in relation to a clinical case.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Palavras-chave:

Nervo laríngeo inferior não recorrente

Artéria lusória

Disfagia lusória

Nervo laríngeo não recorrente: uma “armadilha” anatómica

RESUMO

O nervo laríngeo inferior não-recorrente (NLINR) é uma variação anatómica rara associada a anomalias da artéria subclávia. Nestes casos, o risco cirúrgico de lesão do nervo aumenta.

Neste artigo é descrita a identificação incidental da anomalia vascular pre-operatória e por isso antecipada a alteração anatómica do NLR direito a propósito de um caso clínico.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

Introduction

The inferior laryngeal nerve (ILN) innervates the intrinsic muscles of the larynx except the cricothyroid. It is also responsible for sensitive supply of the laryngeal region, below the vocal cords. The designation of recurrent is due to its anatomic location, since it is a loop of the vagus nerve, recurring inferiorly to the subclavian artery in the right side and the aortic arch in the left side.¹ Being an essential structure to laryngeal functions and given the intimate relation with the thyroid gland, ILN identification and preservation are fundamental steps in thyroid surgery.

The NRILN is an anatomic variation first reported by Stedman in 1823.² Its intraoperative identification and preservation can be a challenge even for the most experienced endocrine surgeon. Thus, the possibility of a preoperative diagnosis reduces the risk of inadvertent damage of the nerve.

The non-recurrent ILN is consistently related to the absence of brachiocephalic trunk and the presence of the so-called *arteria lusoria* on the right side. It only appears on the left side if associated with *situs inversus*. The preoperative identification of this variation if made should serve as a guidance/keynote to the presence of a NRILN.

Case report

We herein present a case report of a 64-year-old male patient, without relevant associated pathologies, which was referred to an endocrine surgery evaluation with the diagnosis of a right thyroid lobe nodule that has been growing for 6 months. The patient denied other symptoms including dysphagia or hoarseness.

Physical examination detected a swelling at the base of the neck, on the right side, solid in consistency, movable with swallowing, without thrill, with 3 cm diameter and with no palpable adenopathy.

Thyroid ultrasound was performed showing a nodular heterogeneous conglomerate with a cystic component, without

* Corresponding author.

E-mail address: sofiacuco@gmail.com (S. Guerreiro).



Fig. 1. Neck CT scan revealed enlargement of thyroid right lobe by three expansive solid lesions.

microcalcifications or plunging component at the base of the right lobe, measuring 37.6 mm × 27.0 mm × 40 mm. Left lobe had micronodules.

A fine-needle aspiration cytology ultrasound guided was carried out, and revealed: scarce and disperse colloid; abundant cellularity with isolated thyroid epithelial cells and clusters of variable volume and cohesion. The majority of these cells had cytoplasmic oxyphilic transformation. These aspects were compatible with Hürthle cell tumor.

A CT scan of the neck without contrast, performed prior to consultation and requested by the patient's family doctor revealed enlargement of the right thyroid lobe by three expansive solid lesions (Fig. 1). The lesions were measured between 2.7 and 4 cm. This volume increase of the right lobe exercised extrinsic compression and lateral displacement of the internal jugular vein, without clear invasive criteria and a slight casting on the tracheal right wall at the level of the thoracic operculum (Fig. 2).

A congenital vascular abnormality with the right subclavian artery passing from left to right behind the esophagus (*arteria lusoria*) was identified (Figs. 3 and 4).

The CT evaluation led to the preoperative suspicion of NRILN diagnosis in the right and total thyroidectomy was proposed. CT of the neck is not routinely performed as part of the preoperational evaluation in patients with thyroid disease unless a thoracic component is suspected.

Preoperative vocal cord mobility was not assessed in this patient.

During surgery the anatomic vascular variant reported in CT was identified and the prediction taken from previous data was confirmed: the right ILN was not recurrent. It had its origin from the right vagus nerve in an almost straight angle toward the larynx

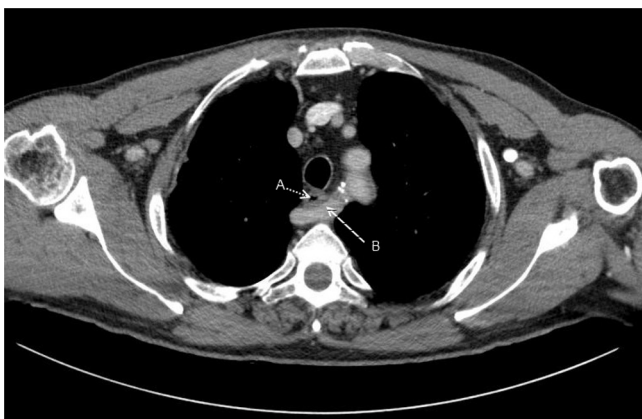


Fig. 2. Neck CT scan. (A) Esophagus and (B) *arteria lusoria*.

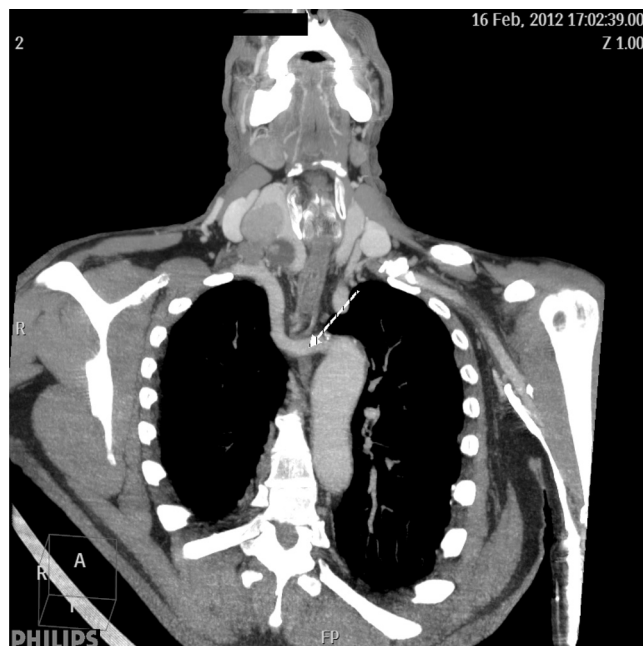


Fig. 3. Neck CT scan: right subclavian artery is positioned near the left subclavian artery and crosses the mediastinum with retroesophageal path – *arteria lusoria*.

(Fig. 5), not exhibiting the usual recurrent pattern in the tracheoesophageal groove. The left ILN featured a normal position.

Surgery and postoperative period did not have interurrences or complications.

The surgical specimen anatomical pathology identified follicular variant of papillary carcinoma without extra thyroidal extension or vascular invasion: pT3NXMX. Remaining parenchyma had nodular hyperplasia. The patient did I 131 therapeutic in postoperative period.



Fig. 4. Neck CT scan. Origin of *arteria lusoria* (arrow).

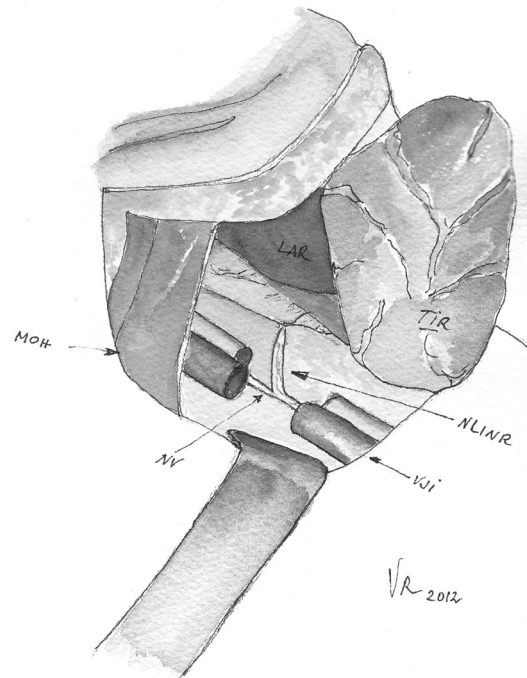
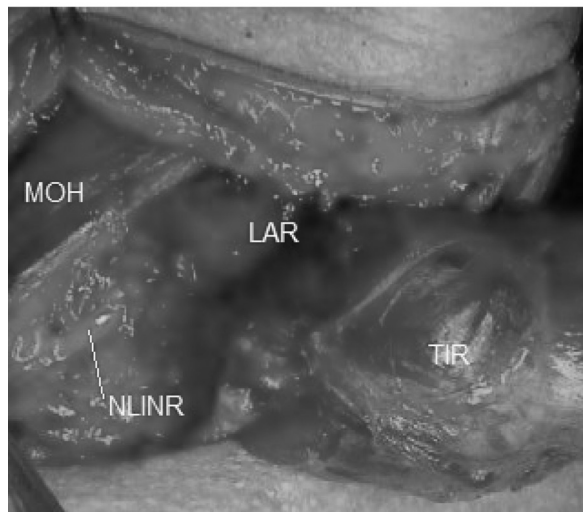


Fig. 5. Right side view of a patient with NLINR after total thyroidectomy. NLINR has its origin in the vagus and follows a transverse path parallel over the inferior thyroid artery. MOH, omohyoid muscle; LAR, larynx; TIR, thyroid; NLINR, non-recurrent inferior laryngeal nerve; NV, vagus nerve; VJI, Internal jugular vein.

Discussion

The existence of anatomic variants in the path of the ILN is an additional reason to enhance their preoperative identification. One of these variants is the NRILN whose incidence ranges from 0.3% to 1.6% for the right and it is approximately 0.04% for the left.³

Its presence on the right is a consequence of a right subclavian artery variant that arises directly from the aortic arch behind the esophagus. Therefore, the absence of recurrence of the inferior laryngeal nerve results from an embryological variant.

During embryological development, ILN originates from VI brachial arch, with vagus nerve under the same VI aortic arch and in a horizontal course.

Subsequently, the V and the distal portion of the VI aortic arches regress bilaterally and the two laryngeal nerves remain anchored to the structures that develop from the IV arch (subclavian artery on the right and aortic arch on the left). During their descent into the thorax, these arteries take with them the nerves that assume, therefore, a recurrent course. As reported by Devèze et al.,⁴ on the right side, the ILN moves up beneath the IV arch, which forms the initial portion of subclavian artery. When this portion of the IV aortic arch is absent, the arterial segment under which the ILN makes its loop is missing. The right ILN is now free to migrate upwards arising directly from the vagus nerve, at cervical level, reaching the right thyroid lobe transversely (Fig. 6). Right subclavian artery arises distally to the left subclavian artery, directly from the aortic arch. Subclavian artery crosses the mediastinum behind the esophagus to reach the right axillary area – *arteria lusoria*. Even though this vascular change is usually asymptomatic, about 5% of these patients report dysphagia (*dysphagia lusoria*). This vascular variant is exceptional on the left side and always associated with a *situs inversus*.³

Two types of non-recurrent ILN were defined: type 1: arises directly from vagus and runs together with superior thyroid vessels; type 2A: parallel transverse path, over the trunk of inferior thyroid artery; and type 2B, parallel transverse path, under the trunk or between the inferior thyroid artery branches.^{3,5}

In this case the nonrecurrent inferior laryngeal nerve was classified type 2A.

CT diagnosis of *arteria lusoria* is based on the identification of an aberrant vessel that passes behind the esophagus.⁶

It is possible to predict the presence of a nonrecurrent inferior laryngeal nerve by identifying the presence of an *arteria lusoria* and the absence of the brachiocephalic artery on a preoperative CT scan.

It is also possible to predict the presence of a nonrecurrent inferior laryngeal nerve by identifying the arterial anomalies constantly associated with nonrecurrent inferior laryngeal nerve by preoperative ultrasonography. Ultrasonography is a very reliable and simple method to be used in preoperative assessment to identify vascular anomaly associated with NRILN to make optimal surgical decisions against nerve damage in patients undergoing thyroidectomy. But again, adequate surgical technique maintains great importance.^{7,8}

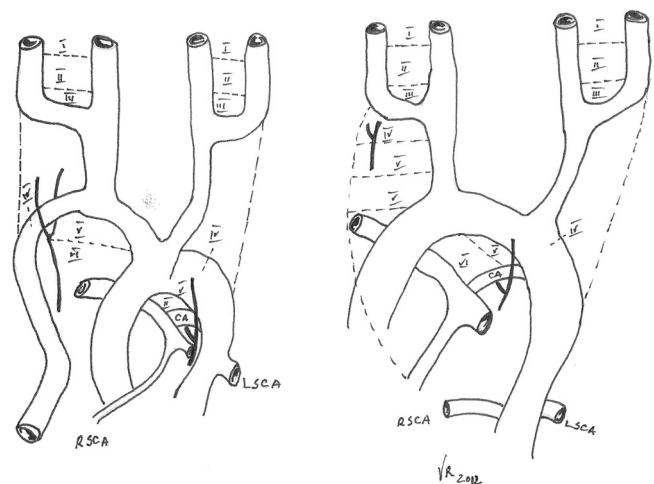


Fig. 6. Normal embryological evolution (left) and in case of non-recurrent inferior laryngeal nerve (right). [7].

Intraoperative neuro-monitoring (IONM) in thyroid surgery has recently been introduced, and its use has expanded quickly, allowing the surgeon to recognize and differentiate “true” branches of the inferior laryngeal nerve (ILN) from sympathetic anastomoses, as well as NRLN during surgery.⁹

There is some evidence that IONM may provide additional benefits beyond those afforded by visual nerve identification alone. But with visual identification remaining the basis for nerve protection, it is up to every surgeon whether to use IONM as a routine adjunct. We believe that especially in experienced hands, the recurrent laryngeal nerve palsy rates are so low that prohibitively large numbers of patients would be needed to achieve adequate statistical power.¹⁰

Conclusion

Nonrecurrent inferior laryngeal nerve incidence is very rare, but when present, increases the risk of damage during thyroidectomy.

Preoperative imagiologic diagnosis of *arteria lusoria* and dysphagia *lusoria* may suggest its presence. The present case report described a patient without dysphagia and NRILN was an accidental discovery through CT scan.

We decided to present this case because it highlights this anatomical variant. There are auxiliary methods that allow intra-operative identification, as Intraoperative neuro-monitoring (IONM).

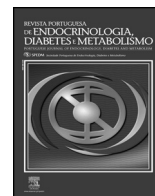
The knowledge of its presence and a correct surgical technique minimize morbidity.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Moore KL. The neck. In: Moore KL, editor. Clinically oriented anatomy. 6th ed. Wolters Kluwer and Lippincott Williams and Wilkins; 2010.
2. Wang Y, Wang Z, Zhang H, Zhang P, Liang H, Dong W. Preoperative CT diagnosis of right nonrecurrent inferior laryngeal nerve. *Head Neck*. 2011; <http://dx.doi.org/10.1002/hed.21434>.
3. Toniato A, Merante Boschin I, Pagetta C, Casalide E, Pelizzo M. A “Pilot light” of the right non-recurrent laryngeal nerve, Una spia del nervo non-ricorrente destro, Surgical Pathology, Department of Medical and Surgical Sciences, University of Padua, Italy. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2010;30:107–9.
4. Devèze A, Sebag F, Hubbard J, Jaunay M, Maweja S, Henry JF. Identification of patients with a non-recurrent inferior laryngeal nerve by duplex ultrasound of the brachiocephalic artery. *Surg Radiol Anat*. 2003;25:263–9.
5. Abboud B. Preoperative diagnosis of right nonrecurrent inferior laryngeal nerve by CT scan. Report of a case and review of the literature. *J Med Liban*. 2007;55:46–9.
6. Casal D, Peças A, Sousa D, Rosa-Santos J. A non-recurrent inferior laryngeal nerve in a man undergoing thyroidectomy: a case report. *J Med Case Rep*. 2010;4:386.
7. Yetisir F, Çiftçi B, Teber A, Kiliç M. Efficacy of ultrasonography in identification of non-recurrent laryngeal nerve. *Int J Surg*. 2012;10:506–9.
8. Proye C, Dumont H.F G., Depadt G, Lagache G. Le nerf “recurrent non récurrent” danger en chirurgie thyroïdienne – quinze observations. *Ann Chir*. 1982;36.
9. Donatini G, Carnaille B, Dionigi G. Increased detection of non-recurrent inferior laryngeal nerve (NRLN) during thyroid surgery using systematic intraoperative neuromonitoring (IONM). *World J Surg*. 2013;37:91–3.
10. Dralle H, Sekulla C, Lorenz K, Brauckhoff M, Machen A, the German IONM Study Group. Intraoperative monitoring of the recurrent laryngeal nerve in thyroid surgery. *World J Surg*. 2008;32:1358–66.



Caso clínico

Tempestade tiroideia – caso clínico



Luísa C. Teixeira*, Ana Araújo, Miriam Magalhães, Diana Fernandes,
Marta Gôja, Nuno Sousa, Alcina Ponte e Renato Saraiva

Serviço Medicina 1, Centro Hospitalar Leiria-Pombal, Leiria, Portugal

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Historial do artigo:

Recebido a 15 de setembro de 2012

Aceite a 15 de outubro de 2013

On-line a 20 de março de 2014

Palavras-chave:

Tempestade tiroideia

Hipertiroidismo

Febre

Amiodarona

R E S U M O

A tempestade tiroideia (TT) é uma condição clínica grave, resultante da exacerbação abrupta e potencialmente fatal do hipertiroidismo. O principal fator precipitante são as infeções. O diagnóstico é fundamentalmente clínico. Entre as manifestações clínicas destacam-se a febre, taquicardia, agitação, delírio e coma.

Apesar de se tratar de uma situação rara, perante sua suspeita o tratamento deve ser instituído imediatamente, independentemente dos resultados laboratoriais, pois o seu atraso pode ser fatal.

Apresenta-se o caso clínico de uma doente de 53 anos, com fibrilhação auricular paroxística entre outros antecedentes pessoais, medicada com amiodarona há vários anos, que recorreu ao serviço de urgência por quadro clínico de febre e agitação psicomotora, cuja investigação clínica levou ao diagnóstico de TT secundária à amiodarona.

Os autores descrevem este caso clínico pela inespecificidade clínica, complexidade diagnóstica e uma vez que se trata de uma entidade clínica rara.

© 2012 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

Thyroid storm – clinic case

A B S T R A C T

Thyroid Storm is a severe clinical condition resulting from a sudden and potentially life-threatening exacerbation of hyperthyroidism. Underlying infection is the main precipitating factor. Diagnosis is mainly clinically-based. Among the clinical manifestations, fever, tachycardia, agitation, delirium and coma are of particular emphasis.

Although a rare disorder, when suspected, treatment should be instituted immediately, regardless of laboratory results, as delay may be fatal.

The authors describe a case study of a 53 year old patient, with paroxysmal atrial fibrillation and other personal antecedents, treated with amiodarone for several years, presented to the emergency service with fever and psychomotor agitation, whose clinical research has led to the diagnosis thyroid storm secondary to amiodarone.

The authors describe this clinical case by nonspecific clinical, diagnostic complexity and since it is a rare clinical entity.

© 2012 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Thyroid storm

Hyperthyroidism

Fever

Amiodarone

Introdução

A tempestade tiroideia, também conhecida por crise tiroideia ou hipertiroidismo acelerado, é uma condição relativamente rara que constitui uma exacerbação aguda do hipertiroidismo (HPE) clínico

ou subclínico e representa o grau máximo da expressão clínica do HPE, estimando-se que ocorra em 1% dos casos de HPE^{1,2}. Ocorre predominantemente em adultos, podendo ocorrer em crianças e adolescentes. A distribuição por sexo e idade é determinada pela etiologia do HPE (a doença de Graves ocorre sobretudo nas mulheres e o bócio multinodular tóxico é mais frequente nos idosos).

Apesar de poder desenvolver-se em indivíduos com longa história de HPE, manifesta-se mais frequentemente associada a eventos agudos, tais como infeção, trauma, cirurgia tiroideia ou não

* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: luisa.cardoso.teixeira@gmail.com (L.C. Teixeira).

tiroideia, uso de contrastes iodados, tratamento com iodo radioativo, suspensão de fármacos antitiroideos, tratamento com hormonas tiroideias, uso de amiodarona ou trabalho de parto, entre outras. Pode, também, ocorrer em indivíduos cujo HPE não fora diagnosticado anteriormente^{1,3,4}.

As manifestações clínicas mais comuns incluem febre alta (temperatura axilar > 38,5 °C); taquicardia desproporcional à febre (> 140 bpm); insuficiência cardíaca congestiva, alterações gastrointestinais como náuseas, vômitos, diarreia e icterícia; alterações neuropsiquiátricas, nomeadamente agitação, delírio, psicose, estupor e coma; hipertensão seguida de hipotensão e choque¹.

A sua patogénese permanece desconhecida, no entanto, várias hipóteses têm sido propostas: a rápida elevação das concentrações de hormonas tiroideias (HT); aumento da resposta às catecolaminas e uma melhor resposta celular às HT^{1,3,4}.

De acordo com a literatura, as elevações das concentrações de T4 livre e T3 livre e a supressão de TSH são semelhantes às dos doentes com HPE não complicado. Em alguns doentes é possível encontrar níveis séricos normais de T3 livre com aumento de T4 livre e supressão dos níveis de TSH⁵.

A mortalidade associada a esta condição clínica varia entre 20-30%, contudo, quando não tratada evolui certamente para a morte^{1,2}.

Caso clínico

Doente de 53 anos de idade, sexo feminino, raça caucasiana, observada no serviço de urgência (SU) por quadro de febre (temperatura > 38 °C) e agitação psicomotora, com um dia de evolução e com agravamento progressivo.

Dos antecedentes salienta-se diabetes mellitus tipo 2 não insulinotratada, doença cerebrovascular com epilepsia vascular e síndrome demencial, fibrilhação auricular paroxística; medicada, habitualmente, com metformina+vildagliptina, ácido valpróico, oxibutinina, trazodona, sertralina, varfine e amiodarona 200 mg 2 tomas diárias em 5 dias da semana.

Ao exame objetivo, é de salientar a idade aparente superior à idade real e a inquietação/agitação no leito que dificultava a interação. Apresentava-se febril (38 °C) e com sinais de desidratação cutânea. O abdómen revelou-se doloroso à palpação da região do hipocôndrio direito, mas sem sinais de irritação peritoneal. Não foram evidentes alterações do exame neurológico, incluindo a pesquisa de sinais meníngeos.

Na abordagem inicial, realizou análises com hemograma, provas de coagulação, bioquímica, sumária de urina, gasometria arterial (GSA), serologias bacterianas e víricas, que revelaram INR 8,56, PCR 21,1 mg/dL e leucocitúria, sem outras alterações. Realizou eletrocardiograma (ECG) que mostrou fibrilhação auricular com frequência cardíaca de 125 bpm. Os restantes exames, nomeadamente a radiografia torácica, ecografia abdominal e tomografia computadorizada cranioencefálica (TC CE) não revelaram alterações agudas. Perante os achados, foi iniciado tratamento anti-hemorrágico, sintomático e antibioterapia empírica com ciprofloxacina ev.

A doente ficou internada no serviço de medicina, com a hipótese de diagnóstico mais provável de infeção do trato urinário. Ao esquema terapêutico iniciado no SU foi associado o antiarrítmico amiodarona. A doente mantinha-se febril e agitada. Procedeu-se a nova avaliação analítica que não revelou agravamento dos parâmetros inflamatórios. As hemoculturas, anteriormente colhidas, foram negativas. A urocultura revelou-se positiva, com isolamento de *Escherichia coli* resistente ao antibiótico iniciado, pelo que foi feito ajuste terapêutico de acordo com o antibiograma.

Nas 24 horas seguintes, apesar de antibioterapia dirigida, a doente evidenciou agravamento clínico com febre refratária aos

antipiréticos, prostrada e pouco reativa à estimulação verbal e dolorosa. Por essa altura, procedeu-se a investigação etiológica com o seguinte estudo: eletroforese das proteínas séricas com imunofixação e estudo autoimune sem alterações; avaliação da função tiroideia que foi compatível com HPE – TSH 0,01 µUI/mL (V.R.: 0,34-5,60 µUI/mL); FT4 438,9 pmol/L (V.R.: 7,9-14,4 pmol/L); FT3 11,2 pmol/L (V.R.: 3,8-6,0 pmol/L); tiroglobulina > 474 ng/mL (V.R.: 1,15-130,77 ng/mL) e anticorpos antitiroideos negativos. Foram realizados punção lombar e ecocardiograma transtorácico, que excluíram infeção do sistema nervoso central e endocardite bacteriana, respetivamente. A ecografia tiroideia mostrou uma glândula com morfologia globosa, de contornos bosselados, heterogeneidade difusa do parênquima e múltiplas formações nodulares hipocogénicas. A cintigrafia tiroideia com administração IV de 99mTC-pertecnetato mostrou reduzida captação do radiofármaco por toda a glândula.

A doente suspendeu a amiodarona e iniciou terapêutica com antitiroideu de síntese (propiltiouracilo) 200 mg 6/6 h, beta-bloqueante (propranolol) 40 mg 6/6 h e corticoide (hidrocortisona) 100 mg 8/8 h, em esquema de desmame. Sob a terapêutica instituída registou-se uma boa evolução clínica progressiva, tendo tido alta hospitalar ao fim de uma semana, com frequência cardíaca controlada, apirética e com diminuição discreta dos doseamentos das hormonas tiroideias. Em relação à terapêutica para ambulatório, optou-se por descontinuar a amiodarona e associar propranolol, propiltiouracilo e prednisolona 40 mg/dia à restante medicação crónica da doente.

No entanto, na semana seguinte à alta hospitalar a doente acabou por falecer, pelo que não foi possível manter o seguimento em consulta.

Comentário

O diagnóstico de TT é baseado em critérios clínicos, não havendo nenhum teste laboratorial específico que identifique tal condição clínica^{6,7}.

O quadro clínico é o de hipermetabolismo grave, caracterizado pelo início súbito de febre alta (temperatura superior a 38,5 °C, podendo atingir 41 °C); taquicardia sinusal ou supraventricular (fibrilhação auricular) desproporcionais à febre, por vezes complicadas de insuficiência cardíaca de alto débito ou de edema agudo do pulmão mesmo em indivíduos jovens sem patologia cardíaca prévia; sintomas gastrointestinais como náuseas, vômitos, diarreia, dor abdominal e, mais raramente, icterícia (pode refletir lesão hepática por insuficiência cardíaca congestiva ou pelo próprio HPE, associando-se a mau prognóstico); alterações psiquiátricas como agitação psicomotora, delírio, labilidade emocional e psicose. Com a progressão do quadro há evolução para estupor, obnubilação, desidratação provocada pela febre, vômitos e diarreia; culminando em lesão renal aguda pré-renal, colapso cardiovascular, choque e coma. Muitas vezes o quadro clínico pode ser mascarado por uma infeção ou por outro fator precipitante.

Os achados laboratoriais são compatíveis com um estado de HPE, sendo que os níveis das HT não permitem fazer a distinção dos doentes com TT daqueles com HPE não complicado, mas os níveis de T4 livre e T3 livre podem encontrar-se mais elevados do que o habitual. Para além desses, podem ser encontrados outros achados laboratoriais inespecíficos, nomeadamente hiperglicemia (por aumento da glicogenólise e da absorção intestinal de glicose, facilitada pelas HT); hipercalcemia (por hemoconcentração e efeito das HT na reabsorção óssea); aumento dos níveis séricos das bilirrubinas, aspartato aminotransferase (TGO), alanina aminotransferase (TGP) e lactatodesidrogenase (LDH) (por disfunção hepática), aumento da fosfatase alcalina (por aumento da atividade osteoblástica em resposta à reabsorção óssea); leucocitose

Thermoregulatory dysfunction		Cardiovascular dysfunction	
Temperature (°F °C)		Tachycardia	
99-99.9 37.2-37.7	5	99-109	5
100-100.9 37.8-38.2	10	110-119	10
101-101.9 38.8-38.8	15	120-129	15
101-102.9 38.9-39.4	20	130-139	20
103-103.9 39.4-39.9	25	≥140	25
≥104.0 >40.0	30	Atrial fibrillation	10
Central nervous system effects		Heart failure	
Mild	10	Mild	5
Agitation		Pedal edema	
Moderate	20	Moderate	10
Delirium		Bibasilar rales	
Psychosis		Severe	15
Extreme lethargy		Pulmonary edema	
Severe	30	Precipitant history	
Seizure		Negative	0
Coma		Positive	10
Gastrointestinal-hepatic dysfunction			
Moderate	10		
Diarrhea			
Nausea/vomiting			
Abdominal pain			
Severe	20		
Unexplained jaundice			

Pontuação = 60

Figura 1. Sistema de Pontuação de Burch e Wartofsky, critérios de diagnóstico de TT.
Fonte: www.uptodate.com. 2011 uptodate.

com desvio à esquerda que pode ocorrer mesmo na ausência de infecção; trombocitopenia e anemia normocítica normocrômica^{1,4}.

Posto isto, não existem critérios clínicos e laboratoriais específicos para o diagnóstico de TT. Em 1993, Burch e Wartofsky criaram um sistema de pontuação baseado em critérios clínicos para diferenciar o HPE grave da TT^{6,7}. Uma pontuação superior ou igual a 45 é altamente sugestivo de TT, enquanto uma pontuação abaixo de 25 torna o diagnóstico improvável. Uma pontuação entre 25-44 é sugestiva de TT iminente. De referir que apesar deste sistema de pontuação (fig. 1) não ser muito específico, apresenta uma sensibilidade diagnóstica considerável, podendo constituir um guia útil⁷.

Em análise do caso exposto, o quadro clínico apresentado pela doente foi inicialmente mascarado por um processo infeccioso, nomeadamente a infecção do trato urinário identificada no estudo realizado no SU. No entanto, mesmo na presença de tratamento dirigido e ajustado ao antibiograma do exame bacteriológico de urina, a doente mantinha febre alta associada a taquicardia desproporcional e apresentava-se progressivamente mais prostrada. Prosseguiu-se no estudo para exclusão de outros processos infecciosos, tendo sido negativo.

Após revisão dos antecedentes patológicos da doente e respetiva medicação crónica, verificou-se que a doente encontrava-se habitualmente medicada com amiodarona na dosagem de 200 mg 2 vezes/dia, exceto ao fim de semana; apesar de não haver conhecimento de patologia tiroideia prévia, na presença dos achados

clínicos supracitados foi colocada a hipótese de disfunção tiroideia, nomeadamente de TT. Nesse sentido, procedeu-se ao cálculo do sistema de pontuação de Burch e Wartofsky, tendo-se obtido uma pontuação de 60 (fig. 1), sendo altamente sugestivo de TT.

Um aspeto importante a realçar neste caso clínico é a presença de tiroidite induzida pela amiodarona. Existem 2 tipos com mecanismos patogénicos e tratamentos diferentes. Na tiroidite tipo 1 ocorre reativação do HPE em doentes com doença tiroideia prévia devido à libertação de iodo pela amiodarona com aumento da síntese hormonal. Ocorre tipicamente em regiões geográficas com défice da ingestão de iodo na alimentação e tem um início mais insidioso. Os autoanticorpos são positivos, o ecodoppler da tiroide mostra hipervascularização e a cintigrafia revela hiperfixação do radiofármaco. A tiroidite tipo 2 ocorre em indivíduos sem patologia tiroideia prévia e resulta da destruição do epitélio folicular induzida pela amiodarona ou seus metabolitos, com libertação de HT para a circulação (tiroidite destrutiva). O início é mais abrupto. Os anticorpos antitiroideus negativos, a ausência de vascularização e a reduzida captação de radiofármaco sugerem este tipo. Alguns autores consideram ainda um tipo misto (tipo 3), quando coexistem os tipos 1 e 2⁸⁻¹¹.

Perante os achados de anticorpos antitiroideus negativos e reduzida captação de ^{99m}Tc-Percechnetato na cintigrafia tiroideia, este caso poderia enquadrar-se na tiroidite tipo 2. No entanto, uma vez que não havia conhecimento da existência ou não de patologia

tiroideia prévia, optou-se por interpretar este caso como tiroidite tipo 3.

Na presença de quadro clínico compatível com TT, o tratamento deve ser imediatamente iniciado, não devendo ser atrasado pela confirmação laboratorial, pois quanto mais tardia for a intervenção inicial, pior o prognóstico do doente.

O tratamento englobando vários fármacos (tionamidas, beta-bloqueantes, perclorato de potássio, carbonato de lítio ou iodo, agentes de contraste iodados, corticoides) assenta em 4 passos fundamentais: diminuição dos níveis séricos das HT, inibição dos efeitos periféricos das HT, terapêutica de suporte e controlo do fator precipitante¹.

As tionamidas são os fármacos de eleição para inibir a síntese das HT. As opções são o metimazol 20-25 mg por via oral (PO) de 6/6 h e o propiltiouracil 200-400 mg PO de 6/8 h, ambos com eficácia semelhante. No entanto, o propiltiouracil é o fármaco preferido, uma vez que tem a vantagem de inibir a conversão periférica de T4 em T3^{1,12,13}.

Os beta-bloqueantes inibem os efeitos periféricos das HT e também bloqueiam conversão periférica de T4 em T3. O propranolol é beta-bloqueante de eleição, podendo ser administrado por via oral nas doses 60-80 mg e 80-120 mg a cada 4 ou 6 horas, respetivamente. Para a dosagem superior a 160 mg/dia, tem o efeito adicional de reduzir a conversão de T4 em T3^{1,4}.

Perante ineficácia das tionamidas, o perclorato de potássio pode ser ponderado como adjuvante. Atua como inibidor da captação de iodo, reduzindo o iodo tiroideu e melhorando a eficácia das tionamidas. A dose habitual é 300 mg, 3 vezes por dia, até 6 semanas.

O carbonato de lítio ou iodo inibe a secreção das HT. O iodo é a opção de escolha, devendo ser usado cerca 1-2 horas após a administração da tionamida. Se for usado antes desta serve como substrato para a síntese de HT e pode piorar a disfunção tiroideia. A forma de administração mais comum é a solução saturada de iodeto de potássio 5 gotas (1.250 mg) de 6/6 h ou solução de lugol 10 gotas (500 mg) 8/8 h. Em doentes intolerantes deve ser utilizado o carbonato de lítio^{1,14}.

Os agentes de contraste iodados, nomeadamente o ácido iopanoico 0,5-1 g/dia, têm sido úteis no tratamento de HPE grave ou na preparação dos doentes com HPE para cirurgia de urgência. Uma vez que são iodados, devem ser administrados 30-60 minutos após inibição eficaz da síntese de HT, de modo a evitar que sirva de substrato para a síntese de novas HT^{1,4}.

Os corticoides inibem a conversão periférica de T4 em T3, podendo ser utilizada a dexametasona 2 mg EV 6/6 h ou a hidrocortisona 300 mg em dose de ataque, seguido de 100 mg 8/8 h, em esquema de desmame progressivo. Podem ter o efeito adicional de tratar a insuficiência suprarrenal que frequentemente coexiste, com consequente melhoria da estabilidade vasomotora^{1,4}.

As medidas de suporte consistem na correção da hipertermia, da desidratação e dos distúrbios hidroeletrólíticos. Para a correção da hipertermia deve ser utilizado o paracetamol 1.000 mg PO 6-8 h. A aspirina deve ser evitada, uma vez que desloca a HT das proteínas plasmáticas, induzindo elevação de T4 livre e consequente agravamento do quadro clínico. A correção da desidratação, distúrbios eletrólíticos e hipotensão deve ser feita por meio da fluidoterapia com soro fisiológico ou glicosado, de acordo com a situação^{1,4}.

Perante as várias opções acima referidas, a identificação dos 2 tipos tiroidite pode fornecer uma base racional para a escolha do tratamento mais apropriado e, desse modo, melhorar o prognóstico.

O tratamento da tiroidite tipo 1 raramente responde à suspensão da amiodarona isoladamente, as tionamidas são os fármacos de eleição. Perante sua ineficácia, pode acrescentar-se à terapêutica o perclorato de potássio ou o carbonato de lítio. O tratamento da tiroidite tipo 2 consiste sobretudo em corticoides devido às suas propriedades anti-inflamatórias e estabilizadoras de membrana. Na tiroidite tipo 3 utiliza-se simultaneamente as terapêuticas anteriormente referidas.

No caso clínico em questão a amiodarona foi descontinuada definitivamente.

Perante a dificuldade em diferenciar o tipo de tiroidite e atendendo à gravidade da situação clínica, optou-se por um esquema terapêutico combinado com antitiroideu de síntese, beta-bloqueante e corticoides, admitindo tratar-se de tiroidite tipo 3, com melhoria clínica progressiva.

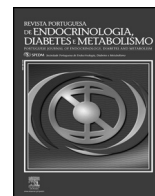
Com este caso clínico, os autores pretendem realçar a necessidade de monitorização da toxicidade da amiodarona. Apesar de não existirem guidelines bem definidas, seria plausível a realização de testes da função tiroideia antes de iniciar tratamento com amiodarona e, posteriormente, a cada 6 meses.

Conflito de interesses

Os autores não receberam suporte financeiro para elaboração do artigo.

Bibliografia

- Gomes R, Mealha R, Fernandes A, Oliveira L, Lança S, Almeida E. Thyrotoxic crisis – clinical report. *Rev Port Med Int.* 2009;16:31–5.
- Swinburne JL, Kreisman SH. A rare case of subacute thyroiditis causing thyroid storm. *Thyroid.* 2007;17:73–6.
- Sarlis NJ, Gourgiotis L. Thyroid emergencies. *Rev Endocr Met Disord.* 2003;4:129–36.
- Nayak B, Burman K. Thyrotoxicosis and thyroid storm. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2006;35:663–86.
- Akamizu T, Satoh T, Isozaki O, Suzuki A, Wakino S, Iburi T, et al. Diagnostic criteria, clinical features, and incidence of thyroid storm based on nationwide surveys. *Thyroid.* 2012;22:661–79.
- Burch HB, Wartofsky L. Life-threatening thyrotoxicosis. Thyroid storm. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1993;22:263–77.
- Wartofsky L. Clinical criteria for the diagnosis of thyroid storm. *Thyroid.* 2012;22:659–60.
- Limbirt E. Endocrinologia. Metabolismo e nutrição tiróide e fármacos – Amiodarona. 2000:6–9.
- Marques P, Bugalho MJ. Disfunção tiroideia induzida pela amiodarona. *Rev Port Endocrinologia Diabetes e Metabolismo.* 2011;2:31–41.
- Campos MV. Efeitos da amiodarona na tiróide aspectos actuais. *Acta Médica Port.* 2004;17:241–6.
- Cohen-Lehman J, Dahl P, Danzi S, Klein I. Effects of amiodarone therapy on thyroid function. *Nat Rev Endocrinol.* 2010;6:34–41.
- Cooper DS, Saxe VC, Meskell M, Maloof F, Ridgway EC. Acute effects of propylthiouracil (PTU) on thyroidal iodide organification and peripheral iodothyronine deiodination: correlation with serum PTU levels measured by radioimmunoassay. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982;54:101.
- Hodak SP, Huang C, Clarke D, Burman KD, Jonklaas J, Janjic-Kharic N. Intravenous methimazole in the treatment of refractory hyperthyroidism. *Thyroid.* 2006;16:691.
- Benua RS, Becker DV, Hurley JR. Thyroid storm. In: Bardin CW, editor. *Current Therapy in Endocrinology and Metabolism.* 5th ed. St Louis: Mosby; 1994. p. 75.



Caso clínico

Hipopituitarismo de etiologia não esclarecida



Joana Couto^{a,*}, Marta Casal Moura^{c,d}, Joana Menezes^{b,d}, Cláudia Nogueira^{b,d}, Maria João Matos^{b,d}, César Esteves^b, Georgina Jorge^b, Joana Queiróz^b, Carla Andrade^c, Celestino Neves^{b,d}, Elisabete Rodrigues^{b,d} e Davide Carvalho^{b,d}

^a Serviço de Endocrinologia e Clínica de Tumores Endócrinos, IPO Porto FG, Porto, Portugal

^b Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Centro Hospitalar São João, Porto, Portugal

^c Serviço de Medicina Interna, Centro Hospitalar de São João, Porto, Portugal

^d Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Portugal

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Historial do artigo:

Recebido a 18 de maio de 2013

Aceite a 26 de dezembro de 2013

On-line a 20 de março de 2014

Palavras-chave:

Hipófise
Hipopituitarismo
Doença autoimune

R E S U M O

O hipopituitarismo constitui uma patologia que se associa a aumento da mortalidade, nomeadamente cardiovascular, sendo importante o seu diagnóstico e tratamento precoces. As causas mais frequentes são os tumores hipotálamo-hipofisários ou as consequências do seu tratamento. A insuficiência hipofisária idiopática corresponde a cerca de 11% dos casos de hipopituitarismo. Descrevemos o caso de uma mulher de 79 anos, com história de várias intercorrências infecciosas com poucos meses de evolução, que recorreu ao serviço de urgência por vômitos, astenia, anorexia e febre. Tendo sido diagnosticada infeção do trato urinário foi decidido o seu internamento. Apresentava fácies ligeiramente edemaciada e apática e perfil tensional tendencialmente baixo. Analiticamente foi verificada anemia microcítica e hiponatremia. Perante a suspeita clínica, foi pedido estudo analítico hipofisário e verificado panhipopituitarismo. Não apresentava evidência sugestiva de diabetes insípida. A RM hipofisária não mostrou alterações de sinal antes e após contraste e a TC cerebral não revelou alterações. O estudo realizado permitiu a exclusão de sarcoidose, hemocromatose, tuberculose e hipofisite linfocítica. Iniciou substituição com hidrocortisona e levotiroxina, tendo-se verificado franca melhoria clínica. Neste caso, a ausência de história sugestiva de etiologia vascular ou traumática e a ausência de lesões hipofisárias identificáveis conduziu ao estudo de etiologias pouco frequentes de insuficiência hipofisária. O hipopituitarismo é uma patologia rara e na presença de manifestações inespecíficas é necessário um alto índice de suspeição para o seu diagnóstico precoce, sendo fundamental que o clínico esteja alerta para a sua possibilidade.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

Hypopituitarism of unknown origin

A B S T R A C T

Hypopituitarism is a condition associated with increased mortality, most commonly caused by cardiovascular disease, hence the importance of early diagnosis and treatment. The most common causes are hypothalamic-pituitary tumors or the consequences of their treatment. Idiopathic pituitary insufficiency accounts for approximately 10% of all cases of hypopituitarism. We describe the case of a 79 year old woman, who presented at the emergency department with asthenia, anorexia, fever and vomiting. She was admitted for a urinary tract infection. She had an apathetic and puffy face and a low blood pressure profile. Microcytic anemia and hyponatremia were found. Given the clinical suspicion, a biochemical assessment of pituitary function was performed, which was compatible with panhypopituitarism. There were no abnormalities suggestive of diabetes insipidus. The pituitary MRI showed no signal changes before and after contrast and the brain CT scan was normal. The workup performed allowed the exclusion of sarcoidosis, hemochromatosis, tuberculosis and lymphocytic hypophysitis. Replacement with hydrocortisone and levothyroxine was begun, and the patient showed a significant clinical improvement. Because there was no history suggestive of vascular or traumatic etiology and in the absence of

Keywords:

Pituitary
Hypopituitarism
Autoimmune disease

* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: joanamcouto@hotmail.com (J. Couto).

an identifiable pituitary lesion, a search for other rare etiologies was performed. Hypopituitarism is a rare condition and in the presence of nonspecific features, a high index of suspicion is the key to an early diagnosis.

© 2013 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introdução

O hipopituitarismo (HP), descrito inicialmente por Simmonds em 1914¹, caracteriza-se por uma insuficiência completa ou parcial da secreção hormonal pela hipófise anterior, podendo resultar de doença hipotalâmica ou hipofisária².

Constitui uma patologia rara, estimando-se que a sua prevalência seja de 45,5 casos por 100.000 habitantes e a sua incidência de 4,2 casos por 100.000/ano³.

As causas mais frequentes são os tumores hipotálamo-hipofisários ou as consequências do seu tratamento (cirurgia, radioterapia). Outras causas, no adulto, incluem lesões peri-hipofisárias (metástases, meningiomas e gliomas), apoplexia, síndrome de Sheehan, hemorragia subaracnoideia, doença cerebrovascular, infeções, hipofisite linfocítica, hemocromatose, histiocitose de células de Langerhans, doenças granulomatosas e traumatismo⁴. Em doentes com traumatismo crânioencefálico, o hipopituitarismo será muitas vezes subdiagnosticado². Encontram-se também descritas manifestações tardias de mutações nos genes de fatores de transcrição hipofisários, associadas a secreção hormonal insuficiente, isolada ou combinada⁴. A insuficiência hipofisária considerada idiopática corresponde a cerca de 11% dos casos de hipopituitarismo³.

As manifestações clínicas de HP são variáveis e frequentemente inespecíficas, dependendo da causa e do grau de insuficiência hormonal. A sua instalação pode ser bastante insidiosa e a doença subclínica pode passar despercebida⁵.

Doentes com HP, independentemente da evolução, apresentam excesso de mortalidade, sobretudo por patologia cardiovascular e do foro respiratório^{6,7}.

A insuficiência hipofisária no idoso representa um desafio. A sua etiologia é semelhante à verificada em faixas etárias inferiores, mas os sintomas associados a HP parcial ou completa, como fadiga, diminuição da força muscular e diminuição da libido podem ser atribuídos ao processo de envelhecimento⁸.

Descrição do caso

Mulher de 79 anos, que recorreu ao serviço de urgência por quadro agudo de vômitos, astenia, anorexia e febre. Foi diagnosticada infeção do trato urinário (ITU), tendo sido decidido internamento. Tinha sido internada 5 meses antes por infeção respiratória e referia história recente de ITU de repetição. Apresentava antecedentes de colite ulcerosa (em remissão), osteopenia e diabetes mellitus associada a pancreatectomia cefálica (em 2001, por cistadenoma pancreático), sem complicações conhecidas, tratada com dieta. História de menarca aos 11 anos e de uma gestação aos 43 anos associada a parto distócico (cesariana) por pré-eclâmpsia. Foi submetida a histerectomia com anexectomia bilateral por fibroma uterino aos 49 anos. Sem antecedentes de doença cerebrovascular, traumatismo crânioencefálico ou S. de Sheehan. Encontrava-se medicada com mesalazina (2.400 mg por dia), carbonato de cálcio (1.500 mg por dia) e colecalciferol (400 U. I. por dia). Desconhecia história familiar de endocrinopatias.

No internamento foi verificada astenia importante, palidez cutânea, fácies apática e edemaciada e pressão arterial baixa (90/63 mmHg). Não apresentava outras queixas ou alterações de relevo ao exame objetivo. O estudo analítico mostrava anemia

Tabela 1

Avaliação analítica inicial

Parâmetro analítico	Resultado	Valor de referência
Hemoglobina	10,6 g/dL	12,0–16,0
Volume globular médio	83,1 fL	87–103
Sódio	132 mEq/L	135–147
Potássio	3,6 mEq/L	3,5–5,1
Glicose (jejum)	70 mg/dL	75–110
ACTH	3,6 ng/L	<63,3
Cortisol	1,1 µg/dL	6,2–19,4
TSH	0,006 µUI/mL	0,35–4,94
T4 livre	0,56 ng/dL	0,70–1,48
FSH	1,31 mUI/mL	25,8–134,8
LH	<0,1 mUI/mL	7,7–58,5
STH	0,33 µg/L	<8
PRL	4 ng/mL	4,8–23,3

microcítica (Hb 10,6 g/dL, MCV 83,1 fL), hiponatremia (132 mEq/L), normocaliemia (3,6 mEq/L), glicemia em jejum de 70 mg/dL. O estudo hormonal evidenciava: ACTH (8 h)- 3,6ng/L (<63,3), Cortisol (8 h)- 1,1 µg/dL (6,2–19,4), TSH - 0,006 µUI/mL (0,35–4,94), T4L - 0,56 ng/dL (0,70–1,48), FSH - 1,31 mUI/mL (25,8–134,8), LH - <0,1 mUI/mL (7,7–58,5), STH - 0,33 µg/L (<8), PRL - 4 ng/mL (4,8–23,3) (tabela 1). Não apresentava elevação dos anticorpos antitiroideos. Clínica e analiticamente não manifestou alterações sugestivas de diabetes insípida. A RM hipofisária não mostrava alterações antes e após contraste e a TC cerebral não evidenciava lesões. Com o intuito de excluir outras possíveis causas de hipopituitarismo, como hemocromatose, sarcoidose e tuberculose, foi ainda pedido o doseamento de ferritina - 208,4 ng/mL (14–233,1), saturação da transferrina - 30,4% e ECA - 39 U/L (<52). O exame micobacteriológico do lavado gástrico foi negativo e a telerradiografia do tórax era normal.

Para exclusão de hipofisite linfocítica foi pedido o doseamento de anticorpos anti-hipofisários genéricos (IgA, IgG e IgM) avaliados por imunofluorescência indireta. Obteve-se um perfil de fluorescência negativo (diluição 1:10).

Foi iniciada terapêutica de substituição, inicialmente com hidrocortisona 100 mg, via endovenosa, seguida de levotiroxina 50 µg/dia, com posterior titulação das dosagens. Após início da terapêutica de substituição com hidrocortisona e levotiroxina, verificou-se franca melhoria clínica e analítica, com resolução da hiponatremia e posteriormente, da anemia. Não se verificou aumento da diurese após instituição da terapêutica. A doente mantém vigilância regular na consulta de endocrinologia, não tendo apresentado, até à data, intercorrências de relevo. À data da última avaliação, a doente encontrava-se assintomática, com bom estado geral, normotensa, com peso estável, sem alterações de relevo ao exame objetivo. Analiticamente apresentava hemoglobina de 14,0 g/dL, sódio plasmático de 143 mEq/L, T4L de 1,14 ng/dL (0,70–1,48), A1c de 7,6%. Encontrava-se medicada com prednisolona (7,5 mg por dia), levotiroxina (112 µg por dia), Insulina detemir (12 U por dia), para além da restante medicação previamente em curso.

Comentário

Descrevemos o caso de uma doente de 79 anos em que foi estabelecido o diagnóstico de pan-hipopituitarismo, sem etiologia esclarecida até ao momento.

Foi fundamental a integração de dados clínicos e analíticos para a suspeição diagnóstica.

Neste caso, a presença de hiponatremia constituía um elemento a favor do diagnóstico de insuficiência hipofisária, sobretudo atendendo à normonatremia verificada em episódios prévios. O HP, e em particular o hipocortisolismo, nos doentes idosos encontra-se frequentemente associado a hiponatremia, sendo esta menos comum noutros grupos etários⁹. O hipotireoidismo poderá igualmente ser causa de hiponatremia. A ausência de história sugestiva de etiologia vascular ou traumática assim como de lesões hipofisárias identificáveis conduziu ao estudo de etiologias pouco frequentes de insuficiência hipofisária.

Apesar de pouco provável neste caso concreto, foi excluída hipofisite autoimune, já que esta pode estar na origem de um número não desprezível de casos de HP idiopático¹⁰.

É defendida também a exclusão de hemocromatose em todos os doentes com HP de etiologia não esclarecida e sem evidência de lesões hipofisárias¹¹.

Tem sido descrita a associação entre hipopituitarismo e colite ulcerosa, mas não é claro o possível mecanismo etiopatogénico comum¹²⁻¹⁴. Admite-se que 0,05% dos doentes com colite ulcerosa tenham hipopituitarismo, sendo mais frequente em mulheres e indivíduos jovens (10-19 anos)¹⁵.

A insuficiência hipofisária constitui uma patologia rara e está associada a aumento da mortalidade. Na presença de manifestações inespecíficas é necessário um alto índice de suspeição para o seu diagnóstico, sendo fundamental que o clínico esteja alerta para a sua possibilidade.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Bibliografia

1. Simmonds M. Uber hypophysisschwund mit todlichem ausgang. Dtsch Med Wschr. 1914;40:322-3.
2. Ascoli P, Cavagnini F. Hypopituitarism. Pituitary. 2006;9:335-42.
3. Regal M, Paramo C, Sierra SM, Garcia-Mayor RV. Prevalence and incidence of hypopituitarism in an adult Caucasian population in northwestern Spain. Clin Endocrinol (Oxf). 2001;55:735-40.
4. Schneider HJ, Aimaretti G, Kreitschmann-Andermahr I, Stalla GK, Ghigo E. Hypopituitarism. Lancet. 2007;369:1461-70.
5. Melmed S, Kleinberg D, Ho K. Pituitary physiology and diagnostic evaluation. Em: Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM. Williams Textbook of endocrinology. 12ª ed. Saunders Elsevier; 2011. p. 211-8.
6. Tomlinson JW, Holden N, Hills RK, Wheatley K, Clayton RN, Bates AS, et al. Association between premature mortality and hypopituitarism. West Midlands Prospective Hypopituitary Study Group. Lancet. 2001;357:425-31.
7. Fernandez-Rodriguez E, Lopez-Raton M, Andujar P, Martinez-Silva IM, Cadarso-Suarez C, Casanueva FF, et al. Epidemiology, mortality rate and survival in a homogeneous population of hypopituitary patients. Clin Endocrinol (Oxf). 2013;78:278-84.
8. Antonopoulou M, Sharma R, Farag A, Banerji MA, Karam JG. Hypopituitarism in the elderly. Maturitas. 2012;72:277-85.
9. Asano T, Aoki A, Sasaki M, Ikoma A, Kakei M, Kawakami M, et al. Hyponatremia is the valuable manifestation for initiating diagnosis of hypopituitarism in elderly. Endocr J. 2012;59.
10. de Graaff LC, de Bellis A, Bellastella A, Hokken-Koelega AC. Antipituitary antibodies in Dutch patients with idiopathic hypopituitarism. Horm Res. 2009;71:22-7.
11. Lewis AS, Courtney CH, Atkinson AB. All patients with 'idiopathic' hypopituitarism should be screened for hemochromatosis. Pituitary. 2009;12:273-5.
12. Cezard JP, Touati G, Alberti C, Hugot JP, Brinon C, Czernichow P. Growth in paediatric Crohn's disease. Horm Res. 2002;58 Suppl 1:11-5.
13. Završnik M, Kok T. Hypopituitarism revealed after repetitive hyponatremia as complication of hemorrhagic fever. Endocrine Abstracts. 2009;20:P274.
14. Lipiopolou A, Stolte J, Nagi D. A case of hypogonadotrophic hypogonadism due a pituitary stalk tuberculoma. Endocrine Abstracts. 2010;21:P72.
15. Disponível em: <http://ehealthme.com/cs/colitis+ulcerative/pituitary+insufficiency> [acessado 24 Feb 2013].



CONGRESSO PORTUGUÊS DE ENDOCRINOLOGIA **2015** **66^a** REUNIÃO ANUAL DA SPEDM

22 a 25 de Janeiro de 2015

Centro de Congressos do Hotel Vidamar • FUNCHAL

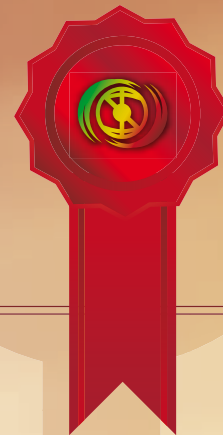
**SUBMISSÃO DOS RESUMOS ATÉ
AO DIA 9 DE NOVEMBRO DE 2014**



SPEDM
SOCIEDADE PORTUGUESA
DE ENDOCRINOLOGIA
DIABETES E METABOLISMO

www.spedm.org

PRÉMIO MELHOR artigo original



REVISTA PORTUGUESA DE ENDOCRINOLOGIA, DIABETES E METABOLISMO

PORTUGUESE JOURNAL OF ENDOCRINOLOGY, DIABETES AND METABOLISM

Informa-se os leitores/autores da RPEDM – Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, que a SPEDM promove anualmente um concurso para atribuição dos seguintes prémios:

- a) **Melhor trabalho original de investigação básica** publicado no ano anterior na RPEDM
- b) **Melhor trabalho original de investigação clínica** publicado no ano anterior na RPEDM
- c) **Melhor trabalho original de casuística** publicado no ano anterior na RPEDM

Consideram-se admitidos ao concurso todos os trabalhos científicos publicados na RPEDM no ano anterior ou aceites para publicação e disponíveis online.

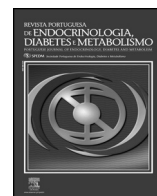
O regulamento encontra-se disponível no site da SPEDM em www.spedm.org





Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo

www.elsevier.pt/rpedm



Congressos e Reuniões Científicas

Calendário

Internacionais

18th International Congress of Neuroendocrinology

17 a 20 Agosto de 2014

Sydney, Australia

Contact: Society for Behavioural Neuroendocrinology

Info: <http://www.esse-hormones.org/meetings/world.aspx>

44th Annual Meeting of the International Society of Psychoneuroendocrinology

19 a 22 de Agosto de 2014

Montreal, Canada

Contact: Nathalie

Info: <http://www.esse-hormones.org/meetings/world.aspx>

International Federation for the Surgery of Obesity and Metabolic Disorders 2014

26 a 30 de Agosto de 2014

Montreal, Canada

Contact: MCI Canada

Info: <http://www.esse-hormones.org/meetings/world.aspx>

International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes Conference

3 a 6 de Setembro de 2014

Toronto, Canada

Contact: Sarah Farley

Info: <http://www.esse-hormones.org/meetings/world.aspx>

ETA 38th Annual Meeting

6 a 10 de Setembro de 2014

Santiago de Compostela, Spain,

Info: www.eta2014.com

3rd International Conference on Gonadotropins and Receptors

7 a 10 de Setembro de 2014

Tours, France

Contact: Eric Reiter

Info: <http://www.esse-hormones.org/meetings/world.aspx>

16th Congress of the European Neuroendocrine Association

10 a 13 de Setembro de 2014

Sofia, Bulgaria

Contact: ENEA Secretary

Info: <http://www.esse-hormones.org/meetings/world.aspx>

50th Annual Meeting of the EASD

15 a 19 Setembro 2014

Viena, Áustria

Info: <http://www.easd.org/>

14th International Workshop on Multiple Endocrine Neoplasia and other rare endocrine tumours

25 a 27 de Setembro de 2014

Vienna, Austria

Contact: World Men 2014

Info: <http://www.esse-hormones.org/meetings/world.aspx>

84th Annual Meeting of the American Thyroid Association

29 Outubro a 02 Novembro de 2014

Coronado, California, USA

Info: www.thyroid.org

Nacionais

3ª Reunião Ibérica de Cirurgia Endócrina/5º Curso de Cirurgia endócrina do hospital de S. João

Organizado pelo Capítulo de Cirurgia Endócrina da Sociedade

Portuguesa de Cirurgia Sección de Cirugía Endocrina de la

Asociación Española de Cirujanos e Grupo de Estudio de Cirurgia

Endócrina da Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e

Metabolismo

18 e 19 de Setembro de 2014, Porto

Info: <http://cirurgiaendocrina.com/pt/>

18as Jornadas de Endocrinologia e Diabetes de Coimbra, Cursos Práticos de Insulinoterapia na Diabetes tipo 1 e Diabetes tipo 2, Curso de Iniciação à Ecografia da Tireoide, Curso Teórico/Prático de Pé Diabético e Curso Prático de Diabetes para Enfermeiros

Organizadas pelo Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo do CHUC, EPE

Hotel Vila Galé Coimbra.

6 a 8 de Novembro de 2014,

Info: www.acropole.pt

Reunião do Grupo de Estudo da Supra-renal da SPEDM

18 de Outubro de 2014,

Auditórios do CHUC (Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra)

pólo HUC das 10h30 às 13h30

Info: spedm@netcabo.pt

