



ACTA REUMATOLÓGICA PORTUGUESA

Publicação Trimestral • ISSN: 0303-464X • 10 €

Vol 32 • Nº 3
Julho/Setembro 2007

*Med*farma
edições

ACTA REUMATOLÓGICA PORTUGUESA

CONSELHO EDITORIAL

Editor Chefe (Chief Editor)

Maria José Parreira Santos

Editores Associados (Associated Editors)

António Albino Teixeira	José António Pereira da Silva
Elizabeth Benito-Garcia	José Carlos Romeu
Helena Canhão	Maria José Leandro
Luís Graça	Paulo Nicola
João Eurico Fonseca	Teresa Carvalho

CONSELHO EDITORIAL INTERNACIONAL

Alfonse Masi (E.U.A.)	Joseph Smolen (Áustria)
Anisur Rahman (Reino Unido)	Juan Gómez-Reino (Espanha)
António Lopes Vaz (Portugal)	Loreto Carmona (Espanha)
Auli Toivanen (Finlândia)	Marcos Bosi Ferraz (Brasil)
Dafna Gladman (Canada)	Maria Odete Hilário (Brasil)
David Isenberg (Reino Unido)	Mário Viana de Queiroz (Portugal)
Eliseo Pascual (Espanha)	Maurizio Cutolo (Itália)
Emilia Sato (Brasil)	Maxime Dougados (França)
Francisco Airton da Rocha (Brasil)	Michel Revel (França)
Gabriel Herrero-Beaumont (Espanha)	Patricia Woo (Reino Unido)
Gerd Burmester (Alemanha)	Piet van Riel (Holanda)
Graciela Alarcon (E.U.A.)	Rainer H. Straub (Alemanha)
Hasan Yazici (Turquia)	Ralph Schumacher (E.U.A.)
Ian Chikanza (Reino Unido)	Raashid Luqmani (Reino Unido)
Jaime C. Branco (Portugal)	Steffen Gay (Suíça)
Jan Dequeker (Bélgica)	Tim Spector (Reino Unido)
Johannes Bijlsma (Holanda)	Tore Kvien (Noruega)
JCW Edwards (Reino Unido)	Yehuda Shoenfeld (Israel)
Joachim Kalden (Alemanha)	Yrjö Kontinen (Finlândia)
John Isaacs (Reino Unido)	

EDITOR TÉCNICO

J. Cavaleiro

Proibida a reprodução, mesmo parcial, de artigos e ilustrações, sem prévia autorização da Acta Reumatológica Portuguesa. Exceptua-se a citação ou transcrição de pequenos excertos desde que se faça menção da fonte.

Administração, Direcção Comercial e Serviços de Publicidade

Medfarma - Edições Médicas, Lda
Alameda António Sérgio 22, 4º B
Edif. Amadeo de Souza-Cardoso
1495-132 Algés
Tel: 214 121 142
Fax: 214 121 146

Redacção

Sociedade Portuguesa de Reumatologia
Rua D. Estefânia 177, 1º D
1000-154 Lisboa

Depósito Legal: 86.955/95

Tiragem: 7.500 exemplares

Registo

Isenta de inscrição no I.C.S. nos termos da alínea a) do n.º 1 do artigo 12.º do Decreto Regulamentar n.º 8/99, de 9 de Junho.

Preço: 10 €

Impressão e Acabamento

Óptima Tipográfica, Lda.
Casais da Serra • 2665-305 Milharado

Produção Gráfica

Rita Correia

Periodicidade

Publicação Trimestral

Esta edição contém um SUPLEMENTO que não pode ser distribuído separadamente.

Revista referenciada no Index Medicus, Medline, Pubmed desde Janeiro 2006.
Journal referred in Index Medicus, Medline, Pubmed since January 2006.



O papel utilizado nesta publicação cumpre os requisitos da ANSI/NISO Z39.48-1992 (Permanence of Paper).
The paper used in this publication meets the requirements of ANSI/NISO Z39.48-1992 (Permanence of Paper).

ORGÃOS SOCIAIS DA SPR

BIÉNIO 2007-2008

DIRECCAO

Presidente	Dr. Augusto Faustino
Vice-Presidente	Dr. José Carlos Romeu
Vice-Presidente	Prof. Dr. João Eurico Fonseca
Sec. Geral	Dr. Luís Maurício Santos
Sec. Geral Adjunto	Dr. ^a Maria José Santos
Tesoureiro	Dr. ^a Helena Canhão
Vogal Região Norte	Dr. Armando Filipe Brandão
Vogal Região Centro	Dr. ^a Anabela Barcelos Figueiredo
Vogal Região Sul	Dr. ^a Ana Assunção Teixeira
Vogal Ilhas	Dr. Herberto Jesus

MESA DA ASSEMBLEIA GERAL

Presidente	Dr. Domingos Araújo
Secretário	Dr. ^a Paula Valente de Oliveira
Vogal	Dr. ^a Ana Cristina Cordeiro

CONSELHO FISCAL

Presidente	Dr. Armando Malcata
Relator	Dr. ^a Cláudia Margarida Cruz
Vogal	Dr. ^a Cândida Almeida Silva

PRESIDENTE ELEITO

Dr. Rui André Santos

SUMÁRIO / CONTENTS

EDITORIAIS / EDITORIALS

- Vitamin D – Applications and Perspectives** 201
Vitamina D – Aplicações e Perspectivas
Helena Canhão

ARTIGOS DE REVISÃO / REVIEWS

- Brief history of rickets and of the discovery of vitamin D** 205
Breve história do raquitismo e da descoberta da vitamina D
J. Martins e Silva
A presente revisão sumariza a história do raquitismo, a caracterização e propriedades anti-raquíticas da luz e de suplementos dietéticos de natureza lipídica e a identificação das principais formas biológicas da vitamina D.

- The Genetics of Osteoporosis** 231
A Genética da Osteoporose
Frances MK Williams, Tim D Spector
A osteoporose tal como a densidade mineral óssea e outros factores de risco para fracturas, como a baixa qualidade óssea, a geometria do colo do fémur e o turnover ósseo são fortemente influenciados por factores genéticos.

- Genetic Basis of Ankylosing Spondylitis** 243
Espondilite Anquilosante e sua Base Genética
F. M. Pimentel dos Santos, E. Bastos, D. Ligeiro, A. F. Mourão, R. Chaves, H. Trindade, H. Guedes-Pinto, J. C. Branco
A Espondilite Anquilosante é uma doença reumática inflamatória frequente, na qual o componente hereditário parece ser relevante. Este artigo de revisão sumariza o estado actual do conhecimento nesta área.

ARTIGOS ORIGINAIS / ORIGINAL PAPERS

- Infectious Spondylodiscitis: the study of forty one cases** 255
Espondilodiscite Infecciosa: o estudo de quarenta e um casos
Joana Capelo, Adelino Carragoso, Chantal Albuquerque, Maria Luísa Mocho, Nuno Canto-Moreira
Os autores apresentam as características de uma série de casos de Espondilodiscite Infecciosa, tendo em especial atenção as características demográficas, factores predisponentes, manifestações clínicas, tratamento efectuado e evolução dos doentes.

SUMÁRIO / CONTENTS

Non-steroidal anti-inflammatory drugs prescription in the ambulatory of General Practice in the Centre of Portugal 263

Prescrição de anti-inflamatórios não esteróides no ambulatório de Clínica Geral do Centro de Portugal

Luiz Miguel Santiago, Margarida Marques

A caracterização da prescrição de anti-inflamatórios não esteróides em Clínica Geral e a comparação da prescrição na população com idade igual ou superior a 65 anos versus a população com idade inferior a 65 anos e entre Centros de Saúde urbanos e rurais, em função dos grupos etários descritos foram objecto deste estudo.

Flexibilization of Infliximab Dose Interval in the Treatment of Ankylosing Spondylitis 271

Flexibilização do Intervalo entre as Infusões de Infliximab no Tratamento dos Doentes com Espondilite Anquilosante

Filipe Vinagre, Maria José Santos, J. Canas da Silva

Nos doentes com Espondilite Anquilosante e resposta mantida à terapêutica com infliximab administrado de 6 em 6 semanas, os autores avaliam a manutenção dessa resposta após prolongamento do intervalo entre as infusões.

PRÁTICA CLÍNICA / CLINICAL PRACTICE

Protocol for Clinical Monitoring of Juvenile Idiopathic Arthritis 277

Protocolo de monitorização clínica da Artrite Idiopática Juvenil (PMIJ)

Helena Canhão, João Eurico Fonseca, Maria José Santos, J.A. Melo Gomes

CASOS CLÍNICOS / CLINICAL CASES

Atypical Presentation of Lung Cancer 282

Apresentação Atípica de Neoplasia do Pulmão

Ana Sofia Preto, Rui Teixeira, Rosa Cruz

Apresenta-se o caso clínico de um doente admitido por artrite do punho direito e joelho esquerdo, bem como celulite da perna e cuja investigação conduziu ao diagnóstico de adenocarcinoma do pulmão em estadio IV.

Spinal Epidural Abscess due to group c Streptococcus 287

Abcesso Epidural Vertebral a Streptococo do Grupo C

Adelino Carragoso, Joana Capelo

Os abscessos epidurais vertebrais são entidades nosológicas raras, com uma apresentação clínica inespecífica e insidiosa, cujo diagnóstico precoce é difícil, com consequências potencialmente catastróficas se não for feito atempadamente.

SUMÁRIO / CONTENTS

- A rare case of systemic autoimmune disease with intricate features of systemic sclerosis, lupus, polymyositis and rheumatoid arthritis. Overlap syndrome or mixed connective tissue disease?** 292

Um caso raro de doença autoimune multissistémica com manifestações imbricadas de esclerose sistémica, lúpus, polimiosite e artrite reumatóide. Síndrome de sobreposição ou doença mista do tecido conjuntivo?

Dan Radulescu, Sorin Pripon, Felix Ciovescu, Nicolae A Constantea

Os autores descrevem um caso de doença multissistémica do tecido conjuntivo que apresenta simultaneamente critérios para diagnóstico de lúpus eritematoso sistémico, esclerose sistémica, polimiosite e artrite reumatóide.

IMAGENS EM REUMATOLOGIA / IMAGES IN RHEUMATOLOGY

- Febrile Headache** 298
Cefaleia Febril

Sandra Garcês, Maria José Santos, J Canas da Silva

AGENDA 300

NORMAS DE PUBLICAÇÃO / INSTRUCTIONS TO AUTHORS 302

VITAMINA D – APLICAÇÕES E PERSPECTIVAS

Helena Canhão*

A vitamina D pode ser obtida a partir de duas formas – ingerida oralmente, na dieta ou como suplemento dietético (ergocalciferol ou vitamina D₂), ou ser sintetizada na pele exposta a radiação ultravioleta (colecalciferol ou vitamina D₃)¹ sendo este último, o mecanismo predominante. A vitamina D, para se tornar metabolicamente activa, deve ser hidroxilada. A primeira hidroxilação ocorre no fígado, da qual resulta a 25-hidroxivitamina D, que é a forma circulante predominante, mas que necessita de sofrer uma segunda hidroxilação no rim para ser metabolicamente activa, a 1,25- dihidroxi-vitamina D.

A vitamina D activa é uma hormona lipossolúvel cuja função mais conhecida é a regulação dos níveis séricos do cálcio, intervindo no metabolismo fosfo-cálcico. As três hormonas principais que regulam a homeostasia do cálcio são a paratormona, a vitamina D e a calcitonina. Os níveis séricos são regulados através da acção destas 3 hormonas em 4 órgãos principais: o osso, as paratiroides, o intestino e o rim. A vitamina D contribui para aumentar os níveis séricos de cálcio, ao aumentar a absorção de cálcio no intestino, através da ligação a receptores específicos. Os osteoblastos também possuem receptores para a vitamina D; os seus metabolitos activos podem modular a osteoclastogénese influenciando a síntese e secreção local de osteoprotegerina e de RANK ligando.² Actualmente, as principais aplicações terapêuticas da vitamina D são a prevenção e o tratamento da osteoporose. Num estudo publicado em 1992, Chapuy *et al*¹² demonstraram que a terapêutica com cálcio e vitamina D, em mulheres idosas, reduzia o risco de fracturas da anca e de outras fracturas não vertebrais.

A vitamina D tem sido utilizada sobretudo na terapêutica da osteoporose senil e na prevenção e terapêutica da osteoporose secundária à terapêutica com corticosteróides. Os estudos recentes com fár-

macos que demonstraram eficácia na terapêutica da osteoporose, nomeadamente pós-menopausa, têm sido efectuados em doentes medicados com suplementos de cálcio e vitamina D.⁴⁻¹¹

Os polimorfismos dos receptores da vitamina D têm sido objecto de investigação como um dos possíveis factores genéticos que regulam a massa óssea. No entanto, os resultados obtidos são contraditórios, provavelmente pelo carácter poligénico da osteoporose que tem impedido o isolamento de um factor genético isolado determinante.¹²

Mas, no passado, a osteomalácia, nomeadamente o raquitismo infantil, era a principal patologia óssea relacionada com a vitamina D. Num artigo¹ muito interessante publicado neste número da Acta Reumatológica Portuguesa, J Martins e Silva, apresenta-nos a história do raquitismo, a identificação da sua etiologia, a descoberta dos efeitos biológicos da radiação ultravioleta e dos suplementos lipídicos da dieta e a identificação das principais formas da vitamina D.

O raquitismo foi durante séculos uma patologia prevalente e incapacitante, cujas etiologia e terapêutica foram desconhecidas até quase metade do século XX. O facto da doença ser influenciada por factores dietéticos e pela exposição solar, aumentou os resultados contraditórios e prolongou as dúvidas sobre o tratamento. Foi só após caracterização das formas químicas da vitamina D e identificação dos efeitos da radiação ultravioleta, que foi estabelecida a relação entre raquitismo e deficiência de vitamina D. Só então este começou a ser tratado de forma sistemática, com mudança de hábitos alimentares e estilos de vida, promoção do exercício físico, maior exposição solar, aumento da ingestão láctea e suplementos dietéticos com vitamina D.

Evidências recentes demonstraram que a vitamina D desempenha funções biológicas muito importantes para além do seu papel no metabolismo do osso e na homeostasia do cálcio e que outras células, para além do intestino e do osso, possuem receptores para a vitamina D, nomeadamente células envolvidas em processos inflamatórios como macrófagos, linfócitos T e B e células dendríticas.

*Serviço de Reumatologia e Doenças Ósseas Metabólicas, Hospital de Santa Maria e Unidade de Investigação em Reumatologia, Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa

No futuro perspectiva-se a descoberta de novas funções determinantes da vitamina D, nomeadamente através dos seus efeitos anti-inflamatórios e anti-ateroscleróticos, que podem estar envolvidos na fisiopatologia, prevenção e terapêutica de doenças como o lúpus eritematoso sistémico, diabetes *mellitus* tipo I, esclerose múltipla, tiroidite autoimune e doença inflamatória intestinal, entre outras. A carência de vitamina D e os baixos níveis séricos têm sido associados, nalguns estudos, à ocorrência destas patologias em modelos experimentais.¹³⁻¹⁵ Em humanos, alguns resultados também apoiam a influência da vitamina D e inclusivamente a sua utilização terapêutica para a prevenção e/ou tratamento destas doenças.¹⁶

A vitamina D interage com o sistema imune, nomeadamente inibindo a proliferação de linfócitos T, sobretudo dos Th1, a produção de interleucina (IL)-2 e interferão (IFN)-gama.¹⁷ A vitamina D inibe também a produção e a secreção de anticorpos pelas células B.¹⁸ Aparentemente, não interfere na proliferação de células dendríticas, mas atrasa a diferenciação dos monócitos nestas células. Modula ainda as respostas macrofágicas, impedindo a libertação de quimocinas e de citocinas pró-inflamatórias e a produção de enzimas lisosómicas que aumentam o *stress* oxidativo. Em conjunto, estes efeitos conferem uma acção anti-inflamatória à forma activa da vitamina D.¹⁹

Os receptores da vitamina D também exercem efeitos imunomodulatórios ao distribuírem-se em várias células do sistema imune, como monócitos, células dendríticas e linfócitos T activados. Mas tal como para a regulação da massa óssea, o efeito dos polimorfismos do gene do receptor da vitamina D na etiologia, fisiopatologia e prognóstico de doenças autoimunes não está estabelecido.^{20,21}

Outro efeito, que será provavelmente clarificado no futuro, é o papel da vitamina D nas calcificações extravasculares e o seu efeito anti-aterogénico. Targher *et al.*²² demonstraram que em doentes com diabetes tipo II, a espessura da camada média da artéria carótida se correlacionava inversamente com os níveis séricos de vitamina D. Os doentes com osteoporose sofrem frequentemente de calcificações vasculares e estas são preditivas, quer do risco de morbilidade e mortalidade cardiovascular, quer do risco de fracturas osteoporóticas.²³ As causas subjacentes às alterações ósseas e vasculares podem ser múltiplas e são objecto de intensa investigação, mas pensa-se que a vitamina D pode ter um papel importante nestes mecanismos.

O envelhecimento cursa com manifestações características como osteopenia, calcificações em tecidos moles e vasculares, aterosclerose e hipogonadismo. O papel patogénico de baixos níveis séricos de vitamina D em idosos está bem documentado.²⁴ No entanto, estudos recentes em modelos de rato mutantes que apresentam hipervitaminose D²⁵ mostraram envelhecimento precoce com as características descritas acima e diminuição da sobrevivência, o que indica que, em modelos experimentais, a actividade excessiva da vitamina D e o balanço alterado de cálcio podem acelerar o processo de envelhecimento. Em humanos, este efeito não é conhecido.

Outro aspecto controverso é a relação entre níveis séricos de vitamina D e a ocorrência de patologias. Se para a normal fisiologia do osso se considera que há níveis mínimos normais, para outras patologias não são conhecidos os limiares de normalidade. Por outro lado, os níveis séricos da vitamina D variam com vários factores como a latitude e a raça do indivíduo e dentro dos valores considerados normais há indivíduos com massas ósseas muito variáveis.

Podemos afirmar com alguma segurança que as acções e os efeitos da vitamina D não se resumem ao osso e à homeostasia do cálcio e que nos próximos anos novos efeitos poderão vir a ser clarificados. Entretanto, poderemos saber mais sobre a história da vitamina D e do raquitismo lendo o artigo já citado,¹ publicado neste número da revista.

Correspondência para:

Helena Canhão
Serviço de Reumatologia
Hospital de Santa Maria
Av. Egas Moniz
1600 Lisboa
E-mail: helenacanhao@netcabo.pt

Referências:

1. Martins Silva J. Breve história do raquitismo e da descoberta da vitamina D. *Acta Reuma Port* 2007; 205-229
2. Baldock PA, Thomas GP, Hodge JM, et al. Vitamin D action and regulation of bone remodeling: suppression of osteoclastogenesis by the mature osteoblast. *J Bone Miner Res* 2006; 21: 1618-1626.
3. Chapuy MC, Arlot ME, Duboeuf F, et al. Vitamin D3 and calcium to prevent hip fractures in the elderly women. *N Engl J Med* 1992; 327: 1637-1642.
4. Black DM, Cummings SR, Karpf DB, et al. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. *Fracture Intervention Trial Research Group. Lancet* 1996;

- 348: 1535-1541.
5. Harris ST, Watts NB, Genant HK, et al. Effects of risedronate treatment on vertebral and nonvertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial Vertebral Efficacy With Risedronate Therapy (VERT) Study Group. *JAMA* 1999; 282: 1344-1352.
 6. Ettinger B, Black DM, Mitlak BH, et al. Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene: results from a 3-year randomized clinical trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Investigators. *JAMA* 1999; 282: 637-645.
 7. Chesnut III CH, Skag A, Christiansen C, et al. Oral Ibandronate Osteoporosis Vertebral Fracture Trial in North America and Europe (BONE). Effects of oral ibandronate administered daily or intermittently on fracture risk in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 1241-1249.
 8. Chesnut CH 3rd, Silverman S, Andriano K, et al. A randomized trial of nasal spray salmon calcitonin in postmenopausal women with established osteoporosis: the prevent recurrence of osteoporotic fractures study. PROOF Study Group. *Am J Med* 2000; 109: 267-276.
 9. Delmas PD, Recker RR, Chesnut III CH, et al. Daily and intermittent oral ibandronate normalize bone turnover and provide significant reduction in vertebral fracture risk: results from the BONE study. *Osteoporos Int* 2004; 15: 792-798.
 10. Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2001; 344: 1434-1441.
 11. Meunier PJ, Roux C, Seeman E, et al. The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2004; 350: 459-468.
 12. Uitterlinden AG, Ralston SH, Brandi ML, et al. The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2006; 145: 255-264.
 13. Mathieu C, Waer M, Laureys J, Rutgeerts O, Bouillon R. Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin D3. *Diabetologia* 1994; 37: 552-558.
 14. Cantorna MT. Vitamin D and its role in immunology: multiple sclerosis, and inflammatory bowel disease. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92: 60-64.
 15. Lemire JM, Ince A, Takashima M1, et al. 25-Dihydroxyvitamin D3 attenuates the expression of experimental murine lupus of MRL/l mice. *Autoimmunity* 1992; 12: 143-148.
 16. Littorin B, Blom P, Scholin A, et al. Lower levels of plasma 25-hydroxyvitamin D among young adults at diagnosis of autoimmune type 1 diabetes compared with control subjects: results from the nationwide Diabetes Incidence Study in Sweden (DISS). *Diabetologia* 2006; 49: 2847-2852.
 17. Mattner F, Smirollo S, Galbiati F, et al. Inhibition of Th1 development and treatment of chronic-relapsing experimental allergic encephalomyelitis by a non-hypercalcemic analogue of 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Eur J Immunol* 2000; 30: 498-508.
 18. Linker-Israeli M, Elstner E, Klinenberg JR, Wallace DJ, Koeffler HP. Vitamin D(3) and its synthetic analogs inhibit the spontaneous in vitro immunoglobulin production by SLE-derived PBMC. *Clin Immunol* 2001; 99: 82-93.
 19. Arnson Y, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 1137-1142.
 20. Rass P, Pákozdi A, Lakatos P, et al. Vitamin D receptor gene polymorphism in rheumatoid arthritis and associated osteoporosis. *Rheumatol Int* 2006; 26: 964-971.
 21. Guo SW, Magnuson VL, Schiller JJ, Wang X, Wu Y, Ghosh S. Meta-analysis of vitamin D receptor polymorphisms and type 1 diabetes: a HuGE review of genetic association studies. *Am J Epidemiol* 2006; 164: 711-724.
 22. Targher G, Bertolini L, Padovani R, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and carotid artery intima-media thickness among type 2 diabetic patients. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006; 65: 593-597.
 23. Hofbauer LC, Brueck CC, Shanahan CM, Schoppet M, Dobnig H. Vascular calcification and osteoporosis - from clinical observation towards molecular understanding. *Osteoporos Int* 2007; 18: 251-259.
 24. Lanske B, Razzaque MS. Vitamin D and aging: old concepts and new insights. *J Nutr Biochem* 2007 May 23; [Epub ahead of print]
 25. Razzaque MS, Lanske B. Hypervitaminosis D and premature aging: lessons learned from Fgf23 and Klotho mutant mice. *Trends Mol Med* 2006; 12: 298-305.

BREVE HISTÓRIA DO RAQUITISMO E DA DESCOBERTA DA VITAMINA D

J. Martins e Silva*

Resumo

Desde os primeiros casos de suspeita de raquitismo, referidos por Soranus e Galeno, mediarão cerca de dezoito séculos até a etiologia daquela doença ser esclarecida. O surto de raquitismo verificado no século XVII em Inglaterra fez que a situação fosse conhecida na época por «doença inglesa», sendo então apresentada a sua primeira descrição pormenorizada, por Francis Glisson. O agravamento da incidência do raquitismo com a Revolução Industrial acentuou as especulações sobre a sua origem e tratamento. A caracterização da luz solar e do espectro luminoso conduziu à identificação dos efeitos biológicos da radiação ultravioleta e ao descobrimento da fototerapia como processo terapêutico alternativo à irradiação solar. A obtenção de raquitismo experimental por Mellanby e McCollum deu suporte ao conceito que atribuíra aquela situação a um defeito nutricional específico. Em alternativa era referida uma relação inversa entre a exposição à luz solar e a incidência do raquitismo. A identificação da natureza química de um factor essencial da dieta com acção anti-raquítica, o ergocalciferol (ou vitamina D₂), a par com um outro factor com idênticas propriedades (ainda que mais potente), formado por irradiação solar da pele, o colecalciferol (vitamina D₃), foram etapas iniciais para o esclarecimento, prevenção e tratamento da doença.

A presente revisão sumariza a história do raquitismo, a caracterização e propriedades anti-raquíticas da luz e de suplementos dietéticos de natureza lipídica e a identificação das principais formas biológicas da vitamina D.

Palavras-chave: Dieta; Irradiação Solar; Lípidos; Raquitismo; Vitamina D.

Abstract

Almost eighteen centuries mediated between the first cases of rickets, reported by Soranus and Galeno, and the clarification of the disease aetiology. Due to the outbreak of rickets verified in the 17th century in England, the situation was known as the «English disease», being its first detailed description presented by Francis Glisson. The growing incidence of rickets with the Industrial Revolution raised speculations about its origin and treatment. The characterization of solar light and luminous spectrum led to the identification of the biological effects of ultraviolet radiation, and to the discovery of phototherapy as an alternative therapeutic process to the solar irradiation. The experimental rickets achieved by Mellanby and McCollum gave support to the concept that this situation could have an origin in a dietary defect. It was also referred an inverse relationship between sun exposure and the incidence of rickets. The identification of the chemical nature of an essential dietary factor with anti-rickets effect (ergocalciferol or vitamin D₂), together with another factor with identical properties, but more potent, produced in the skin exposed to sunlight (cholecalciferol or vitamin D₃), was essential to the elucidation, prevention and therapy of the disease.

The present revision summarizes the history of rickets, the characterization and anti-rickets properties of the light and dietary supplements of lipid nature, and the identification of the major biological forms of vitamin D.

Keywords: Diet; Sun Irradiation; Lipids; Rickets; Vitamin D

Introdução

A história da vitamina D começou há cerca de 100 anos, tendo evoluído a par com a elucidação pato-

* Unidade de Biopatologia Vascular do Instituto de Medicina Molecular, Lisboa, Portugal

génica do raquitismo e com a daquela substância ter origem num precursor do colesterol.

A vitamina D inclui-se nos «accessory food factors» que, de acordo com os resultados do cirurgião russo Nicolai Lunin, em 1881,¹ e na perspectiva de Frederick Hopkins, em 1912,² seriam essenciais para a saúde e prevenção de determinadas doenças, como o escorbuto, o beri-beri e a pelagra.

Em 1911, o bioquímico norte-americano de origem polaca, Casimur Funk, criaria o termo «vitaminas» para designar as substâncias essenciais cuja deficiência na dieta seria a causa daquelas doenças específicas, e de outras a identificar.³ Aquela expressão pretendia significar «vital amines», do latim *vita* (vida) e do termo químico *amines* (cunhado para os compostos orgânicos com azoto, com propriedades próprias das aminas e derivados do amoníaco). Atendendo a que o significado do sufixo «amines» não se aplicava às características de todos os micronutrientes identificados, Jack Drummond propôs, em 1920, que o *e* final fosse retirado para evitar confusões com os compostos «amines»;^[a] cada uma das substâncias essenciais que tivesse sido isolada e caracterizada até à data, ou no futuro, seria denominada por uma letra do alfabeto latino por ordem de sequência.⁴

A partir de 1920 começou a conjecturar-se que a carência de vitamina D na alimentação estaria na origem do raquitismo.⁵ Verificou-se também que aquela substância estava erradamente identificada como vitamina;⁶ enquanto as vitaminas já conhecidas eram compostos essenciais de origem exógena, fornecidos na alimentação, a vitamina D poderia ser formada pelo próprio organismo a partir de um intermediário da biossíntese do colesterol, por exposição da pele à luz solar. Na sequência da caracterização química da vitamina D na década de 30, tornou-se claro que aquele composto existia sob duas formas com acção anti-raquitismo equivalente, uma exógena, derivada do ergosterol (calciferol ou vitamina D₂) e outra sintetizada na pele, por irradiação luminosa, a partir do 7-desidrocolesterol (colecalfiferol ou vitamina D₃).⁷ Mais recentemente foi comprovado que, em condições normais, a alimentação contribui pouco para as necessidades do organismo em vitamina D, ao contrário do que sucede com a sua proveniência após a exposição so-

lar do corpo.⁸

De acordo com os estudos realizados desde a segunda metade do século XX, está estabelecido que o colecalfiferol é uma pró-hormona esteroide e não uma vitamina, embora continue a ser assim designada devido a um uso de quase um século.⁹ Além da função endócrina que exerce, com amplas e importantes repercussões no metabolismo do osso, têm sido identificados múltiplos efeitos da vitamina D, que são independentes da modulação do cálcio.¹⁰

A presente revisão inclui a perspectiva histórica do raquitismo em relação com a identificação da vitamina D, sendo destacados os estudos mais relevantes sobre a sua presença nos alimentos e a formação pelo próprio organismo, por exposição solar.

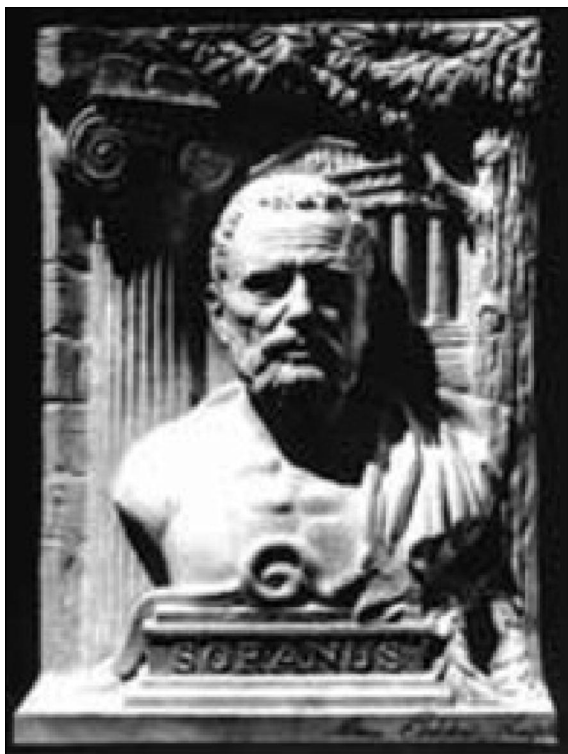


Figura 1. Soranus de Ephesus (98-138 d.C.).

Médico grego natural de Ephesus, contemporâneo dos imperadores Trajano e Adriano. Estudou e exerceu medicina em Alexandria antes de residir em Roma. Considerado o principal representante dos médicos metodistas da escola de Alexandria, foi autor de diversas obras médicas influentes no seu tempo e séculos seguintes.

(Imagem do domínio público/Courtesy of National Library of Medicine, History of Medicine Division).

[a] «Vitamines» é traduzido em português pelo termo «vitaminas», que também não possui conotação química com a categoria química das «amines»

Primeiras observações de raquitismo

O raquitismo tem uma história muito mais longa do que a da vitamina D. As primeiras referências registadas remontam ao século I e II d.C. em que Soranus de Efesus (Fig. 1), e Claudius Galeno de Pergamus (Fig. 2), ambos médicos de origem grega, são creditados por terem observado deformações ósseas sugestivas do raquitismo em crianças de Roma, cuja causa atribuíram à falta de higiene e a carências alimentares.^{11[b]} Soranus, num dos capítulos do tratado que escreveu sobre doenças ginecológicas interroga-se sobre o motivo de numerosas crianças de Roma serem «tortas».¹²

As recomendações médicas de Soranus para a gravidez e pós-parto das mães e filhos foram retomadas no «*Canon*» de Ibn Sina (Fig. 3) e, em geral, pela medicina islâmica;¹³ depois, na Idade Média, foram ensinadas e seguidas nos países ocidentais até ao início da Revolução Industrial.¹⁴

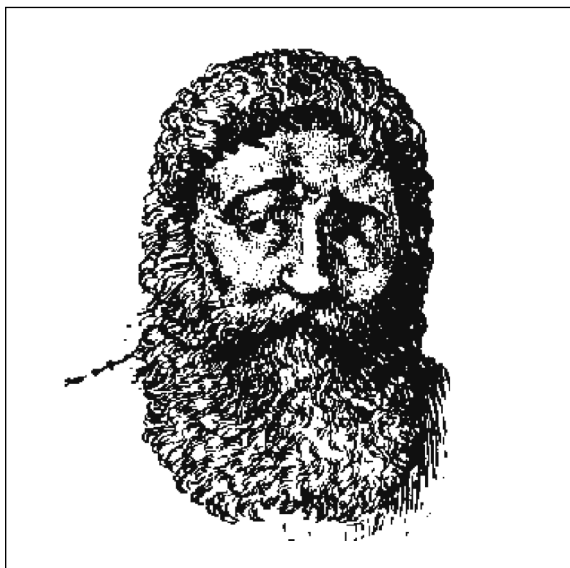


Figura 2. Galeno de Pergamus (129-200 d.C.). Médico grego, natural de Pergamus, estudou e exerceu medicina em Alexandria, após o que regressou à cidade de origem onde praticou e adquiriu experiência anatómica e cirúrgica como médico de gladiadores. No ano 162 foi residir para Roma onde adquiriu grande fama, sendo médico pessoal do imperador Marco Aurélio. Os seus conceitos, apresentados em numerosos livros, dominaram o ensino e a prática da Medicina durante mais de treze séculos. O primeiro nome Claudius é referido somente em textos publicados durante a Renascença. (Crédito: Courtesy of Internet Shakespeare Editions, Canadá)



Figura 3. (a) Ibn Sina (também conhecido por Avicena), nasceu em Bukhara, na Pérsia (980-1037 d.C.). Eminentíssimo médico, filósofo e poeta da era medieval, no auge da tradição islâmica, é-lhe atribuída a autoria de cerca de 450 livros, sendo os mais famosos o «*Cânon da Arte da Medicina*» («*al-Qanun fi-al-tibb*») e o «*Livro dos Tratamentos*» («*kitab al-Shifa*»), os quais foram utilizados durante vários séculos pelas universidades europeias. (Imagem dos domínio público/Cortesia de Wikipedia). (b) Iluminura de abertura do volume I do «*Cânon*», da edição (coligida em árabe) provavelmente persa, do século XV. Este volume, onde são abordados os princípios gerais da medicina, era frequentemente utilizado em separado da restante obra, sobretudo nas universidades europeias. Nos outros quatro volumes eram apresentadas as drogas simples e a terapêutica médica (volume II), tratamentos (volume III), doenças generalizadas (volume IV) e remédios compostos (volume V). (Imagem do domínio público/Courtesy of National Library of Medicine - Islamic Medical Manuscripts).

Apesar de proibir a ingestão de colostro ou de qualquer outro alimento pelos recém-nascidos, e de recomendar que se enfaixassem os bebés durante os primeiros três meses de vida,^[c] Soranus indicava que o desmame fosse completado entre os dois e os três anos de idade, aconselhando a inclusão progressiva de vários suplementos dietéticos (p.ex., mel fervido, mistura de mel com leite de cabra, e também pão amolecido em leite ou vinho) a partir dos seis meses. Estas recomendações foram seguidas também em outros locais longínquos

[b] É de referir que a falta de higiene, deficiências dietéticas e a pobreza foram constantemente mencionadas quase até à segunda década do século XX como condições subjacentes ao raquitismo

[c] Igualmente, era uma tradição quase generalizada, desde a Antiguidade, manter os bebés enfaixados nos primeiros meses de vida, após o que as crianças eram sujeitas a uma apertada restrição de movimentos de todo o género, que ainda se verificava no século XIX.¹⁵

do Império Romano, como se comprova pelas observações realizadas em esqueletos (marcados com os isótopos estáveis ^{13}C e ^{15}N) de bebés e crianças inumados num cemitério romano-cristão do oásis Dakhleh, referido a 250 d.C., no período da ocupação romana do Egipto.¹⁶

Por seu lado, Galeno aconselhava que a adição de complementos alimentares (primeiro pão, e depois vegetais e carne) fosse iniciada quando «*nascem os dentes da frente, conforme o que as mães fazem, por terem aprendido por experiência própria*»;¹⁷ o desmame deveria ser gradual até terminar aos dois anos de idade, o que veio a ser também recomendado por Ibn Sina.¹³

O tipo de alimentos, a sua preparação (p. ex., farinha misturada com fitatos) e, particularmente, as restrições alimentares que afectavam os sectores mais pobres da população no auge do Império Romano, terão contribuído para a existência do raquitismo nos seus territórios.^{18[d]} A utilização que os romanos faziam do *garum*^{19[e]} como condimento alimentar poderá ter evitado situações mais frequentes de desnutrição entre a população adulta.²⁰ O mesmo não sucederia com as crianças. Estas não recebiam cuidados adequados por parte dos familiares, particularmente quanto à alimentação após o desmame, registando-se também elevada proporção de abandonos e maus tratos.²¹ Os defeitos microscópicos observados na estrutura da dentição decídua em esqueletos de crianças dos 2º e 3º séculos d.C., que viveram em *Portus Romae* (principal porto dos arredores de Roma, naquela época) sugerem perturbações marcadas do desenvolvimento infantil.^{22,23}

Nos quinze séculos seguintes escasseiam as referências a situações que configurem o raquitismo. António Gamarra, em recente revisão do as-

sunto,²⁴ cita um caso numa criança com dificuldades em caminhar, observada por Zacutus Lusitano, e casos de deformação da coluna vertebral, por Ambroise Paré, já no século XVII, que eventualmente poderiam ser causadas por raquitismo. Também Ringe²⁵ citou o médico alemão Reussner que, em tese apresentada em 1582, terá sido o primeiro a descrever os sinais característicos do raquitismo.

Porém, a primeira monografia pormenorizada sobre o raquitismo foi apresentada em 1645, também como tese de graduação em medicina, pelo britânico Daniel Whistler. O volume, com cerca de quatrocentas páginas, tinha por título «*De morbo puerili Anglorum, quem patrio idiomate indigenae vocant the rickets*».^{25,26} Aparentemente, aquela publicação ter-se-á fundamentado em relatos conhecidos (entre 1612 e 1620) sobre aquela doença e não propriamente na experiência do seu autor. Whistler atribuía a doença ao alcoolismo das mães das crianças afectadas.

Grande parte desses relatos estaria relacionada com a irrupção súbita de um grande número de casos de raquitismo nas comunas inglesas de Somerset e Dorset que, progressivamente, alastrou a grande parte do país. A situação tomou proporções de tal modo alarmantes que as autoridades médicas decidiram, em 1645, nomear uma comissão de oito membros, entre os quais figurava Francis Glisson^[f] (Fig. 4), professor de anatomia em Cambridge. Cinco anos mais tarde, os resultados dessa comissão (que, juntamente com outros membros, contribuiu para a criação da *Royal Society*) foram publicados sob a forma de um tratado em latim; por decisão dos colaboradores que mais contribuíram para a obra (Bate e Regemortero), Francis Glisson foi autor único.²⁷ Este tratado sobre o raquitismo obteve o *imprimatur* dos Censors of the *College of Physicians*, sob o título «*De rachitide, sive, Morbo puerili: qui vulgo, The rickets dicitur tractatus. opera primo ac potissimum Francisci Glissonii: adscitis in operis societatem George Bate et Ahasuero Regemortero*», mais conhecido por «*Tractatus de Rachitide*».²⁷ A primeira versão da obra, em Inglês («*A treatise of the rickets, being a disease common to children*») seria editada em 1651 (Fig. 5). Glisson é também creditado por ter

[d] Foi recentemente referida a descoberta do esqueleto de uma mulher adulta inumada da maior necrópole da antiga Roma Imperial (séculos I-II d.C.), com sinais acentuados de raquitismo. Apesar de Roma ser actualmente uma cidade soalheira, no tempo antigo, era muito urbanizada com edifícios elevados (*insulae*), pelo que as crianças permaneciam em casa com as mães, insuficientemente expostas a banhos de sol.¹⁸

[e] O *garum* (conservas de peixe em pasta, preparado em salmoura com vísceras e sangue de atum ou cavala, misturados com outros peixes ou crustáceos, ervas aromáticas e azeite, fermentadas ao sol durante cerca de dois meses) era produzido principalmente no litoral hispânico e exportado para Roma e outros países da região em ânforas. Edmondson afirmou num dos seus trabalhos que as (principais) indústrias da Lusitânia romana naquela época, eram a extracção mineira e o fabrico de *garum*.¹⁹ A maior parte dos vestígios ainda existentes em Portugal localiza-se no litoral algarvio, sendo também conhecidos ao longo da costa atlântica em Tróia, Matosinhos e Póvoa do Varzim.

[f] F. Glisson (1597-1677) ficou conhecido de todos os estudantes de medicina e médicos por ter identificado o revestimento de tecido conjuntivo que envolve o fígado e o prolongamento interno e externo dos seus principais vasos e canais, designado por *cápsula de Glisson*, bem como o esfíncter do canal biliar (*esfíncter de Glisson*).



Figura 4. Francis Glisson (1597-1677), natural de Dorset, foi durante quarenta anos Regius professor de medicina na Universidade de Cambridge, tendo-se distinguido pelos seus estudos em anatomia, fisiologia e patologia. Co-fundador da Royal Society of London for the Promotion of Natural Knowledge, de que foi eleito presidente em 1660/61. Foi autor de vários tratados médicos importantes. (Imagem no domínio público/Courtesy of Wikimedia Commons).

sido o primeiro a descrever naquela obra (capítulo 22) o escorbuto infantil com entidade clínica própria, embora (como referiu) pudesse associar-se ao raquitismo.²⁸

Glisson, sem fazer qualquer referência ao compatriota Whistler,^[g] afirma na abertura da sua obra que está a apresentar uma nova doença «nunca descrita por nenhum médico antigo ou moderno».^{27,29} Glisson, bem como os colegas seus contemporâneos, acreditava que o raquitismo havia aparecido em Inglaterra (*Morbum Anglorum*), onde era muito comum, em particular nas cidades meridionais. Talvez pelo mesmo motivo, a doença era conhecida na época em França e Alemanha pela «doença Inglesa».²⁷

A palavra «rickets», que foi publicada em Inglaterra pela primeira vez no «Bill of Mortality, 1634», derivou da palavra «wrickden» do inglês antigo,

[g] Procedendo da mesma forma que Glisson havia agido com o seu antecessor Whistler, James Primerose (1598-1659), que foi um dos mais destacados opositores ingleses à teoria da circulação do sangue proposta por William Harvey, quando se referia ao raquitismo citava Galeno e Hipócrates sem nunca se referir aos trabalhos anteriores de Glisson.²⁹

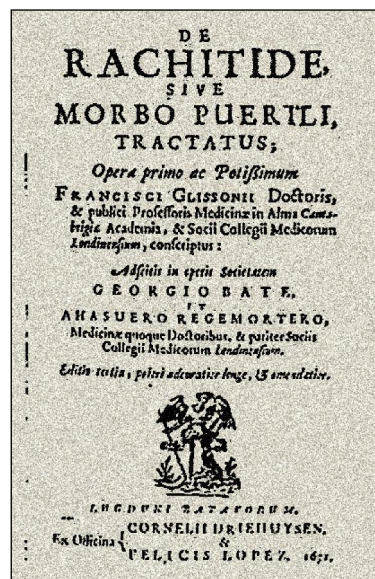


Figura 5. Capa do «Tractadus de Rachitide», em edição de 1671, em latim.

(Crédito: Cortesia de Prof. Miguel Calvo, Univ. de Saragoça, calvoreb@unizar.es)

que significa «torcer». Glisson também sugeriu a palavra *rachitis*, derivada do grego «rhakhis» (coluna vertebral), exactamente por entender que a coluna era a primeira parte do esqueleto a ser alterada no raquitismo^[h] e, também, por se assemelhar aquele termo antigo.²⁷

O raquitismo é descrito no «Tractadus de Rachitide» com base na experiência clínica e nas observações de autópsias realizadas por Glisson. A doença foi caracterizada como uma entidade não infecciosa, dissociada da sífilis, nem congénita nem hereditária. A apresentação das lesões externas é bastante completa, sendo referido o maior volume da cabeça, grande alargamento das extremidades dos ossos longos, nodosidades costo-externais «em rosário», coluna encurvada, torax estreitado e «em quilha», *genu valgum*, abdómen protuberante e musculatura flácida. Algumas das conclusões clínicas sobre a doença permanecem válidas, assim como diversas técnicas terapêuticas recomendadas, como as massagens e as manobras para correcção das deformidades. Porém, a etiologia que Glisson atribui à doença ficou arrefogada a conceitos galénicos e ideias místicas. Por exemplo, ao sugerir os conceitos de Galeno sobre

[h] Raquitismo também deriva do grego *rhakhitis*, termo que define a mesma doença.

a alteração de humores e temperamentos em patologia, Glisson classificava o raquitismo como «*Cold distemper, moist, and consisting in penury or paucity of the spirits*».^{26,27}

Glisson terá sido o primeiro a atribuir a causa dos casos de raquitismo ocorridos em Somerset e Dorset às más condições de higiene ambientais e vivenciais, embora sem fazer referência a carências alimentares específicas.²⁸

As descrições sobre o raquitismo legadas por Glisson viriam a ser confirmadas e expandidas pelos médicos alemães JFL Cappel (em 1787) e R. Virchow (em 1853). Este último verificou que as lesões do raquitismo eram particularmente nítidas nas epífises dos ossos longos e nas suturas dos ossos cranianos.³⁰

Expansão do raquitismo e primeiras medidas de controlo

Nos dois séculos seguintes não houve progressos relevantes quanto a conhecimentos sobre a etiologia e métodos de tratamento do raquitismo. Weick, ao rever a história do raquitismo nos Estados Unidos,³¹ revelou que, nos séculos XVII e XVIII, os doentes com raquitismo que residiam nas colónias da Nova Inglaterra não eram tratados com óleo de fígado de bacalhau, exposição ao sol ou leite, como sucederia a partir do século XIX. Em alternativa, as mães recorriam a diversas mezinhas (ainda utilizadas no século XIX) para tratarem os filhos com raquitismo.^[i]

A doença era, naquela época, atribuída à negligência na limpeza do vestuário e nas restrições de exercício ao ar livre. Entretanto, como as crianças permaneciam junto dos familiares, por estarem fisicamente impossibilitadas pelas suas deformações ou por se sentirem doentes e, no entanto, parecerem espertas, atribuíam-se-lhes o alargamento do crânio à constante companhia dos adultos.³¹

A partir de finais do século XVIII e princípios do século XIX, em aparente coincidência com o início e desenvolvimento da Revolução Industrial, registou-se um acentuado aumento do número de casos de raquitismo na população infantil das principais cidades de Inglaterra e, depois, também, de

outros países da Europa Ocidental e dos Estados Unidos da América.³² Prevalencia então o conceito de que o raquitismo teria origem em ambientes degradados e com baixa exposição solar.

Estudos antropológicos recentes, em esqueletos de adultos que remontam aquela época, revelaram sinais de redução acentuada da mineralização óssea, típicos da osteomalácia, em cerca de 5% da amostra populacional.³³ Aquelas alterações estariam associadas a deficiências nas condições de vida e aos elevados níveis de poluição (e baixa luminosidade) que então se verificava na cidade de Birmingham, que tivera um grande crescimento urbano no período imediato à Revolução Industrial.³⁴ Eventualmente, as lesões de osteomalácia registadas em adultos assinalariam episódios anteriores de raquitismo infantil dos seus portadores.

Entretanto, as lesões esqueléticas características do raquitismo que foram observadas em cerca de 13% de esqueletos imaturos de crianças da mesma época e local, apresentavam maior incidência mas menor gravidade do que as verificadas nos restos exumados de uma população rural; estas diferenças confirmariam a influência e limitações do meio biocultural no desencadeamento daquela doença, e, também, a natureza das deficiências (nutricionais ou de condições de vida) que estariam na sua origem.³⁴

O clínico francês Armand Trousseau^[j] (Fig. 6) terá sido o primeiro a postular, em 1861, que o raquitismo em crianças (assim como a osteomalácia nos adultos) resultava da falta de exposição do corpo ao sol e de deficiências alimentares.³⁵ Talvez influenciado pelos resultados que a medicina alemã vinha divulgando desde que Scheutte verificara a utilidade do óleo de fígado de bacalhau no tratamento do raquitismo,^{11,24} e também baseado nas observações do seu antigo professor e mentor Pierre Bretonneau, nos resultados experimentais que Jules Guérin obtivera em 1838 em cachorros, bem como pela sua própria experiência com porcos, Trousseau propôs que o raquitismo poderia ser curado com óleo de fígado de bacalhau (ou qualquer outro óleo de peixe) e pela exposição do corpo ao sol.³⁵

Em 1872, Parry sugeriu a existência de um fator desconhecido no sangue que impediria a remineralização óssea nos doentes com raquitismo;

[i] Entre outras «receitas» do mesmo tipo, eram utilizadas massagens com licor de serpente, sopas de cobra, minhocas em cerveja temperadas com ervas e especiarias, e banhos de água fria (após o que as crianças, eram aquecidas no berço até suarem, para então se lhes retirar sangue dos pés).

[j] Trousseau ficou associado ao sinal de espasmo cárpico doloroso induzido em situações de hipocalcémia (*sinal de Trousseau*), e também ao síndrome de tromboflebite migratória que coexiste em neoplasias do estômago, pâncreas, cólon ou pulmão (*síndrome de Trousseau*).

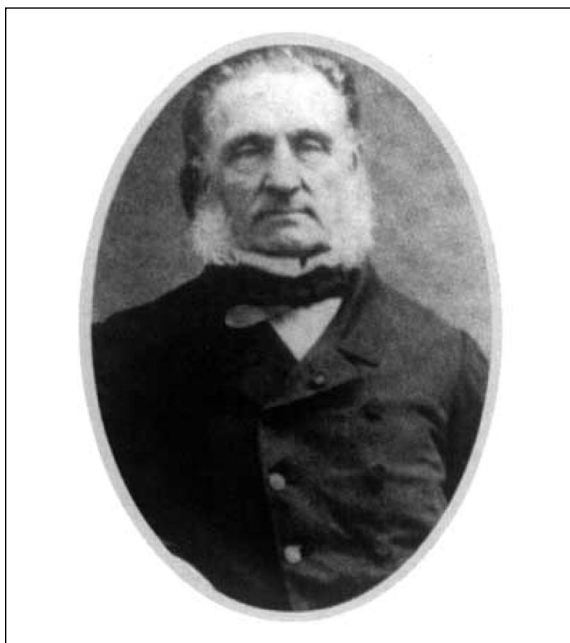


Figura 6. Armand Trousseau (1801-1867). Natural de Tours, onde aprendeu com Pierre Bretonneau no hospital local os métodos de observação clínica. Como professor da Universidade de Paris foi encarregado de diversas missões no âmbito da saúde pública, designadamente sobre a febre amarela e a tuberculose da laringe. Foi o primeiro médico a executar a traqueotomia em doentes com difteria, e a executar toracocenteses, tendo definido diversas entidades clínicas e sinais de diagnóstico que permanecem com o seu nome. Já como médico-chefe do Hôpital-Dieu de Paris, publica um tratado em dois volumes («Clinique-Médicale de l'Hôtel-Dieu») que teve grande aceitação no país e no estrangeiro, em particular pela precisão das descrições clínicas, com destaque para as infecções pediátricas, as doenças puerperais, o raquitismo e a osteomalácia (que entendia ser o mesmo que o raquitismo nas crianças). (Imagem do domínio público/Courtesy of Wikipedia).

quando tratados com sais de cálcio, estes compostos também não evidenciavam qualquer eficácia na evolução do raquitismo.³⁶ Aproximadamente na mesma época sucederam-se os estudos que procuravam relacionar o raquitismo com deficiências alimentares, de absorção de cálcio, ou de acidez gástrica, ou com a perda de fosfato.²⁴

John Bland-Sutton, que foi prossector do Zoological Gardens de Londres desde 1881, ainda como estudante de medicina, terá sido o primeiro a identificar, em 1884, sinais de raquitismo nos primatas em cativeiro;³⁷ sugeriu, então, que aquela doença poderia ser provocada por malnutrição,

desmame precoce, exercício físico reduzido ou clima inapropriado. Em 1888, já assistente de cirurgia do Middlesex Hospital (mas ainda na direcção do Zoo e interessado em patologias comparadas), Bland-Sutton registou a observação de deficiências nutricionais em algumas espécies de animais cativos, designadamente em carnívoros de grande porte que se alimentavam quase só de carne.³⁸ John Bland-Sutton associou os sinais de raquitismo naqueles animais ao facto de estarem alimentados com carne desossada. Recomendou então que à alimentação das crias de leões, que evidenciavam sinais de raquitismo, fossem adicionados ossos moídos em óleo de fígado de bacalhau. Os animais ficaram curados da situação, pelo que Bland-Sutton concluiu que o raquitismo seria causado pela deficiência de uma substância de natureza lipídica na dieta.³⁸

Foi posteriormente confirmado que a carne é deficiente em cálcio; igualmente, as frutas e vegetais, que constituem a dieta principal de primatas não-humanos em cativeiro, têm baixo teor de proteínas, cálcio e vitamina D,³⁹ o que estaria de acordo com as observações de Sutton. A influência da dieta no desenvolvimento do raquitismo viria a ser um tema retomado trinta anos mais tarde por Edward Mellanby.

Ainda em 1889, J. Owen documentou as proporções da incidência e distribuição geográfica do raquitismo entre a população jovem do Reino Unido⁴⁰ enquanto Palm, no ano seguinte, observou uma relação inversa entre a distribuição geográfica do raquitismo e o nível de irradiação solar de cada local.⁴¹

No último quartel do século XIX, a etiologia do raquitismo continuava por esclarecer, sendo reconhecido, contudo, que a doença respondia favoravelmente a dietas enriquecidas com lípidos ou óleos de peixe, ou pela exposição do corpo à luz solar. Embora o óleo de fígado de bacalhau (e de outros peixes) fosse um remédio popular desse tempo, utilizado com bons resultados em crianças com raquitismo e diversas outras afecções desde épocas remotas, nunca tivera grande aceitação entre os doentes, devido ao seu cheiro e sabor serem desagradáveis; por seu lado, os médicos também não lhe valorizavam as propriedades, ao considerarem que aquela substância era mais um tónico do que remédio; somente depois de ter sido demonstrado cientificamente que o óleo de fígado de bacalhau possuía valores elevados de vitamina A e factores anti-raquitismo⁴² viria a alterar-se aquela posição clínica.⁴³ Na mesma época havia acordo

sobre a maior incidência do raquitismo nas cidades mais poluídas e com reduzida luminosidade, situadas mais a norte de Inglaterra⁴¹ e dos Estados Unidos.⁴⁴ Palm havia concluído que a luz solar conferia uma relevante protecção contra o raquitismo, aconselhando também a exposição do corpo ao sol para a cura do raquitismo.⁴¹

O clínico austríaco Max Kassowitz evidenciou, em 1897, que a incidência do raquitismo variava com as estações do ano, sendo maior nos meses de Inverno e menor no Verão e Outono.⁴⁵ Porém, Kassowitz também acreditava que o raquitismo era congénito e favorecia a tetania nas crianças, o que dá uma ideia do nível de conhecimentos então ainda existentes sobre a doença, em finais do século XIX.

Em 1899, John Morse, médico do Massachusetts Charitable Eye and Ear Infirmary, detectou sinais de raquitismo em 400 crianças com menos de dois anos de idade, que residiam em Boston ou arredores e frequentavam as consultas hospitalares nos meses de Inverno.⁴⁶

O pediatra escocês Robert Hutchison, no tratado «Lectures on the Diseases of Childhood» que publicou em 1904, atribuía a doença a três factores principais: (a) dificuldades de amamentação por parte das mães; (b) aumento do número de mães que trabalhavam em fábricas, pelo que os filhos permaneciam todo o dia em casa sem alimentação adequada; (c) residência em cidades populosas onde mais de metade das crianças observadas nas consultas externas apresentavam sinais de raquitismo. A par de algumas recomendações alimentares (aumento da quantidade de leite, proteínas e gorduras, gema de ovo e suco de carne crua) Hutchison também sublinhava o benefício da exposição das crianças ao sol.⁴⁷

Antecedentes da utilização da helioterapia

A utilização da luz solar como terapia médica (*helioterapia*) teve as suas origens na Antiguidade. As referências mais antigas datam do século XIV a.C., em que os Hindus e depois também os antigos Egípcios tratavam o vitiligo cobrindo as zonas afectadas com extractos de plantas e depois expondo-as ao sol.⁴⁸ [k],[l]

O Sol foi deificado também pelas antigas civilizações da Mesopotâmia, Persas, Aztecas, Incas e outras. Na civilização Grego-Romana era realçada a importância do sol como a origem da saúde. Os antigos gregos tinham por hábito exporem-se nus

ao sol, com propósitos terapêuticos (*heliosis*), em espaços abertos (*arenariae*) junto do mar, enquanto os romanos utilizavam os terraços de suas casas (*solariae*) para a mesma finalidade.⁵¹

Dessa época, merece também referência o que o historiador grego Heródoto (484-426 a.C.) revelou cerca de 400 a.C., baseado em observações que havia feito nos esqueletos abandonados em campos de batalha, e as conclusões a que chegou:

*«On the field where this battle was fought I saw a very wonderful thing which the natives pointed out to me. The bones of the slain lie scattered upon the field in two lots, those of the Persians in one place by themselves, as the bodies lay at the first- those of the Egyptians in another place apart from them. If, then, you strike the Persian skulls, even with a pebble, they are so weak, that you break a hole in them; but the Egyptian skulls are so strong, that you may smite them with a stone and you will scarcely break them in. They gave me the following reason for this difference, which seemed to me likely enough:- The Egyptians (they said) from early childhood have the head shaved, and so by the action of the sun the skull becomes thick and hard. The same cause prevents baldness in Egypt, where you see fewer bald men than in any other land. Such, then, is the reason why the skulls of the Egyptians are so strong. The Persians, on the other hand, have feeble skulls, because they keep themselves shaded from the first, wearing turbans upon their heads. What I have here mentioned I saw with my own eyes, and I observed also the like at Papremis, in the case of the Persians who were killed with Achaemenes, the son of Darius, by Inarus the Libyan».*⁵²

Pelo exposto, Heródoto foi o primeiro a atribuir um efeito benéfico às radiações solares sobre o esqueleto, neste caso o crânio; este seria tanto mais

[k] Trinta séculos mais tarde foi constatada a modernidade daquele tratamento, quando Fahmy e Cols isolaram (em 1947/8) as substâncias activas daqueles extractos de plantas, identificados como derivados (5-metoxi- e 8-metoxi) do psoralen, com acção comprovada no tratamento da leucodermia.⁴⁹ A administração dos derivados do psoralen por via oral ou tópica, em associação com banhos de sol ou fototerapia com radiação ultravioleta, tem sido, desde 1962, um dos tratamentos preferenciais para as formas graves de psoríase.⁵⁰

[l] O faraó Akhenaton (1352-1336 a.C.) iniciou o período monoteísta do Antigo Egipto com o culto ao Sol (Ra) e à divindade Aton (ou Aten) mitologicamente associada. Akhenaton, que significa «Ele que se tornou útil a Aton», alterou o seu nome original (Amenhotep IV) após ter iniciado no Egipto o culto solar a Aton-Ra, a que se atribuía a força criadora e da saúde.



Figura 7. Capa da edição de 1709 de «Morbis Acutis et Chronicis, Libri VIII», que constitui a tradução do grego para latim, por Caelius Aurelianus (no século V d.E.), de uma obra de Soranus (Sobre as Doenças Agudas e Crônicas), cujo original já não existe. (Imagem do domínio público/Courtesy of Wikimedia Coomons).

forte e resistente aos traumatismos quanto mais estivesse exposto ao sol.

Areteaus da Capadócia (81-138 d.C.), da escola de Alexandria, que terá sido o primeiro a identificar uma situação actualmente conhecida por doença bipolar, recomendava banhos de sol aos «letárgicos». ⁵³ Num dos tratados de Soranus traduzido por Caelius Aurelianus (que foi um dos últimos médicos romanos com obra escrita em finais do Império Romano do Ocidente, no século V d.C.), também se afirmava que a luz e a escuridão poderiam ser utilizadas como terapêutica (Fig. 7). ^{54[m]}

[m] Aquelas recomendações seriam retomadas em 1983/84 por Norman Rosenthal; ⁵⁵ desde então, a terapêutica com luz artificial de espectro completo é utilizada no tratamento de alterações afectivas sazonais (SAD), em personalidades ciclotímicas e outros distúrbios mentais. ⁵³

Fotobiologia e acção terapêutica da luz

Nos estudos que realizou em 1665-1666, ainda estudante, Isaac Newton verificou, numa série de experiências engenhosas, que, ao fazer passar um feixe de luz proveniente de um orifício de uma janela através de um prisma de vidro, obtinha uma imagem de várias cores (vermelho, amarelo, verde, azul e violeta) projectada numa tela. Newton designou aquele conjunto de cores por espectro. ^[n]

«... Obs. I. I made in a piece of Lead a small Hole with a Pin, whose breadth was the 42d part of an Inch, For 21 of those Pins laid together took up the breadth of half an Inch. Through this Hole I let into my darken'd Chamber a beam of the Sun's Light, and found that the Shadows of Hairs, Thred, Pins, Straws, and such like slender Substances placed in this beam of Light, were considerably broader than they ought to be, if the Rays of Light passed on by these Bodies in right Lines

Obs 2. The Shadows of all Bodies (Metals, Stones, Glass, Wood, Horn, Ice, &c.) in this Light were border'd with three parallel Fringes or Bands of colour'd Light, whereof that which was contiguous to the Shadow was broadest and most luminous, and that which was remotest from it was narrowest, and so faint, as not easily to be visible. It was difficult to distinguish the Colours unless when the Light fell very obliquely upon a smooth Paper, or some other smooth white Body, so as to make them appear much broader than they would otherwise do. And then the Colours were plainly visible in this Order: The first or innermost Fringe was violet and deep blue next the Shadow, and then light blue, green and yellow in the middle, and ... red without. The second Fringe was almost contiguous to the first, and the third to the second, and both were blue within and yellow and red without, but their Colours were very faint, especially those of the third. The Colours therefore proceeded in this order from the Shadow; violet, indigo, pale blue, green, yellow, red; blue, yellow, red; pale blue, pale yellow and red. The Shadows made by Scratches...» ^{.57}

A sua primeira conclusão foi a de que a luz visível (branca) era heterogénea e secundária, por ser

[n] Dois séculos e meio mais tarde, Arthur Schuster utilizou pela primeira vez o termo «espectroscopia» (do grego *skopein*, olhar, e do latim *spectros*, imagem) para designar a observação e análise do espectro de luz. ⁵⁶

constituída de várias cores (homogéneas e primárias) que teriam ângulos próprios de refacção quando entravam ou saíam de um plano transparente. Este aspecto foi demonstrado numa experiência crucial, ao fazer passar somente uma das cores do feixe inicial através de um outro prisma, que se projectava num segundo painel. A cor seleccionada do primeiro prisma permanecia inalterada e com ângulo idêntico de refacção depois de atravessar o segundo prisma.

Uma outra conclusão foi a de que a luz seria constituída por feixes de partículas minúsculas que se deslocavam em linha recta, com velocidade constante (o que fundamentaria a teoria corpuscular da luz). Newton reuniu os seus trabalhos sobre a luz e a cor num conjunto de três livros (intitulados genericamente de «The Opticks»), cuja primeira edição foi publicada em 1704 em língua Inglesa (Fig. 8), com reedições sucessivas, que tiveram muito impacto no desenvolvimento subsequente da física experimental nos séculos seguintes.⁵⁸

Cerca de um ano depois, Frederick William

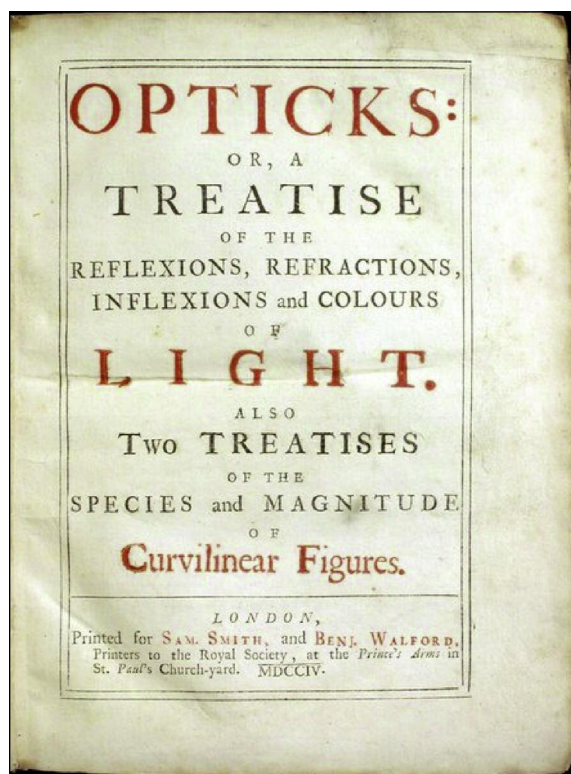


Figura 8. Capa de “Opticks” (vol. I, edição em 1704), de Isaac Newton.
(Imagem do domínio público/Courtesy of Wikipedia).

Herschel (1800) demonstrou que a luz solar continha uma fracção do espectro que não era visível pelo olho humano e gerava calor, a qual viria a ser designada por radiação infravermelha.^{59 [o]}

O físico alemão Johann Wilhelm Ritter, por estar convicto de que a polaridade governaria os fenómenos da natureza, procurou identificar radiações solares invisíveis na extremidade oposta do espectro em que Herschel havia detectado a radiação infravermelha. No ano seguinte, Ritter localizou, efectivamente, uma segunda radiação muito além do violeta que, tal como a luz solar, escurecia a pele e também papel impregnado com cloreto de prata.^{60[p]} Este novo tipo de radiações, que Ritter denominou por «raios químicos», recebeu posteriormente a designação final de luz (ou radiação) ultravioleta.⁶¹

Decorreram quase oitenta anos até serem demonstrados cientificamente, pela primeira vez, os efeitos biológicos da radiação solar directa. Em 1877, Arthur Downes e Thomas Blunt realizaram uma das mais importantes descobertas da fotobiologia, ao verificarem que a luz solar directa inibia o crescimento de diversos microorganismos;⁶² irradiando durante horas tubos de ensaio tapados com algodão, o seu interior mantinha-se estéril durante meses. A acção bactericida dependia da intensidade, duração e comprimento de onda da radiação, além da presença de oxigénio.⁶²

Através de um conjunto de experiências que realizou entre 1883 e 1885, Harry Marshall Ward, que foi o mais influente micrologista e fitopatologista do Reino Unido, atribuiu a maior parte dos efeitos bactericidas da luz solar directa a compo-

[o] Porém, é atribuída, ao académico e filósofo romano Titus Carus Lucretius (cerca de 60 a.C.) a formulação da possível existência de uma radiação invisível (que seria a infravermelha) ao afirmar que o «fogo parece ser acompanhado por uma radiação que aumenta a sua potência». Herschel, que foi um notável astrofísico, estava convicto de que as cores que atravessavam os diversos filtros através dos quais observava o Sol, continham níveis diferentes de calor. Para o demonstrar Herschel dirigiu a luz solar através de um orifício, após o que mediu a temperatura de cada uma das cores difractadas utilizando três termómetros, um para receber a radiação a medir e os outros para servirem de controlo, afastados do espectro. À medida que procedia à medição da luz violeta para a vermelha verificou que a respectiva temperatura era cada vez maior e superior à dos controlos. Decidiu medir a temperatura na zona seguinte ao vermelho, em que parecia não haver qualquer irradiação. Porém, foi nesta zona que obteve a maior temperatura de todo o conjunto. Estava descoberta a radiação infravermelha.

[p] Na carta que escreveu ao editor de Annalen der Physik, Ritter pormenorizava as suas observações: «On February 22nd I found solar rays-discovered by means of horn silver-also on the violet side of the spectrum of colors, outside of it. They reduce even more strongly than violet light itself; and the field of these rays is very large...».

nentes próximos da radiação ultravioleta e violeta-azul do espectro luminoso.⁶³

O interesse pelos «banhos de sol» com fins terapêuticos reacendera-se no século XVIII, sendo divulgados na literatura casos de lesões ou doenças (na maioria cutâneas) que haviam melhorado ou ficaram curadas pela exposição ao sol.⁶⁴ No século seguinte sucederam-se os estudos fisiológicos (no homem e em animais de experiência), em que foi demonstrado o efeito da luz solar em diversas funções vitais, antecipando conclusões que viriam a fundamentar no século XX, a cronobiologia e os ritmos circadianos.⁶⁵ Adicionalmente, foram referidas doenças orgânicas e mentais que melhoravam ou, em determinados casos, pioravam com a exposição ao sol.⁶⁶ Em 1845, Bonnet afirmou que a artrite tuberculosa poderia ser tratada com helioterapia.⁶⁷

O médico e antropologista norte-americano Frederick Cook, que acompanhara uma expedição por navio à Antártida, em 1898, foi o primeiro a identificar um síndrome provocado pela privação prolongada de luz solar no estado físico e emocional do homem.⁶⁸ Aquela observação accidental decorreu durante o longo período em que o navio expedicionário «*Belgica*» permaneceu imobilizado entre glaciares e placas de gelo.^[q] Cook havia já referido, em 1894, um síndrome semelhante entre os esquimós, numa anterior expedição realizada ao Ártico, que então caracterizou por uma «diminuição das secreções e das paixões».⁷⁰

O dinamarquês Niels Ryberg Finsen (Fig. 9), foi o primeiro médico a utilizar a luz solar na prática clínica e a estudar cientificamente a sua acção.⁷¹ Como tal, Finsen foi o precursor da fototerapia moderna, numa época em que se assistia também à viragem da opinião pública quanto aos benefícios para a saúde de uma maior vivência ao ar livre e com ampla exposição ao sol.⁷² Até então ainda vigorava um acentuado preconceito social das classes superiores contra a exposição solar (em particular entre as mulheres) de modo a não se confundirem, pela coloração e maior aspereza da pele, com os trabalhadores braçais. Porém, a popularidade e aceitação dos potenciais benefícios para a saúde da exposição ao sol viria a generalizar-se somente a partir da segunda década do século XX.⁷²

Na descrição que fez do seu próprio trabalho, Finsen (que sofria da doença de Pick, e viveu os seus últimos anos de vida numa cadeira de rodas, sujeito a frequentes paracenteses) contou que o seu estado de saúde o havia influenciado bastante na investigação que realizara. Por se sentir melhor ao sol, a partir de 1888 começara a reunir todas as informações disponíveis sobre os animais que procuram a luz e os locais soalheiros, o que o convenceu dos seus potenciais benefícios embora lhe desconhecasse o mecanismo de acção.⁷¹

Tendo confirmado as observações de investigações anteriores, em que as lesões cutâneas de varíola eram agravadas pela luz solar⁷³ e tinham evolução mais favorável e com menor cicatrização

[q] A libertação do navio «*Belgica*», bem como a sobrevivência da tripulação, deverá ser em grande parte atribuída a Cook, conforme o seu diário, depois publicado. A expedição à Antártida, organizada pelo tenente da marinha belga Adrian de Gerlache, reuniu uma tripulação multinacional de 19 homens, e recebeu o alto patrocínio do rei belga. Depois de demorada observação científica em Tierra del Fuego, o navio entrou em águas da Antártida somente nos finais de Janeiro de 1898, com a estação astral já muito adiantada e o Inverno polar próximo. Cerca de um mês mais tarde, depois dum percurso tempestuoso e as primeiras perdas humanas, o navio atingiu a zona dos icebergues e, em 2 de Março, ficou imobilizado no «mar de Bellingshausen». A 17 de Maio começou a longa noite polar e também o racionamento dos alimentos. A situação piorou rapidamente entre a tripulação, gerada pelas condições físicas de isolamento, alimentação enlatada e difícil comunicabilidade criada por diferentes idiomas nacionais. De acordo com os registos de bordo, a tripulação começou a ser afectada por persistente melancolia, que evoluiu gradualmente para o desespero, letargia e depressão profunda, a par com deterioração do estado físico e comportamentos psicóticos. Foi detectado escorbuto. Procurando solucionar a situação, Cook prescreveu uma alimentação com carne de foca e pinguim. O comandante, aparentemente por não apreciar a ementa, opôs-se e depois proibiu o seu consumo pela tripulação, com as piores consequências, quer para o próprio, quer para muito dos membros que, prostrados e doentes, não saíam dos beliches. Quando o comando passou para o imediato Roald Amundsen, as recomendações de Cook foram seguidas. Cook acreditava que o es-

tado de saúde da tripulação era devido mais à falta de luz do que às carências alimentares, pelo que organizou o que apelidou de «baking treatment», em que os doentes psicologicamente mais afectados ficavam de pé e nus, algumas horas por dia, junto às caldeiras. O estado de espírito e o humor daqueles doentes parece ter beneficiado significativamente do efeito do calor e da luz recebidos naquele período. Igualmente os doentes com escorbuto registaram melhorias rápidas com as refeições com carne de pinguim e foca e conservas de fruta. Cook organizou, também, com sucesso, um programa de passeios no gelo (num circuito à volta do navio, que ficou conhecido por «passeio da casa de loucos») e também de jogos de cartas para ocupar os espíritos e minorar o estado depressivo da tripulação. Em Agosto, com o retorno da luz solar, a esperança regressou, mas o navio permanecia bloqueado por uma espessa camada de gelo pelo que o desespero, a paranóia e a loucura tomaram conta da tripulação. Em Janeiro do ano seguinte Cook tomou a iniciativa de propor a abertura de um canal através do gelo, que permitisse desencalhar o navio. Após uma primeira tentativa (em que o canal que estava quase concluído voltou a fechar-se para reabrir no dia seguinte), o navio começou finalmente a deslocar-se. Tinham passado quase treze meses, dos quais 68 dias decorreram em «noite polar». Em Março de 1899 a expedição atracava em Punta Arenas, com os primeiros registos fotográficos de Antártida. Nunca chegou a saber-se a etiologia exacta da doença que afectou a tripulação do «*Belgica*», tomando como referência expedições semelhantes realizadas na mesma época, em que as tripulações resistiram a condições adversas semelhantes.⁶⁹

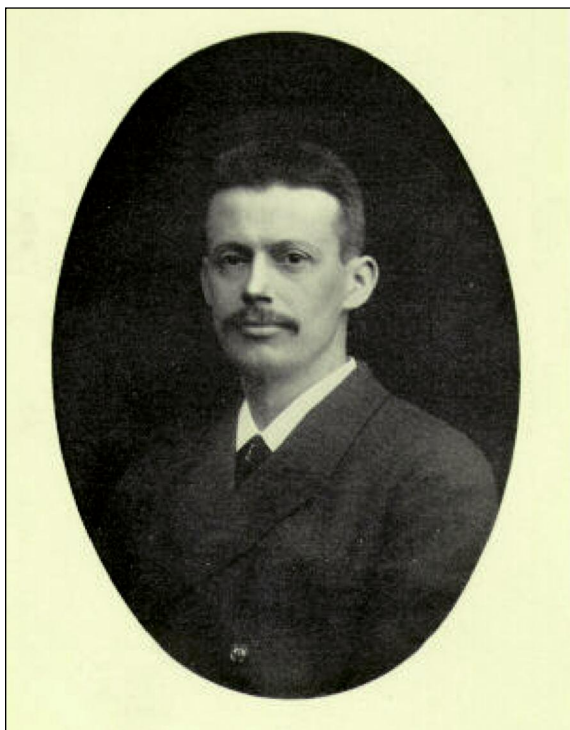


Figura 9. Dr. Niels Ryberg Finsen (1860-1904), natural das Ilhas Faroe, sob soberania dinamarquesa, concluiu a licenciatura em medicina em Copenhaga, em 1890, onde viria a residir. Foi docente de anatomia na Universidade local durante três anos, deixando aquelas funções para se dedicar à investigação dos efeitos terapêuticos da luz, o que veio a realizar até ao fim da sua vida. Ainda antes de concluir o curso havia tratado a adinamia e a anemia que o afectavam com a exposição prolongada do corpo ao sol. Os seus métodos terapêuticos tornaram-se prática corrente, que lhe granjearam fama e relevantes apoios filantrópicos e públicos. Em 1896 pôde inaugurar o Instituto Finsen de Fototerapia, em Copenhaga. Nesta instituição foi desenvolvida a investigação biológica e foram prestados cuidados médicos com base nos resultados obtidos pela fototerapia, de que Finsen foi o reconhecido fundador. Em 1898 foi-lhe atribuído o título de professor.

(Imagem do domínio público/Courtesy of the Clendening History of Medicine Library, University of Kansas Medical Center).

quando os doentes permaneciam em aposentos escurecidos,^{74,75} Finsen optou, em 1893, por utilizar (com êxito) a radiação infravermelha para facilitar a cura das lesões cutâneas e evitar a formação de cicatrizes. Dois anos mais tarde Finsen apresentou os primeiros e mais importantes resultados da sua investigação, em que demonstrou que a luz solar e a radiação ultravioleta curavam ou melho-

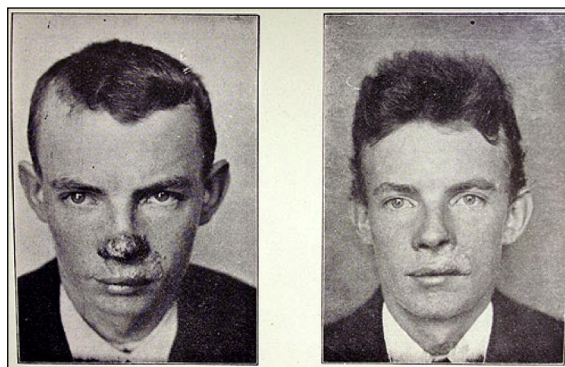


Figura 10. Comparação das lesões da face, antes e depois da fototerapia, pelo método de Finsen. (Crédito: Cortesia de Prof. José Fresquet, admin@historiadelamedicina.org)

ravam substancialmente as lesões deformantes da tuberculose cutânea (*lúpus vulgaris*) (Fig. 10).

Em 1896 Finsen afirmava o seguinte:

*«If it is thought that my statements about the effect of this treatment are too definite, considering that I have only studied 11 cases, my comment would be that this would be quite right had a medicine given internally been studied, an injection or similar, where a systemic effect is expected. But here the treatment is purely local, spot by spot is treated and, for example, in one and the same patient one can observe the same effect ten times or more. In (assessing) systemic treatments, each patient can contribute only once (to an evaluation)».*⁷⁶

Pelo mérito do seu trabalho no tratamento da tuberculose cutânea, Finsen foi galardoado em 1903 com o prémio Nobel da Medicina. Na cerimónia de apresentação dos trabalhos de Finsen (ausente por doença), foi referido que, nos primeiros seis anos, haviam sido tratados 800 casos, de *lúpus vulgaris*, dos quais 50% foram curados e 45% dos restantes consideravelmente melhorados.⁷⁷ Para o efeito, Finsen desenvolvera dois processos de fototerapia (com luz solar ou com luz de uma lâmpada eléctrica de arco de carbono que inventou e ficou conhecida por «lâmpada de Finsen»); em qualquer dos processos, a luz filtrada (ao atravessar uma lente biconvexa que continha no interior uma solução amoniacal de sulfato de cobre, que absorvia as radiações amarela, vermelha e infravermelha) era concentrada num feixe estreito que se fazia projectar (durante uma hora por dia) numa pequena zona da superfície a irra-

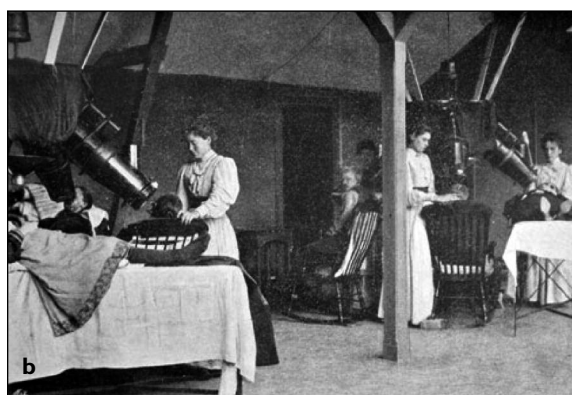


Figura 11. Métodos de tratamento de *lupus vulgaris*, desenvolvidos por NR Finsen: (a) exposição à irradiação solar no pátio do Finsen Institute of Phototherapy; (b) fototerapia por irradiação ultravioleta, em gabinete. (Crédito: Cortesia de Prof. José Fresquet, admin@historiadelamedicina.org)

diar (Fig. 11).

A fototerapia com luz ultravioleta revelou-se benéfica em diversas outras doenças com repercussão cutânea, vindo a adquirir larga aceitação clínica nas décadas seguintes, com indicação em grande diversidade de situações.⁷⁹ A melhoria entretanto verificada nas características das lâmpadas tornaram a fototerapia mais económica, mais selectiva quanto ao tipo de irradiação seleccionada e com utilização prática facilitada.⁸⁰

Entretanto, também começaram a ser referidos diversos inconvenientes da luz solar e das lâmpadas de fototerapia, designadamente a cegueira e outras lesões oculares, queimaduras, queratinização e cancro da pele.^{81,82} Porém, a divulgação daqueles inconvenientes passou quase despercebida ou foi desvalorizada pela generalidade dos clínicos da época, sendo também praticamente desconhecida do público em geral.⁸³ Em 1929 ainda era res-

pondido no «JAMA», a uma pergunta de um clínico de Pittsburgh, não haver evidência de que a exposição solar predispucesse para a epiteloma da pele.⁸⁴

Naquele contexto, em que prevalecia a convicção de que a exposição solar era uma prática saudável, não surpreende o grande desenvolvimento e adesão que tiveram os diferentes métodos da fototerapia nas primeiras décadas do século XX, apoiadas por resultados clínicos positivos em diversas situações críticas, para as quais era desconhecida outra terapêutica, como sucedia com a tuberculose, raquitismo, feridas ou úlceras crónicas.^{79,83}

O suíço Oskar Bernhard iniciou em 1902 a aplicação local da helioterapia no tratamento da tuberculose extra-pulmonar e também em feridas e úlceras da perna,⁸⁵ o que se tornou prática corrente em diversos países. Na 1ª Grande Guerra (1914-1918) as úlceras de perna que afectavam os soldados nas trincheiras eram tratadas com banhos de sol e também por fototerapia com lâmpadas de quartzo, em instalações sanitárias e estâncias balneares especialmente criadas pelas autoridades militares dos países beligerantes.⁸⁶ Idênticas medidas foram seguidas na guerra de 1939-1945, ainda que progressivamente substituídas, no final, pelos antibióticos.^{50,85}

Apesar do êxito e reconhecimento que Bernhard alcançou com a helioterapia, foi o seu colega e compatriota August Rollier quem difundiu a utilização daquela terapêutica na tuberculose.

Rollier inaugurou em 1903, em Leysin (nos Alpes Vaudoises), a sua primeira clínica (conhecida por *Le Challet*) para o tratamento de doentes com tuberculose (extra-pulmonar e também pulmonar).⁸⁵ Enquanto Bernhard restringia a irradiação solar aos tecidos afectados, Rollier advogava a exposição progressiva de todo o corpo (a começar pelos pés e deixando o abdómen e o tórax para o fim), de modo que ao fim de duas a três semanas cada indivíduo permaneceria completamente exposto ao sol durante três a seis horas. Rollier entendia que os banhos de sol deveriam decorrer entre as 6 e as 9h da manhã, a temperaturas não superiores a 18°C, sendo os pormenores técnicos, como a adaptação progressiva dos doentes ao tratamento, rigorosamente cumpridos.⁶⁴

Em 1923, a revista «Time» publicou uma notícia elogiosa sobre a elevada perfeição dos tratamentos de Rollier e do seu colaborador Rossetlet, na clínica de Leysin:

*«besides the sun (cure for tuberculosis and under-nourished children... a recognized part of modern treatment for these conditions), occupational therapy, exercise and a diet of oils and fats, are the rule».*⁸⁷

Os métodos de Rollier com a helioterapia (e depois também com a fototerapia), para o tratamento da tuberculose e também para o das úlceras de perna, tiveram repercussão positiva, sendo seguidos em outros centros internacionais^[r] (Fig. 12). Com o advento da estreptomicina, em 1946, a utilização terapêutica da fototerapia na tuberculose foi perdendo influência, até cessar.⁵⁰ Ficaram como testemunho dessa época os «sanatórios» distribuídos por montanhas e locais altos e arejados.^[s]

Cerca de 1920 encontrava-se definida e esclarecida a existência, propriedades e relação da radiação ultra-violeta com a luz solar, e era também bem aceite a influência positiva da helioterapia e da fototerapia na saúde humana. Quanto a esta influência Laurens postulava em 1928 que o efeito da radiação ultravioleta no organismo não se exercia directamente nos seus órgãos, antes resultava da formação na pele de uma substância fotoquímica que era rapidamente transportada pela corrente sanguínea ao restantes sectores do organismo. O sol exercia o seu efeito tonificante «...by dilating

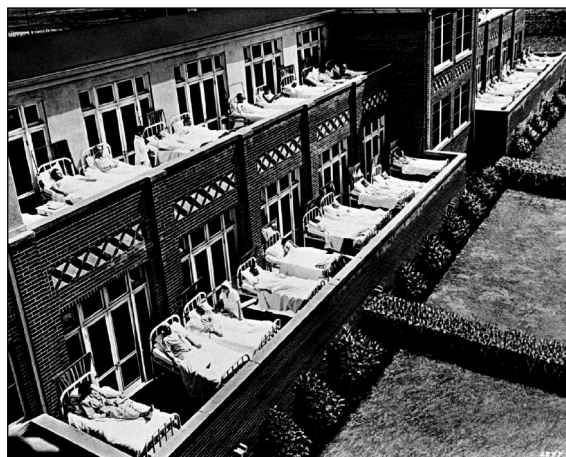


Figura 12. Sessões de helioterapia para doentes com tuberculose pulmonar em *Texas Building of the Jewish Consumptives' Relief Society*. (Crédito: Courtesy of Beck Archives Special Collections and Archives, Penrose Library, University of Denver).

*the capillaries activates the circulation and may induce a continuous tonic action on the sensory nerve terminals in the skin, thus restoring tone to muscles and promoting physiologic processes throughout the body. This is the probable explanation of the increased metabolism of the body, of the improvement in general health and of the increased resistance to disease».*⁶⁵

A caracterização clínica do raquitismo também evoluiu. Na mesma data, Parsons definia aquela doença como uma «*disfunção metabólica e nutricional que se repercutia em todo o organismo; o raquitismo poderia ser detectado de início por sintomatologia própria dos diversos sintomas e não necessariamente por alterações do esqueleto, embora estas estivessem sempre presentes*».⁹⁰

Embora houvesse uma forte evidência de que a exposição solar poderia evitar e também curar o raquitismo, é um facto que aquela possibilidade terapêutica era admitida com relutância pela generalidade dos clínicos da época. A posição médica começou somente a mudar quando Kurt Huldschinsky, em 1919, revelou que crianças com raquitismo melhoravam depois de expostas à luz solar e também à iluminação artificial (a qual reproduzia a luz ultravioleta através de lâmpadas de quartzo-mercúrio).⁹¹ O tratamento com lâmpadas de quartzo ou de arco de carbono, constituído por sessões de fototerapia (com a duração de uma hora, três vezes por semana, durante dois meses) conduzia à obtenção de grandes melhorias na mineralização

[r] Quando Rollier apresentou os seus primeiros resultados em Paris, em 1905, toda a audiência terá abandonado a sala.⁵⁰ Quarenta anos depois de ter aberto *Le Challet*, Rollier utilizava a helioterapia em trinta e seis centros clínicos, num total de mil camas.⁶⁵

[s] O primeiro sanatório constituído em território Português para tratamento da tuberculose pulmonar (a «tísica») por helioterapia foi o do Funchal, em 1862. Em 1881 Sousa Martins promoveu, através da Sociedade de Geografia, uma expedição científica à Serra da Estrela, visando o estudo das condições necessárias para o funcionamento de tratamento local de doentes com tuberculose pulmonar,⁸⁸ após o que resumiu o que pensava sobre o efeito do clima na tuberculose: «*Para uma determinada temperatura média, a localidade em que as variações diurnas, semanais, mensais e anuais, forem menos amplas, será a menos propícia para o desenvolvimento da tuberculose... não só porque a deficiência do oxigénio em pressão e em massa é nociva à vida de alguns microorganismos que... colaboram na destruição do pulmão e na infecção do organismo, mas também porque a ampliação do thorax e a completa expansão pulmonar produzem a um tempo o robustecimento do aparelho respiratório e o desalojamento dos seus microorganismos destruidores*». Com o patrocínio da rainha D. Amélia, foi criada em 1899 uma fundação privada destinada a financiar a luta anti-tuberculose, que agrupava sanatórios, dispensários e preventórios, a qual em 1946 deu lugar a uma instituição pública (Liga Nacional Contra a Tuberculose).⁸⁹ Os sanatórios foram construídos junto ao mar (p.ex., Outão em 1900, Carcavelos em 1902) ou em locais elevados (p.ex., Guarda, em 1907, Portalegre, 1909). O Hospital Escolar de Santa Maria em Lisboa, inaugurado em 1953 (segundo um modelo arquitectónico alemão da década de 30), também possuía um vasto solário cuja utilidade, em termos práticos, foi ultrapassada pelo bons resultados da estreptomicina.

do esqueleto (em particular na extremidade dos ossos longos) comprovada por exame radiológico. Pelo contrário, nos grupos de controlo, representado por crianças que não haviam recebido fototerapia, não notava qualquer melhoria mas somente sinais discretos de recuperação pelo que, na opinião de Huldschinsky, a irradiação ultravioleta seria um remédio «infalível» em todos os tipos de raquitismo infantil. O estudo de Viena indicara que as crianças eram particularmente susceptíveis ao raquitismo durante os primeiros seis meses de vida.⁹³

Três anos mais tarde, Harriette Chick, que havia sido enviada pelo Lister Institute de Londres, depois da 1ª Guerra Mundial para liderar a investigação do raquitismo em crianças de Viena com acentuados sinais de desnutrição, demonstrou que aquela doença podia ser curada pela exposição (progressiva) à luz solar e pela adição de suplementos alimentares de óleo de fígado de bacalhau, ou leite completo.⁹³

Aproximadamente na mesma data, Martha Eliot iniciara um programa clínico de detecção, prevenção e tratamento do raquitismo que abrangia 216 crianças de uma comunidade norte-americana de New Haven. Ao fim de três anos comprovou que as crianças com sinais radiológicos de raquitismo (89%) manifestavam franca melhoria a partir da 3ª semana de tratamento diário com óleo de fígado de bacalhau e exposição ao sol.⁹⁴ Na sequência daquela observação Eliot abriu caminho à definição das necessidades diárias de cada criança em vitamina D, (entretanto limitada à administração de óleo de fígado de bacalhau), as quais seriam definidas na década seguinte sob a forma de concentrados de ergosterol irradiado, adicionados ao leite de vaca ou como suplemento à amamentação materna.⁹⁵

Em 1917 Alfred Hess e Lester Unger haviam demonstrado que o óleo de fígado de bacalhau na dose de $\frac{1}{2}$ a 6 colheres de chá diárias, evitava que bebês da comunidade negra residente em New York, com susceptibilidade para o raquitismo, desenvolvessem a doença.⁹⁶ Na sequência deste sucesso Hess tentou convencer as autoridades sanitárias da cidade a fornecerem gratuitamente aquele óleo às crianças do mesmo escalão etário. A proposta foi recusada, com a justificação de que a eficácia do óleo de fígado de bacalhau derivava do seu conteúdo em gordura, sendo dada preferência ao leite. Em resposta, Hess informou que o leite (humano ou de vaca) não tinha propriedades anti-

raquitismo e a dieta normal também não.⁹⁷ Em 1922, Hess e Lundagren demonstraram que o conteúdo em fósforo do leite de vaca era cerca de cinco vezes inferior ao humano, o que explicaria a ocorrência muito mais elevada de raquitismo em crianças alimentadas a biberão;⁹⁸ dos 250 bebês que haviam observado durante 4 anos, todos os que haviam sido alimentados a biberão com leite de vaca tinham sofrido de raquitismo; afirmou ainda que a incidência da doença aumentava do Verão até à Primavera seguinte, o que sucedia também em bebês alimentados ao peito. Diversos outros estudos confirmaram, nos anos seguintes, que o raquitismo poderia ocorrer em bebês alimentados ao peito, o que de certo modo punha em causa a influência das carências dietéticas como causa do raquitismo.³²

Entretanto, Hess e Unger informaram que sete crianças com raquitismo haviam sido curadas (com demonstração radiológica de epífises calcificadas) pela exposição diária à luz solar durante períodos variáveis, no telhado de um hospital de New York.⁹⁹

Raquitismo experimental e nutrição

Na década de 1920, muitos pediatras conceituados ainda não consideravam que o óleo de fígado de bacalhau tivesse efeitos anti-raquitismo superior ao de outros lípidos.³² Todavia, nessa mesma década, as propriedades anti-raquitismo e a eficácia do óleo de fígado de bacalhau seriam finalmente demonstradas. A situação viria a complicar-se alguns anos mais tarde, quando Wyman e Weymaller revelaram que cerca de 98% das 36 crianças a quem havia sido administrado óleo de fígado de bacalhau apresentavam sinais de raquitismo.¹⁰⁰ Esta observação causou grande perplexidade até ser esclarecido, entre as possíveis causas, que o produto que estava a ser administrado continha pouca ou nenhuma potência anti-raquitismo. O sucedido acentuou a necessidade de se promover a caracterização do(s) factor(es) anti-raquitismo e a definição das doses terapêuticas a administrar.³¹

Entretanto, haviam sido dados os primeiros passos no desenvolvimento do raquitismo experimental, por manipulação do conteúdo em cálcio e fósforo. Na primeira década do século XX, F. Hopkins, que analisara aspectos químicos e fisiológicos da alimentação, postulou que o escorbuto e o raquitismo seriam devidos à deficiência de determina-

do nutriente ainda desconhecido.^{101[t]} O primeiro estudo experimental sobre o assunto, em confirmação do que Hopkins havia presumido 12 anos antes, veio a ser realizado somente em 1919 por Edward Mellanby, que induziu o raquitismo em cachorros alimentados com um de quatro tipos de ração, todos à base de papas de aveia.¹⁰² Todas as dietas induziram raquitismo acentuado ao fim de algumas semanas. Se as dietas fossem enriquecidas com manteiga, leite completo ou, preferencialmente, com óleo de fígado de bacalhau, o raquitismo era evitado. Atendendo a que aqueles suplementos alimentares tinham elevado conteúdo em vitamina A, Mellanby admitiu que a doença seria devido à carência daquele factor nas dietas indutoras de raquitismo, embora deixasse em aberto a intervenção de outra substância lipossolúvel:

«It therefore seems probable that the cause of rickets is a diminished intake of an antirachitic factor which is fat-soluble, or has somewhat similar distribution to fat-soluble A».

Porém, além de Mellanby ter mantido os animais com privação da luz solar (o que seria uma segunda causa potencial do raquitismo), também utilizara dietas relativamente deficientes em cálcio.^[u] Um ano depois daquelas primeiras observações de Mellanby, o pediatra escocês Paton verificou uma relação entre o desenvolvimento do raquitismo e o ambiente, ao constatar que os cachorros que tinham muita actividade ao ar livre eram saudáveis, ao contrário de um outro grupo que permanecia no laboratório, alimentados com a mesma ração, e que revelavam raquitismo.¹⁰⁴ Estes resultados marcaram o início da controvérsia entre os defensores da carência de um factor dietético como causa do raquitismo e os que a relacionavam com restrições de exercício e ar livre e não poluído.

A importância da dieta e também da exposição à luz no controlo do raquitismo experimental foi destacada nos estudos que Alwin Pappenheimer e Cols publicaram em 1921 (Fig. 13); as rações enri-

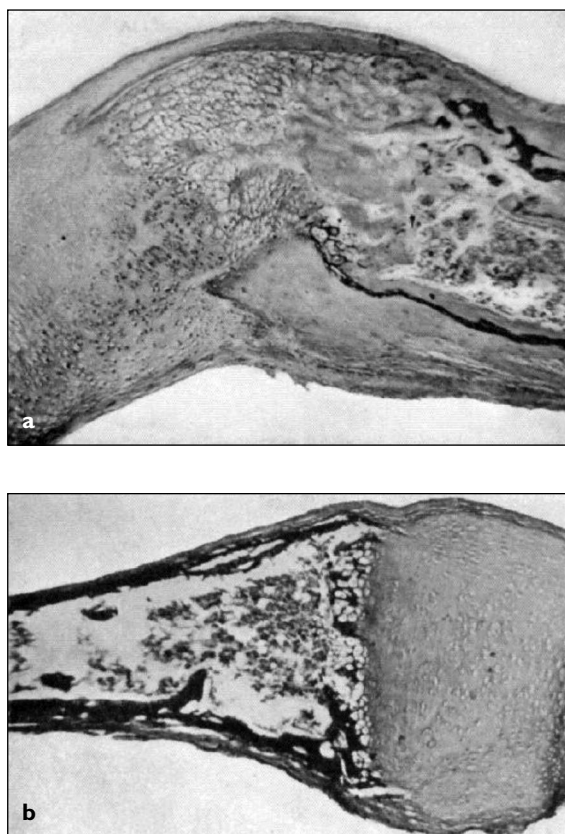


Figura 13. Junções condrocostais de ratos alimentados com ração nº 84 (indutora de raquitismo) durante 34 dias: (a) evidência de raquitismo grave; (b) ausência de sinais de raquitismo no caso de um rato da mesma ninhada e idênticas características que recebeu irradiação solar. In: Hess, Unger and Pappenheimer: Experimental rickets in rats. III, JBC 1922; 50:77-82.

(Crédito: Courtesy of Journal of Biological Chemistry – ASBMB).

quecidas com cálcio e com baixo teor de fósforo induziam o raquitismo em ratos; se os animais fossem expostos ao sol durante 15 a 30 minutos por dia não desenvolviam sinais da doença, ao contrário do grupo de controlo, que era mantido em escuridão. A adição de fosfato à ração também evitava o desenvolvimento do raquitismo. Esta experiência veio chamar a atenção para a necessidade de controlar todas as variáveis experimentais nos estudos de raquitismo.¹⁰⁵

Elmer McCollum, que havia descoberto em 1913 o factor lipossolúvel («lipin») depois designado por vitamina A,⁴² estava também envolvido nessa data na investigação do raquitismo, em colaboração com colegas pediatras e especialistas em histopatologia óssea do Johns Hopkins University. McCol-

[t] Frederick Hopkins partilhou em 1929, com Christiaan Eijkman, o prémio Nobel em Medicina «pelas suas descobertas sobre as vitaminas estimuladoras do crescimento».

[u] Em 1949 Mellanby esclareceu o assunto, ao atribuir a descalcificação (induzida pela dieta que utilizara nos seus primeiros estudos) à existência de substâncias anticalcificantes (p.ex., fitatos) nos cereais, as quais interfeririam na absorção intestinal ou no metabolismo do cálcio.¹⁰³

lum adquirira experiência em estudos de nutrição animal enquanto docente da Universidade de Wisconsin. Dos primeiros estudos em que participara (em que grupos de novilhos eram alimentados com rações diferentes), McCollum concluiu que o problema mais importante era descobrir o que *faltava* em cada dieta. Para dar seguimento à ideia, McCollum deu preferência a estudos com animais mais pequenos e com menor longevidade. Os primeiros trabalhos foram realizados em ratos selvagens que ele próprio capturava mas, devido aos resultados serem inconclusivos, foi autorizado a adquirir (a expensas próprias) 12 ratos albinos para experimentação.¹⁰⁶ Deste modo McCollum foi pioneiro nas experiências de nutrição em ratos, nos quais, em colaboração com Margueritte Davis, procurou estabelecer um modelo de estudo aplicável ao ser humano.¹⁰⁷

Em 1917, ao aceitar o convite para professor e director do Department of Chemical Hygiene da recém-formada *School of Hygiene and Public Health* de *Johns Hopkins University*, McCollum era já um respeitado investigador no campo da nutrição e dos seus factores essenciais, em que se destacava a descoberta da vitamina A. Na sua nova posição McCollum desenvolveu diversos estudos de desnutrição em ratos, variando a composição das respectivas rações. Quando John Howland (então director do Serviço de Pediatria da mesma Universidade) lhe perguntou (em 1918) se seria possível desenvolver o raquitismo em ratos, McCollum mostrou-lhe alguns dos animais das suas experiências, em que era visível a deformação torácica e a nodulação da grelha costal, junto com outros que, tendo recebido dietas idênticas mas a que havia adicionado determinados suplementos, não evidenciavam quaisquer daquelas alterações (interpretadas como sinais de raquitismo). A colaboração interdisciplinar que daí resultou (entre o grupo de bioquímicos de McCollum e o de pediatras liderados por John Howland) conferiu um impulso extraordinário aos estudos subsequentes sobre a etiologia do raquitismo e à influência que a composição da dieta exercia no desenvolvimento ósseo; adicionalmente, aqueles estudos foram acompanhados pela observação radiológica das lesões ósseas do raquitismo e das suas modificações com a variação da composição dietética.

Em 1921, McCollum e Cols obtiveram lesões consistentes em ratos, semelhantes às observadas em crianças afectadas com raquitismo, quando utilizavam rações alimentares deficientes em vita-

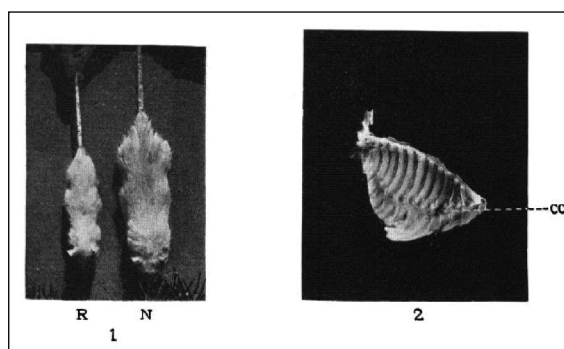


Figura 14. Efeito da alimentação de ratos com rações indutoras de raquitismo.

(1) Comparação de um animal normal (N) com outro com raquitismo (R), com igual idade (210 e 204 dias, respectivamente) e sexo. O animal raquítico pesava 100g, enquanto o normal tinha 295g. (2) Superfície pleural do tórax de um rato com raquitismo experimental grave, em que é evidenciado o acentuado alongamento das junções costocodrais (cc). In: McCollum, Simmonds, Parsons, Shipley and Park: Studies on experimental rickets. JBC 1921; 45:333-341.

(Crédito: Courtesy of Journal of Biological Chemistry – ASBMB).

mina A e cálcio (Fig. 14). Então admitiram, como sucedera a Mellanby, que a causa da doença poderia ser uma deficiência em vitamina A ou de cálcio na alimentação, ou a consequência de uma alteração do respectivo metabolismo.¹⁰⁸ A adição de óleo de fígado de bacalhau à dieta induzia, em poucos dias, sinais de regeneração (óssea e cartilaginosa) proporcional à duração do tratamento.¹⁰⁹ Por acção daquele suplemento assistia-se à deposição do cálcio em camadas lineares, particularmente nas cartilagens. Esta característica da calcificação passou a ser utilizada como marcador biológico (designado *line test*) da quantidade de substâncias anti-raquíticas nos alimentos.

McCollum presumiu, perspicazmente, que o factor anti-raquitismo seria distinto da vitamina A. Para demonstrar aquela hipótese procedeu à inactivação (por oxidação por aquecimento prolongado a 100°C)^[v] da vitamina A existente no óleo de fígado de bacalhau. Aquele óleo (bem como outros óleos de peixe, óleos vegetais e manteiga oxidada), perdera as propriedades anti-xeroftálmicas depois da oxidação, mas mantivera as propriedades anti-raquitismo, pelo que estimulava selectivamente a deposição de cálcio nos ossos. McCollum e Cols

[v] Conforme havia sido demonstrado por Hopkins.¹⁰¹

concluíram que o factor anti-raquitismo seria uma outra substância lipofílica diferente da vitamina A, presente na fracção termoestável:

«... demonstrates that the power of certain fats to initiate the healing of rickets depends on the presence of a substance which is distinct from fat soluble A. These experiments clearly demonstrate the existence of a fourth vitamin whose specific property, as far as we can tell at present, is to regulate the metabolism of the bones».^{110[w]}

Em 1921, Shiphey e Cols haviam confirmado a eficácia do óleo de fígado de bacalhau e da luz ultravioleta no tratamento do raquitismo experimental induzido em ratos.¹¹¹ Dois anos mais tarde, Harry Golblatt e Katherine Soames demonstraram que ratos em que havia sido induzido raquitismo ficavam curados quando ingeriam, na ração, fígado de outros ratos previamente irradiados com luz ultravioleta.¹¹² Na sequência destes estudos foi admitido que o fígado (de rato irradiado) tinha a capacidade de promover o crescimento, o que não sucedia com o de animais não irradiados. Foi então constatado por Harry Steenbock que amostras de tecido muscular extraídas de rato e rapidamente sujeitas a irradiação ultravioleta também evidenciavam propriedades anti-raquitismo e induziam o crescimento dos animais sendo o mesmo efeito referido para as rações alimentares depois de irradiadas.¹¹³

Em 1923, duas investigadoras de Londres, Eleanor Hume e Hannah Smith, haviam comunicado que ratos com raquitismo induzido por dietas hipofosfatadas melhoravam não só depois de expostos à radiação ultravioleta mas também depois dos recipientes em que se encontravam (jarras de vidro cilíndricas, de que haviam sido entretanto removidos e depois realojados) serem irradiadas.¹¹⁴ Aquele presumível efeito do «ar irradiado» (atribuído à ionização do ar pela radiação ultravioleta) seria apoiado pela observação de que, depois de o substituírem imediatamente por atmosfera comum, antes de reinstalarem os animais, estes não evidenciam nenhuma melhoria do raquitismo depois de recolocados nas respectivas jarras.

Os resultados da experiência anterior não foram confirmados por Thomas Webster e Leonard Hill.¹¹⁵ Posteriormente, Hume e Smith esclarece-

ram que o efeito anti-raquitismo do «ar irradiado» derivava da irradiação das rações que haviam ficado nas gaiolas e haviam sido depois consumidas pelos animais.¹¹⁶ Click e Tazelaar, que a pedido daquele grupo haviam testado a eventual influência da ionização do ar nas condições experimentais utilizadas e nos resultados verificados, concluíram que a ionização era temporária e não induzia qualquer efeito anti-raquitismo.¹¹⁷

Numa outra série de experiências, realizada na mesma data, Steenbock e Cols haviam também observado um efeito estranho: ratos irradiados misturados na mesma gaiola com ratos não irradiados induziam o crescimento destes últimos.^{118,119} Porém, quando os ratos com raquitismo, que não haviam sido irradiados, eram mantidos separados em gaiolas diferentes dos irradiados, não evidenciavam qualquer melhoria.¹²⁰

Para clarificar aqueles resultados, o mesmo grupo de investigadores norte-americanos repetiu as experiências de Hume e Smith, tendo porém o cuidado de instalar os ratos em jarras com uma rede inferior, através da qual passavam as fezes dos animais. Tal como nas experiências anteriores, os ratos com raquitismo que não haviam sido irradiados, depois de instalados numa daquelas jarras, começavam a melhorar; porém, se a rede (conspurada) fosse substituída por uma nova, aqueles animais não evidenciavam qualquer alteração.¹²¹

Aparentemente, a melhoria dos animais com raquitismo que não haviam sido irradiados derivava do seu contacto com substâncias produzidas pelos ratos irradiados (p.ex., excreções, secreções aderentes nos filtros ou do próprio pêlo). Este assunto foi esclarecido por Steenbock e Cols, numa experiência em que utilizaram pares de gaiolas sobrepostas, de modo que as fezes das que ficavam por cima caíam na gaiola inferior. Quando os ratos com raquitismo, que haviam sido irradiados, ficavam na gaiola superior, os animais da inferior registavam também melhoria; quando as posições eram trocadas, os animais não irradiados na gaiola de cima não evidenciavam qualquer melhoria. Destes resultados foi concluído que os animais irradiados produziam substâncias com efeitos anti-raquitismo; por outro lado, foi excluída a hipótese de os efeitos da irradiação poderem ser transmitidos somente pelo ar.¹²¹

Admitindo ainda que a melhoria do raquitismo dos ratos não irradiados pudesse estar relacionada com os resíduos de rações irradiadas que os animais tivessem ingerido, Steenbock e Cols promo-

[w] Este novo factor seria a quarta vitamina, que McCollum e Cols designaram por vitamina D, por ordem de denominação das vitaminas A, B (factores hidrossolúveis) e C (factor anti-escorbútico).

veram outras experiências, em que lotes de animais com raquitismo tinham acesso a rações cujos constituintes purificados haviam sido previamente irradiados. Os animais alimentados com este tipo de ração evidenciaram crescimento superior, comparativamente aos que haviam ingerido rações não irradiadas.^{119, 122} Concluiu-se do exposto que as rações indutoras de raquitismo no rato adquiriam propriedades anti-raquitismo depois

de expostas à luz ultravioleta (Fig. 15). O mesmo sucederia com a irradiação de lípidos incluídos na ração, que revelavam propriedades anti-raquíticas anteriormente inexistentes.¹²³ Desta sequência de estudos foi concebida a possibilidade de irradiar o raquitismo humano através do consumo de alimentos previamente irradiados.

Sabia-se naquela data que outros alimentos ou gorduras animais (p. ex., a manteiga e os óleos de peixe) não precisavam de ser irradiados para originarem idênticos resultados. Igualmente, era ponto assente que a irradiação contínua melhorava ou curava o raquitismo humano ou experimental. Porém, ambas as questões eram difíceis de conciliar pelos conhecimentos da época. De facto, quer o óleo de fígado de bacalhau (utilizado como suplemento alimentar), bem como o consumo de rações pré-irradiadas ou a irradiação directa dos animais, produziam efeitos anti-raquíticos equivalentes.¹²³

Identificação do factor anti-raquitismo

Utilizando uma banda mais estreita do espectro ultravioleta, inferior a 314nm, Alfred Hess e Mildred Weinstock demonstraram, em ratos alimentados com ração indutora de raquitismo, que a irradiação por luz solar evitava o desenvolvimento da doença.¹²⁴ Adicionalmente, Hess e Cols comprovaram que os constituintes alimentares que eram activados pela luz ultravioleta (nos quais se incluíam gorduras animais e óleos vegetais) tinham a constituição de esteróis.^{105, 125} Foi então admitido que os esteróis de qualquer origem (animal, vegetal ou de fungos) constituiriam uma protecção anti-raquitismo, após serem irradiados por luz ultravioleta com comprimento de onda de 253 e 302 nm.¹²⁶

A adição de fitosterol (isolado do óleo da semente de algodão) ou colesterol (isolado do cérebro de rato e recristalizado), depois de irradiados, às rações indutoras de raquitismo, protegia os animais de desenvolvimento da doença.¹²⁶ Foi sugerido que, pelo facto de existir nas camadas profundas da epiderme em quantidades relevantes, o colesterol (que depois se verificou ser o seu precursor 7-desidrocolesterol) poderia ser um interveniente natural nos mecanismos anti-raquitismo, uma vez activado pela irradiação ultravioleta ou radiação semelhante; os ésteres de colesterol acetato evidenciaram propriedades idênticas.^{126, 127}

Pouco depois, dois grupos de outros investiga-

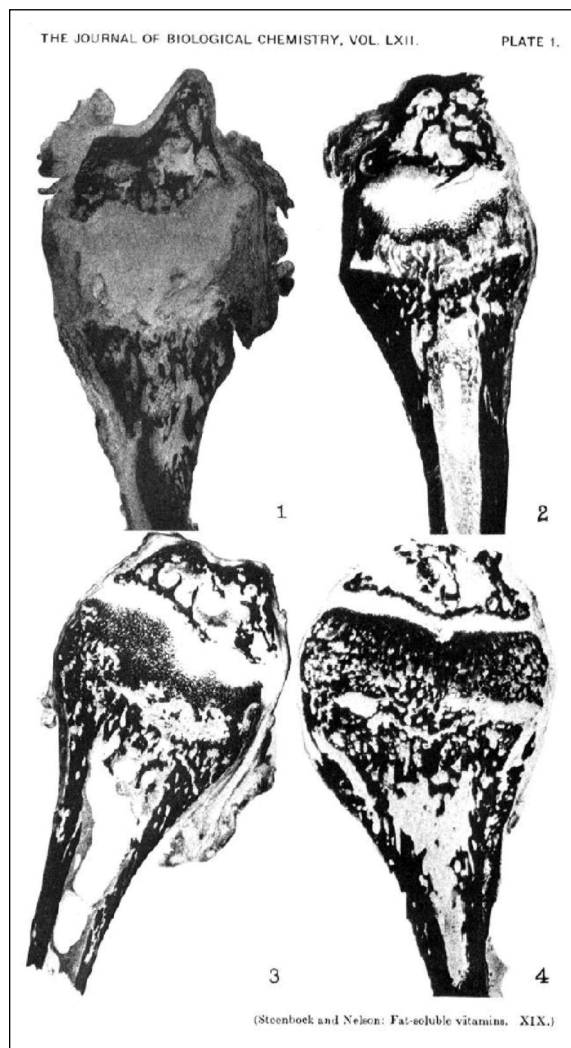


Figura 15. Efeito calcificante em extremidades distais ósseas induzidas pela ingestão de ração irradiada, durante períodos variáveis, em ratos com raquitismo. (1): Ração irradiada durante 3 dias; (2) 7 dias de irradiação; (3) 10 dias de irradiação; (4) 21 dias de irradiação. In: Steenbock and Nelson, Fat-soluble vitamins. XIX, JBC 1924; 62:209-216 (Crédito: Courtesy of Journal of Biological Chemistry ASBMB)

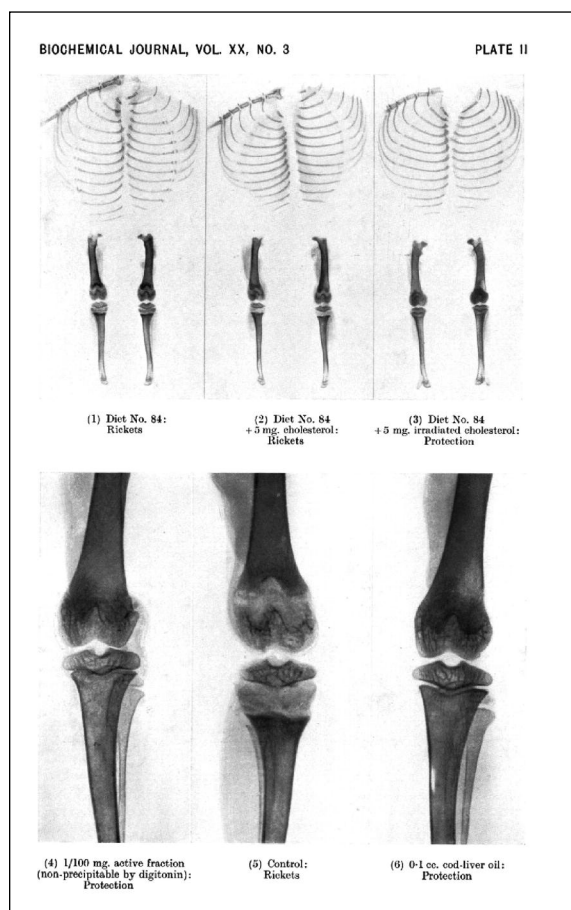


Figura 16. Protecção anti-raquítica do colesterol irradiado, do óleo de fígado de bacalhau e de uma precipitado do colesterol com digitonina (separado do colesterol “activado”), administrados diariamente como suplementos de ração a ratos com raquitismo (previamente induzido por uma dieta desprovida de lípidos e deficiente em fosfato). O diagnóstico e acompanhamento da acção calcificante foram determinados por radiografia da grelha costal e da junção epifisária dos joelhos dos animais observados. Em comparação com os controlos (1 e 5), a administração do colesterol não irradiado (2) não induziu acção calcificante. Pelo contrário, o colesterol irradiado (3), precipitado do colesterol irradiado (4) e o óleo de fígado de bacalhau (6) evidenciaram acção anti-raquítica. (Créditos: Reproduced with permission from Rosenheim and Webster, 1926; *Biochem J.* 20:537-544; © the Biochemical Society).

dores^{128, 129} isolaram uma substância com acção anti-raquitismo a partir da activação do ergosterol ou do colesterol. Foi então sugerido que o precursor da vitamina D não seria o colesterol, por si, mas uma substância que lhe estaria associada, inde-

tectável pelos processos de purificação química habituais (Fig. 16).

A identificação química daquele eventual contaminante (e potencial pré-vitamina) gerou um momento de colaboração internacional ímpar entre os laboratórios de Hess (em Nova Iorque), Windaus (em Gottinger) e de Rosenheim (em Londres).

O colesterol (purificado com brometo e recristalizado) não evidenciava propriedades anti-raquíticas depois de irradiado por luz ultravioleta,¹²⁸ o que foi confirmado por Windaus e Hess,¹³⁰ que também isolaram um contaminante do colesterol não purificado. Esta substância contaminante, que se verificou ser quimicamente relacionada com o ergosterol, apresentava grande actividade anti-raquítica em soluções muito diluídas. Após analisarem cerca de três dezenas de esteroides extraídos de várias fontes vegetais, Windaus e Hess concluíram que o ergosterol era a substância contaminante (presente em fungos) das amostras de colesterol que conferia potência anti-raquitismo aos alimentos irradiados com luz ultravioleta.

A revelação por Heilbron e Cols, em 1927, de que o espectro de absorção do «colesterol» apresentava picos que não correspondiam aos daquele composto, confirmou as suspeitas sobre a existência de uma substância desconhecida que lhe estaria associada como contaminante, de que resultava o efeito anti-raquitismo.¹³¹ No mesmo ano Rosenheim e Webster confirmaram que o ergosterol era a provitamina D, depois convertida na forma activa por irradiação.¹³²

Finalmente, em 1931, Askew e Cols,¹³³ Reerink e Van Wijk¹³⁴ e Windaus¹³⁵ isolaram, purificaram, cristalizaram, identificaram e deduziram a estrutura do ergosterol irradiado, depois denominada vitamina D₂ (ou calciferol), cuja estrutura veio a ser estabelecida por Windaus e Thiele em 1936.^{135[x]}

Primeiros ensaios terapêuticos com suplementos dietéticos

Na sequência da observação por Steenbock de que as rações para rato, irradiadas pela luz solar ou ultravioleta, evitavam o desenvolvimento do raquitismo ou induziam a melhoria nos animais afecta-

[x] Adolf Otto Reinhold Windaus foi galardoado em 1928 com o prémio Nobel da Química «pela contribuição que deu à investigação sobre a constituição dos esteróis e respectiva conexão com as vitami-

dos,^{113, 119[y]} veio a ter grande repercussão clínica nas décadas seguintes. A suplementação dietética com o ergosterol irradiado ou a sua incorporação em alguns alimentos (como cereais e pão) era fácil, económica e, como tal, tornou-se prática corrente na década de 1920 e terá contribuído para uma acentuada redução no raquitismo infantil.

A descoberta dos efeitos anti-raquitismo do ergosterol irradiado obteve larga aceitação na época, sendo aquela substância patenteada sob a designação comercial de «Viosterol» e, como tal, utilizada frequentemente na clínica.^{139,140} Esta opção foi, em larga medida, facilitada pelos potenciais inconvenientes da utilização terapêutica da radiação ultravioleta, designadamente, os seus efeitos carcinogénicos, além da impraticabilidade e elevado custo económico para os utilizadores.

Em 1932, o leite começou a ser fortificado com Viosterol após uma campanha de prevenção equivalente à de qualquer produto farmacêutico.¹⁴¹

Entretanto, foram verificadas diferenças nos resultados obtidos com o «Viosterol» relativamente aos óleos de peixe, sugerindo que o factor anti-raquitismo não era idêntico em ambos os meios;¹⁴² adicionalmente, quer os óleos de peixe, quer a irradiação directa corporal por luz ultravioleta eram muito mais eficazes do que o «Viosterol» no tratamento do raquitismo.¹⁴³ O reputado pediatra norte-americano Philip Charles Jeans postulou que o leite irradiado tinha propriedades anti-raquíticas superiores às do óleo de fígado de bacalhau e também do «Viosterol».⁹⁵ Os primeiros estudos em crianças com raquitismo em que aquelas terapêuticas foram comparadas confirmaram as diferenças referidas.¹⁴⁰

A maior eficácia de óleo de fígado de bacalhau relativamente ao ergosterol irradiado seria, na opi-



Figura 17. Professor Harry Steenbock junto do sistema que concebeu para a prevenção do raquitismo em ratos, por irradiação luminosa e que, posteriormente, veio a ser desenvolvido para a fortificação do leite com vitamina D. (Crédito: Courtesy of University of Wisconsin - Madison Archives).

nião de Rudolf Schoenheimer, devida à diminuta absorção intestinal de esteróis de origem vegetal.¹⁴⁴ Adicionalmente, o óleo de fígado de bacalhau era preferido por muitos clínicos por conter também concentrações elevadas de vitamina A.^{43, 139}

Merecem referência as dificuldades que os investigadores enfrentavam naquela época quanto à diferenciação da «potência» anti-raquitismo dos meios utilizados. O efeito anti-raquitismo era avaliado pela capacidade de recalcificação da epífise tibial de ratos (referenciada como índice «rat units»), induzida pelos compostos administrados ou pela exposição à luz solar, o que explica a confusão entre os resultados de sucessivos estudos e a polémica gerada na respectiva interpretação. Hess e Cols estabeleceram que uma unidade de óleo de fígado de bacalhau equivalia, em eficácia antiraquitismo, a quatro unidades («rat units») de «Viosterol».¹⁴⁰

[y] Pouco depois da sua descoberta, Steenbock recebeu uma oferta financeiramente muito elevada por parte de uma conhecida empresa de produtos alimentares, interessada na cedência dos direitos da invenção, o que então recusou. Em alternativa, Steenbock, com o apoio da direcção do College of Agriculture e do Graduate School da Universidade de Wisconsin, patenteou em 1924 o processo de irradiação do leite e outros alimentos por luz ultravioleta, de modo a que o proveito financeiro recaísse e fosse administrado pela Wisconsin Alumni Research Foundation (WARF, constituída em 1925 para aquela finalidade) para suporte de investigações futuras daquela Universidade.¹³⁷ A WARF licenciou de imediato a tecnologia à empresa Quaker Oats, a ser utilizada na irradiação de cereais alimentares. Enquanto os cereais ou outros produtos podiam ser enriquecidos com ergosterol ou leveduras irradiadas, a legislação alimentar norte-americana na época proibía a adição de qualquer substância ao leite. A solução seria irradiar também o leite, o que passou a ser feito através de equipamento especialmente encomendado pela WARF (Fig. 17). Foi seguidamente licenciada a utilização farmacológica do «Viosterol».¹³⁸

As experiências de J. Waddell, em 1934, foram conclusivas quanto à maior eficácia das formas da vitamina D obtidas por irradiação dos esteróis de origem animal do que os de proveniência vegetal, na prevenção do raquitismo em animais de laboratório.¹⁴³ O factor anti-raquitismo do colesterol irradiado tinha potência equivalente à do óleo de fígado de bacalhau, pelo que se concluiu que a provitamina constituinte daquele esteroide seria uma substância diferente de ergosterol. A ser assim, haveria dois tipos de factores anti-raquitismo com actividade de provitamina D.

A síntese do 7-desidrocolesterol foi concretizada por Windaus e Cols, em 1935.¹⁴⁵ O seu isolamento e identificação daquele composto na pele do bovinos, de ratos e homem e, também, nos alimentos de origem animal que, depois de irradiados, exibem efeitos anti-raquitismo,¹⁴⁶ resolveu a questão que permanecia em aberto sobre os benefícios terapêuticos da luz ultravioleta. O produto resultante do 7-desidrocolesterol recebeu a designação de vitamina D₃ (ou colecalciferol), sendo a sua estrutura também definida por Windaus e Cols em 1936.¹⁴⁷ Na mesma data, foi esclarecido que o constituinte do óleo de fígado de peixes que lhe confere propriedades anti-raquíticas é estruturalmente idêntico à vitamina D₃.¹⁴⁸

A elucidação do mecanismo de formação da vitamina D₃ a partir da irradiação do 7-desidrocolesterol existente na pele ocorreria somente três décadas mais tarde. Em finais da década de 40, Veluz e Amiard propuseram que a vitamina D seria formada na epiderme por fotólise do desidrocolesterol, de que resultaria a provitamina D, com subsequente isomerização em vitamina D₃.¹⁴⁹ Lund e DeLuca clarificaram definitivamente a situação em 1966, ao demonstrarem, pela primeira vez, que a vitamina D₃ é uma pró-hormona inactiva, desprovida de virtualmente todas as características comuns às restantes vitaminas conhecidas.¹⁵⁰

Agradecimentos

O nosso reconhecimento à Sra. D. Emília Alves pelo cuidada preparação dactilográfica do texto.

Correspondência para:

J. Martins e Silva
Unidade de Biopatologia Vascular
Instituto de Medicina Molecular
Faculdade de Medicina de Lisboa
Av. Prof. Egas Moniz
1649-028 LISBOA
E mail: jsilva@fml.ul.pt

Referências:

1. Lunin N. Ueber die Bedeutung der anorganischen Salze für die Ernährung des Thieres. *Zeitsch Physiolog Chemie* 1881; 5:31-39.
2. Hopkins FG. Feeding experiments illustrating the importance of accessory factors in normal dietaries. *J Physiol* 1912; 44:425-460.
3. Funk C. On the chemical nature of the substance which cures polyneuritis in birds induced by a diet of polished rice. *J Physiol* 1911; 43:395-400.
4. Drummond JC. The nomenclature of the so-called accessory food factors (vitamins). *Biochem J* 1920; 14:660.
5. Carpenter KJ, Zhao L. Forgotten mysteries in the early history of vitamin D. *J Nutr* 1999; 129:923-927.
6. Rosenfeld L. Vitamine-vitamin. The early years of discovery. *Clin Chem* 1997; 43:680-685.
7. Wolf G. The discovery of vitamin D: the contribution of Adolf Windaus. *J Nutr* 2004; 134:1299-1302.
8. De Luca H. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:1689-1696.
9. DeLuca HF, Schnoes HK. Vitamin D: recent advances. *Annu Rev Biochem* 1983; 52:411-439.
10. Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev* 1998; 78:1193-1231.
11. Rajakumar K. Vitamin D, cod-liver oil, sunlight, and rickets: a historical perspective. *Pediatrics* 2003; 112:e132-135.
12. Soranus «On Gynecology» (Soranus Gynaeciorium, libri IV), tradução e introdução de Owsei Temkin, (colaboração de N.J. Eastman, L. Edelstein e A.F. Guttmacher), Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press, 1991.
13. al Naqib A - Avicenna. *Prospects* (UNESCO) 1993; 23:53-69.
14. Davies DP, O'Hare B. Weaning: a worry as old as the time. *Curr Ped* 2004; 14:83-96.
15. de Mause L (ed) «Foundation of Psychotherapy», New York, 1982. (onlinebooks@pobox.upenn.edu, 1993-2007)
16. Dupras TL, Schwarcz HP, Fairgrieve SI. Infant feeding and weaning practices in Roman Egypt. *Am J Phys Anthropol*. 2001; 115:204-212.
17. Galen C. «On Hygiene» (De Sanitate Tuenda), tradução de Robert Montraville Green, Springfield: Charles Thomas Books, 1951.
18. Lunardini A, Minozzi S, Pântano W, Caramella D, Catalano P, Fornaciari G. A severe case of rickets in the roman imperial age (i-ii century a.d.), (www.paleopatologia.it), 2007.
19. Edmondson JC. «Two Industries in Roman Lusitania: Mining and Garum Production», B.A.R. International Series, 362. Oxford, 1987.
21. Caldwell JC. Fertility control in the ancient world: was there an ancient fertility transition? *J Popul Res* 2004; 21:1-17.
22. Cucina A, Vargiu R, Mancinelli D et al. The necropolis of Vallerano (Rome, 2nd-3rd century AD): an anthropological perspective on the ancient Romans in the

- Suburbium. *Int J Osteoarchaeol* 2006; 16:104-117.
23. FitzGerald C, Saunders S, Bondioli L, Macchiarelli R. Health of infants in an Imperial Roman skeletal sample: perspective from dental microstructure. *Am J Phys Anthropol* 2006; 130:179-189.
 24. Gamarra AI, Suarez JFR. Historia de la vitamina D. *Rev Colombiana Reumatol* 2005; 12 :11-32.
 25. Ringe JD. Vitamin D deficiency and osteopathies. *Osteoporos Int.* 1998; 8 (Suppl 2):S35-S39.
 26. Daniel Whistler (1619-1684). The rickets. *JAMA* 1968; 205:526.
 27. Jones AR, Francis Glisson. *J Bone Joint Surg Br* 1950; 32-B:425-428.
 28. Dunn PM. Francis Glisson (1597-1677) and the «discovery» of rickets. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1998; 78:F154-F155.
 29. Knipe K. Paediatrics: the individuals and external influences involved in forming this special branch of medicine, from Hippocrates to the present day. *Proc R Coll Physicians Edinb* 2001; 31:339-341.
 30. Virchow R. Das normale knochenwachsthum und die rachitische störung desselben. *Archiv für pathologische Anatomie und physiologie und für klinische. Medicin* 1853; 5:409-507.
 31. Weick MT. A history of rickets in the United States. *Am J Clin Nutr* 1967; 20:1234-1241
 32. Harrison HE - A tribute to the first lady of public health (Martha M. Eliot). V. The disappearance of rickets. *Am J. Public Health Nations Health* 1966; 56:734-737.
 33. Brickley M, Mays S, Ives R. An investigation of skeletal indicators of vitamin D deficiency in adults: effective markers for interpreting past living conditions and pollution levels in 18th and 19th century Birmingham, England. *Am J Phys Anthropol* 2007; 132:67-79.
 34. Mays S, Brickley M, Ives R. Skeletal manifestations of rickets in infants and young children in a historic population from England. *Am J Phys Anthropol* 2006; 129:362-374.
 35. Dunn PM. Professor Armand Trousseau (1801-67) and the treatment of rickets. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1999; 80:F155-F157.
 36. Parry JS. Remarks on the pathological anatomy, causes and treatment of rickets. *Am J Med Sci* 1872; 63:305-329.
 37. Bland-Sutton, JB. Observation on rickets etc. in wild animals. *J Anat* 1884; 18:363-397.
 38. Bland-Sutton J. Rickets in monkeys, lions, bears, and birds. *J Comp Med Surg.* 1889; 10:1-29.
 39. Du Boulay GH, Crawford MA. Nutritional bone disease in captive primates. *Symp Zool Soc Lond* 1968; 21: 223-236.
 40. Owen I. Geographical distribution of rickets, acute and sub-acute rheumatism, chorea, cancer and urinary calculus in the British islands. *Brit Med J* 1889; i:113-116.
 41. Palm TA. The geographic distribution and aetiology of rickets. *Practitioner* 1890; 45: 312-342.
 42. McCollum EV, Davis M. The necessity of certain lipins in the diet during growth. *J Biol Chem* 1913; 15:167-175.
 43. Guy RA. The history of cod liver oil as a remedy. *Am J Dis Child* 1923; 26:112-116.
 44. Snow IM. An explanation of the great frequency of rickets among Neapolitan children in American cities. *Arch Pediatr* 1895;12:18-34.
 45. Kassowitz M. Tetanie and autointoxication in kindersalter. *Wien Mcd Presse* 1897; 97:139.
 46. Morse JL. The frequency of rickets in infancy in Boston and vicinity. *JAMA* 1899; 34: 724-726.
 47. Dunn PM. Sir Robert Hutchison (1871-1960) of London and the causes and treatment of rickets. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2005; 90:F537-F539.
 48. Fitzpatrick TB, Pathak MA. Historical aspects of methoxsalen and other furocoumarins. *J Invest Dermatol* 1959; 32:229-231.
 49. Fahmy IR, Abu-Shady H. Ammi majus Linn; the isolation and properties of ammoidin, ammidin and majudin, and their effect in the treatment of leukoderma. *Q J Pharmacol* 1948;21:499-503.
 50. Roelandts R. The history of phototherapy: something new under the sun? *J Am Acad Dermatol.* 2002; 46:926-930.
 51. McDonagh AE. Phototherapy: from ancient Egypt to the new millennium. *J Perinatol* 2001; 21:S7-S12.
 52. Herodotus. «The History», (440 a.C.), tradução de George Rawlinson, (www.fordham.edu/halsall/), 2006.
 53. Jackson SW. «Melancholia and Depression from Hippocratic Times to Modern Times». New Haven, CT: Yale University Press, 1986.
 54. Aurelianus C. «On Acute Diseases and on Chronic Diseases» (De morbis acutis et chronicis), tradução de IE Drabkin, Chicago, Ill: The University of Chicago Press, -1950.
 55. Rosenthal NE, Sack DA, Gillin JC et al. Seasonal affective disorder. A description of the syndrome and preliminary findings with light therapy. *Arch. Gen. Psychiatry* 1984; 41:72-80.
 56. Shuster A. in: *Encyclopedia Britannica*, ed. 1991.
 57. Newton I. «Opticks: or a Treatise of the Reflections, Refractions, Inflections and Colours of Light», 2nd ed, with addition, London: wand J INNYS 1718 The Newton Project, University of Sussex, UK, (www.newton-project.sussex), 2007.
 58. Hatch RA. Sir Isaac Newton. *Encyclopedia American* 1998; 20:288-292.
 59. Herschel, W. Investigation of the powers of the prismatic colours to heat and illuminate objects, *Phil Trans* 1800; 255.
 60. Ritter JW. Auffindung nicht sichtbarer Sonnenstrahlen außerhalb des Farbenspectrums, an der Seite des Viotets. *Ann Physik* 1801; 7:501-528.
 61. Helmholtz H. Ueber die Empfindlichkeit der menschlichen Netzhaut für die brechbarsten Strahlen des Sonnenlichtes. *Ann Physik Chemie* 1855; 94:205-211.
 62. Downes A, Blunt TP. «Researches on the effect of light upon bacteria and other organisms», *R Soc Med* 1877; 26: 488-500.
 63. Ward HM. Further studies on the action of light on *Bacillus anthracis*. *Proc Roy Soc (London)*, 1893; 52:23-44.
 64. Rollier A. «Heliotherapy: With special consideration of surgical tuberculosis». London: Frowde and Holder &

- Stoughton, 1923.
65. Laurens H. The physiological effects of radiation. *Physiol Rev* 1928; 8:1-91.
 66. Blum, HF. Photodynamic action. *Physiol Rev* 1932; 12:23-55.
 67. Bonnet A. «Traité des Maladies des Articulations». Paris: Baillière, 1845.
 68. Cook FA. «Through the First Antarctic Night 1898-1890: A Narrative of the Voyage of the Belgica among Newly Discovered Lands and over Unknown Sea about the South Pole». Montreal: McGill-Queen's University Press, 1980.
 69. Stuster JW. Bold endeavors: behavioral lessons from polar and space exploration. *Gravitational and Space Biol Bull* 2000; 13:49-57.
 70. Cook FA. Gynecology and obstetrics among the Eskimo. *Brooklyn Med J* 1894; 8:154-169.
 71. Finsen NR. Biography nobel prize. org. The Nobel Foundation, 1903.
 72. Albert MR, Ostheimer KG. The evolution of current medical and popular attitudes toward ultraviolet light exposure (Part 1). *J Am Acad Dermatol* 2002; 47:930-937.
 73. Picton JMW. Traitement de la variole par l'exclusion de la lumière. *Arch. Gen Med* 1832; 30:406-407.
 74. Waters JH. Action of light in small-pox. *Lancet* 1871; 4:151-152.
 75. Barlow WH. On the exclusion of light in the treatment of small-pox. *Lancet* 1871; 1: 9-10.
 76. Finsen NR. «Om Anvendeise I Medicinen af Koncentrerede Kemiske Lysstraaler», Kjøbenhavn: F. Hegel & Son. 1898 (www.Jameslindlibrary.org).
 77. Morner KAH. The Nobel Prize in Physiology or Medicine-Presentation speech. The Nobel Foundation, 1903.
 78. Phototherapy. *Sci. Am.* 1901; 51(suppl 1324):21215-21217.
 79. Albert MR, Ostheimer KG. The evolution of current medical and popular attitudes toward ultraviolet light exposure (part 3). *J. Am Acad Dermatol* 2003; 49:1096-1106.
 80. Hockberger PE. A history of ultraviolet photobiology for humans, animals and microorganisms. *Photochem Photobiol* 2002; 76:561-579.
 81. Hyde JN. On the influence of light in the production of cancer of the skin. *Am J Med Sci* 1906; 131:1-22.
 82. Dubreuilh W. Épithéliomatose d'origine solaire. *Ann Dermatol Syphilig.* 1907; 8:387-391.
 83. Urbach F, Forbes PD, Davies RE, Berger D. Cutaneous photobiology: past, present and future. *J Invest Dermatol* 1976; 67:209-224.
 84. Ultraviolet and cancer (query to the editor). *JAMA* 1929; 93:1087.
 85. Hobday RA. Sunlight therapy and the solar architecture. *Med Hist* 1997; 42:455-472.
 86. Modern science and war surgery: artificial baths and electric heating of the body. *Sci Am* 1916; 81 (suppl 2094):116.
 87. Heliotherapy. *Time magazine*, Monday, Aug. 06, 1923.
 88. Sousa Martins JT. «A Tuberculose Pulmonar e o Clima de Altitude da Serra da Estrela», Lisboa: Imprensa Nacional, 1890.
 89. Antunes ML, Fonseca-Antunes A. The tuberculosis situation in Portugal: a historical perspective to 1994. *Euro-surveillance* 1996; 1(nº3, September):2-4.
 90. Parsons LG. Some recent advances in our knowledge of rickets and allied diseases. *Lancet* 1928, ii:433-438.
 91. Huldshinsky K. Heilung von rachitis durch kunstlich hohensonne. *Deut Med Wochenschr* 1919; 45:712-713.
 92. Huldshinsky K. The ultra-violet light treatment of rickets. *Alpine Press*. New Jersey, USA. 1928; 3-19.
 93. Chick H, Dalyell EJH, Hume EM, Mackay HMM, Henderson-Smith H. The aetiology of rickets in infants: prophylactic and curative observations at the Vienna University Kinderklinik. *Lancet* 1922; ii:7-11.
 94. Eliot MM. The control of rickets: preliminary discussion of the demonstration in New Haven. *JAMA* 1925; 85:656-663.
 95. Jeans PC, Stearns G. The effect of vitamin D on linear growth in infancy. II. The effects of intakes above 1800 USP units daily. *J Pediatr* 1938; 13:730-740.
 96. Hess AE, Unger LJ. Prophylactic therapy for rickets in a Negro community. *JAMA* 1917; 69:1583-1586.
 97. Hess AE, Unger LJ. The diet of the Negro mother in New York City. *JAMA* 1918; 70: 900-902.
 98. Hess AE, Lundagemn A. Seasonal tide of blood phosphate in infants. *JAMA* 1922; 79: 2210-2212.
 99. Hess AE, Unger LF. Cure of infantile rickets by sunlight *JAMA* 1921; 77:39-41.
 100. Wyman ET, Weymaller CA. The organization of a special clinic. *JAMA* 1924; 83:1479.
 101. Hopkins F. The earlier history of vitamin research, The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1929, Nobel Lecture, 1929.
 102. Mellanby E, Cantag MD. Experimental investigation on rickets. *Lancet* 1919; 196:407-412.
 103. Mellanby E. The rickets-producing and anti-calcifying action of phytate. *J Physiol* 1949; 109:488-533.
 104. Paton N. Accessory food factors. *Proc R Soc Med (Seet Study Dis Child)* 1920; 13:77-86.
 105. Hess AE, Unger LJ, Pappenheimer AM. Experimental rickets in rats III. The prevention of rickets in rats by exposure to sunlight. *J Biol Chem* 1922; 50:77-82.
 106. Day HG. «Biographical Memon of Elmer Verner McCollum», vol. 45, National Academy of Sciences, Washington DC, 1974; pp. 263-335.
 107. McCollum EV, Davis M. The influence of the composition and amount of the mineral content of the ration on growth and reproduction. *J Biol Chem* 1915; 21: 615-643.
 108. McCollum EV, Simmonds N, Parsons HT, Shipley PG, Park EA. Studies on experimental rickets I. The production of rachitis and similar diseases in the rat by deficient diets. *J Biol Chem* 1921; 45: 333-341.
 109. McCollum EV, Simmonds N, Becker JE, Shipley PG. Studies on experimental rickets. XXI. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. *J Biol Chem* 1922; 53:293-312.
 110. McCollum EV, Simmonds N, Becker JE, Shipley PG. Studies on experimental rickets. XXVI. A diet composed principally of purified foodstuffs for use with

- the «line test» for vitamin d studies. *J Biol Chem* 1925; 65:97-100.
111. Shipley PG, Park EA, McCollum EV, Simmonds N, Parsons HT. Studies on experimental rickets II. The effect of cod liver oil administered to rats with experimental rickets. *J Biol Chem* 1921; 45: 343-348.
 112. Goldblatt H, Soames KM. Studies on the fat-soluble growth-promoting factor: (I) storage. (II) Synthesis. *Biochem J* 1923; 17:446-453.
 113. Steenbock H. The induction of growth promoting and calcifying properties in a ration by exposure to light. *Science* 1924; 60:224-225.
 114. Hume EM, Smith HH. The effect of air, which has been exposed to the radiations of the mercury – vapour quartz lamp, in promoting the growth of rats, fed on a diet deficient in fat-soluble vitamins. *Biochem J* 1923; 17:364-372.
 115. Webster TA, Hill L. The supposed influence of irradiated air on growth. *Biochem J* 1924; 18:340-346.
 116. Hume EM, Smith HH. The effect of irradiation of the environment with ultra-violet light upon the growth and calcification of rats, fed on a diet deficient in fat-soluble vitamins. The part played by irradiated sawdust. *Biochem J* 1924; 18:1334-1345.
 117. Chick H, Tazelaar M. Note upon the effect on the growth of rats, receiving a diet deficient in fat-soluble vitamins, of exposing their environment to the emanation from radium bromide. *Biochem J* 1924; 18:1346-1348.
 118. Jones JH, Steenbock H, Nelson MT. The comparative amounts of vitamin A and antirachitic factor in butter and the cod liver oil. *J Metab Res* 1924; 6:169-187.
 119. Steenbock H, Black A. Fat-soluble vitamins. XVII. The induction of growth-promoting and calcifying properties in a ration by exposure to ultra-violet light. *J Biol Chem* 1924; 61:405-422.
 120. Nelson EM, Steenbock H. Observation bearing on the alleged induction of growth – promoting properties in air by irradiation with ultraviolet light. *J Biol Chem* 1925; 62:575-593.
 121. Nelson EM, Steenbock H. Further observation on the antirachitic action of irradiated animals on the non-irradiated when placed in the same cage. *Am J Physiol* 1925; 73:341-345.
 122. Steenbock H, Nelson MT. The induction of calcifying properties in a rickets – producing ration by radiant energy. *J Biol Chem* 1924-25; 62:209-216.
 123. Steenbock H, Black A, Nelson MT, Hoppert CA, Riising BM. Fat-soluble vitamins. XXIII. The induction of growth-promoting and calcifying properties in fats and their unsaponifiable constituents by exposure to light. *J Biol Chem* 1925; 64:263-298.
 124. Hess AF, Weinstock M. Study of light waves in their relation to rickets. *JAMA* 1923; 80:687-690.
 125. Hess AF, Weinstock M. Antirachitic properties imparted to inert fluids and to green vegetables by ultra-violet irradiation. *J Biol Chem* 1924; 62:301-313.
 126. Hess AF, Weinstock M, Helman FD. The antirachitic value of irradiated phytosterol and cholesterol. *J Biol Chem* 1925; 63:305-308.
 127. Hess AF, Weinstock M, Sherman E. The antirachitic value of irradiated cholesterol and phytosterol. V. Chemical and biological changes. *J Biol Chem* 1926; 67:413-423.
 128. Rosenheim O, Webster TA. The antirachitic properties of irradiated sterols. *Biochem J* 1926; 20:537-544.
 129. Bills CE, McDonald FG. Antirachitic substances. III - The catalytic formation of an antirachitic cholesterol derivative. *J Biol Chem* 1926 67:753-758.
 130. Windaus A, Hess A. Sterine und antirachitisches Vitamin. *Nachr Ges Wiss Göttingen* 1927; 175-184.
 131. Heilbron IM, Kamm ED, Morton RA. The absorption spectrum of cholesterol and its biological significance with reference to vitamin D (Part I). *Biochem J* 1927; 21:78-85.
 132. Rosenheim O, Webster TA. LVI. The parent substance of vitamin D. *Biochem J* 1927; 21:389-397.
 133. Askew FA, Bourdillon RB, Bruce HM, Jenkins RGC, Webster TA. The distillation of vitamin D. *Proc R Soc (Lond.)*, ser B 1931; 107:76-90.
 134. Reerink EH, Van Wijk W. The vitamin D problem. Optical rotation of vitamin D. *Biochem J* 1931; 25:1001-1009.
 135. Windaus A. The chemistry of irradiated ergosterol. *Proc R Soc (Lond.)* 1931; 108:568-575.
 136. Windaus A, Thiele W. Über die Konstitution des Vitamins D₂. *Ann Chem* 1936; 521:160-175.
 137. Apple RD. Patenting university research: Harry Steenbock and the Wisconsin Alumni Research Foundation. *Isis*, 1989; 80:374-394.
 138. Steenbock and WARF' Founding (www.warf.ws/).
 139. Cod liver oil, viosterol or sunlight for rickets (letter to the editor). *JAMA* 1930;94:283.
 140. Hess AF, Lewis JM, Rivkin H. Newer aspects of the therapeutics of viosterol (irradiated ergosterol). *JAMA* 1930; 94:1885.
 141. Hess AF. The role of activated milk in the anti-rickets campaign. *Am J Public Health* 1932; 22: 1215-1219.
 142. Koch FC, Koch EM, Ragins IK. Fractionation studies on provitamin D. *J Biol Chem* 1929; 85:141-158.
 143. Waddell J. The provitamin D of cholesterol. I. The antirachitic efficacy of irradiated cholesterol. *J Biol Chem* 1934; 105:711-739.
 144. Schoenheimer R. New contributions in sterol metabolism. *Science* 1931; 74:579-584.
 145. Windaus A, Lettré H, Schenck F. Über das 7-Dehydrocholesterin. *Ann Chem* 1935; 520:98-106.
 146. Windaus A, Bock F. Über das provitamin aus dem Sterin der Schweineschwarte. *Z Physiol Chem* 1937; 245:168-170.
 147. Windaus A, Schenck F, Werder FV. Über das antirachitisch wirksame Bestrahlungsprodukt aus 7-Dehydrocholesterol. *Z Physiol Chem* 1936; 241:100-103.
 148. Brockmann H. Die Isolierung des antirachitischen Vitamins aus Thunfischleberöl. *Z Physiol Chem* 1936; 241:104-115.
 149. Velluz L, Amiard G. Chimie organique-equilibre de réaction entre précalciférol et calciférol. *C R Assoc Anat* 1949; 228:853-855.
 150. Lund J, DeLuca HF. Biologically active metabolite of vitamin D₃ from bone, liver, and blood serum. *J Lipid Res* 1966; 7:739-744.

THE GENETICS OF OSTEOPOROSIS

Frances MK Williams*, Tim D Spector*

Summary

Osteoporosis is highly influenced by genetic factors. Bone mineral density (BMD) has also been shown to be highly heritable, as are other risk factors for osteoporotic fracture such as bone quality, femoral neck geometry and bone turnover. Susceptibility to osteoporosis is mediated, in all likelihood, by multiple genes each having small effect and a number of different approaches are being employed to identify the genes involved. Study methods include linkage studies in both humans and experimental animals as well as candidate gene and gene expression studies. Linkage studies have identified multiple quantitative trait loci (QTL) for regulation of BMD and, along with twin studies, have indicated that the effects of these loci on BMD are site-dependent and sex-specific. On the whole, the genes responsible for BMD regulation at these QTL have not been identified. Most studies have used the candidate gene approach, based on what is known of bone metabolism. The vitamin D receptor gene (VDR), the collagen type I alpha 1 gene (COL1A1) and estrogen receptor gene (ER) alpha have been widely investigated and found to play a role in regulating BMD. A recent meta-analysis suggests, however, that VDR plays no significant role, and the effects of the other 2 genes are modest – probably accounting for less than 3% of the genetic contribution to BMD. Cost-effective large scale genetic testing is becoming available and lends itself to combining large multi-national populations for candidate gene analysis, meta-analyses, DNA pooling studies and gene expression studies.

Keywords: Osteoporosis; Gene; QTL; Bone Mineral Density,

tores genéticos. Do mesmo modo, a densidade mineral óssea (DMO) e outros factores de risco para fracturas, como a baixa qualidade óssea, a geometria do colo do fémur e o turnover ósseo são grandemente hereditários. A susceptibilidade para a osteoporose é, com grande probabilidade, mediada por múltiplos genes, com um pequeno contributo cada. Várias abordagens têm sido utilizadas para identificar os genes envolvidos, incluindo estudos de *linkage* em humanos e em modelos animais, estudo de genes candidatos e de expressão de genes. Os estudos de *linkage* identificaram múltiplos *quantitative trait loci* (QTL) para a regulação da DMO e, juntamente com estudos em gémeos, indicaram que o efeito destes *loci* na DMO é dependente do local e específica para o sexo. No global, os genes responsáveis pela regulação da DMO nestes QTL não foram identificados. A maioria dos estudos utilizou genes candidatos, baseando-se no metabolismo ósseo. O gene do receptor da vitamina D (RVD), do colagénio tipo I alfa1 (COL1A1) e do receptor dos esterogénios (RE) alfa têm sido amplamente investigados e concluiu-se que têm um papel na regulação da DMO. Uma meta-análise recente sugere contudo que o RVD não desempenha um papel relevante e que o efeito dos outros 2 genes é modesto – provavelmente contribuindo em menos de 3% para a componente genética da DMO. Os testes genéticos em larga escala mais acessíveis permitirão grandes estudos populacionais multi-nacionais de análise de genes candidatos, meta-análises, *pooling* de DNA e estudos de expressão de genes.

Palavras-chave: Osteoporose; Gene; QTL; Densidade Mineral Óssea

Resumo

A osteoporose é fortemente influenciada por fac-

*Twin Research & Genetic Epidemiology Unit, St Thomas' Hospital, London

Osteoporosis Genes and their Identification

Osteoporosis is characterized by diminished bone mineral density and deterioration in bone micro-architecture. The main clinical endpoint is fracture. It is common and costly, both financially and in

social terms. Genetic factors have long been recognised to play an important role in both osteoporosis and its associated phenotypes, including bone mineral density (BMD), bone mass, broadband ultrasound attenuation (BUA), velocity of sound (VOS). Twin and family studies have estimated that 50-85% of the variance in bone mass is genetically determined.¹⁻⁴ Similar studies have shown evidence of significant genetic effects on other determinants of fracture risk, including quantitative ultrasound,⁵ several aspects of femoral neck geometry,⁵ muscle strength,⁶ bone turnover markers,^{7,8} body mass index⁹ and age at menopause.¹⁰

Unfortunately, there are few data describing the heritability of osteoporotic fracture, mainly because recruiting adequate numbers of study subjects with fracture is difficult and expensive. Several studies have shown that a family history of fracture is a risk factor for fracture, and importantly, this is independent of BMD.¹¹⁻¹⁴ Two studies (one of sib-pairs, one of twins) have shown wrist fracture to be clearly heritable^{15,16} and suggest that the genes involved may be separate to those influencing BMD.¹⁷ This illustrates the important difference between associated phenotypes, osteoporosis and fracture: associated phenotypes have been found to be highly heritable but finding the genes responsible for them does not necessarily identify genes causative for other phenotypes or fracture. Another such example is that of genes influencing bone density and speed of sound in bone. A UK twin study reported both wrist ultrasound and BMD to be heritable. However only a modest genetic overlap was found between genes influencing BMD/VOS properties of bone and genes influencing fracture.¹⁸

Several approaches are being employed currently in the search for genes which contribute to osteoporosis in the general population (reviewed by Huang *et al.*).¹⁹ Rare monogenic conditions affecting bone have already been used to cast light on genes which may influence population osteoporosis. Going forward, the most important approaches include association studies and, to a lesser extent, linkage studies.

Methods of Identifying Genes in Osteoporosis

Linkage Studies

Linkage disequilibrium (LD) refers to the phenomenon whereby genes lying close together tend to

be inherited together. Evidence suggests that LD varies greatly and variably according to both chromosomal region and human population studied, but can extend to 350kb or further.²⁰ Linkage studies are a well validated method for the identification of genes responsible for monogenic diseases and have been applied to the identification of chromosomal regions which harbour genes regulating quantitative traits such as bone mass, in so-called quantitative trait loci (QTL). An advantage of linkage-based studies is that they offer the prospect of identifying new molecular pathways that regulate bone metabolism. In addition they are not influenced by population admixture. A major disadvantage is their low statistical power to detect genes having modest effects and so they require family samples of considerable size (several thousand). An independent validation group is now recognised as providing important confirmatory replication data – many previous findings have not been replicated. This type of study is waning in popularity as the genome-wide association scans become available (see below).

Linkage studies in Animals

Linkage studies in experimental animals have also been used in the identification of genes responsible for complex traits. This approach has several advantages: optimal control over the animals' environment minimises the influence of confounding factors; and large numbers of progeny may be generated, providing excellent statistical power. In addition, fine mapping of loci identified may be achieved using a technique known as 'back crossing'. The most obvious drawback of the approach is that genes/loci regulating BMD in mice may not be influential in regulating BMD in man.

A recent study has combined genetic and genomic approaches in mice to provide evidence of a role for the *Alox15* gene. Earlier work had identified a region on mouse chromosome 11 as influencing peak BMD.²¹ A congenic mouse model was then constructed using the area of interest on chromosome 11 and shown to have increased BMD.²² Microarray analysis identified *Alox15* as the differentially expressed gene which encodes 12/15 lipoxygenase (12/15-LO), and other studies confirmed that this overexpression had biological impact (increased expression of CD36 and reduced osteocalcin). A 12/15-LO knock out mouse model also confirmed the findings, as did pharmacological inhibitors of 15-lipoxygenase.²² Work in humans

has also shown linkage to a region on human chromosome 17 containing the genes for 12 and 15 lipoxigenase, suggesting that the findings in mice may be of direct relevance to human BMD regulation²³ and further evidence for both forms of lipoxigenase is emerging, if somewhat conflicting.^{24,25}

Linkage Studies in Humans

Linkage studies in sib-pairs and extended families having osteoporosis have also been used to identify loci linked to BMD. Early studies identified loci on chromosomes 1p36, 2p23-p24 and 4q32-34,²³ with subsequent work in a second sample confirming linkage to the 1p36 locus.²⁶ A genome wide search in a Chinese sample for loci regulating forearm BMD²⁷ also revealed the highest LOD score at 2p23-24. Koller and co-workers conducted a whole genome search in a series of 595 healthy Caucasian and African-American female sib-pairs, finding LOD = +3.86 at chromosome 1q21-23²⁸ and an area suggestive of linkage at 5q33-35. Linkage studies in the same population identified multiple loci for regulation of femoral neck geometry on chromosome 5q and 4q and 17q.²⁹ Karasik and colleagues³⁰ have reported a genome scan on 330 families (Framingham study) and identified QTL suggestive of linkage on chromosome 6 and 20. Of in-

terest, a subsequent analysis using the same population suggested that QTL regulation of BMD differs between men and women, and different QTL were found for the phenotypes peak bone mass and bone loss.³¹ Wilson *et al.* have performed one of the largest linkage studies with 1100 dizygous UK twin pairs, defining two regions of suggestive linkage on chromosomes 1p36 and 3p21. Linkage to the 3p21 region was confirmed in a validation sample of 254 extreme discordant or concordant affected sib pairs having low BMD.³²

Most linkage studies have examined BMD as the associated phenotype of interest. However in a study of Icelandic families, Stykaskottir and colleagues detected significant linkage of osteoporosis to chromosome 20p12 (LOD = 5.1) using a novel classification system.³³ In this study, subjects were scored as "affected" if they had reduced BMD (Z-score less than -1.0 at spine or hip) or if they had a history of fragility fractures, or if they were undergoing bisphosphonate treatment for osteoporosis. The Icelandic study also suggested linkage of spine and hip BMD to chromosome 20p12, with LOD scores of around +3.0 on the genome wide scan and LOD scores of between +3.4 and +4.0 on fine mapping. Further analysis showed that part of the linkage signal was due to an association between osteoporosis and a polymorphism in the BMP2 gene which results in a serine-alanine amino acid change at codon 37, but of note this was not replicated in the large Rotterdam cohort.³⁴

Associated osteoporosis risk phenotypes other than BMD have also been examined. Using ultrasound to generate two associated phenotypes, BUA and VOS, Wilson *et al.* have performed a genome-wide screen of dizygous twin pairs using 737 highly polymorphic microsatellite markers. Evidence was found of linkage to chromosome 2q33-37 (BUA, LOD 2.1-5.1) and 4q12-21 (VOS, LOD2.2-3.4). LOD scores >2 were also identified on chromosomes 1,2,13,14 and X.³⁵ Similar work on the Framingham study sample showed quantitative ultrasound to be linked to chromosomal regions 1p36.1.³⁶ Subsequently, this group has used combined bone phenotypes to see if more information may be obtained. Using BMD and quantitative ultrasound they per-

Table I. Summary of main Quantitative Trait Loci findings for BMD in humans

Author (date)	locus	LOD score	phenotype
Devoto et al. (1998)	1p36	3.51	Hip BMD
	2p23	2.29	Hip BMD
	4q33	2.95	Hip BMD
Nui et al. (1999)	2p21	2.15	Wrist BMD
Koller et al. (2000)	1q21	3.86	Spine BMD
	5q33	2.23	Hip BMD
Karasik et al. (2002)	6p21	2.93	Spine BMD
	21q22	3.14	Hip BMD
Wilson et al. (2003)	3p21	2.7	Spine BMD
	1p36	2.4	Hip BMD
Iceland (2003)	20p12	3.18	Hip BMD
	20p12	2.89	Spine BMD
Ralston et al. (2005)	10q21 men	4.42	Hip BMD
	20q13 women	3.2	Spine BMD
Tang et al. (2007)	a number of shared regions		Body fat mass and BMD

formed principal components analysis: linkage to 1q21.3 and 8q24.3 was found with the first principal component (LODs 2.5, 2.4) while 1p36 was found with the second (LOD 2.1).³⁷

Given the polygenic nature of BMD regulation and osteoporosis susceptibility, most linkage studies performed to date have probably been underpowered, although the two large studies mentioned included over 1000 subjects in each.^{32,33} Overall, results from different linkage studies show more discrepancy than agreement, probably because of differing study populations and differing criteria for subject enrolment. It is partly for these reasons and easier access to clinical samples that association studies are becoming more widely used.

Candidate Gene Studies

Candidate gene studies have been widely used. Candidate gene association studies are relatively easy to perform and may have sufficient power to detect small allelic effects. They may be disadvantaged, however, by the effects of confounding factors, genetic heterogeneity and population stratification. Furthermore, demonstration of an association between a candidate gene and BMD does not necessarily mean that the gene is causally responsible for the effect observed, as there may be linkage disequilibrium with a nearby causal gene. The transmission disequilibrium test (TDT) can help by testing candidate genes for both association and linkage.

Candidate genes investigated thus far have included genes influencing cytokines and growth factors which regulate bone turnover; genes that encode components of bone matrix; and genes that encode receptors for calcitropic hormones. Individual candidate genes that have been implicated in the regulation of bone mass or osteoporotic fractures have been reviewed elsewhere.³⁸ Recent advances in knowledge are discussed in more detail below. Candidate genes have been suggested on the basis on what is known about bone metabolism. In future, novel genes may be identified by genome-wide association scans (see below).

Vitamin D Receptor (VDR)

Vitamin D interacts with its receptor to play an important role in calcium homeostasis by regulating bone cell growth and differentiation, intestinal calcium absorption and parathyroid hormone secretion. The VDR was therefore a natural place to be-

gin looking for genetic variation that might account for osteoporosis. The original finding that VDR alleles played a role in BMD is over 10 years old.³⁹ Other studies of VDR in relation to bone mass have since been conflicting, and it is likely that the VDR genotype is associated with relatively modest effects on bone mass. Various different polymorphisms have been described, in different populations,^{40,41} although the mechanisms by which these polymorphisms modulate VDR function remain unclear: some 3' polymorphisms may influence RNA stability, and isoforms of VDR encoded by different alleles may possess different functions.⁴⁰ In addition there are data to suggest that an interaction between 5' and 3' polymorphisms is involved in regulating VDR function, and that the risk allele involving such polymorphisms may result in lower levels of VDR mRNA.⁴² However, a recent giant study of 26,000 participants could not find a relationship with either BMD or fracture, which seriously calls into question the results of the smaller studies.⁴³

Type I collagen

The genes encoding type I collagen (COL1A1 and COL1A2) are important, well studied candidates for the pathogenesis of osteoporosis. A common polymorphism affecting the transcription factor Sp1 binding site has been shown to have increased prevalence in osteoporosis patients.⁴⁸ Positive associations between the COL1A1 Sp1 polymorphism and bone mass or osteoporotic fractures were subsequently reported in several populations, and meta-analysis also supported the COL1A1 genotype conferring differences in BMD.⁴⁴ Ethnic differences have been reported in population prevalence of COL1A1 Sp1 alleles with the polymorphism being common in Caucasian populations, but rare in Africans and Chinese.⁴⁵ Overall the data suggest that the COL1A1 Sp1 polymorphism is a functional variant which has adverse effects on bone composition and mechanical strength. Haplotype analysis has shown that susceptibility to fracture is driven by the Sp1 polymorphism rather than other known polymorphisms at the COL1A1 locus,⁴⁶ although it remains possible that hitherto unidentified polymorphisms in linkage disequilibrium with the Sp1 polymorphism exist and contribute to the observed effects. From a clinical viewpoint, the COL1A1 polymorphism may be of value not as a therapeutic target but as a marker of osteoporotic fracture risk, since it predicts fractures indepen-

dent of BMD and interacts with BMD to enhance fracture prediction.⁴⁷

Estrogen Receptors and Aromatase Genes

In view of the strong relationship between estrogen deficiency and bone loss, the estrogen receptor alpha (ER) gene has long been a strong candidate gene for osteoporosis. An association has been reported between a TA repeat polymorphism in the ER promoter and bone mass in both Japanese and U.S. populations. Other investigators have reported positive associations between haplotypes defined by *PvuII* and *XbaI* polymorphisms in intron 1 of the ER gene and bone mass⁴⁸ as well as age at menopause.⁴⁹ The molecular mechanisms by which these polymorphisms influence bone mass are as yet unclear, but a meta-analysis of the intron 1 polymorphisms indicated that the association with BMD and fracture is attributable mainly to variation at the *XbaI* site.⁵⁰ More recently, a large-scale study comprising 8 European centres has attempted to answer the question more definitively using almost 19,000 subjects. Three common ER gene polymorphisms were studied and none of the polymorphisms was shown to be associated with BMD. The absence of a *XbaI* polymorphism recognition site conferred a risk reduction in all fractures of 19% while the risk reduction for vertebral fractures was 35%. The effects on fracture were independent of BMD (but may be associated with BUA).⁵¹ Polymorphisms in *PvuII* and TA repeats did not appear to have any influence.⁵²

Aromatase is the enzyme which converts androgens into estrogens so is likely to be of importance in bone metabolism in men and post-menopausal women. It is encoded by the *CYP19* gene. A recent study from Australia has shown the TTTA repeat polymorphism of *CYP19* to be associated with higher circulating estradiol, higher BMD at hip and lumbar spine and lower markers of bone turnover, in over 1200 women age 70 years or older.⁵³ Similar findings have also been reported in elderly Italian men.⁵⁴

Other Genes

Polymorphisms in several other candidate genes have been associated with bone mass and/or osteoporotic fracture including *TGFb-1* and the *IL-6* locus. The effects of these polymorphisms on *IL-6* function are yet to be determined. Two studies have looked at the possible associations between apolipoprotein E (APOE) alleles and osteoporosis but

again the mechanisms by which APOE alleles influence susceptibility to osteoporosis remain unclear. Two groups have reported an association between a coding polymorphism of the calcitonin receptor gene and BMD. The osteocalcin gene has been found to be associated and linked to BMD and bone quality.⁵⁵ Other candidate genes which have been studied in relation to BMD include; parathyroid hormone; the androgen receptor, aromatase, osteoprotegerin, *Klotho* and the interleukin-1 receptor antagonist (*IL-1ra*). Most of the original findings, however, have not been consistently replicated.

In addition to the study of single genes or polymorphisms in isolation, it has been realized that both gene-gene and gene-environment interactions play an important role in influencing the variation of expression of complex traits such as osteoporosis within populations. Such interactions are discussed below.

Gene-Gene and Gene-Environment Interactions

A Dutch study of 1000 postmenopausal women looked at the effects of a combination of both the G to A polymorphism in the *COL1A1* Sp1 binding site and the 'baT' haplotype of *VDR*. They found that there was a significant interaction between the genotypes, both being independent of the effect of BMD.⁵⁶ The Danish Osteoporosis Prevention Study has recently reported the influence of polymorphisms within the *CYP19* and androgen receptor genes in almost 1800 newly postmenopausal women who were randomized to receive estrogen replacement therapy or no treatment.⁵⁷ While perimenopausal bone loss was not associated with either genes' polymorphisms, the BMD response over 5 years to estrogen was influenced by genotype: one *CYP19* allele was associated with significantly greater response. While the androgen receptor genotype was not related to BMD, a modifying effect of sex hormone-binding globulin (SHBG) was observed. Thus in the highest quartile of SHBG, androgen receptor genotype was associated with baseline BMD.

These types of study emphasize the importance of both gene-gene and gene-environment interactions and highlight once again the need for large, usually multi-center, studies to recruit sufficient subjects to enable well-powered studies to be performed. They also create new difficulties of their own, particularly problems associated with multiple testing of subgroups – which increase the likelihood of spurious positive findings unless they

are taken into account in the analysis.

Gene Expression Studies

A novel approach to the question of osteoporosis genes is that involving gene expression studies. In this type of study, differences in gene expression are explored in tissues derived from subjects expressing and not expressing the trait of interest. Very much greater power is obtained if the genetic background of the trait-discordant subjects is similar or the same, as in the case of identical twins. One such small study has used osteoblast-like culture from 2 pairs of monozygotic twins discordant for BMD and one concordant pair. Genome-wide gene expression of the cell culture derived from bone marrow aspirates suggests the following genes were differentially expressed: chondroitin beta 1,4 N-acetylgalactosaminyltransferase, inhibin beta A, interleukin 1 beta and colony stimulating factor 1 macrophage.⁵⁸ These genes are known to play a part in bone physiology. Although the numbers studied were small this study highlights both the potential of the emerging new technology for examining gene expression and the further benefits that may be derived from the twin registers around the world in providing informative willing subjects for intensive study.

Pooling studies

Another newer method being used for increasing the power and cost-effectiveness of studies to detect genes associated with osteoporosis is that of pooling. This type of association study contrasts DNA pools from 200-300 subjects with and without the trait of interest, for example BMD. One such study has used 25,000 SNPs in 16,000 genes from women divided into study groups by expression of the traits high and low BMD. Because of the loss of power with multiple testing, the findings were verified by individual genotyping in two further case control groups. The differences in allele frequency between the two trait expression groups suggested a candidate locus in the phosphodiesterase 4D (PDE4D) gene on chromosome 5q12. This was fine mapped using 80 SNPs within 50 kB of the marker SNP.⁵⁹ This study also produced evidence in support of the association with the Ser37Val polymorphism in *BMP2*, a gene known to interact with PDE4D (and implicated in Icelandic studies). These data illustrate the potential of these methods but also highlight the need for several replication groups.

Overlapping phenotypes

In addition to the associated phenotypes and traits which may be used as surrogates of the main clinical outcome of interest, other bone diseases may also shed light on genes of importance in osteoporosis. Studies have shown that perhaps 30% of genes involved in bone metabolism overlap with those influencing osteoarthritis – a disease of bone as well as cartilage. Genes believed to be common to both include the VDR, the *COL1A1* and possibly the ER genes.⁶⁰ A recent example of an association study of OA progression by Valdes et al implicated several bone genes such as *BMP-2*⁶¹ and genes involved in inflammation and cytokines have been found, somewhat surprisingly, to be associated with chronic diseases such as disc degeneration.⁶² With the finding that the *LRP-5* gene is associated with osteoporosis comes the realization that genes controlling pathways such as lipid metabolism and inflammation may be important in what were considered non-inflammatory bone conditions. Thus the choice of potential candidate genes is getting considerably larger and genetic researchers have increasingly to cross the traditional disease boundaries.

In addition to the overlap with osteoarthritis, osteoporosis is also associated with obesity. The tools are now available to us to dissect this relationship using a variety of methods. It would appear, however, that the negative association with body mass index is not independent of the loading expected on bone,⁶³ thus advising people to gain weight will not be appropriate. It is likely that shared genes operate to account for this association.⁶⁴

Genes of Rare Monogenic Diseases

Osteoporosis and fragility fractures are features of several rare monogenic diseases, and provide an obvious place to start the search for genes influencing osteoporosis in the general population. Such conditions are not always informative, however. They include osteogenesis imperfecta (OI), the osteoporosis-pseudoglioma syndrome (OPS) and syndromes associated with inactivating mutations of the oestrogen receptor alpha and aromatase genes.

OI describes a heterogeneous group of monogenic disorders characterised by multiple bone fractures which, in most forms, is caused by mu-

tations in the type I collagen genes COL1A1 and COL1A2. The genes which encode type I collagen possess mutations in many different places, accounting for the heterogenous nature of the disorder – from mild to extremely severe. OPS is a rare, autosomal recessive disorder characterised by juvenile onset osteoporosis and blindness due to persistent vascularisation of the eye. Initial linkage studies mapped OPS to chromosome 11q12-13.⁶⁵ Subsequent work showed the disease to be caused by inactivating mutations in the low density lipoprotein-related receptor-5 (LRP-5).⁶⁶ Another phenotype, autosomal dominant high-bone-mass, maps to the same region⁶⁷ and independently was reported to be caused by an activating mutation of the same receptor.⁶⁸ Osteoporosis has been reported in association with homozygous inactivating mutations of the estrogen receptor and aromatase genes, emphasising the importance of estrogen in the attainment and maintenance of peak bone mass. Mutations in the latency-activating peptide (LAP) domain of the TGF beta 1 gene are associated with Camurati-Engelmann disease – a condition characterised by increased BMD in the diaphysis of long bones.⁶⁹ Mutations of the TCIRG1 gene, which encodes a subunit of the osteoclast proton pump, have been shown responsible for the autosomal recessive condition osteopetrosis.⁷⁰

The important question is do the genetic clues obtained from rare diseases cast any light on the osteoporosis and fractures seen in the normal population? There is evidence that some of these genes do contribute to regulation of 'normal' BMD. For example, LRP gene polymorphisms have recently been shown to be associated with bone mineral content, bone area and stature particularly in males.^{71;72} Several groups have reported polymorphisms in the TGF beta gene to be associated with BMD and osteoporotic fracture^{14;73} and polymorphisms of the TCIRG1 genes (subunit of osteoclast proton pump) have been found to be associated with BMD in normal subjects.⁷⁴ Finally, the SOST gene causative in the sclerosteosis/van Buchem disease phenotype has been shown to be associated with BMD in elderly Dutch white volunteers.⁷⁵

Genome wide association scans

At present, some argue, lines of investigation are driven by technology and the availability of new assay techniques handling ever larger numbers of polymorphisms. Although the estimated number

of human genes continues to fall (currently around 23,000) the number of recognized SNPs increases – with over 30,000 known non-synonymous SNPs and the possibility of testing samples with over 250,000 validated SNPs at a cost of less than 1 US cent per SNP. The use of genome wide scans is already beginning to yield exciting new genes in other complex genetic traits, such as diabetes.⁷⁶ The new technology will enable increasingly large panels of polymorphisms, as well as gene expression levels and, eventually, proteins and metabolic profiles to be studied simultaneously. Funding for future work should be prioritised for those study proposals demonstrating sufficient power to answer the question being addressed, although the increasing problem of multiple testing and the difficulties in having large numbers of replicate clinical cohorts will make the task no less challenging.

In conclusion, osteoporosis is a perfect example of a complex genetic trait. The associated phenotypes studied thus far have heritabilities of 50-80% and a large number of genes are likely to be involved in its pathogenesis. Several candidate genes have been identified but their individual effects are small. Many genome-wide linkage scans have been performed but the results are inconsistent - underlining some of the difficulties in pinpointing the genes - and suggest that to maximise the chances of gene discovery a full range of phenotypes and methods will need to be utilised. Regardless of the methods employed, combining datasets will be essential to obtain sufficient power. This means national and international collaboration will play a vital role in taking forward the work done so far.

Correspondence to:

Tim D Spector
Twin Research & Genetic Epidemiology Unit,
St Thomas' Hospital
London SE1 7EH, UK
E-mail: tim.spector@kcl.ac.uk

References:

1. Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, Yeates MG, Sambrook PN, Eberl S. Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. *J Clin Invest* 1987; 80:706-710.
2. Smith DM, Nance WE, Kang KW, Christian JC, Johnston CC. Genetic factors in determining bone mass. *J Clin Invest* 1973; 52:2800-2808.
3. Gueguen R, Jouanny P, Guillemin F, Kuntz C, Pourel J, Siest G. Segregation analysis and variance components analysis of bone mineral density in healthy fa-

- milies. *J Bone Miner Res* 1995; 10:2017-2022.
4. Krall EA, Dawson-Hughes B. Heritable and life-style determinants of bone mineral density. *J Bone Miner Res* 1993; 8:1-9.
 5. Arden NK, Baker J, Hogg C, Baan K, Spector TD. The heritability of bone mineral density, ultrasound of the calcaneus and hip axis length: a study of postmenopausal twins. *J Bone Miner Res* 1996; 11:530-534.
 6. Arden NK, Spector TD. Genetic influences on muscle strength, lean body mass, and bone mineral density: a twin study. *J Bone Miner Res* 1997; 12:2076-2081.
 7. Hunter D, de Lange M, Snieder H et al. Genetic contribution to bone metabolism, calcium excretion, and vitamin D and parathyroid hormone regulation. *J Bone Miner Res* 2001; 16:371-378.
 8. Garnero P, Arden NK, Griffiths G, Delmas PD, Spector TD. Genetic influence on bone turnover in postmenopausal twins. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:140-146.
 9. Kaprio J, Rimpela A, Winter T, Viken RJ, Rimpela M, Rose RJ. Common genetic influences on BMI and age at menarche. *Hum Biol* 1995; 67:739-753.
 10. Snieder H, MacGregor AJ, Spector TD. Genes control the cessation of a woman's reproductive life: a twin study of hysterectomy and age at menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:1875-1880.
 11. Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS et al. Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med* 1995; 332:767-773.
 12. Torgerson DJ, Campbell MK, Thomas RE, Reid DM. Prediction of perimenopausal fractures by bone mineral density and other risk factors. *J Bone Miner Res* 1996; 11:293-297.
 13. Deng HW, Chen WM, Recker S et al. Genetic determination of Colles' fracture and differential bone mass in women with and without Colles' fracture. *J Bone Miner Res* 2000; 15:1243-1252.
 14. Keen RW, Snieder H, Molloy H et al. Evidence of association and linkage disequilibrium between a novel polymorphism in the transforming growth factor beta 1 gene and hip bone mineral density: a study of female twins. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40:48-54.
 15. Xiong D, Wang W, Chen Y, Jiang H, Deng HW. Genetic determination in onset age of wrist fracture. *J Hum Genet* 2007; 52:481-484.
 16. Livshits G, Kato BS, Zhai G et al. Genomewide linkage scan of hand osteoarthritis in female twin pairs showing replication of quantitative trait loci on chromosomes 2 and 19. *Ann Rheum Dis* 2007; 66:623-627.
 17. Andrew T, Antoniadou L, Scurrah KJ, MacGregor AJ, Spector TD. Risk of wrist fracture in women is heritable and is influenced by genes that are largely independent of those influencing BMD. *J Bone Miner Res* 2005; 20:67-74.
 18. Knapp KM, Andrew T, MacGregor AJ, Blake GM, Fogelman I, Spector TD. An investigation of unique and shared gene effects on speed of sound and bone density using axial transmission quantitative ultrasound and DXA in twins. *J Bone Miner Res* 2003; 18:1525-1530.
 19. Huang QY, Recker RR, Deng HW. Searching for osteoporosis genes in the post-genome era: progress and challenges. *Osteoporos Int* 2003; 14:701-715.
 20. Reich DE, Cargill M, Bolk S et al. Linkage disequilibrium in the human genome. *Nature* 2001; 411:199-204.
 21. Klein RF, Mitchell SR, Phillips TJ, Belknap JK, Orwoll ES. Quantitative trait loci affecting peak bone mineral density in mice. *J Bone Miner Res* 1998; 13:1648-1656.
 22. Klein RF, Allard J, Avnur Z et al. Regulation of bone mass in mice by the lipoxigenase gene *Alox15*. *Science* 2004; 303:229-232.
 23. Devoto M, Shimoya K, Caminis J et al. First-stage autosomal genome screen in extended pedigrees suggests genes predisposing to low bone mineral density on chromosomes 1p, 2p and 4q. *Eur J Hum Genet* 1998; 6:151-157.
 24. Ichikawa S, Koller DL, Johnson ML et al. Human *ALOX12*, but not *ALOX15*, is associated with BMD in white men and women. *J Bone Miner Res* 2006; 21:556-564.
 25. Urano T, Shiraki M, Fujita M et al. Association of a single nucleotide polymorphism in the lipoxigenase *ALOX15* 5'-flanking region (-5229G/A) with bone mineral density. *J Bone Miner Metab* 2005; 23:226-230.
 26. Devoto M, Specchia C, Li HH et al. Variance component linkage analysis indicates a QTL for femoral neck bone mineral density on chromosome 1p36. *Hum Mol Genet* 2001; 10:2447-2452.
 27. Niu T, Chen C, Cordell H et al. A genome-wide scan for loci linked to forearm bone mineral density. *Hum Genet* 1999; 104:226-233.
 28. Koller DL, Econs MJ, Morin PA et al. Genome screen for QTLs contributing to normal variation in bone mineral density and osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:3116-3120.
 29. Koller DL, Liu G, Econs MJ et al. Genome screen for quantitative trait loci underlying normal variation in femoral structure. *J Bone Miner Res* 2001; 16:985-991.
 30. Karasik D, Myers RH, Cupples LA et al. Genome screen for quantitative trait loci contributing to normal variation in bone mineral density: the Framingham Study. *J Bone Miner Res* 2002; 17:1718-1727.
 31. Karasik D, Cupples LA, Hannan MT, Kiel DP. Age, gender, and body mass effects on quantitative trait loci for bone mineral density: the Framingham Study. *Bone* 2003; 33:308-316.
 32. Wilson SG, Reed PW, Bansal A et al. Comparison of genome screens for two independent cohorts provides replication of suggestive linkage of bone mineral density to 3p21 and 1p36. *Am J Hum Genet* 2003; 72:144-155.
 33. Styrkarsdottir U, Cazier JB, Kong A et al. Linkage of osteoporosis to chromosome 20p12 and association to *BMP2*. *PLoS Biol* 2003; 1:E69.
 34. Medici M, van Meurs JB, Rivadeneira F et al. *BMP-2*

- gene polymorphisms and osteoporosis: the Rotterdam Study. *J Bone Miner Res* 2006; 21:845-854.
35. Wilson SG, Reed PW, Andrew T et al. A genome-screen of a large twin cohort reveals linkage for quantitative ultrasound of the calcaneus to 2q33-37 and 4q12-21. *J Bone Miner Res* 2004; 19:270-277.
 36. Karasik D, Myers RH, Hannan MT et al. Mapping of quantitative ultrasound of the calcaneus bone to chromosome 1 by genome-wide linkage analysis. *Osteoporos Int* 2002; 13:796-802.
 37. Karasik D, Cupples LA, Hannan MT, Kiel DP. Genome screen for a combined bone phenotype using principal component analysis: the Framingham study. *Bone* 2004; 34:547-556.
 38. Liu YZ, Liu YJ, Recker RR, Deng HW. Molecular studies of identification of genes for osteoporosis: the 2002 update. *J Endocrinol* 2003; 177:147-196.
 39. Morrison NA, Qi JC, Tokita A et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 1994; 367:284-287.
 40. Arai H, Miyamoto K, Taketani Y et al. A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. *J Bone Miner Res* 1997; 12:915-921.
 41. Arai H, Miyamoto KI, Yoshida M et al. The polymorphism in the caudal-related homeodomain protein Cdx-2 binding element in the human vitamin D receptor gene. *J Bone Miner Res* 2001; 16:1256-1264.
 42. Fang Y, van Meurs JB, d'Alesio A et al. Promoter and 3'-untranslated-region haplotypes in the vitamin D receptor gene predispose to osteoporotic fracture: the rotterdam study. *Am J Hum Genet* 2005; 77:807-823.
 43. Uitterlinden AG, Ralston SH, Brandi ML et al. The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2006; 145:255-264.
 44. Mann V, Hobson EE, Li B et al. A COL1A1 Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. *J Clin Invest* 2001; 107:899-907.
 45. Beavan S, Prentice A, Dibba B, Yan L, Cooper C, Ralston SH. Polymorphism of the collagen type I α 1 gene and ethnic differences in hip-fracture rates. *N Engl J Med* 1998; 339:351-352.
 46. McGuigan FE, Reid DM, Ralston SH. Susceptibility to osteoporotic fracture is determined by allelic variation at the Sp1 site, rather than other polymorphic sites at the COL1A1 locus. *Osteoporos Int* 2000; 11:338-343.
 47. McGuigan FE, Armbrrecht G, Smith R, Felsenberg D, Reid DM, Ralston SH. Prediction of osteoporotic fractures by bone densitometry and COL1A1 genotyping: a prospective, population-based study in men and women. *Osteoporos Int* 2001; 12:91-96.
 48. Kobayashi S, Inoue S, Hosoi T, Ouchi Y, Shiraki M, Orimo H. Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen receptor gene. *J Bone Miner Res* 1996; 11:306-311.
 49. Weel AE, Uitterlinden AG, Westendorp IC et al. Estrogen receptor polymorphism predicts the onset of natural and surgical menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:3146-3150.
 50. Ioannidis JP, Stavrou I, Trikalinos TA et al. Association of polymorphisms of the estrogen receptor alpha gene with bone mineral density and fracture risk in women: a meta-analysis. *J Bone Miner Res* 2002; 17:2048-2060.
 51. Albagha OM, Pettersson U, Stewart A et al. Association of oestrogen receptor alpha gene polymorphisms with postmenopausal bone loss, bone mass, and quantitative ultrasound properties of bone. *J Med Genet* 2005; 42:240-246.
 52. Ioannidis JP, Ralston SH, Bennett ST et al. Differential genetic effects of ESR1 gene polymorphisms on osteoporosis outcomes. *JAMA* 2004; 292:2105-2114.
 53. Dick IM, Devine A, Prince RL. Association of an aromatase TTTA repeat polymorphism with circulating estrogen, bone structure, and biochemistry in older women. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288:E989-E995.
 54. Gennari L, Masi L, Merlotti D et al. A polymorphic CYP19 TTTA repeat influences aromatase activity and estrogen levels in elderly men: effects on bone metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2803-2810.
 55. Andrew T, Mak YT, Reed P, MacGregor AJ, Spector TD. Linkage and association for bone mineral density and heel ultrasound measurements with a simple tandem repeat polymorphism near the osteocalcin gene in female dizygotic twins. *Osteoporos Int* 2002; 13:745-754.
 56. Uitterlinden AG, Weel AE, Burger H et al. Interaction between the vitamin D receptor gene and collagen type I α 1 gene in susceptibility for fracture. *J Bone Miner Res* 2001; 16:379-385.
 57. Tofteng CL, Kindmark A, Brandstrom H et al. Polymorphisms in the CYP19 and AR genes—relation to bone mass and longitudinal bone changes in postmenopausal women with or without hormone replacement therapy: The Danish Osteoporosis Prevention Study. *Calcif Tissue Int* 2004; 74:25-34.
 58. Mak YT, Hampson G, Beresford JN, Spector TD. Variations in genome-wide gene expression in identical twins - a study of primary osteoblast-like culture from female twins discordant for osteoporosis. *BMC Genet* 2004; 5:14.
 59. Reneland RH, Mah S, Kammerer S et al. Association between a variation in the phosphodiesterase 4D gene and bone mineral density. *BMC Med Genet* 2005; 6:9.
 60. Spector TD, MacGregor AJ. Risk factors for osteoarthritis: genetics. *Osteoarthritis Cartilage* 2004; 12 Suppl A:S39-S44.
 61. Valdes AM, Hart DJ, Jones KA et al. Association study of candidate genes for the prevalence and progression of knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2004;

- 50:2497-2507.
62. Valdes AM, Hassett G, Hart DJ, Spector TD. Radiographic progression of lumbar spine disc degeneration is influenced by variation at inflammatory genes: a candidate SNP association study in the Chingford cohort. *Spine* 2005; 30:2445-2451.
 63. Zhao LJ, Liu YJ, Liu PY, Hamilton J, Recker RR, Deng HW. Relationship of obesity with osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:1640-1646.
 64. Tang ZH, Xiao P, Lei SF et al. A Bivariate Whole-Genome Linkage Scan Suggests Several Shared Genomic Regions for Obesity and Osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007.
 65. Gong Y, Vikkula M, Boon L et al. Osteoporosis-pseudoglioma syndrome, a disorder affecting skeletal strength and vision, is assigned to chromosome region 11q12-13. *Am J Hum Genet* 1996; 59:146-151.
 66. Gong Y, Slee RB, Fukui N et al. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell* 2001;107:513-523.
 67. Johnson ML, Gong G, Kimberling W, Recker SM, Kimmel DB, Recker RB. Linkage of a gene causing high bone mass to human chromosome 11 (11q12-13). *Am J Hum Genet* 1997; 60:1326-1332.
 68. Little RD, Carulli JP, Del Mastro RG et al. A mutation in the LDL receptor-related protein 5 gene results in the autosomal dominant high-bone-mass trait. *Am J Hum Genet* 2002; 70:11-19.
 69. Janssens K, Gershoni-Baruch R, Guanabens N et al. Mutations in the gene encoding the latency-associated peptide of TGF-beta 1 cause Camurati-Engelmann disease. *Nat Genet* 2000; 26:273-275.
 70. Sobacchi C, Frattini A, Orchard P et al. The mutational spectrum of human malignant autosomal recessive osteopetrosis. *Hum Mol Genet* 2001; 10:1767-1773.
 71. Ferrari SL, Deutsch S, Choudhury U et al. Polymorphisms in the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) gene are associated with variation in vertebral bone mass, vertebral bone size, and stature in whites. *Am J Hum Genet* 2004; 74:866-875.
 72. Xiong DH, Lei SF, Yang F et al. Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) gene polymorphisms are associated with bone mass in both Chinese and whites. *J Bone Miner Res* 2007; 22:385-393.
 73. Langdahl BL, Carstens M, Stenkjaer L, Eriksen EF. Polymorphisms in the transforming growth factor beta 1 gene and osteoporosis. *Bone* 2003; 32:297-310.
 74. Sobacchi C, Vezzoni P, Reid DM et al. Association between a polymorphism affecting an AP1 binding site in the promoter of the TCIRG1 gene and bone mass in women. *Calcif Tissue Int* 2004; 74:35-41.
 75. Uitterlinden AG, Arp PP, Paepers BW et al. Polymorphisms in the sclerosteosis/van Buchem disease gene (SOST) region are associated with bone-mineral density in elderly whites. *Am J Hum Genet* 2004; 75:1032-1045.
 76. Sladek R, Rocheleau G, Rung J et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature* 2007; 445:881-885.

Jornadas de Outono da Sociedade Portuguesa de Reumatologia 2007

Vila Galé Clube de Campo, Beja.
05-07 de Outubro de 2007

Limite para envio de resumos:
15 de Setembro de 2007

ESPONDILITE ANQUILOSANTE
E SUA BASE GENÉTICA

F. M. Pimentel dos Santos,^{***} E. Bastos,^{**} D. Ligeiro,^{***} A. F. Mourão,^{*}
R. Chaves,^{**} H. Trindade,^{***} H. Guedes-Pinto,^{**} J. C. Branco^{*}

Resumo

A Espondilite Anquilosante (EA) é uma doença reumática inflamatória frequente na qual o componente hereditário parece ser relevante. A importância dos factores genéticos radica em grande parte no complexo *major* de histocompatibilidade (MHC). A associação estreita com o grupo de alelos HLA-B*27 tem vindo a ser descrita, desde há cerca de 30 anos, de forma consistente em diferentes regiões do globo. Estudos recentes demonstraram, no entanto, que outros genes, do MHC e não pertencentes ao MHC, poderão também estar implicados, quer na susceptibilidade, quer nas manifestações fenotípicas da doença. Por outro lado, vários estudos têm sido realizados sobre as diferentes hipóteses explicativas da fisiopatologia da doença, o que tem contribuído para um melhor conhecimento das suas bases genéticas. Este artigo de revisão tenta sumariar o estado actual do conhecimento nesta área. Os novos dados encontrados poderão, num futuro próximo, contribuir para modificar a avaliação destes doentes e perspectivar novas abordagens terapêuticas.

Palavras-chave: Espondilite Anquilosante; Genética; Complexo *Major* de Histocompatibilidade (MHC); Susceptibilidade; Fenótipo

Abstract

Ankylosing spondylitis (AS) is a common rheumatic condition, highly heritable. Much of the genetic contribution to the disease lies in the major histocompatibility complex (MHC). The association with the allele group HLA-B*27 has been described

worldwide for 30 years. On the other hand, genome wide scans have provided some interesting results showing that other MHC and non-MHC genes could be implicated either in disease susceptibility and phenotypic manifestations. Different hypothesis for disease pathophysiology have been investigated which contribute for a better understanding of the genetic basis of AS. This review aims to summarize the status of the knowledge in this exciting area. New data may, in a near future, change the screening of patients and generate new insights for the emergence of novel therapies.

Keywords: Ankylosing Spondylitis; Genetics; Major Histocompatibility Complex (MHC); Susceptibility; Phenotype

Introdução

A Espondilite Anquilosante (EA) é uma doença que se inicia habitualmente na segunda ou terceira década de vida, caracterizada pela inflamação da coluna e das articulações sacro-ilíacas, com erosões e posterior anquilose. O envolvimento de articulações periféricas, ocorre em cerca de 40% dos casos. O processo inflamatório pode ainda ter uma expressão sistémica com envolvimento da *entesis*, uvea, aorta, pulmões e rins.¹ O início em idades jovens e o envolvimento sistémico são factores condicionantes de incapacidade, com importante repercussão em termos individuais e sociais.

A prevalência da EA nos caucasianos é de 0,1 a 0,9%, sendo a segunda artrite inflamatória mais frequente, após a artrite reumatóide.^{2,3} Desconhece-se a exacta prevalência da doença em Portugal, embora uma publicação recente do «Observatório Nacional das Doenças Reumáticas» aponte para 0,6%, valor obtido a partir de um questionário em que foram avaliados 1.238 indivíduos.⁴

Os factores genéticos parecem exercer um papel essencial na doença, quer em termos de susceptibi-

^{*}Serviço de Reumatologia do CHLO EPE, Hospital de Egas Moniz

^{**}Centro de Genética e Biotecnologia da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Instituto de Biotecnologia e Bioengenharia (CGB-UTAD/IBB)

^{***}Centro de Histocompatibilidade do Sul

lidade – a concordância em gémeos idênticos é superior a 90%,⁵ quer em termos da sua actividade e da incapacidade funcional provocada – em que a repercussão é de 51% e 68%, respectivamente.⁶ O Complexo *Major* de Histocompatibilidade (MHC) e o grupo alélico HLA-B*27 em particular, têm de forma continuada, vindo a ser referidos como conferindo uma forte susceptibilidade para a doença.⁷⁻⁹ Estudos recentes de análise global do genoma e de *microarrays* confirmam a associação do MHC com a EA, mas apontam para a possibilidade de outros genes não pertencentes ao MHC conferirem susceptibilidade ou condicionarem a sua expressão fenotípica.¹⁰⁻¹² Não se pode ainda excluir a influência de outros factores entre os quais os ambientais.

Nesta revisão pretende-se descrever os principais genes, pertencentes ao MHC e não pertencentes ao MHC, que parecem estar potencialmente envolvidos na EA.

Os Genes do MHC

Todos os vertebrados possuem uma região no genoma designada Complexo *Major* de Histocompatibilidade (MHC). Em humanos o MHC está localizado no braço curto do cromossoma 6 (6p21.3) numa região muito densa em genes da resposta imunitária. Na figura 1, apresenta-se o mapa físico desta região, com os vários *loci* representados. Aqui encontram-se os genes que codificam para as proteínas dos antígenos de histocompatibilidade da classe I e II. Existe ainda uma região intermédia designada como MHC classe III, que contém genes com papel relevante no processo inflamatório. As moléculas da classe I e II apresentam regiões definidas por domínios polimórficos ($\alpha 1$, $\alpha 2$ e $\alpha 1$, $\beta 1$ respectivamente) e por

domínios constantes ($\alpha 3$, e $\alpha 2$, $\beta 1$, respectivamente), como representado esquematicamente na figura 2. Uma perspectiva tridimensional das moléculas classe I está representada na figura 3. Estas moléculas têm um importante papel no processamento e apresentação de antígenos ao receptor das células T (TCR), permitindo a elaboração de respostas imunes antígeno específicas.

Cada classe do MHC é representada por mais de um *locus*, sendo designados, em *Homo sapiens*, de HLA (*Human Leucocyte Antigen*). Os principais *loci* da classe I são os HLA-A, -B e -C que são expressos na maioria das células nucleadas. Na classe II destacam-se os *loci* HLA-DR, -DQ e -DP (Figura 1) de expressão restrita a células B e apresentadoras «profissionais» de antígenos (células dendríticas de Langerhans).

HLA-B

De acordo com a informação de Janeiro de 2007, disponível na base de dados IMGT/HLA (www.ebi.ac.uk/imgt/hla), o *locus* HLA-B possui 851 alelos diferentes e entre eles destacam-se, pela sua correlação com a etiopatogenia da EA, os 43 subtipos pertencentes ao HLA-B*27. O alinhamento das vá-

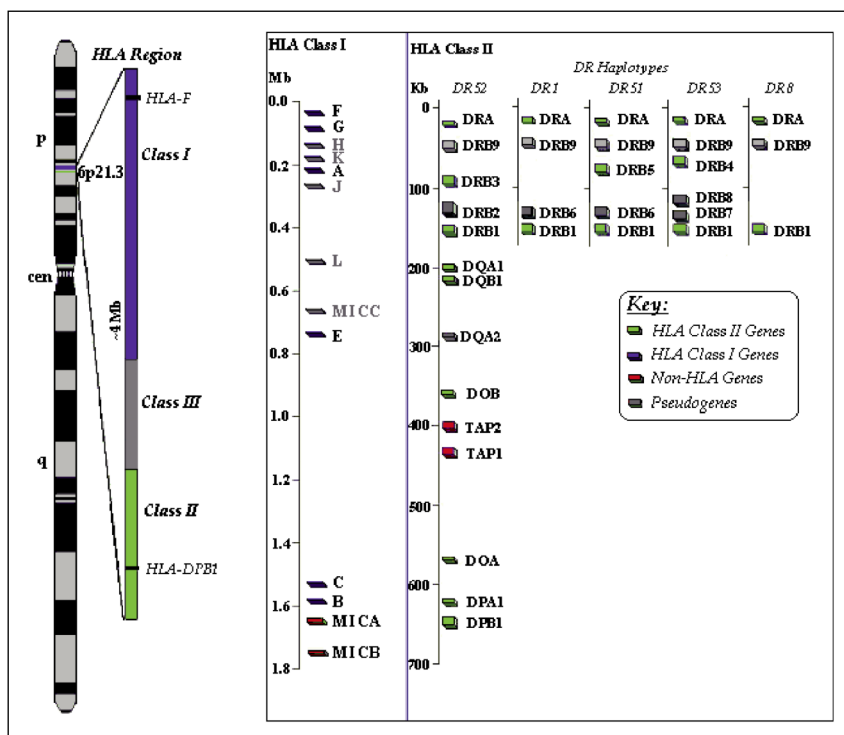


Figura 1. Representação das classes I, II e III do HLA, no cromossoma 6 (Adaptado de www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mhc).

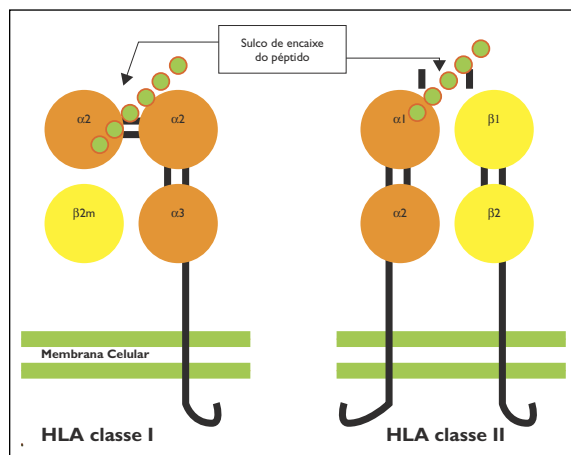


Figura 2. Representação esquemática das moléculas classe I e II do Complexo Major de Histocompatibilidade

rias sequências permite identificar, em detalhe, as diferenças nos nucleótidos de todos os alelos.

Os diferentes subtipos do B27 têm uma distribuição populacional variável, encontrando-se o B*2705 na generalidade das populações. Os subtipos mais frequentes (HLA-B*2705, B*2702, B*2704, B*2707) conferem claramente susceptibilidade para a EA.¹³ O B*2706, apenas identificado em algumas populações do Sudeste Asiático e o B*2709 descrito na população da Sardenha e em Italianos continentais, parecem pelo contrário, estar negativamente associados à EA.^{14,15} A distribuição dos alelos B*2701, 10, 11, 12, 13 continua a ser desconhecida, não se sabendo se existe associação com a EA por serem raros.¹⁶ Em Portugal, a avaliação da frequência das especificidades HLA (cf. Quadro I), numa população de doentes com EA (n=50) e numa população controlo de doadores voluntários de medula óssea (n= 174) revelou uma prevalência de B27 em 86% e 9,2% (p<0,0001), respectivamente. A distribuição das especificidades alélicas do HLA-B*27 parece porém ser similar nos dois grupos, sendo o alelo B*2705 o mais frequente. O facto de o alelo B*2707 ter sido detectado sómente na população livre de doença deverá ser comprovado na extensão do estudo (trabalho em decurso). Nos doentes portugueses com EA o B*27 é mais frequentemente veiculado pelos haplotipos A*2 B*27 Cw*2 DRB1*01 DQB1*05 (5.6%), A*24 B*27 Cw*2 DRB1*04 DQB1*03 (4.5%) e A*2 B*27 Cw*7 DRB1*13 DQB1*06 (4.5%). (dados não publicados).

O grupo HLA-B*27 parece ser, de facto, o mais relevante na susceptibilidade para a EA, mas muitas questões continuam por esclarecer. Tem sido

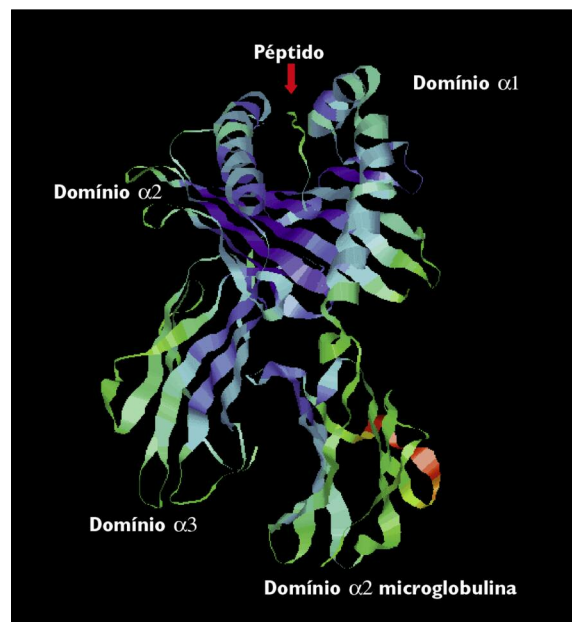


Figura 3. Estrutura de uma molécula de MHC de classe I ligada a um péptido. Imagem criada a partir do ficheiro 1HSA (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=Domains>) e recorrendo ao software RasMol (<http://www.rasmol.org/>).

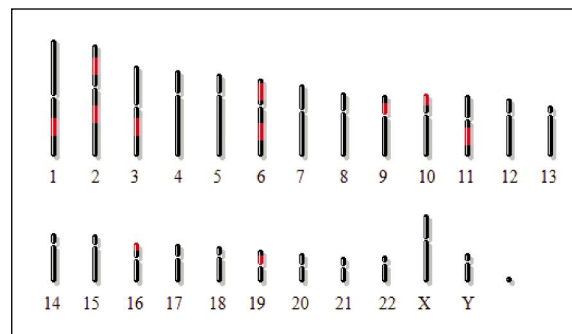


Figura 4. Representação esquemática das regiões cromossómicas identificadas como relevantes para a EA (adaptada de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, com base nos artigos 10-12).

apontado que mais de 95% dos indivíduos caucásianos com a doença, são HLA-B*27 positivos¹⁷ com diferentes subtipos.^{18,19} Curiosamente, na população geral, só 1-5% dos indivíduos HLA-B*27 positivos desenvolvem a doença e a sua presença, *per se*, não explica a recorrência em termos familiares.²⁰ O contributo do HLA-B*27 para a susceptibilidade parece oscilar apenas entre 20-50%.⁵ Assim, a exacta função desta especificidade do HLA-B na fisiopatologia da entidade e o factor ou factores envolvidos na etiologia da EA, são aspectos que continuam a ser desconhecidos.

Quadro I. Distribuição da especificidade HLA-B*27 e alelos em doentes com EA e em controlos saudáveis portugueses

Frequência da especificidade HLA-B*27				
	EA	População		OR
	N= 50 (%)	Controlo	p	(95% IC)
		N=174 (%)		
B*27+	43 (86)	16 (9,2)	p<0,0001	38,6 (16,7-89,3)
Distribuição de frequências dos alelos HLA B*27				
	EA	População		
	N= 43 (%)	Controlo	p	
		N=16 (%)		
B*2702	5 (11,6)	1 (6,3)	ns	
B*2705	38 (88,4)	13 (81,3)	ns	
B*2707	0 (0)	2 (12,5)	ns	

A proteína expressa como HLA B27 apresenta propriedades estruturais semelhantes a outras moléculas da classe I, mas características únicas na ligação a péptidos. Comparativamente com outras moléculas da classe I, a proteína codificada pelo grupo de alelos B*27 é particularmente eficaz na apresentação de antígenos como foi demonstrada no *clearance* do vírus da Hepatite C²¹ e na diminuição da progressão da infecção do vírus da Imunodeficiência Humana.²² Esta função e os aspectos particulares que envolve a fase inicial da sua síntese, nomeadamente a tendência para o *misfolding*²³ e a formação de homodímeros,²⁴⁻²⁶ são aspectos que poderão ter relevância na explicação dos mecanismos patogénicos em que se envolve. Estas e outras propriedades moleculares do B27 têm motivado a elaboração de diversas hipóteses explicativas do seu papel patogénico como a seguir se descrevem:

a) Péptido Artrítico: A forte associação entre a EA e o grupo alélico HLA-B*27 suscitou a hipótese de que a proteína codificada pudesse, ela própria, ter um papel activo na fisiopatologia da doença. Este modelo é baseado na função habitual de apresentação de péptidos endógenos, pelas moléculas HLA da classe I, às células T.¹³ A infecção por uma bactéria potencialmente patogénica levaria à ligação e apresentação de um «péptido artrítico» pelo HLA B27. A proliferação de clones de células T CD8⁺ motivariam a ocorrência de reacções cruzadas e o desencadear da doença.¹³

b) Mimetismo Molecular: Numa versão inicial apontava-se que anticorpos para antígenos estra-

nhos ao *self* teriam uma reacção cruzada com a proteína HLA B27 o que promoveria o desencadear da doença.²⁷ Uma variante a esta formulação inicial é a teoria da homologia de péptidos em que um péptido artrítico autólogo é produzido em níveis baixos. Um estímulo infeccioso poderia sensibilizar as células T que, por reacção cruzada com o péptido expresso em níveis baixos, desencadeariam uma resposta imune.^{22,28}

c) Aumento do nível de expressão do HLA B27: Em ratos transgénicos para o HLA B27 e $\beta 2$ microglobulina humana documentou-se que o grau de susceptibilidade para o desenvolvimento de espondiloartropatia se correlacionava com o nível de expressão do B*27, em termos de mRNA e de proteínas.²⁹ Em humanos

a análise da distribuição dos diferentes alelos B*27 associados à doença revelou não existirem diferenças nas frequências destes entre doentes e a população saudável³⁰ embora a frequência de B*27 seja claramente superior na população doente. Tal como nos modelos animais, foi descrita uma maior expressão do HLA B27 nos doentes com EA, comparativamente aos indivíduos saudáveis, pelo que se supôs que o nível de expressão do B27 à superfície das células pudesse ter um papel importante no processo imune.³¹ Este aumento da expressão poderia determinar um aumento do *misfolding* de cadeias pesadas (da proteína expressa pelo HLA-B*27), uma sobrecarga no retículo endoplasmático, a activação do NF κ B e assim a produção de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α e a IL-1.³² Foi assim proposto que o aumento do nível de expressão do HLA B27 fosse considerado como um factor de susceptibilidade para a EA mas sem aparente influência nos índices de actividade ou gravidade da doença.³¹

d) Alteração do Self: O modelo de alteração do *self* prende-se com a alteração da cisteína (cys 67) da proteína B27. A formação de uma ponte dissulfeto entre estes resíduos (cys 67) leva à formação de homodímeros de cadeias pesadas.³³ As condições que podem motivar a ocorrência destes homodímeros são o excesso de cadeias pesadas³⁴ ou a deficiência de $\beta 2$ microglobulina, como acontece nos ratos transgénicos para o HLA B27 e para a $\beta 2$ microglobulina humana.³⁵ Não se sabe como é que esta alteração poderá induzir a ocorrência de EA, sendo interessante avaliar a formação de homodí-

meros de cadeias pesadas nos diferentes subtipos de B27 (associados e não associados à doença).

e) Deposição de $\beta 2$ microglobulina: A dissociação de B27 à superfície da membrana celular poderia motivar uma libertação crónica, em baixos níveis, de $\beta 2$ microglobulina, que sendo captada pela sinovial, poderia conduzir a inflamação crónica.³⁶

Outros genes do MHC

A combinação de determinados alelos da região do MHC numa frequência superior à que seria esperada, desequilíbrio de ligação, envolvendo os alelos HLA-B*27 e outros localizados nesta região, pode dificultar o estudo de genes de susceptibilidade a esta doença.¹³

O **HLA-B*60** foi indicado como aumentando em três vezes a probabilidade de desenvolvimento de EA nos indivíduos B27 positivos.³⁷ Hoje, pensa-se que este alelo ou outro em desequilíbrio de ligação a ele associado, possa actuar de forma independente do B27 aumentando a susceptibilidade para EA.³⁸

Os polimorfismos do promotor do gene do **TNF- α** (sobretudo o TNF -308 e o -238) têm vindo a mostrar resultados controversos. Em diversos estudos efectuados não se encontrou nenhuma associação entre os polimorfismos específicos do promotor do gene do TNF- α e a EA, mas em todos eles o número de doentes avaliados foi pequeno.³⁹⁻⁴⁴ Em termos funcionais, foi descrito inicialmente uma significativa redução da frequência dos alelos -308 A e -238 A nos doentes B27 positivos, comparativamente à população controlo (indivíduos saudáveis, B27 positivos ou negativos).⁴² Num estudo posterior, realizado em duas populações distintas (do sul da Alemanha e do Reino Unido), chegou-se a resultados diferentes. Na população alemã detectou-se uma redução significativa da frequência do alelo -308 A, mas não do alelo -238 A. Na população do Reino Unido não se verificou redução de nenhum. Conclui-se que estes polimorfismos não parecem exercer, por si só, um papel na susceptibilidade para a doença.⁴⁵ Um estudo realizado na população espanhola coloca no entanto a hipótese de que este polimorfismo possa influenciar a susceptibilidade para a doença nos indivíduos B27 negativos. O polimorfismo do TNF -238 A encontrava-se em 50% dos doentes B27 negativos, valor significativamente mais elevado que nos doentes B27 positivos e no grupo controlo B27 negativos.⁴⁶ Esta ideia foi posteriormente refutada

por um estudo realizado na população holandesa no qual se mostrou que nem o polimorfismo -238 nem o -376 do TNF- α , se associavam à EA de forma independente do B27.⁴³ Na avaliação do possível contributo dos polimorfismos do gene do TNF- α para a susceptibilidade à EA, em função dos diferentes sub-tipos B27, conclui-se também não existirem diferenças entre doentes EA e indivíduos saudáveis B27 positivos. A maioria dos haplotipos HLA-B*27 estavam associados aos polimorfismos *wild type* do TNF- α (-238,2 e -308,2) e as suas frequências alélicas eram semelhantes na população de controlo (B27 negativa) e na população B27 positiva.¹⁶ Finalmente a análise da influência dos polimorfismos do promotor do TNF- α nos níveis de transcrição,^{47,48} conduziu a resultados muito contraditórios. Continua assim a ser difícil tirar conclusões acerca da relevância deste gene na fisiopatologia da doença.

Algumas especificidades do **HLA classe II** têm também sido implicadas na susceptibilidade para a EA e eventualmente influenciar o fenótipo dos doentes. Os resultados obtidos revestem-se de alguma controvérsia. Uma significativa associação entre DRB1*01 e a EA e uma fraca, mas significativa, associação entre DRB1*08 (sobretudo nos indivíduos homozigóticos) e a EA, foi estabelecida independentemente do HLA-B*27.⁷ O DRB1*01 parece ainda estar associado às formas esporádicas da doença, nos indivíduos HLA-B*27 negativos⁴⁹ o mesmo acontecendo para alguns polimorfismos do LMP2.⁵⁰ Em termos da sua influência ao nível fenotípico o polimorfismo LMP2 BB parece associar-se a maior probabilidade de ocorrência de uveíte anterior aguda;^{51,52} os resultados são controversos em relação ao envolvimento articular periférico.^{50,53} Se aparentemente não parecem existir diferenças nas frequências antigénicas dos doentes com envolvimento articular periférico ou axial, a maioria dos doentes com artrite periférica erosiva parecem ser DRB1*07 positivos. É assim possível que este alelo, ou outros estreitamente ligados, possa influenciar este tipo de envolvimento.⁵⁴ O HLA-DRB1*07 parece ainda associar-se a uma idade mais jovem para o início da doença,⁷ sendo duvidoso se alguns polimorfismos do LMP2 exercerão também, neste aspecto, alguma influência.⁵⁵

Genes Não – MHC Associados à EA

Estudos recentes, baseados na análise sistemática

do genoma humano, confirmaram a existência de *locus*, com possível relevância na susceptibilidade para a EA nas regiões cromossômicas 2p, 2q, 3p, 10q, 11p, 16q¹⁰ ou 1p, 2q, 6p, 9q, 10q, 16q, 19q.¹² A região 16q tem-se evidenciado de forma universal nos vários estudos efectuados.^{10,12,56} A figura 4 esquematiza as diversas regiões cromossômicas com relevância para a EA. Para além da susceptibilidade também as manifestações clínicas da EA poderão ter uma componente hereditária. Assim a actividade da doença foi associada a uma região no cromossoma 18p, a incapacidade funcional a uma região no cromossoma 2q, a idade para início da doença a uma região no cromossoma 11p⁵⁷ e a uveíte aguda anterior foi associada a uma região no cromossoma 9p⁵⁸ (cf. Quadro I). Estes dados são bons indicadores das regiões cromossômicas onde terá maior interesse a pesquisa de genes candidatos. Foram já identificados os genes *MNDA* (*myeloid nuclear differentiation antigen* - um modulador da transcrição e marcador de monócitos e macrófagos na inflamação crónica), o *CXCR4/SDF-1* (*stromal-derived factor 1* - poderá constituir um potencial eixo pró-inflamatório na EA)¹¹ para além dos genes do complexo da IL-1,⁵⁹⁻⁶² e o do *CYP2D6* (citocromo P450 debrisoquina 4-hidroxilase),^{63,64} com associações confirmadas, e os do *ANKH* (*ANK, Mouse Homolog*)^{65,66} *MMP3* (*Matrix Metalloproteinase 3*),⁶⁷ *TGF-β* (*Transforming Growth Fac-*

tor),^{68,69} *TCR4* (*Toll-Like Receptor*),¹² com possível associação, à EA (cf. Quadro II).

O complexo do gene da **IL-1**, localizado no cromossoma 2p13, inclui os genes *IL-1A* e *IL-1B* (codificam as citocinas pró-inflamatórias *IL-1α* e *IL-1β* respectivamente) e *IL-1RN* (codifica uma molécula *IL-1Ra* com propriedades anti-inflamatórias que compete com as *IL-1α* e *IL-1β*) para além de mais seis genes. Assumem a seguinte ordenação do centrómero para o telómero, *IL-1A*, *IL-1B*, *IL-1F7*, *IL-1F9*, *IL-1F6*, *IL-1F8*, *IL-1F75*, *IL-1F10*, *IL-1RN*, ocupando uma região de ~360 Kb.⁷⁰ A importância das proteínas codificadas por estes genes na inflamação e na defesa do hospedeiro, fez com que diversos autores estudassem o seu papel na EA. Obtiveram-se resultados contraditórios de associações à EA para um número variável de sequências repetitivas dispostas em tandem localizadas no intrão 2^{59,62,71} e para dois polimorfismos localizados no exão 6 do *IL-1RN*.⁶⁰ Um trabalho recente demonstrou que a *IL-1B-511* e a *IL-1F10-3* estão fortemente associadas com a EA, quer através de estudos de famílias quer de caso-controlo.⁶¹

Os polimorfismos do gene **MMP3**, cujo *locus* está localizado em 11q23, não parecem associar-se à EA, apesar deste gene se encontrar numa das regiões identificadas como relevante nos estudos de análise global do genoma e de se ter verificado que elevados níveis de expressão da *MMP3* nas biópsias sinoviais se correlacionavam com maior actividade da doença.⁶⁷

O gene codificante do **TGF-β** está localizado no locus 19q13.1. Esta citocina parece ter um papel crucial na neo-formação óssea pelo que o seu estudo detalhado, poderá abrir uma nova perspectiva terapêutica, no sentido de contribuir para evitar a anquilose. O polimorfismo *TGF-β1 869 C* foi associado a ossificação do ligamento longitudinal posterior na coluna cervical e com sindesmofitose num grupo de doentes Japoneses.^{68,69} As variantes *TGF-β1 713-8delC*,⁷² *TGF-β1 869T*⁷³ e *TGF-β1 869 C*⁷⁴ parecem associar-se a osteoporose, um problema relevante dos doentes com EA. No entanto, o estudo dos polimorfismos *T869C* e *G915C* não mostraram associar-se a maior susceptibilidade para a doença nem a início de sintomatologia em idade mais jovem.⁷⁵

O gene **ANKH** está localizado no locus 5p14.1-p15.2. Recentemente, foi identificada uma proteína transmembranar, denominada *ANK*, que exporta pirofosfato inorgânico (ppi), um importante inibidor da calcificação, dos compartimentos

Quadro II. Potenciais correlações existentes entre os diferentes segmentos cromossômicos e as manifestações fenotípicas da doença

Segmento Cromossômico	Fenótipo
cromossoma 18p	Actividade Doença
cromossoma 11p	Início em idade jovem
cromossoma 2q	Incapacidade Funcional
cromossoma 9p	Uveíte anterior aguda

Quadro III. Genes não MHC e EA

Consistentemente Associados	Inconsistentemente Associados
<i>CYP2D6</i>	<i>IL-1R</i> antagonista <i>IL-6</i> , <i>IL-10</i>

intracelular para o extracelular.⁷⁶ Uma mutação espontânea no *locus* da anquilose progressiva do rato (ank) origina nos homozigóticos uma forma progressiva de artrite generalizada acompanhada por deposição de mineral e formação aberrante de osso novo, resultando em anquilose e eventual destruição articular,⁶⁶ muito semelhante à EA do humano. Este gene foi implicado na condrocalcinose^{77,78} (forma familiar autossómica dominante) (OMIM 118600) e na displasia craniometafisária^{79,80} (forma autossómica dominante) (OMIM 123000). Várias variantes do ANKH foram associadas à susceptibilidade para EA,⁷⁶ contudo, os resultados necessitam de confirmação em amostras de maiores dimensões.⁶⁵ É possível que o ANKH não esteja apenas relacionado com a susceptibilidade mas também com a gravidade da anquilose óssea.

O gene **CYP2D6** está localizado no cromossoma 22q13.1. O polimorfismo CYP2D6*4 parece estar presente em, aproximadamente, 5 a 10% dos caucasianos, levando a um baixo metabolismo oxidativo dos fármacos (denominado «poor metabolizer», pm). Este fenótipo pode estar associado a pelo menos 15 variantes alélicas do CYP2D6, 75% das quais são CYP2D6*4 homozigóticos,⁸¹ tendo sido associadas a diversas situações patológicas como a doença de Parkinson,⁸² a neoplasias,⁸³ à esclerose sistémica⁸⁴ e ao lúpus.⁸⁵ Uma associação significativa foi observada entre homozigóticos e a EA. Pelo contrário, o risco de desenvolver a doença em indivíduos heterozigóticos não está aumentado.⁶³ O mecanismo de acção exacto não está claro, mas ilustra a importância que a incapacidade do metabolismo xenobiótico pode ter na fisiopatologia das doenças inflamatórias.

O gene **TLR4** está localizado no locus 9q32-q33. Alguns polimorfismos deste gene poderão estar associados à EA¹² assim como o **CD14-206T** (*cluster of differentiation 14*)⁸⁶⁻⁸⁸ e uma mutação na posição 3020 do gene CARD15⁸⁹⁻⁹² a doenças intestinais inflamatórias. Estes dados colocam em evidência a função do sistema imune inato na patogenia desta doença. Esta evidência faz relançar a ideia de que os agentes infecciosos poderão, para além dos factores genéticos, exercer uma influência importante na patogenia da EA, à semelhança do que é conhecido para as artrites reactivas, embora nenhum agente tenha sido consistentemente associado à EA.⁹³ O CD14 e o TLR4 em conjunto com a proteína MD-2, fazem parte do complexo do receptor para os lipopolissacaridos (LPS- glicolípido específico das paredes celulares das

bactérias gram negativas). A ligação de LPS ao receptor emite um sinal transmembranar que condiciona a activação do NF- κ B e a consequente libertação de citocinas pró-inflamatórias, com início do processo inflamatório.⁹⁴ Outros agonistas, bacterianos e do hospedeiro, poderão ser reconhecidos pelo TLR4, como a *C trachomatis* e a HSP60 (*heat shock protein*),⁹⁵ o que reforça a ideia de que a Resposta Imunitária Inata pode ter um papel crucial no desequilíbrio dos passos iniciais da inflamação.

Conclusões

Os progressos na área da genómica humana, na análise integrada do genoma através de *microarrays* possibilitam hoje novas abordagens que muito poderão contribuir num futuro próximo para o esclarecimento do ou dos genes envolvidos na EA bem como do(s) seu(s) mecanismo(s) de acção.

Os diferentes genes poderão contribuir não só para a susceptibilidade como influenciar as manifestações e a gravidade da EA. A continuação da investigação nesta área abre perspectivas para que se possam vir a identificar os doentes com maior risco de progressão e incapacidade, bem como colocar em evidência novos alvos terapêuticos.

Correspondência para:

Fernando Pimentel dos Santos
Serviço de Reumatologia do CHLO EPE
Hospital de Egas Moniz, Lisboa
E-mail: pimentel.santos@gmail.com

Referências:

1. Brown MA, Wordsworth BP, Reveille JD. Genetics of ankylosing spondylitis. Clin Exp Rheumatol 2002; 20:S 43-49.
2. van der Linden S, Valkenburg H, Cats A. The risk of developing ankylosing spondylitis in HLA B27 positive individuals: a family and population study. Br J Rheumatol 1983; 22: 18-19.
3. Braun J, Bollow M, Remlinger G et al. Prevalence of spondyloarthropathies in HLA B27 positive and negative blood donors. Arthritis Rheum 1998; 41: 58-67.
4. Observatório Nacional de Doenças reumáticas (ONDOR). Relatório de Actividades 2003-2005. Porto: ONDOR; 2006.
5. Brown MA, Kennedy LG, Mac Gregor AJ et al. Susceptibility to ankylosing spondylitis in twins. The role of genes, HLA, and the environment. Arthritis Rheum 1997; 40: 1823.
6. Hamcrsma J, Cardon LR, Bradbury L et al. Is disease severity in ankylosing spondylitis genetically determi-

- ned? *Arthritis Rheum* 2001; 40: 1823-1828.
7. Brown MA, Kennedy LG, Darke C et al. The effect of HLA-DR genes on susceptibility to and severity of ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 460-465.
 8. Rubin LA, Amos CI, Wade JA et al. Investigating the genetic basis for ankylosing spondylitis. Linkage studies with the major histocompatibility complex region. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 1212-1220.
 9. Brewerton DA, Hart FD, Nicholls A, Caffrey M, James DC, Sturrock RD. Ankylosing spondylitis and HLA B27. *Lancet* 1973; 1: 904-907.
 10. Brown MA, Pile KD, Kennedy LG et al. A genome-wide screen for susceptibility loci in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 588-595.
 11. Gu J, Hermann M, Baeten D et al. A 588-gene microarray analysis of the peripheral blood mononuclear cells of spondyloarthropathy patients. *Rheumatology* 2002; 41: 759-766.
 12. Laval SH, Timms A, Edwards S et al. Whole-genome screening in Ankylosing spondylitis: Evidence of non-MHC genetic-susceptibility loci. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 918-926.
 13. Sims AM, Wordsworth BP, Brown MA. Genetic susceptibility to Ankylosing spondylitis. *Cur Mol Med* 2004; 4:13-20.
 14. López-Larrea C, Sujirachato K, Mehra NK et al. HLA-B27 subtypes in Asian patients with Ankylosing spondylitis. Evidence for new associations. *Tissue Antigens* 1995; 45: 169.
 15. Fiorillo MT, Cauli A, Carcassi C et al. Two distinctive HLA haplotypes harbor the B27 alleles negatively or positively associated with ankylosing spondylitis in Sardinia: implications for disease pathogenesis. *Arthritis Rheum*. 2003; 48: 1385-1389.
 16. Martinez-Borra J, Gonzalez S, López-Vazquez A et al. HLA-B27 alone rather than B27-related class I Haplotypes contributes to Ankylosing Spondylitis Susceptibility. *Hum Immunol* 2000; 61: 131-139.
 17. Thorsby E. Invited anniversary review: HLA associated disease. *Hum Immunol* 1997; 53: 1-11.
 18. Ramos M, Lopez de Castro JA. HLA B27 and the pathogenesis of spondyloarthritis. *Tissue Antigens* 2002; 60: 191-205.
 19. Arnas JB, Santas M, Peixoto MJ, Couto AR, Garret F. HLA and spondyloarthritis. *Int J Hum Genet* 2004; 4: 125-135.
 20. Brown MA, Laval SH, Brophy S, Calin A. Recurrence risk modelling of the genetic susceptibility to ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 883-886.
 21. Mckiernan SM, Hagan R, Curry M et al. Distinct MHC class I and II alleles are associated with hepatitis C viral clearance, originating from a single source. *Hepatology* 2004; 40: 108-114.
 22. Benjamin R, Parham P. Guilt by association: HLA B27 and ankylosing spondylitis. *Immunol Today* 1990; 11: 137-142.
 23. Dangoria NS, DeLay ML, Kingsbury DJ et al. HLA-B27 Misfolding Is Associated with Aberrant Inter-molecular Disulfide Bond Formation (Dimerization) in the Endoplasmic Reticulum. *J Biol Chem* 2002; 277: 23459-23468.
 24. Antoniou NA, Ford S, Taurog JD, Butcher GW, Powis SJ. Formation of HLA B27 homodimers and their relationship to assembly kinetics. *J Biol Chem* 2004; 279: 8895-8902.
 25. Tran TM, Satumtira N., Dorris M et al. HLA-B27 in Transgenic Rats Forms Disulfide-Linked Heavy Chain Oligomers and Multimers That Bind to the Chaperone BiP. *J Immunol* 2004; 172: 5110-5119.
 26. Bird LA, Peh CA, Kollinberger S, Elliot T, McMichael AJ, Bowness P. Lymphoblastoid cells express HLA B27 homodimers both intracellularly and at the cell surface following endosomal recycling. *Eur J Immunol* 2003; 33: 748-759.
 27. Schwimbeck PL, Oldstone MB. Molecular mimicry between human leukocyte antigen B27 and Klebsiella. Consequences for spondyloarthropathies. *Am J Med* 1988; 85: 51-53.
 28. Benjamin R, Parham P. HLA-B27 and disease: a consequence of inadvertent antigen presentation? *Rheum Dis Clin North Am* 1992; 18: 11-21.
 29. Taurog JD, Maika SD, Simmons WA, Breban M, Hammer RE. Susceptibility to inflammatory disease in HLA B27 transgenic rat lines correlates with the level of B27 expression. *J Immunol* 1993; 150: 4168-4178.
 30. Coppin HL, McDevitt HO. Absence of polymorphism between HLA B27 genomic exon sequences isolated from normal donors and ankylosing spondylitis patients. *J Immunol* 1986; 137: 2168-2172.
 31. Cauli A, Dessole G, Fiorillo MT et al. Increased level of HLA-B27 expression in ankylosing spondylitis patients compared with healthy HLA-B27-positive subjects: a possible further susceptibility factor for the development of disease. *Rheumatology* 2002; 41: 1375-1379.
 32. Mear JP, Schreiber KL, Munz C et al. Misfolding of HLA-B27 as a result of its B pocket suggests a novel mechanism for its role in susceptibility to spondyloarthropathies. *J Immunol* 1999; 163: 6665-6670.
 33. Allen RL, O'Callaghan CA, McMichael AJ; Bowness P. Cutting Edge: HLA-B27 Can Form a Novel β 2-Microglobulin-Free Heavy Chain Homodimer Structure. *J Immunol* 1999; 162: 5045-5048.
 34. Taurog JD, Hammer RE. Experimental spondyloarthropathy in HLA-B27 transgenic rats. *Clin Rheumatol* 1996; 15 (supl 1): 22-27.
 35. Khare SD, Luthra HS, David CS. Spontaneous inflammatory arthritis in HLA-B27 transgenic mice lacking beta 2-microglobulin: a model of human spondyloarthropathies. *J Exp Med*. 1995; 182: 1153-1158.
 36. Uchanska-Ziegler B, Ziegler A. Ankylosing spondylitis: a β 2 m-deposition disease? *Trends Immunol* 2003; 24: 73-76.
 37. Robinson WP, van LS, Khan MA et al. HLA -Bw60 increases susceptibility to ankylosing spondylitis in HLA B27+ patients. *Arthritis Rheum* 1989; 32: 1135-1141.

38. Wei JC, Tsai WC, Lin HS, Tsai CY, Chou CT. HLA-B60 and B61 are strongly associated with ankylosing spondylitis in HLA-B27-negative Taiwan Chinese patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2004;43: 839-842.
39. Verjans GM, van der Linden SM, van Eys GJ, de Waal LP, Kijlstra A. Restriction fragment length polymorphism of the tumor necrosis factor region in patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 486-489.
40. Verjans GM, Brinkman BM, van Doornik CE, Kijlstra A, Verweij CL. Polymorphism of the tumor necrosis factor -alpha (TNF-alpha) at position -308 in relation to ankylosing spondylitis. *Clin Exp Immunol* 1994; 97: 45-47.
41. Fraile A, Nieto A, Beraun Y, Vinasco J, Mataran L, Martin J. Tumor necrosis factor gene polymorphisms in ankylosing spondylitis. *Tissue Antigens* 1998; 51: 386-390.
42. Hohler T, Schaper T, Schneider PM, Meyer zum Buschenfelde KH, Marker-Hermann E. Association of different tumor necrosis factor alpha promoter allele frequencies with ankylosing spondylitis in HLA-B27 positive individuals. *Arthritis Rheum* 1998;41:1489-1492.
43. Kaijzel EL, Brinkman B, van Krugten M et al. Polymorphism within the Tumor Necrosis Factor α promoter region in patients with ankylosing spondylitis. *H Immunol* 1999; 60: 140-4.
44. McGarry F, Walker R, Sturrock R, Field M. The -308.1 polymorphism in the promoter region of the Tumor Necrosis Factor Gene is associated with Ankylosing Spondylitis independent of HLA B27. *J Rheumatol* 1999; 26: 110-116.
45. Milicic A, Lindheimer F, Laval S et al. Interethnic studies of TNF polymorphisms confirm the likely presence of a second MHC susceptibility locus in ankylosing spondylitis. *Genes and Immunity* 2000;1:418-422.
46. Gonzales S, Torre-Alonso JC, Martinez-Borra Jet al. TNF-238 promoter polymorphism contributes to susceptibility to ankylosing spondylitis in HLA-B27 negative patients. *J Rheumatol* 2001; 28: 1288-1293.
47. Rudwaleit M, Siebert S, Yin Z et al. Low T cell production of TNF α and IFN γ in ankylosing spondylitis: its relation to HLA-B27 and influence of the TNF-308 gene polymorphism. *Ann Rheum Dis* 2000; 60: 36-42.
48. Wilsom AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor α promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 3195.
49. Perez-Guijo V, Munoz E, Escudero A et al. Distribution of HLA-DRB1 genes in patients with sporadic ankylosing spondylitis in the south of Spain. *Joint Bone Spine* 2002; 69: 458-462.
50. Maksymowych WP, Tao S, Vaile J, Suarez-Almazor M, Ramos-Remus C, Russell AS. LMP2 polymorphism is associated with extraspinal disease in HLA-B27 negative Caucasian and Mexican Mestizo patients with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 2000;27:183-189.
51. Maksymowych WP, Adlam N, Lind D, Russell AS. Polymorphism of the LMP2 gene and disease phenotype in ankylosing spondylitis: no association with disease severity. *Clin Rheumatol*. 1997; 16: 461-465.
52. Maksymowych WP, Russell AS. Polymorphism in the LMP2 gene influences the relative risk for acute anterior uveitis in unselected patients with ankylosing spondylitis. *Clin Invest Med*. 1995;18:42-46.
53. Maksymowych WP, Gorodezky C, Olivo A et al. HLA-DRB1*08 influences the development of disease in Mexican Mestizo with spondyloarthropathy. *J Rheumatol*. 1997; 24: 904-907.
54. Sanmarti R, Ercilla MG, Brancos MA, Cid MC, Collado A, Rotes-Querol J. HLA class II antigens (DR, DQ loci) and peripheral arthritis in ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 1987; 46:497-500.
55. Vargas-Alarcon G, Gamboa R, Zuniga J et al. Association study of LMP gene polymorphisms in Mexican patients with spondyloarthritis. *Hum Immunol*. 2004; 65: 1437-1442.
56. Lee YH, Rho YH, Choi SJ, Ji JD, Song GG. Ankylosing spondylitis susceptibility loci defined by genome-search meta-analysis. *J Hum Genet* 2005; 50: 453-459.
57. Bronw MA, Brohy S, Bradbury L et al. Identification of major loci controlling clinical manifestations of ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2234-2239.
58. Martin TM, Zhang G, Luo J et al. A locus on chromosome 9p predisposes to a specific disease manifestation, acute anterior uveitis, in ankylosing spondylitis, a genetically complex, multisystem, inflammatory disease. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 269-274.
59. McGarry F, Neilly J, Anderson N et al. A polymorphism within the interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene is associated with ankylosing spondylitis. *Rheumatology Oxford* 2001; 40: 1359-1364.
60. Maksymowych WP, Reeve J, Reveille D et al. High throughput single nucleotide polymorphism (SNP) analyses of the interleukine-1 receptor antagonist (IL-1RN) locus in patients with ankylosing spondylitis by MALDI-TOF mass spectroscopy. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2011-2018.
61. Timms AE, Crane AM, Sims A et al. The interleukin 1 gene cluster contains a major susceptibility locus for ankylosing spondylitis. *Am J Hum Genet* 2004;75: 587-595.
62. van der Paardt M, Crusius JB, Garcia-Gonzalez MA et al. Interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms in ankylosing spondylitis. *Rheumatology Oxford* 2002; 41: 1419-1423.
63. Brown MA, Edwards S, Hoyle E et al. Polymorphisms of the CYP2D6 gene increase susceptibility to ankylosing spondylitis. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 1563-6.
64. Beyeler C, Armstrong M, Bird HA et al. Relationship between genotype for the cytochrome P450CYP2D6 and susceptibility to ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1996; 55: 66-68.
65. Tsui FL, Tsui HW, Cheng EY et al. Novel genetic markers in the 5'-flanking region of ANKH are associated with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 791-797.

66. Timms AE, Zhang Y, Bradbury L et al. Investigation of the role of ANKH in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2898-2902.
67. Jin L, Weisman MA, Zhang G et al. Lack of association of matrix metalloproteinase 3 (MMP3) genotypes with ankylosing spondylitis susceptibility and severity. *Rheumatology* 2005; 44: 55-60.
68. Kamiya M, Harada A, Mizuno M, Iwata H, Yamada Y. Association between a polymorphism of the transforming growth-factor beta1 gene and genetic susceptibility to ossification of the longitudinal ligament in Japanese patients. *Spine* 2001; 26: 1264-1266.
69. Yamada M, Okuizumi H, Miyauchi A, Takagi Y, Ikeda K, Harada A. Association of transforming growth-factor beta1 genotype with spinal osteophytosis in Japanese women. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 452-460.
70. Nicklin MJ, Barton JL, Nguyen M, FitzGerald MG, Duff GW, Kornman K. A sequence-based map of the nine genes of the human interleukin-1 cluster. *Genomics* 2002; 79: 718-725.
71. Djouadi K, Nedelec B, Tamouza R et al. Interleukin 1 gene cluster polymorphisms in multiplex families with spondyloarthropathies. *Cytokine* 2001; 13: 98-103.
72. Langdahl BI, Knudsen JY, Jensen HK, Gregersen N, Eriksen EF. A sequence variation: 713-8delC in the transforming growth factor- β 1 gene has higher prevalence in osteoporotic women and increased is associated with very low bone mass in osteoporotic women and increased bone turnover in both osteoporotic and normal women. *Bone* 1997; 20: 289-294.
73. Yamada Y, Hosoi T, Makimoto F, Tanaka H, Seino Y, Ikeda K. Transforming growth factor- α 1 gene polymorphism and bone mineral density in Japanese adolescents. *AM J Med* 1999; 106: 477-479.
74. Dick IM, Devine A, Li S, Dhaliwal SS, Prince RL. The T869C TGF beta polymorphism is associated with fracture, bone mineral density, and Calcaneal quantitative ultrasound in elderly women. *Bone* 2003; 33: 335-341.
75. van der Paardt M, Crusius JB, Koning MH et al. No evidence for involvement of the Toll-like receptor 4 (TLR4) A896G and CD14-C260T polymorphisms in susceptibility to ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 235-238.
76. Ho AM, Johnson MD, Kingsley DM. Role of the mouse ank gene in control of tissue calcification and arthritis. *Science*. 2000; 289: 265-270.
77. Pendleton A, Johnson M, Hughes A et al. Mutations in ANKH cause chondrocalcinosis. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 933-940.
78. Williams CJ, Zhang Y, Timms A et al. Autosomal dominant familial calcium pyrophosphate dihydrate deposition disease is caused by mutation in the transmembrane protein ANKH. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 985-991.
79. Nurnberg P, Thiele H, Chandler D et al. Heterozygous mutations in ANKH, the human ortholog of the mouse progressive ankylosis gene, result in cranio-metaphyseal dysplasia. *Nature Genet* 2001; 28: 37-41.
80. Reichenberger E, Tiziani V, Watanabe S et al. Autosomal dominant cranio-metaphyseal dysplasia is caused by mutations in the transmembrane protein ANK. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 1321-1326.
81. Brown MA, Edwards S, Hoyle E et al. Polymorphisms of the CYP2D6 gene increase susceptibility to ankylosing spondylitis. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 1563-1566.
82. McCann S, Pond S, James K, Le Couteur D. The association between polymorphisms in the cytochrome P450 2D6 gene and Parkinson's disease: a case control study and meta-analysis. *J Neurol Sci* 1997; 153: 50-53.
83. Wolf CR, Dale Smith CA, Gough AC et al. Relationship between the debrisoquine hydroxylase polymorphism and cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 1992; 13: 1035-1038.
84. May D, Black C, Olsen N et al. Scleroderma is associated with differences in individual routes of drug metabolism: a study with dapsone, debrisoquin, and mephenytoin. *Clin Pharmacol. Ther* 1990; 48: 286-295.
85. Baer A, McAllister C, Wilkinson G, Woosley R, Pincus T. Altered distribution of debrisoquine oxidation phenotypes in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1986; 29: 843-850.
86. Obana N, Takahashi S, Kinouchi Y et al. Ulcerative colitis is associated with a promoter polymorphism of lipopolysaccharide receptor gene, CD14. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 699-702.
87. Klein W, Tromm A, Griga T et al. A polymorphism in the CD14 gene is associated with Chron disease. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 189-191.
88. Klein W, Tromm A, Griga T et al. Interaction of polymorphism in the CARD15 and CD14 genes in patients with Chron disease. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38: 834-836.
89. Hampe J, Cuthbert A, Croucher PJP et al. Association between insertion mutation in NOD2 gene and Chron's disease in German and British populations. *Lancet* 2001; 357: 1925-1928.
90. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Chron's Disease. *Nature* 2001; 411: 599-603.
91. Murillo L, Crusius JBA, van Bodegraven AA, Alizadeh BZ, Peña AS. CARD15 gene and the classification of Chron's disease. *Immunogenetics* 2002; 54: 59-61.
92. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Chron's disease. *Nature* 2001; 411: 603-606.
93. van der Paardt M, van Denderen JC, van den Brule AJ et al. Prevalence of Chlamydia trachomatis in urine of male patients with ankylosing spondylitis is not increased. *Ann Rheum Dis*. 2000; 59: 300-302.
94. Chow JC, Young DW, Golenbock DT, Christ WJ, Guscovsky F. Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction. *J Biol Chem* 1999; 274: 10689-10692.
95. Vabulas RM, Ahmad-Nejad P, da Costa C et al. Endocytosed HSP60s use toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 to activate the toll/interleukin-1 receptor signaling pathway in innate immune cells. *J Biol Chem* 2001; 276: 31332-31339.

ESPONDILODISCITE INFECCIOSA: O ESTUDO DE QUARENTA E UM CASOS

Joana Capelo,* Adelino Carragoso,* Chantal Albuquerque,**
Maria Luísa Mocho,*** Nuno Canto-Moreira****

Resumo

Objectivos: Caracterizar uma série de doentes com Espondilodiscite Infecciosa (EI).

Material e Métodos: Estudo retrospectivo dos casos diagnosticados de Outubro de 1999 a Abril de 2006 no nosso hospital, por consulta dos processos clínicos.

Resultados: Quarenta e um doentes, com idade de $61,2 \pm 15,1$ anos; 26 (63,4%) eram homens. Trinta e dois (78,0%) apresentavam factores predisponentes ou doenças associadas e 12 (29,3%) risco epidemiológico. A clínica mais frequente foi dor local (97,6%) seguida dos sintomas constitucionais (51,2%), com duração média de 12,5 semanas. A velocidade de sedimentação foi o marcador inflamatório mais frequentemente aumentado (87,5%). A Tomografia Computorizada (TAC) foi diagnóstica em 3 casos e a Ressonância Magnética nos restantes. A EI foi mais frequente na coluna lombar. Em 22 doentes (53,7%) houve isolamento do agente etiológico e em 4 (9,8%) o diagnóstico foi serológico. Foi admitido o diagnóstico de Espondilodiscite Piogénica (EP) em 21 (51,2%) casos, de Espondilodiscite Granulomatosa (EG) em 18 (43,9%) e de EG com sobreinfecção piogénica em 2 (4,9%). Catorze doentes apresentavam outras focalizações de infecção. Todos cumpriram antibioterapia. Dois doentes fizeram drenagem de abscessos guiada por TAC e 5 necessitaram de cirurgia. Vinte e seis doentes (63,4%) tiveram boa evolução e 8 (19,5%) razoável; 6 tiveram má evolução (14,6%), tendo falecido; um doente perdeu-se para seguimento. Houve diminuição dos parâmetros analíticos de inflamação no controlo.

Conclusões: A EI constitui um desafio diagnóstico

e terapêutico, sendo o alerta para esta patologia nos doentes de risco essencial para a detecção e o tratamento precoces.

Palavras-Chave: Espondilodiscite; Doenças Ósseas Infecciosas; Tuberculose Vertebral; Brucelose

Abstract

Objectives: To characterize a series of patients with Infectious Spondylodiscitis (IS).

Material and Methods: Retrospective analysis of all cases diagnosed between October of 1999 and April of 2006 in our hospital, by files review.

Results: Forty one patients, mean age of 61.2 ± 15.1 years; 26 (63.4%) were male. Thirty two (78.0%) had predisposing conditions or associated diseases and 12 (29.3%) had epidemiological risk. The most frequent clinical manifestations were local pain (97.6%) and general complaints (51.2%). The mean duration of the symptoms was 12.5 weeks. Raised erythrocyte sedimentation rate was the most frequent inflammatory marker. CT-scan was diagnostic in 3 cases and MRI in the remainders. IS was most frequent in the lumbar spine. The etiological agent was isolated in 22 patients (53.7 %) and in 4 (9.8%) the diagnosis was serological. The diagnosis of Pyogenic Spondylodiscitis (PS) was presumed in 21 (51.2%) cases, Granulomatous Spondylodiscitis (GS) in 18 (43.9%) and GS with pyogenic over infection in 2 (4.9%). Fourteen patients had other infectious foci. All patients had antibiotic treatment. Two patients needed abscess CT-scan guided drainage and five needed surgery. Twenty six patients (63.4%) had good evolution and 8 (19.5%) had reasonable evolution; 6 patients had bad evolution (14.6%), dying; one patient was lost for follow-up. Inflammatory markers decreased in the control analysis.

Conclusions: The IS is a diagnostic and therapeutic challenge, being the high index of suspicion of this

*Serviço de Medicina Interna, Hospital de São Teotónio, EPE, Viseu

**Serviço de Imagiologia, Hospital de São Teotónio, EPE, Viseu

***Valência de Infeciologia, Hospital de São Teotónio, EPE, Viseu

****Unidade de Neurorradiologia, Hospital de São Teotónio, EPE, Viseu

pathology in the most susceptible patients fundamental for early detection and adequate treatment.

Keywords: Spondylodiscitis; Infectious Bone Diseases; Spinal Tuberculosis; Brucellosis.

Introdução

Chama-se Espondilodiscite Infecciosa (EI) ao processo infeccioso que envolve um ou mais discos intervertebrais e os corpos das vértebras adjacentes.^{1,2} Há diversas formas de classificação, sendo frequentemente utilizada a resposta histológica do hospedeiro ao agente infeccioso: Espondilodiscite Piógena (EP), a causada pela maioria das bactérias, e Espondilodiscite Granulomatosa (EG), determinada por micobactérias, *Brucella*, espiroquetas ou fungos.¹

Trata-se de uma focalização de infecção pouco habitual, representando 2 a 4 % das osteomielites.^{2,3,4} Frequentemente cursa com clínica inespecífica^{1,4,5} (com dor muitas vezes de características mecânicas, frequentemente sem febre associada), evoluindo de forma insidiosa ao longo de semanas ou meses, podendo demorar até anos (nas EG) desde o início das queixas até ao diagnóstico.^{1,5,6} Por vezes, quando este é considerado, existe já significativo compromisso neurológico.⁷

Nas últimas décadas o número de casos diagnosticados tem vindo a aumentar, sobretudo à custa das EP.² Isto deve-se, em parte, à melhoria da capacidade de diagnóstico imagiológico (com o advento da Ressonância Magnética Nuclear) e ao aumento da população com factores predisponentes para EI (maior número de idosos, mais doentes a fazer terapêutica imunossupressora, transplantados ou com doenças crónicas, toxicodependentes), mas também à vulgarização de procedimentos médicos diagnósticos e terapêuticos invasivos.^{1,2,6}

É de salientar que em Portugal ainda são endémicas a Tuberculose e a Brucelose,^{8,9,10} duas patologias que podem cursar com envolvimento da coluna vertebral, nomeadamente sob a forma de Espondilodiscite.^{10,11}

Objectivos

Fazer a análise retrospectiva de uma série de casos de EI diagnosticados no nosso hospital, tendo em

especial atenção os parâmetros: sexo, idade, factores predisponentes e doenças associadas, manifestações clínicas, tempo de evolução dos sintomas, alterações laboratoriais, agente etiológico isolado, produto biológico em que foi feito o isolamento, exames imagiológicos diagnósticos, localização da lesão por imagem, outras focalizações da infecção, tratamento efectuado e evolução.

Material e Métodos

Foram incluídos todos os doentes com diagnóstico de EI feito de Outubro de 1999 a Abril de 2006, com clínica sugestiva (dor em segmento de coluna, de características mecânicas ou inflamatórias e/ou défice neurológico de novo resultante de compressão radicular ou medular, com ou sem febre), associada a estudo imagiológico por Tomografia Axial Computorizada (TAC) e/ou Ressonância Magnética Nuclear (RMN) do segmento da coluna envolvido, muito sugestivo de Espondilodiscite. Foram consultados os processos clínicos hospitalares dos doentes incluídos e avaliados os parâmetros acima descritos.

Resultados

Dados demográficos

Foram incluídos 41 doentes. Vinte e seis (63,4%) eram do sexo masculino e 15 (36,6%) eram do sexo feminino. A idade média foi de 61,2 anos (com desvio padrão de 15,1 anos); o doente mais jovem tinha 13 anos e o mais idoso contava 88 anos.

Factores Predisponentes e Doenças Associadas

Foram identificados factores predisponentes e doenças associadas em 32 doentes (78,0%) (Quadro I), salientando-se os doentes insuficientes renais crónicos (10 casos) dos quais oito estavam em terapêutica dialítica substitutiva (hemodiálise).

Contexto Epidemiológico

Identificaram-se 12 doentes (29,3%) com contexto epidemiológico relevante. Dez indivíduos apresentavam risco profissional para Brucelose: 8 eram pastores de gado ovino e/ou caprino; um trabalhava em matadouro e outro trabalhava em laboratório de Microbiologia. Um doente consumia laticínios de ovelha não pasteurizados e outro tinha um familiar com tuberculose.

Quadro I. Factores Predisponentes e Doenças Associadas

Factor Predisponente/ /Doença associada	Nº de doentes
Insuficiência Renal Crónica	10
Hemodiálise	8
Cateter venoso central [†]	7
Alcoolismo crónico	6
Infecção recente	6
Diabetes Mellitus	5
Neoplasia	5
Doença autoimune a fazer imunossupressão	3
Corticoterapia crónica	3
Cirurgia de coluna recente	3
Outra instrumentação/cirurgia recente	3
Tuberculose prévia	2
Brucelose prévia	2

[†]Para hemodiálise (por falência de fístula artério-venosa ou para diálise urgente).

Manifestações Clínicas

As manifestações clínicas foram as apresentadas no Quadro II, sendo as mais frequentes a dor na coluna (97,6% dos doentes), os sintomas constitucionais (51,2%) e a febre (43,9%). Em 35 doentes foi apurado o tempo decorrido desde o início das queixas, em média 12,5 semanas (2 dias a 1,5 anos).

Alterações analíticas iniciais

Os parâmetros avaliados foram a velocidade de sedimentação eritrocitária na primeira hora (VS), que estava aumentada [VS > (idade/2) (+10 se mulher)] em 28 (87,5%) dos 32 doentes em que foi determinada (VS média 73 mm/H); a Proteína C reactiva (PCR), que foi positiva (> 0,5 mg/dL) em 33 (86,8%) dos 38 doentes em que se determinou este parâmetro (PCR média 11,6 mg/dL). Havia leucocitose (leucócitos > 11x10⁹/L) em 11 doentes (26,8%). Na nossa amostra não houve qualquer caso cursando com leucopenia.

Estudo Imagiológico

Vinte e um (51,2%) doentes fizeram TAC, cuja imagem foi diagnóstica em 3 casos. Nos restantes 38 doentes o diagnóstico foi feito por RMN. Os segmentos da coluna mais frequentemente envolvidos foram o lombar e lombossagrado (Quadro III), representando 65,8% das localizações.

Quadro II. Manifestações Clínicas

doentes	Nº de (%)
Manifestações clínicas	
Dor na coluna	40 (97,6)
Sintomas constitucionais [†]	21 (51,2)
Febre	18 (43,9)
Défice neurológico de novo	13 (31,7)
Sudorese e calafrios	11 (26,8)
Sopro cardíaco	8 (19,5)
Alteração do estado de consciência	2 (4,9)
Fístula lombar	1 (2,4)
Massas abdominais	1 (2,4)

[†]Astenia, anorexia e/ou emagrecimento.

Diagnóstico Etiológico

Foi feita a identificação de agente etiológico em 26 doentes (63,4%). Em 22 doentes (53,7%) houve isolamento de agente etiológico em um ou mais produtos biológicos: sangue (16 doentes), urina (4 doentes), material purulento colhido por punção ou drenagem de abscesso paravertebral (2 doentes), suco gástrico (2 doentes), ponta de cateter (2 doentes), exsudado de fístula (1 doente), medula óssea (1 doente) e aspirado brônquico (1 doente). Os agentes infecciosos isolados foram os descritos no Quadro IV, sendo os mais frequentes os cocos gram positivos, nomeadamente o *Staphylococcus aureus*. Em 5 doentes (12,2%) houve identificação de *Mycobacterium tuberculosis* e em 1 doente (2,4%) houve crescimento de *Brucella* em cultura (em sangue e medula óssea). Em 4 doentes (9,8%) o diagnóstico de EI a *Brucella* foi feito por serologia positiva (por reacção de aglutinação de Wright $\geq 1/160$ e Rosa Bengala positivo). Em 2 casos considerou-se o diagnóstico de EI de etiologia mista, por isolamento em cultura de Micobactérias e

Quadro III. Segmento de Coluna Vertebral Afectado

Segmento da coluna doentes	Nº de (%)
vertebral afectado	
Cervical	5 (12,2)
Dorsal	7 (17,0)
Dorsolombar	2 (4,8)
Lombar	19 (46,3)

Quadro IV. Agente Etiológico Identificado

Agente identificado	Nº de casos
<i>Staphylococcus aureus</i> metilino-sensível	8
<i>Staphylococcus aureus</i> metilino-resistente	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5
<i>Staphylococcus cohnii</i>	1
<i>Streptococcus sanguis</i>	1
<i>Streptococcus spp</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	1
<i>Brucella spp</i> [†]	5
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	5

[†]Quatro com diagnóstico serológico e um com isolamento em hemocultura e mielocultura

Staphylococcus epidermidis em um dos casos, e no outro caso de Micobactérias e *Staphylococcus aureus*.

Em 15 doentes (36,6 %) não foi possível a determinação do agente etiológico, tendo sido conjugados os dados clínico-epidemiológicos, laboratoriais, imagiológicos e resposta à terapêutica empírica para se atribuir uma etiologia provável para a Espondilodiscite: 10 tuberculosas prováveis e 5 piogénicas prováveis.

O estudo dos pacientes permitiu, portanto, admitir o diagnóstico de EP em 21 (51,2%) doentes, EG em 18 (43,9%) doentes e EG com sobreinfecção piogénica em 2 (4,9%) doentes.

Outras focalizações de infecção

Em 14 doentes (34,1%) foram identificadas outras focalizações de infecção: 2 doentes com tuberculose pulmonar; 1 caso de EP com infecção urinária; 3 casos de endocardite infecciosa, num dos casos complicada de embolização cerebral; 7 casos de abscessos paravertebrais (associados a EP em 2 casos, a EG em 4 casos e a EI de etiologia mista em 1 caso) e um 1 doente com abscesso epidural associado a EP.

Tratamento

Foi instituída terapêutica médica empírica por via parentérica em 14 dos 21 doentes com EP (66,7%) (em 6 com ajuste após a identificação do agente etiológico e do seu perfil de sensibilidade), tendo sido dirigida desde o início nos restantes 7 (33,3%). O tempo médio de tratamento foi de 6,0 semanas (mínimo de 2,0 semanas por morte do doente e máximo de 10,0 semanas), sendo desconhecido o

tempo total de tratamento em 1 doente. Um doente necessitou de tratamento cirúrgico de descompressão por compromisso neurológico.

Nos 5 doentes com Espondilodiscite a *Brucella* foi feita antibioterapia dupla (doxiciclina e rifampicina). O tempo médio de tratamento foi de 12,0 semanas. Houve um doente que abandonou seguimento às 4 semanas.

Em 11 dos 13 doentes com Espondilodiscite Tuberculosa foi instituída terapêutica antibacilar empírica e nos dois restantes foi dirigida. O tempo médio de tratamento foi de 55,2 semanas. Dois destes doentes foram submetidos a drenagem de abscessos do psoas guiada por TAC. Três doentes necessitaram de intervenção cirúrgica, em dois cirurgia de descompressão por compromisso neurológico e o terceiro para drenagem de abscesso paravertebral.

Nos dois doentes com EI de etiologia mista, foi instituída terapêutica antibacilar empiricamente, que cumpriram durante uma média de 58,5 semanas, associada a antibioterapia dirigida para os estafilococos isolados durante um tempo médio de 6,5 semanas. Um destes doentes foi submetido a cirurgia de descompressão por compromisso neurológico.

Evolução Clínica e Analítica

A evolução foi classificada como: Boa, se após a terapêutica houve resolução completa da clínica ou mantiveram apenas dor local ligeira ou esporádica; Razoável, quando, apesar de resolvido o quadro infeccioso, se manteve deformidade da coluna, défice neurológico e/ou dor que não ligeira; e Má, se não houve resposta ao tratamento e/ou morte durante o tratamento [adaptado de Asamoto (7)].

Vinte e seis doentes (63,4%) tiveram boa evolução, oito doentes (19,5%) tiveram evolução razoável e seis doentes tiveram má evolução (14,6%), tendo estes últimos falecido (Quadro V). Todos os falecidos tinham EP: 4 destes eram insuficientes renais crónicos em hemodiálise (um era também diabético e outro tinha uma vasculite sistémica), 3 dos quais eram portadores de cateter venoso central; um era alcoólico crónico com cirrose hepática; o sexto doente morreu em insuficiência cardíaca congestiva por endocardite com insuficiência valvular severa.

Verificou-se diminuição dos parâmetros de inflamação no controlo analítico final: leucocitose em 2,6% dos doentes, VS aumentada em 37,0% dos doentes (VS média 28 mm/H) e PCR positiva em

Quadro V. Evolução Clínica

Evolução	Nº de casos (%)	Etiologia da EI
Boa	26 (63,4%)	15 EG, 11 EP e 1 E mista
Razoável	8 (19,5%)	5 EP, 2 EG e 1 E mista
Má	6 (14,6%)	EP
Desconhecida	1 (2,4%)	EG

EI - Espondilodiscite Infeciosa; EG - Espondilodiscite Granulomatosa; EP - Espondilodiscite Piogénica; E mista - Espondilodiscite Granulomatosa com sobreinfecção Piogénica.

64,5% dos casos (PCR média 3,4 mg/dL).

Discussão

A EI é uma patologia considerada relativamente rara.^{2,3} Os autores apresentam os casos diagnosticados num período de 79 meses num hospital com uma área de influência predominantemente de ambiente rural, com contexto epidemiológico de risco para a brucelose animal e humana. Dada a grande prevalência da tuberculose em Portugal⁸ e sendo a espondilodiscite uma das formas extrapulmonares mais frequentes da tuberculose,¹¹ esta é também uma etiologia a considerar. Estas características particulares da região e do país reflectem-se nos resultados da nossa série.

Dados demográficos

Na nossa amostra há um predomínio masculino (1,7:1) e de indivíduos idosos, tal como descrito noutros estudos.^{5,7,12,13}

Factores predisponentes e doenças associadas

A nossa série apresenta um significativo número de doentes com patologias associadas e/ou sujeitos a intervenções terapêuticas predisponentes a infecção discovertebral (78,0%).

É de relevo o grande número de doentes hemodialisados (8 doentes). Esta é uma população de indivíduos em especial risco de contrair infecções, que frequentemente decorrem com manifestações clínicas atípicas (por exemplo, sem febre). A tuberculose nestes doentes é habitualmente extrapulmonar, também com sintomas atípicos, dificultando o seu diagnóstico.¹⁴ Sete dos 8 indivíduos hemodialisados tinham cateter venoso central, o que determinou maior risco de infecção bacteria-

na. Há outros grupos na nossa amostra também a referir pelo seu estado de provável imunodepressão susceptível de predispor a infecções graves, nomeadamente EI: os diabéticos, os alcoólicos crónicos, os doentes oncológicos (alguns dos quais sujeitos a quimioterapia), os indivíduos com patologia autoimune sob tratamento imunossupressor e/ou a fazer corticoterapia crónica.¹

Alguns doentes (14,5%) haviam tido uma infecção grave recente, motivando internamento hospitalar e terapêutica endovenosa, sendo a infecção subjacente (embora tratada) e as cateterizações venosas duas possíveis fontes de infecção.

Outros tantos doentes (14,5%) foram sujeitos previamente a procedimentos invasivos, nomeadamente cirurgia da coluna, sendo a EP iatrogénica uma reconhecida possível complicação destas intervenções por inoculação directa do agente infeccioso;^{1,3} outros procedimentos invasivos podem também ser a fonte da EP, nomeadamente os descritos na nossa amostra.

Contexto Epidemiológico

A averiguação de antecedentes de tuberculose, brucelose e do contexto epidemiológico demonstrou ser importante na suspeita da etiologia da EI. Qualquer destas patologias pode recorrer ou recidivar^{1,3,8,10} e o contacto com material biológico potencialmente infectado (num Laboratório de microbiologia ou num matadouro, ou por ingestão de queijo fresco), com pessoas com tuberculose ou com gado com brucelose é, por si, fonte provável de infecção.^{8,10}

Manifestações Clínicas

Como descrito noutros trabalhos,^{1,3,5,7} a dor local foi o sintoma predominante, na maioria dos casos de localização lombar; muito menos frequentemente surgiram outras manifestações clínicas, tais como febre (43,9%), sudorese e calafrios (26,8%), sintomas constitucionais (51,2%), défice neurológico de novo (31,7%) e outras, tal como é referido noutros estudos e na literatura.^{1,3,5,7} Esta clínica relativamente inespecífica em muitos doentes vem atestar a dificuldade e o atraso no diagnóstico descritos para esta patologia e também neste estudo verificado (tempo decorrido desde o início das queixas em média de 12,5 semanas).

Alterações analíticas iniciais

Como descrito na literatura,¹ foi muito frequente o aumento da VS (em 87,5 %) e da PCR (86,8%),

sendo menos habitual a existência de leucocitose (26,8%).

Estudo Imagiológico

Em todos os doentes foi feito estudo imagiológico, tendo a TAC permitido o diagnóstico de focalização discovertebral da infecção em 3 doentes, por aspectos típicos da imagem; em 38 doentes foi feita RMN do segmento da coluna provavelmente afectado, confirmando a focalização da infecção. Actualmente a RMN é o meio de diagnóstico imagiológico considerado de primeira linha na espondilodiscite, dado ser o exame mais sensível no diagnóstico desta patologia.¹⁶ Na nossa amostra as lesões foram localizadas predominantemente na coluna lombar e lombossagrada, como noutros trabalhos,^{5,6,10,12} embora todos os segmentos da coluna tenham sido afectados.

Diagnóstico Etiológico

Em 26 doentes (63,4%) foi possível determinar a etiologia da espondilodiscite, quer por isolamento do agente etiológico em produto biológico, quer por serologia de brucelose positiva. O agente microbiano mais frequentemente isolado foi, como descrito na literatura^{1,2,5,6} o *Staphylococcus aureus* (em 9 doentes), sendo também frequentes os isolamentos de outros estafilococos, o que poderá ser atribuível ao grande número de factores predisponentes e potenciais fontes de infecção por estes agentes em doentes frequentemente imunodeprimidos. Também foram frequentes os isolamentos de *Mycobacterium tuberculosis* (em 5 doentes), reflectindo a grande prevalência desta infecção em Portugal,^{8,9} na forma óssea mais frequente.¹¹ Nos casos sem agente isolado, de acordo com as manifestações clínicas apresentadas, o tempo de evolução, factores predisponentes e contexto epidemiológico, e características imagiológicas, foi atribuída uma etiologia considerada provável e feito tratamento médico de acordo com a etiologia presumida. É de salientar que nestes casos a evolução foi habitualmente favorável.

Muitos diagnósticos etiológicos das EI basearam-se no isolamento bacteriano em hemoculturas (39,0%), o que é sobreponível ao descrito noutros estudos.^{5,13} Muito menos frequentes foram os isolamentos em amostra de biopsia, quer guiada por TAC (efectuada em 4 doentes), quer de fragmento cirúrgico, o que provavelmente se deve ao baixo recurso a estas técnicas diagnósticas invasivas, mas também ao facto de frequentemente os

doentes já estarem a fazer antibioterapia empírica quando estas técnicas eram realizadas.

O diagnóstico final foi de EG em 43,9% dos doentes (12,2% eram espondilodiscites a *Brucella* e 31,7% espondilodiscites tuberculosas), EP em 51,2% dos doentes e EG com sobreinfecção piogénica em 4,9% dos doentes. O predomínio de EG também é descrito noutros estudos de países mediterrânicos, área endémica destas patologias.⁵ Foram admitidos dois diagnósticos de EG com sobreinfecção piogénica por se tratarem de casos com isolamento de dois agentes (micobactéria e estafilococo), em doentes com clínica arrastada com marcado agravamento recente das queixas o que seria compatível com uma sobreinfecção de uma EG tuberculosa.

Outras focalizações

Em vários doentes houve outras focalizações para além da discovertebral, em alguns casos condicionando perfil de pior prognóstico (EI com endocardite e enfarte cerebral) ou com necessidade de intervenção dirigida (nomeadamente para drenagem de abscesso paravertebral).

Tratamento

A terapêutica foi exclusivamente médica na grande maioria dos doentes da nossa série. Cada vez mais a cirurgia é reservada para doentes com défice neurológico significativo por compressão medular, em casos de grande destruição do corpo vertebral ou deformidade significativa da coluna, quando há abscesso clinicamente significativo (com sepsis), em casos refractários a tratamento médico prolongado (se VS persistentemente alta ou dor mantida), ou para obtenção de diagnóstico bacteriológico quando a biopsia fechada é negativa ou pouco segura.^{1,4,15} Nos 5 doentes da nossa amostra a cirurgia realizada teve intuito terapêutico, tendo sido em 4 cirurgia da coluna para descompressão (por compromisso neurológico) e no quinto doente para drenagem de abscessos paravertebrais.

O tratamento médico das EI é ainda tema de grande controvérsia, quer quanto à antibioterapia, quer quanto ao tempo de tratamento indicado. Todos os doentes com EP que concluíram o tempo de antibioterapia cumpriram tempo de terapêutica parentérica igual ou superior a 6 semanas, com razoável ou boa resposta à terapêutica, não diferindo dos tempos de tratamento actualmente defendidos.^{1,17}

Nas Espondilodiscites tuberculosas é defendida actualmente a terapêutica com pelo menos três fármacos durante 2 meses e prolongamento até aos 6 a 9 meses com 2.¹¹ Na nossa amostra a terapêutica foi mais frequentemente quádrupla nos 2 primeiros meses (tripla em apenas um caso), em média prolongada até mais de um ano, o que nos parece ser resultante da lenta resolução da sintomatologia nalguns casos com Espondilodiscites desta etiologia e ao receio da recidiva da infecção.

Nas Espondilodiscites a *Brucella* foi cumprida em todos os doentes terapêutica no mínimo dupla, por um tempo médio de 12,0 semanas, cumprindo tempo considerado suficiente segundo as normas da Organização Mundial de Saúde (OMS) para o tratamento desta forma de Brucelose.¹

Evolução Clínica e Analítica

Na nossa amostra houve, na grande maioria dos indivíduos com espondilodiscite das diversas etiologias, boa ou razoável evolução; nestes doentes houve melhoria clínica e boa resposta analítica (melhoria global dos parâmetros inflamatórios), correspondendo a cura do processo infeccioso.

Salienta-se neste grupo de doentes estudado a alta mortalidade encontrada (14,6%) relativamente a outras séries (com mortalidades até 5,3%),^{5,12,13} estando descrito que nas EP em indivíduos mais idosos ou com comorbilidades a mortalidade pode atingir até 16%.¹ Cinco dos seis doentes falecidos tinham doenças crónicas graves concomitantes, por si só justificando significativa imunodepressão e por isso predispondo para quadros graves de espondilodiscite e também para má resposta à terapêutica. O outro doente falecido apresentava uma forma grave de infecção, já que para além de EP tinha também enfarte cerebral e endocardite valvular mitral, a qual condicionou a morte por disfunção valvular severa.

Conclusões

A série de casos apresentada representa a realidade do nosso hospital em termos de infecção discovertebral e reflecte a dificuldade diagnóstica que as EI colocam aos clínicos, com manifestações inespecíficas muitas vezes não valorizadas e que, por vezes, se arrastam por grandes períodos de tempo. O facto de a nossa amostra ter perfil especial (quanto a factores de risco e epidemiológicos), demonstra o especial alerta que deve estar presente

quanto à possibilidade deste tipo de infecção nestes doentes.

A RMN foi um exame complementar fundamental no diagnóstico de EI, dado que na maioria dos doentes foi necessária para confirmar a localização da infecção e confirmar o diagnóstico.

Infelizmente, apesar do estudo etiológico instituído, foi frequente não se conseguir determinar o agente etiológico, o que é sobreponível a outras séries. Salienta-se também o grande número de EG identificadas, o que está de acordo com a grande prevalência local da Tuberculose e da Brucelose.

A terapêutica médica foi instituída de forma empírica na maioria dos casos, tendo sido necessária cirurgia num reduzido número de doentes.

A evolução foi favorável (boa ou razoável) na grande maioria dos doentes. No entanto, houve mortalidade elevada na nossa série, provavelmente relacionada com o perfil destes doentes.

Correspondência para:

Joana Isabel Faria Monteiro Capelo
Rua de Santo António, Lote 47, 4º Frente
3500-184 Viseu
E-mail: capelo.joana@gmail.com

Referências:

1. Currier BL, Eismont FJ. Infections of the Spine. In: Herkowitz HN, Garfin SR, Balderston RA et al, ed. Rohman-Simeone - The Spine. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999: 1207-1258.
2. Fiter J, Vaquero CG, Nolla JM. Espondilodiscitis infecciosa. Perspectiva actual de un viejo problema. Rev Esp Reumatol 1999; 26: 91-99.
3. Jiménez-Mejías ME, Colmenero JD, Sánchez-Lora FJ et al. Postoperative Spondylodiskitis: etiology, Clinical Findings, Prognosis, and Comparison with Nonoperative Pyogenic spondylodiskitis. Clin Infect Dis 1999; 29: 339-345.
4. Wirtz DC, Genius I, Wildberger JE, Adam G, Zilkens KW, Niethard FU. Diagnostic and therapeutic management of lumbar and thoracic spondylodiscitis – an evaluation of 59 cases. Arch Orthop Trauma Surg 2000; 120: 245-251.
5. Colmenero JD, Jiménez-Mejías ME, Sánchez-Lora FJ et al. Pyogenic, tuberculous, and brucellar vertebral osteomyelitis: a descriptive and comparative study of 219 cases. Ann Rheum Dis 1997; 56: 709-715.
6. Balériaux DL, Neugroschl C. Spinal and spinal cord infection. Eur Radiol 2004; 14: E72-E83.
7. Asamoto S, Doi H, Kobayashi N et al. Spondylodiscitis: diagnosis and treatment. Surgical Neurology 2005; 64: 103-108.
8. Antunes AF. Epidemiologia da Tuberculose: Compreender para Agir. In: Pina J, ed. A Tuberculose na viragem do milénio. Lisboa: Lidel - Edições Técnicas, Lda 2000: 37-85.

9. Lima G. Doenças de Declaração Obrigaria 1996-2000. Lisboa: Direo-Geral da Saúde, 2001; 14, 21-23.
 10. Pessegueiro P, Barata C, Correia J. Brucelose – uma revisão sistematizada. 2003; 10: 91-100.
 11. Gardam M, Lim S. Mycobacterial Osteomyelitis and Arthritis. Infect Clin Dis N Am 2005; 19: 819-830.
 12. Rodríguez NG, Bellas YPC, Ran JI, Pérez MG, Lorenzo MLS. Espondilodiscitis infecciosas en un área sanitaria gallega, 1983-2003. An Med Interna (Madrid) 2004; 21: 533-539.
 13. Vicente L, Valente C, Afonso O, Faria MJ, Barros MSJ. Espondilodiscites piognicas. Rev Port Doen Infec 2003; 2: 5-10.
 14. Ifudu O. Care of patients undergoing hemodialysis. N Engl J Med 1998; 339: 1054-1062.
 15. Larget-Piet B, Martigny J. Spondylodiscite bacterienne – tiologie, diagnostic, évolution, pronostic, traitement. La revue du Praticien (Paris) 1995; 45: 915-920.
 16. Mendonca RA. Spinal Infection and Inflammatory disorders. In: Atlas SW, ed. Magnetic Resonance Imaging of the Brain and Spine. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002: 1856-1969.
 17. Sapico FL. Microbiology and antimicrobial therapy of spinal infections. Orthop Clin North Am 1996; 27: 9-13.
-

Congresso Português de Reumatologia

Vilamoura
02-06 de Abril de 2008

Data limite para envio de resumos:
15 de Janeiro de 2008

XV Jornadas Internacionais do Instituto Português de Reumatologia

Lisboa
13-14 de Dezembro de 2007

PRESCRIÇÃO DE ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTERÓIDES NO AMBULATÓRIO DE CLÍNICA GERAL DO CENTRO DE PORTUGAL

Luiz Miguel Santiago,* Margarida Marques**

Resumo

Objectivo: Caracterizar a prescrição de anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) em Clínica Geral. Como objectivos secundários comparar a prescrição na população com idade igual ou superior a 65 anos *versus* a população com idade inferior a 65 anos e comparar a prescrição de AINEs entre Centros de Saúde urbanos e rurais, também aqui em função dos grupos etários acima descritos.

Material: Ferramenta electrónica de apoio à consulta de Médicos de Clínica Geral, gerando bases de dados prescricionais.

Métodos: Estudo observacional, transversal.

Resultados: Numa população de 160.662 indivíduos, com uma razão de <65 anos/≥65 anos de 3,73, foi possível perceber uma mais elevada prescrição de Doses Diárias Definidas de AINEs no grupo de indivíduos mais idosos ($1,99 \pm 0,43$ *vs* $0,66 \pm 0,22$; $p < 0,001$) e em meio rural que em meio urbano ($1,13 \pm 0,27$ *vs* $0,78 \pm 0,17$; $p < 0,001$).

Conclusões: O volume de prescrição de AINEs foi superior nos indivíduos com mais de 65 anos e em meio rural. Dadas as implicações da terapêutica com AINEs pode ser necessária divulgação das mais adequadas indicações para utilização de AINEs em idosos.

Palavras-chave: Anti-inflamatórios Não Esteróides; Idosos; Dor; Prescrição; Clínica Geral.

Abstract

Objective: To characterize the prescription of non steroidal inflammatory drugs (NSAIDs) in General Practice. As secondary objectives to compare the

NSAIDs prescription in older and younger persons in order to evaluate if persons older than 65 year were more likely to receive such prescriptions and to understand if in a rural setting of work the prescription of NSAIDs was different when compared to an urban one.

Methods: A cross sectional observational study, in a Primary Care setting in the Centre of Portugal.

Results: In a population of 160.662 individuals, with a < 65 years/≥65 years ratio of 3.73, the Daily Defined Dose prescription of NSAIDs was higher in the older group (1.99 ± 0.43 *vs* 0.66 ± 0.22 ; $p < 0,001$) and in the rural setting (1.13 ± 0.27 *vs* 0.78 ± 0.17 ; $p < 0,001$).

Conclusions: The amount of NSAID prescriptions was higher among the elderly and in the rural setting of work. Given the implications of the treatment with NSAIDs, action should be taken to assure the correct indications for NSAIDs prescription, particularly in older patients.

Keywords: Non Steroidal Anti-inflammatory Drugs; Elderly; Pain; Prescription; General Practice.

Introdução

A nota introdutória ao Capítulo sobre Medicamentos Anti-inflamatórios não Esteróides (AINEs) do Prontuário Terapêutico (PT), Secção 9.1,¹ define os múltiplos mecanismos de acção para o efeito terapêutico e o perfil de efeitos indesejáveis deste grupo de medicamentos. Ainda segundo o PT, podemos considerar nos AINEs várias classes, a saber: salicilatos (ex: Ácido Acetilsalicílico), derivados para-aminofenol (ex: Acetaminofeno), derivados do ácido acético (ex: Indometacina), derivados do ácido propiónico (ex: Ibuprofeno), derivado do ácido enólico (ex: Meloxicam) e inibidores selectivos da Cox 2 (ex: celecoxibe).¹

Tendo os AINEs indicação no alívio da dor, na terapêutica da inflamação e na redução da febre têm,

*Mestre em Medicina, Chefe de Serviço de Clínica Geral, Centro de Saúde de Eiras, Sub-região de Saúde de Coimbra.

**Licenciada em Matemática, Assistente Convidada da Cadeira de Informática Aplicada à Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra e Sub-região de Saúde de Coimbra.

no entanto, contra-indicações, quer relativas, quer absolutas e, ao mesmo tempo, efeitos adversos importantes, como a hemorragia digestiva – mediada por efeitos locais e sobretudo sistémicos –, o efeito hipertensor, por redução da síntese de prostaglandinas e retenção de líquidos, o efeito negativo no metabolismo do cálcio, com perda acrescentada de densidade mineral óssea e a possibilidade de aumentar o estado de bronco-constricção.^{1,2,3} Acresce que a sua indicação na terapêutica da dor deve ser muito bem ponderada em função da semiologia de osteoartrose ou de patologia de carácter inflamatório do aparelho osteo-mio-articular.⁴

Em Portugal apenas dispomos de dados oficiais relativos ao consumo em volume e valor de alguns AINEs, verificando-se um crescimento muito marcado em volume e valor de Coxibes ao longo dos últimos anos, segundo o Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento (INFARMED).^{5,6} A prescrição de AINEs como Medicamentos Genéricos (MGs), parece estar também em crescendo.⁷

A análise do consumo de AINEs pode ser feita, quer pelo volume, em termos de quantidade de Doses Diárias Definidas (DDD), quer em valor, sendo a análise oficial realizada em custo, ou seja, o encargo para o terceiro pagador, como o Estado, através das comparticipações dispendidas, quer através de medidas de exposição ou utilização, pela análise de DDDs por 1.000 habitantes/dia.^{8,9} Define-se DDD como a dose média usada no adulto para a principal indicação de um medicamento, para um adulto de 70 Kg de peso.⁹

Segundo a Classificação Farmacoterapêutica Portuguesa, os medicamentos podem ser analisados em cinco níveis.¹⁰

Sendo a idade factor de predisposição para degenerescência osteo-articular, sendo as idades mais jovens mais propícias à patologia inflamatória, podendo haver contextos diferentes de prática profissional em função do local de trabalho, ruralidade *versus* urbanidade, também dependentes do tipo de ocupação populacional, julgou-se oportuno realizar trabalho de análise prescritional tendo como base a unidade de trabalho assistencial o Centro de Saúde, numa perspectiva de análise da prescrição efectuada pelos médicos a todos os utentes, independentemente, da cobertura de saúde se pelo Serviço Nacional de Saúde ou se por quaisquer outros Subsistemas de Saúde como ADSE, GNR e Ministério da Justiça, fosse a terapêutica originada pelos médicos de Clínica Geral dos respectivos Centros de Saúde ou fosse a se-

quência do início de prescrição por outro médico.

Em estudos anteriores foi possível demonstrar que os medicamentos para o Sistema Músculo-Esquelético representam cerca de 14,1% da prescrição em Clínica Geral.¹¹

Tendo sido recentemente instalado na área de influência da SRS de Coimbra o «Sistema de Apoio ao Médico» (SAM), módulo clínico que também detém, entre outras funcionalidades, o apoio prescritional, foi decidido realizar trabalho de análise prescritional de AINEs.

Objectivo

Conhecer diferenças na prescrição de Anti-inflamatórios Não Esteróides (AINEs) em Clínica Geral.

Como Objectivos específicos:

- saber se é diferente a prescrição na população com idade igual ou superior a 65 anos *versus* a população com idade inferior a 65 anos;
- saber se há diferenças na prescrição de AINEs entre CS urbanos e rurais e nestes entre os grupos populacionais acima descritos.

Material

Ficheiros electrónicos de prescrição gerados em linguagem ORACLE em oito Centros de Saúde no período entre Janeiro de 2006 e Outubro de 2006, ambos incluídos, e ferramentas específicas de análise de tal linguagem.

Metodologia

Estudo observacional transversal.

Análise de dados de prescrição em volume por Doses Diárias Definidas (DDD) e em valor pelo Preço em Euros.

DDD calculadas utilizando ficheiro específico fornecido pelo Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento (INFARMED), após celebração de acordo em 2004 com a Sub-região de Saúde de Coimbra.

População média calculada considerando a do início e do fim do período segundo dados fornecidos pelo Gabinete de Estatística da Sub-região de Saúde de Coimbra, tendo como base os inscritos em cada Centro de Saúde.

DDD calculadas ao ponto médio do estudo,

Quadro I. População em Estudo, por Centro de Saúde, no Início e Fim do Período do Estudo

Centro de Saúde	População inscrita em 31/12/2005			População inscrita em 31/12/2006		
	< 65 anos	≥ 65 anos	Total	< 65 anos	≥ 65 anos	Total
Cantanhede	34.071	9.750	43.821	34.076	9.984	44.060
Condeixa	12.782	3.420	16.202	13.054	3.471	16.525
Eiras	13.948	2.481	16.429	14.241	2.570	16.811
Penacova	12.216	3.543	15.759	12.100	3.526	15.626
Penela	4.692	1.861	6.553	4.671	1.877	6.548
S. Martinho do Bispo	20.434	4.541	24.975	20.428	4.577	25.005
Santa Clara	18.678	4.892	23.570	18.886	5.033	23.919
Tábua	9.530	3.191	12.721	9.598	3.202	12.800
Total	126.351	33.679	160.030	127.054	34.240	161.294

Fonte: SINUS
SRS Coimbra

como o total prescrito ao longo do período dividido pelo número de meses em estudo.

Definidos como CS urbanos os que se situam em cidade e os restantes como rurais.

Análise pelo nível II para anti-inflamatórios não esteróides, nível III para Coxibes e IV para Ibuprofeno e Diclofenac por se considerar Ibuprofeno como o padrão quanto a reacções adversas gastro-intestinais e o Diclofenac ser de longa utilização.

Tratamento de dados resultantes de transformação de linguagem ORACLE pela ferramenta DISCOVERER, em programa SPSS versão 14.0.

Após verificação de normalidade na distribuição dos dados foram utilizados os testes não paramétricos *Wilcoxon Signed Ranks Test* e *U de Mann-whitney*, respectivamente, para comparação de médias de DDDs entre os grupos populacionais menores e maiores que 65 anos e para comparar a distribuição de DDDs entre grupos rural e urbano, excepto para comparar a média de DDDs de AINEs e «restantes AINEs» entre grupos rural e urbano onde foi utilizado o teste *t* de *Student* para grupos distintos.

Foi ainda realizada análise estatística descritiva.

Resultados

1. Centros de Saúde e população em estudo.

No período em apreço estudaram-se as prescrições realizadas na população que se descreve no Quadro I.

No Quadro II são referidos os valores para a população por Centro de Saúde e Grupo Etário considerado a meio do período, bem como o peso relativo da população com idade inferior a 65 anos e a razão entre menores de 65 anos e aqueles com idade igual ou superior a 65 anos.

2. Prescrição a meio do período em estudo por nível da Classificação Farmacoterapêutica Portuguesa.

Nos Quadros III, IV e V são mostrados os valores de Doses Diárias Definidas médias ao longo do período para a população menor que 65 anos, para a população com idade igual ou superior a 65 anos e para a população total.

3. Prescrição por Grupos etários considerados.

A análise de exposição de DDDs por Habitante (DHD) no ponto médio é referida no Quadro VI.

4. Prescrição por tipo de centro de saúde e DDDs

No Quadro VII são mostrados os valores quanto à prescrição por DDDs por tipo de Centro de Saúde, rural ou urbano, segundo a definição acima descrita.

No Quadro VIII são mostrados os resultados quanto à prescrição de DDDs por CS urbano ou rural e pelo tipo de DDDs consideradas.

Discussão

Este trabalho pretendeu o estudo prático de uma realidade prescritiva em intenção de tratar. Ou

Quadro II. População com Idade Inferior e Igual ou Superior a 65 Anos, Peso Relativo da População Menor que 65 Anos e Razão entre as Duas Populações no Ponto Médio do Estudo.

Centro de Saúde	Menores de 65 anos ao meio do período	Com idade ≥ a 65 anos ao meio do período	População total ao meio do período	Peso relativo da população <65 anos	Razão entre <65 anos e ≥65 anos
Cantanhede	34.073,5	9.867	43.940,5	0,78	3,45
Condeixa	12.918	3.445,5	16.363,5	0,79	3,75
Eiras	14.094,5	2.525,5	16.620	0,85	5,58
Penacova	12.158	3.534,5	15.692,5	0,77	3,44
Penela	4.681,5	1869	6.550,5	0,71	2,50
S. Martinho do Bispo	20.431	4559	24.990	0,82	4,48
Santa Clara	18.782	4.962,5	23.744,5	0,79	3,78
Tábua	9.564	3.196,5	12.760,5	0,75	2,99
Total	126.702,5	33.959,5	160.662	0,79	3,73

Quadro III. Doses Diárias Definidas Prescritas no Ponto Médio do Período de Estudo para População com Idade Inferior a 65 Anos.

Centro de Saúde	DDD's totais	DDD's AINEs totais	DDD's Coxibes totais	DDD's Ibuprofeno totais	DDD's Diclofenac totais	DDD's AINEs restantes
Cantanhede	221.406,1	18.490,23	3.018,4	1956,1	3128,8	1.0387,16
S.Martinho do Bispo	109.066,6	7.912,307	842,2	1.626,177	1.208,06	4.236,035
Santa Clara	128.577,5	11.110,93	1.792	2.047,296	2.428,92	4.843,185
Eiras	84.955,69	7.278,682	1.065,7	1.239,46	1.419,63	3.554,017
Penela	48.725,62	4.753,489	465,6	1.418,507	893,22	1.976,182
Condeixa	104.215,3	9.783,696	1.046,1	2.496,003	1.279,86	4.961,843
Penacova	95.798,55	10.370,84	2.316,5	2.152,813	1.312,64	4.589,266
Tábua	79.274,53	6.970,018	1.054,65	1.293,636	1.167,113	3.454,768

seja, os dados em que o estudo se baseia são os originados pela prescrição realizada em ambiente informático e não, como habitualmente em Portugal, o reflexo do adquirido no balcão de farmácia, habitualmente revelado pela conferência de facturas de farmácia das Sub-regiões de Saúde em Portugal e reflectindo apenas a prescrição dentro do Serviço Nacional de Saúde, ou o libertado para o mercado, quer a grossistas, quer a farmácias, através de empresas especializadas em estudos de mercado.

As particulares razões para a análise ora apresentada têm a ver com o facto de os Coxibes serem de elevado preço e de ainda algo questionável segurança e indicações, de o Ibuprofeno ser considerada a droga padrão para a temática das reacções adversas gastro-intestinais a medicamentos, de o Diclofenac ser substância de muito bem co-

nhecido perfil de actuação e de reacções adversas e de, por estudos anteriores nesta área geográfica e não publicados, se ter percebido serem estes medicamentos dos mais prescritos em valor (Coxibes) e em volume (Ibuprofeno e Diclofenac). Ficaram de fora, para não alargar em demasia, muitas outras substâncias eventualmente muito utilizadas e até com Medicamento Genérico em Portugal, como o Nimesulide. Em outras ocasiões e para posterior análise, tais serão tidas em conta, bem como os analgésicos puros, como o acetaminofeno e os analgésicos de acção central.

A população sobre a qual incide este estudo é de 160.662 pessoas no ponto médio do estudo, assim podendo ser considerado como um estudo ecológico de alguma relevância. Deve ser salientado o facto de apenas serem consideradas as DDDs efec-

Quadro IV. Doses Diárias Definidas Prescritas no Ponto Médio do Período de Estudo para População com Idade Igual ou Superior a 65 Anos.

Centro de Saúde	DDD's totais	DDD's AINEs totais	DDD's Coxibes totais	DDD's Ibuprofeno totais	DDD's Diclofenac totais	DDD's AINEs restantes
Cantanhede	328.764,5	19.489,95	3.237	1.201,263	3.699,45	11.352,38
S.Martinho do Bispo	144.727,5	6.792,59	1.188,9	818,001	1.401,1	3.384,789
Santa Clara	182.976,9	10.620,96	2.081,5	770,367	2.530,425	5.238,767
Eiras	98.604,8	4.986,641	1.098,5	393,4	1.013,555	2.481,386
Penela	83.939,53	4.897,266	722,8	800,967	962,8	2.410,699
Condeixa	130.797,1	7.465,49	1.037,3	690,267	1.327,025	4.411,248
Penacova	119.538,3	7.341,862	1.864,8	398,235	1.323,495	3.755,582
Tábua	108.934,9	6.159,475	1.123,08	507,25	1.225,785	3.303,485

Quadro V. Doses Diárias Definidas Prescritas no Ponto Médio do Período de Estudo para a População Total.

Centro de Saúde	DDD's totais	DDD's AINEs totais	DDD's Coxibes totais	DDD's Ibuprofeno totais	DDD's Diclofenac totais	DDD's AINEs restantes
Cantanhede	55.0170,6	37.980,18	6.255,3	3.157,363	6.828,225	21.739,54
S. Martinho do Bispo	25.3794,1	14.704,9	2.030,9	2.444,178	2.609,145	7.620,824
Santa Clara	31.1554,4	21.731,89	3.873,3	2.817,663	4.959,325	1.0081,95
Eiras	18.3560,5	12.265,32	2.164,2	1.632,86	2.433,16	6.035,403
Penela	13.2665,2	9.650,755	1.188,4	2.219,474	1.856	4.386,881
Condeixa	23.5012,4	17.249,19	2.083,3	3.186,27	2.606,875	9.373,091
Penacova	21.5336,9	17.712,71	4.180,9	2.551,048	2.636,11	8.344,848
Tábua	18.8209,4	13.129,49	2.177,63	1.800,886	2.392,884	6.758,254

Quadro VI. Doses Diárias Definidas por Habitante (DHD) no Ponto Médio do Período no Total Geral, no Total de AINE's e por Tipo de AINE Considerado.

Variável	Média	Desvio-padrão
Total de DDDs < 65 anos (*)	7,27	1,84
Total de DDDs ≥ 65 anos (*)	36,54	6,09
DDD's AINEs < 65 anos (†)	0,66	0,23
DDD's AINEs ≥ 65 anos (†)	2,00	0,43
DDD's Coxibes < 65 anos (‡)	0,10	0,05
DDD's Coxibes ≥ 65 anos (‡)	0,41	0,13
DDD's Ibuprofeno < 65 anos (§)	0,14	0,09
DDD's Ibuprofeno ≥ 65 anos (§)	0,18	0,11
DDD's Diclofenac < 65 anos ()	0,11	0,04
DDD's Diclofenac ≥ 65 anos ()	0,39	0,12
DDD's Restantes AINEs < 65 anos (**)	0,30	0,09

Nota: (*),(†),(‡),(§),(||), (**) p<0,001 (Wilcoxon Signed Ranks Test)

tivamente prescritas por médicos de Clínica Geral dos Centros de Saúde em estudo, quer na consulta do ficheiro, quer na consulta em outro ambiente de supleção ou de urgência, não estando assim aqui reflectidas outras DDDs prescritas em privado ou em ambiente hospitalar.

A análise por DDDs por habitante é possível graças não só à estrutura montada e à qualidade técnica de todos os intervenientes na montagem da estrutura informática para estes Centros de Saúde, como também à possibilidade adquirida de utilizar a tecnologia mais adequada para o estudo das bases de dados geradas pela prescrição. A análise por DDDs tornou-se possível graças a acordo firmado com o INFARMED em 2004, pelo qual, oficialmente, a base de

Quadro VII. Doses Diárias Definidas por Habitante (DHD) no Ponto Médio do Período no Total Geral, em Função de CS Urbano ou Rural, no Total de DDDs Prescritas, de DDDs de AINEs e por Tipo de AINE Considerado.

	CS Rural	CS Urbano	p
DDD's totais	15,6±3,45	11,7±1,89	<0,001 (*)
DDD's AINEs	1,13±0,27	0,78±0,17	<0,001 (†)
DDD's Coxibes	0,21±0,07	0,13±0,04	<0,001 (*)
DDD's Ibuprofeno	0,20±0,10	0,10±0,03	<0,001 (*)
DDD's Diclofenac	0,19±0,06	0,15±0,05	0,005 (*)
DDD's Restantes AINEs	0,53±0,14	0,40±0,09	<0,001 (†)

(*) U de Mann-Whitney; (†) T de Student

DDD's por número de registo nacional é cedida à Sub-região de Saúde de Coimbra, anualmente, após seu tratamento pelas estruturas responsáveis do INFARMED, logo a seguir à publicação anual de DDD's da Organização Mundial de Saúde.

A população idosa terá poli-patologia e por tal estará poli-medicada,¹²⁻¹⁵ recebendo grande prescrição de medicamentos anti-inflamatórios não esteróides.¹⁶ O presente estudo permite agora afirmá-lo, sem qualquer dúvida, levantando ao mesmo tempo a questão da necessidade de tal prescrição a tal volume.

De facto, para o total de DDD's prescritas no lapso de tempo em estudo, verificamos:

- Uma razão de 0,20 quanto às DDD's totais prescritas para população com menos de 65 anos para

a de idade igual ou superior a 65 anos;

- Uma razão de 0,33 para as DDD's para as mesmas populações, quando apenas consideramos a prescrição de AINEs;

- Que para todos os níveis da Classificação Farmacoterapêutica a prescrição para a população com idade igual ou superior a 65 anos é mais frequente, de acordo com o Quadro VI.

Na análise da prescrição por Centro de Saúde Urbano ou Rural, com base na definição de se encontrarem em Concelho com Cidade ou com Vila, verificamos diferenças com significado estatístico,

para todos os tipos de medicamentos analisados.

Por Grupo Etário e por tipo de Centro de Saúde verificamos que para o grupo etário com idade menor que 65 anos prescreve-se, para todas as substâncias, mais em CS rural do que em CS urbano.

Para idades superiores a 65 anos só a prescrição de AINEs e Coxibes é significativamente maior em CS Rural do que em Urbano. Apesar de sem significado estatístico, a prescrição, para maiores de 65 anos é o Diclofenac, maior em meio Urbano.

Este tipo de resultados pode estar relacionado, por um lado, com eventual envelhecimento populacional em meio rural e, por outro, com diferentes custos directos da terapêutica e, ainda, pelas implicações na economia orgânica do idoso que

Quadro VIII. Doses Diárias Definidas por Habitante (DHD), em cada Grupo Etário Considerado, no Ponto Médio do Período no Total Geral, em Função de CS Urbano ou Rural, no Total de DDDs Prescritas, de DDDs de AINEs e por Tipo de AINE Considerado.

Variável	Grupo Etário	CS Rural (*)	CS Urbano (*)	p
DDD's totais	< 65 anos	8,41±1,78	6,13±1,01	<0,001 (*)
	≥ 65 anos	37,83±6,7	35,24±5,17	ns (*)
DDD's AINEs	< 65 anos	0,81±0,20	0,50±0,11	<0,001 (†)
	≥ 65 anos	2,10±0,47	1,89±0,35	0,035 (*)
DDD's Coxibes	< 65 anos	0,12±0,50	0,07±0,26	<0,001 (*)
	≥ 65 anos	0,45±0,15	0,36±0,10	0,002 (†)
DDD's Ibuprofeno	< 65 anos	0,20±0,09	0,08±0,03	<0,001 (*)
	≥ 65 anos	0,21±0,14	0,15±0,04	ns (*)
DDD's Diclofenac	< 65 anos	0,13±0,05	0,09±0,03	<0,001 (*)
	≥ 65 anos	0,38±0,12	0,40±0,11	ns (*)
DDD's Restantes AINEs	< 65 anos	0,36±0,09	0,25±0,06	<0,001 (†)
	≥ 65 anos	1,06±0,32	0,98±0,21	ns (†)

(*) U de Mann-Whitney; (†) T de Student

toma estes medicamentos.

O facto de não estarem publicados, na literatura médica portuguesa, estudos que reflectam a temática aqui tratada, impede-nos de fazer outros comentários, nomeadamente quanto à exposição e utilização. No entanto, dada a estrutura e o processo montados para análise deste tipo de dados, iremos certamente prosseguir no estudo da exposição populacional de medicamentos.

Conclusões

Os idosos recebem maior volume de prescrição, sendo a distribuição de todos os medicamentos, de anti-inflamatórios e de particulares grupos desta classe terapêutica, mais importante nos mais idosos e em meio rural.

Dadas as implicações que a terapêutica anti-inflamatória pode ter na economia orgânica, será necessária maior divulgação das mais adequadas indicações para utilização de anti-inflamatórios não esteróides em idosos.

Correspondência para:

Luiz Miguel Santiago
Quinta de Voimarães, Lote 12-5º D
3000-377 Coimbra
Email: lmsantiago@netcabo.pt

Os autores declaram não ter recebido qualquer subsídio pecuniário, ou outro, para a realização do presente trabalho e que não têm qualquer participação em empresa, ou associação, na Indústria Farmacêutica ou outra.

Referências:

1. <http://www.infarmed.pt/prontuario/index.php>
2. Burke A, Smyth E, Fitzgerald GA. Analgesics and antipyretic agents; pharmacotherapy of gout. In Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of therapeutics, eleventh edition. McGraw Hill, 2006; 685:687.
3. Formulário Nacional Hospitalar de Medicamentos <http://www.infarmed.pt/formulario/formulario.pdf>
4. Bogas M, Afonso MC, Araújo D. Anti-inflamatórios não Esteróides e Toxicidade Intestinal. Acta Reum Port 2006;31:227-235.
5. http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PUBLICACOES/TEMATICOS/ESTATISTICA_MEDICAMENTO/estatistica_2003_0.pdf
6. http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MONITORIZACAO_DO_MERCADO/OBSERVATORIO/ESTATISTICA_DO_MEDICAMENTO_2005
7. http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MONITORIZACAO_DO_MERCADO/OBSERVATORIO/ANALISE_MENSAL_MERCADO
8. http://www.euromedstat.cnr.it/pdf/EURO-MED-STAT_executive_summary.pdf
9. <http://www.whocc.no/atcddd/atcsystem.html#6>
10. http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/LEGISLACAO/LEGISLACAO_FARMACEUTICA_COMPILADA/TITULO_IV/despacho_21884_2004.pdf
11. Medeiros A, Costa A, Magalhães A, Luzia E, Gonçalves H. Terapêutica em Cuidados de saúde Primários numa população rural do Distrito de Faro. Rev Port Clin Geral 2000;16:279-290.
12. Dias C. Síndromes geriátricas. Geriatria 2002;15:15-20.
13. Galvão C. O envelhecimento e os cuidados geriátricos em medicina familiar. Rev Port Clin Geral 2006; 22:729-730.
14. Galvão C. O idoso polimedicado: estratégias para melhorar a prescrição. Rev Port Clin Geral 2006; 22:747-752.
15. Santiago LM, Fernandes J, Francisco MP et al. Interações farmacocinéticas na prescrição: um estudo alargado no ambulatório de medicina geral e familiar na área da Sub-Região de Saúde de Coimbra. Rev Port Clin Geral 2004;20:307-319.
16. Chaves C. Formação em geriatria. Geriatria 2002;15: 19-33.

FLEXIBILIZAÇÃO DO INTERVALO ENTRE AS INFUSÕES DE INFlixIMAB NO TRATAMENTO DOS DOENTES COM ESPONDILITE ANQUILOSANTE

Filipe Vinagre,* Maria José Santos,* J. Canas da Silva*

Resumo

Objectivo: Avaliar a manutenção da resposta, nos doentes com Espondilite Anquilosante (EA) sob terapêutica com infliximab, após prolongamento do intervalo entre as infusões.

Material e Métodos: Nos doentes com EA e resposta mantida à terapêutica com infliximab administrado de 6 em 6 semanas, foi proposto o prolongamento do intervalo entre as infusões. A resposta terapêutica foi avaliada através do *Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index* (BASDAI), *Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index* (BASFI), dor, rigidez, avaliação global pelo doente e marcadores laboratoriais de inflamação (VS e PCR).

Resultados: Vinte doentes participaram no estudo. Dezasseis eram do sexo masculino, com uma idade média de $40,3 \pm 10,9$ anos e duração média da doença de $12 \pm 9,4$ anos. O BASDAI inicial era de $59,5 \pm 22,8$ e o BASFI inicial de $50,7 \pm 27$. O intervalo entre as infusões passou para 8 ± 1 semana (mínimo 7; máximo 10) e realizou-se entre as 12 e as 142 semanas (mediana 21 semanas) após o início da terapêutica. O tempo de seguimento após mudança de regime terapêutico foi de 86 ± 45 semanas. Sessenta e cinco por cento (13/20) dos doentes mantiveram resposta com este esquema terapêutico.

Conclusões: Cerca de 2/3 dos doentes com EA e resposta adequada ao infliximab administrado de 6 em 6 semanas mantêm essa resposta com administrações menos frequentes, pelo que o prolongamento do intervalo entre as infusões poderá ser uma opção em doentes seleccionados.

Palavras-chave: Espondilite Anquilosante; Terapêutica; Infliximab.

Abstract

Objective: The aim of this study was to access the maintenance of therapeutic response in patients with Ankylosing Spondylitis (AS) receiving infliximab, after prolongation of the interval between infusions.

Material and Methods: In AS patients with sustained therapeutic response to infliximab administered every six weeks, a prolongation of the interval between infusions was proposed. The therapeutic response was evaluated using Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI), Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI), pain, stiffness, patient's global evaluation and acute phase reactants (ESR and CRP).

Results: Twenty patients participated in the study. Sixteen were male, with a mean age of 40.3 ± 10.9 years and mean disease duration of 12 ± 9.4 years. The initial BASDAI was 59.5 ± 22.8 and initial BASFI 50.7 ± 27 . The interval between infusions was lengthened to 8 ± 1 weeks (minimum 7; maximum 10) and this change occurred between 12 and 142 weeks (median 21) of treatment. The mean follow-up after changing the therapeutic regimen was 86 ± 45 weeks. Sixty-five percent (13/20) of the patients maintained an adequate response.

Conclusions: Two thirds of AS patients with sustained therapeutic response to infliximab administered every six weeks maintained an adequate response with prolongation of interval between infusions. Therefore the increase of the interval between infusions seems to be an adequate option in selected patients.

Key Words: Ankylosing Spondylitis; Therapy; Infliximab.

Introdução

A Espondilite Anquilosante (EA) é uma doença inflamatória crónica, que afecta principalmente in-

*Serviço de Reumatologia, Hospital Garcia de Orta EPE, Almada

divíduos jovens do sexo masculino. A sua prevalência está estimada entre 0,4 e 1,4%.¹ A evolução é muito variável, podendo ser uma doença progressiva e debilitante, associada a uma morbilidade e mortalidade semelhantes à artrite reumatóide.²

O Infiximab é um anticorpo monoclonal quimérico com elevada afinidade para o TNF- α , aprovado para o tratamento sintomático da EA refractária à terapêutica convencional. É administrado por via endovenosa na dose recomendada de 5 mg/kg/infusão às 0, 2, 6 semanas e posteriormente em intervalos de 6 semanas. A sua eficácia e segurança estão bem documentadas,³⁻⁶ no entanto esta terapêutica tem um custo bastante elevado e existem na literatura alguns trabalhos utilizando doses inferiores à recomendada e/ou intervalos mais prolongados entre as infusões que demonstram igualmente a eficácia deste fármaco.⁷⁻⁹

Assim, é importante saber se em doentes seleccionados é viável aumentar o intervalo entre as administrações de infliximab, mantendo a resposta terapêutica.

Material e Métodos

Doentes

Trata-se de um estudo observacional, em que foram incluídos os doentes com EA que iniciaram terapêutica com infliximab entre Setembro de 2001 e Março de 2006. Todos os doentes cumpriam os critérios de Nova Iorque modificados para diagnóstico de EA¹⁰ e tinham doença activa definida como BASDAI ≥ 4 em duas ocasiões com pelo menos quatro semanas de intervalo apesar da terapêutica com anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) e/ou *disease modifying antirheumatic drugs* (DMARDs).

Protocolo

Todos os doentes receberam infliximab na dose de 5 mg/kg/infusão às 0, 2 e 6 semanas e posteriormente a cada 6 semanas. Aos doentes com resposta mantida ao infliximab administrado a cada 6 semanas, foi proposto o prolongamento do intervalo entre as infusões do fármaco. Caso ocorresse agravamento sintomático os doentes retomavam o esquema terapêutico prévio.

O consumo de AINEs foi mantido de acordo com necessidade individual.

Antes de cada infusão foi avaliada a actividade da doença pelo BASDAI, a função pelo BASFI, a

dor através da média da dor do BASDAI (questões 2 e 3), a rigidez também através da média das questões de rigidez do BASDAI (questões 5 e 6), a avaliação global pelo doente através de uma escala visual analógica (0-100mm) e os parâmetros laboratoriais de inflamação (VS e/ou PCR). Foram também registados o consumo de AINEs, DMARDs e os efeitos adversos ocorridos.

A resposta à terapêutica foi definida como uma redução superior ou igual a 50% do valor inicial do BASDAI ou resposta ASAS20, conforme proposto nos consensos da Sociedade Portuguesa de Reumatologia (SPR) sobre a utilização de antagonistas do TNF- α na terapêutica da EA.¹¹ Foi considerada resposta mantida à terapêutica a persistência de critérios de resposta, conforme definido no parágrafo anterior, ao longo de pelo menos 12 semanas, ou seja, entre três avaliações consecutivas com 6 semanas de intervalo.

Análise Estatística

Os valores são expressos em percentagem, média $\pm$ desvio padrão e para os intervalos de tempo em mediana, máximo e mínimo. Na comparação entre os doentes respondedores e não respondedores utilizou-se o teste U de Mann-Whitney para as variáveis contínuas e o teste exacto de Fisher para as variáveis categóricas. O teste *t* de Student emparelhado foi usado na comparação dos parâmetros de resposta entre a avaliação inicial, a semana de mudança do regime de perfusão e avaliação final.

Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Resultados

Entre Setembro de 2001 e Março de 2006 iniciaram terapêutica com infliximab 35 doentes com EA. Vinte e nove (83%) obtiveram resposta adequada com administração do fármaco a cada 6 semanas. Vinte doentes com resposta mantida à terapêutica com infliximab aceitaram participar no estudo. As características destes doentes encontram-se resumidas no Quadro I.

O prolongamento do intervalo entre infusões ocorreu entre as 12 e as 142 semanas após o início da terapêutica (mediana 21 semanas). O intervalo médio passou para 8 semanas (mínimo 7 semanas; máximo 10 semanas). O período de seguimento após aumento do intervalo entre infusões foi de 86

Quadro I. Características Basais dos 20 Doentes com EA que Prolongaram o Intervalo entre as Infusões de Infiximab

Sexo masculino	16 (80%)
Idade média	40,3 ± 10,8
Duração de Doença	12 ± 9,4
HLA B27	
Positivo	11 (55%)
Negativo	2 (10%)
Desconhecido	7 (35%)
Envolvimento Periférico	13 (65%)
Envolvimento Extra-articular	4 (20%)
Terapêutica concomitante	
AINEs	20 (100%)
SLZ	9 (45%)
MTX	2 (10%)
BASDAI	59,5 ± 22,8
BASFI	50,7 ± 27
Rigidez	65,3 ± 27,5
Dor	60,8 ± 21,3
Avaliação Global (EVA 0-100 mm)	64,8 ± 27,2
VS (mm/l ^a h)	38,6 ± 29,4
PCR (mg/dl)	3,9 ± 4,3

AINEs – anti-inflamatórios não esteróides; SLZ – salazopirina; MTX – metotrexato; BASDAI – Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASFI – Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index; VS – velocidade de sedimentação eritrocitária; PCR – proteína C reactiva; EVA – escala visual analógica.

± 45 semanas.

Dos 20 doentes, 13 (65%) mantiveram resposta de acordo com os consensos da SPR. Nove doentes (69,2%) reduziram o consumo de AINEs e 4 doentes (30,8%) suspenderam DMARDs após início de infliximab.

Constatou-se uma melhoria estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre o início da terapêutica com infliximab (semana 0), a semana em que se procedeu ao prolongamento do intervalo entre as infusões (semana M) e a última avaliação (semana F), em todos os parâmetros avaliados (Figuras 1-3). Entre a semana M e F verificou-se um agravamento no parâmetro «avaliação global pelo doente» ($p=0,01$), mas mantendo-se a melhoria quando comparado com a semana 0 ($p=0,002$). Nos restantes parâmetros avaliados não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre a avaliação intermédia e a final.

Os doentes que mantiveram resposta com o prolongamento do intervalo entre as infusões de infliximab tinham idade mais avançada ($44,5 \pm 10,7$ anos *vs* $32,7 \pm 6,0$ anos; $p < 0,01$), e valores iniciais mais elevados de BASDAI ($62,6 \pm 22,1$ *vs* $53,6 \pm 24,7$; $p < 0,0001$), BASFI ($62,9 \pm 23,7$ *vs* $24,2 \pm 7,0$; $p < 0,005$), dor ($66,3 \pm 31,2$ *vs* $50,8 \pm 18,7$; $p < 0,0001$), rigidez ($71,7 \pm 25,1$ *vs* $53,3 \pm 29,6$; $p < 0,0001$), avaliação global realizada pelo doente ($73,5 \pm 19,7$ *vs* $48,6 \pm 33,1$; $p < 0,0001$), VS (47 ± 32 *vs* 23 ± 15 ; $p < 0,001$) e PCR ($5,1 \pm 4,7$ *vs* $1,2 \pm 1,2$; $p=0,002$) do que os doen-

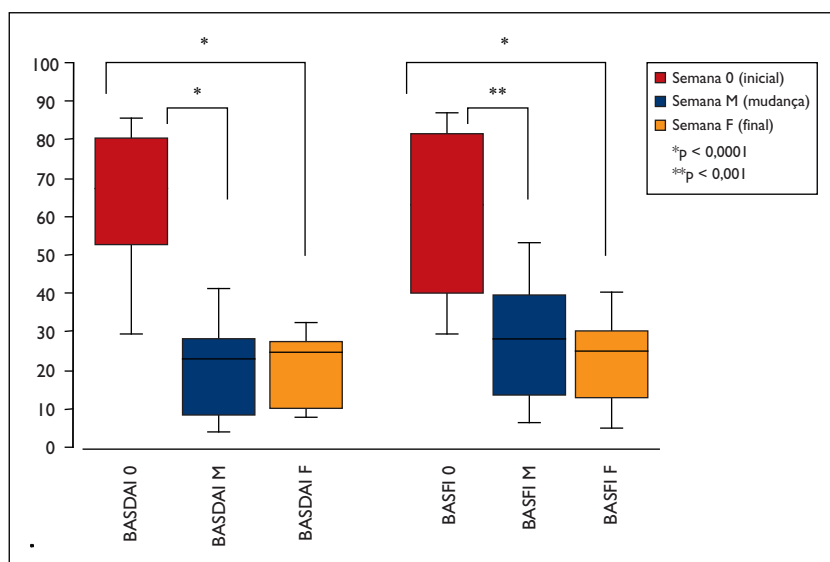


Figura 1. Houve uma redução significativa dos valores de BASDAI e BASFI com administração de infliximab de 6/6 (semana M vs semana 0) que se manteve após prolongamento do intervalo entre as infusões (semana F vs semana 0).

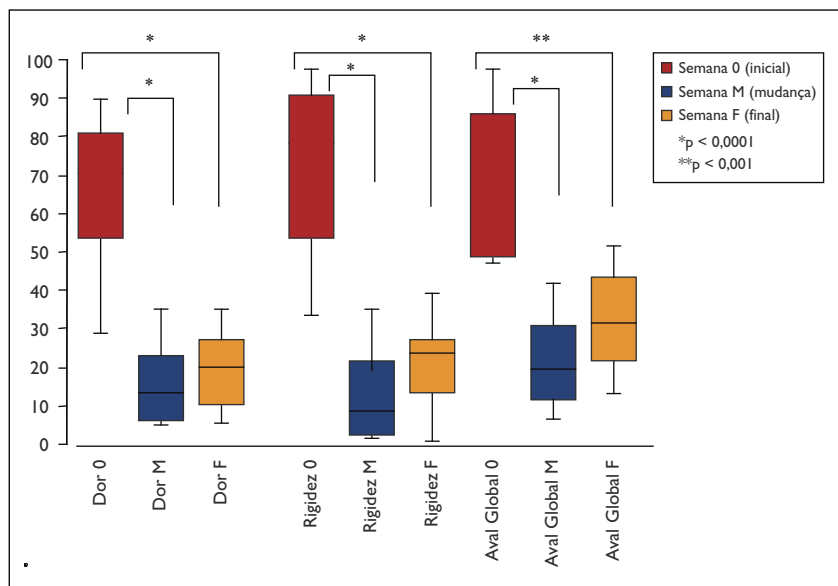


Figura 2. A redução da Dor, Rigidez e Avaliação Global pelo doente com administração de infliximab de 6/6 semanas (semana M vs semana 0) manteve-se de forma significativa após prolongamento do intervalo entre as infusões (semana F vs semana 0).

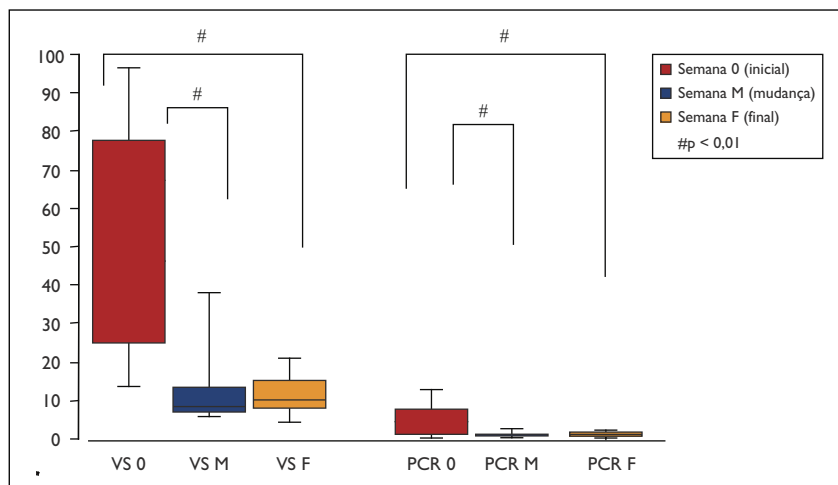


Figura 3. A redução da velocidade de sedimentação eritrocitária (VS) e proteína C reactiva (PCR) verificada após o início da terapêutica com infliximab (semana M vs semana 0) manteve-se com o prolongamento do intervalo entre as infusões de infliximab (semana F vs semana 0).

tes que não toleraram a mudança do regime terapêutico.

Para melhor compreender a influência da idade na resposta à terapêutica com infliximab, procedemos à comparação entre os doentes com idade ≥ 40 anos e < 40 anos. Verificámos que os doentes com idade ≥ 40 anos tinham valores iniciais de BASDAI inferiores ($53,7 \pm 22,5$ vs $76,9 \pm 12,9$; $p < 0,001$) e valores iniciais de BASFI ($65,0 \pm 23,1$ vs $59,7 \pm 27$;

$p = 0,001$), VS ($53,5 \pm 32,5$ vs $37 \pm 32,4$; $p < 0,01$) e PCR ($5,9 \pm 4,7$ vs $3,9 \pm 5,1$; $p < 0,01$) significativamente mais elevados.

Efeitos adversos graves

Um doente interrompeu terapêutica com infliximab após 144 semanas de tratamento por surgimento de carcinoma de células acinares da parótida esquerda. Este doente tinha prolongado o in-

tervalo entre infusões e apresentava resposta mantida a este esquema terapêutico.

Discussão

O Infliximab é um dos agentes anti-TNF α aprovados para o tratamento sintomático da EA. O elevado custo e os efeitos adversos potencialmente graves deste fármaco implicam restrições à sua utilização, devendo apenas ser usado em doentes com doença activa refractária às terapêuticas convencionais, adequadamente monitorizados, em que o benefício esperado se sobrepõe aos riscos potenciais. A dose recomendada pelo fabricante é de 5mg/kg/infusão às 0, 2, 6 semanas e posteriormente a intervalos de 6 semanas. No entanto, estão publicados na literatura estudos de pequenas dimensões com doses inferiores à recomendada ou com intervalos de tempo entre infusões superiores que demonstraram eficácia terapêutica.⁷⁻⁹ Este facto pode estar relacionado com a variabilidade inter-individual da farmacocinética do infliximab.¹² Segundo Rudwaleit *et al.*,¹³ doentes jovens com menor duração de doença, melhor estado funcional, com índices de actividade e reagentes de fase aguda elevados têm maior probabilidade de atingir critérios de resposta. No presente estudo, todos os doentes iniciaram terapêutica com a dose recomendada e, uma vez atingidos critérios de resposta, prolongou-se o intervalo entre as infusões. Sesenta e cinco por cento (65%) dos doentes mantiveram a eficácia clínica com a mudança do regime de perfusão. A actividade inflamatória inicial mais elevada (BASDAI, dor, rigidez, VS, PCR) associou-se de forma estatisticamente significativa à manutenção da resposta com administração do infliximab em intervalos mais prolongados. Também constatámos que os doentes com BASFI inicial mais elevado, mantiveram resposta adequada à alteração do regime terapêutico. Este achado pode dever-se ao facto de que este parâmetro traduz não só dano estrutural, mas também actividade inflamatória. Contrariamente ao descrito na literatura, no nosso estudo os doentes que mantiveram a resposta tinham uma idade mais avançada. Esta diferença pode ser explicada pelo facto dos doentes com idade superior apresentarem valores iniciais de reagentes de fase aguda (VS e PCR) mais elevados que os doentes mais jovens com resposta mantida.

Os resultados encontrados sugerem que a pro-

babilidade de resposta ao infliximab administrado em intervalos mais prolongados do que o preconizado é maior nos doentes com doença mais activa, o que vai ao encontro dos dados da literatura em que os doentes com mais actividade inflamatória têm maior probabilidade de resposta aos fármacos anti-TNF α .¹³⁻¹⁵

No nosso estudo 2/3 dos doentes com EA mantiveram resposta adequada ao infliximab administrado em intervalos superiores ao preconizado, em média a cada 8 semanas, ao longo de mais de ano e meio de seguimento. Apesar da pequena dimensão da amostra, admitimos que intervalos maiores entre as infusões de infliximab podem ser adequados para o controlo sintomático da EA em doentes seleccionados. As possíveis implicações deste regime na evolução de alterações estruturais não são conhecidas.

A flexibilização do esquema terapêutico pode ser uma opção em doentes seleccionados, mantendo a eficácia e reduzindo os custos directos e indirectos associados à administração de infliximab.

Correspondência para:

Filipe Vinagre
Serviço de Reumatologia
Hospital Garcia de Orta EPE
Avenida Torrado da Silva
2801-951 Almada, Portugal
E-mail: filipevinagre@netcabo.pt

Referências:

1. Braun J, Brandt J, Listing J, Rudwaleit M, Sieper J. Biologic therapies in the spondylarthritis: New opportunities, new challenges. *Curr Opin Rheumatol* 2003;15:394-407.
2. Zink A, Braun J, Listing J, Wollenhaupt J. Disability and handicap in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis—results from German rheumatological database. *J Rheumatol* 2000; 27: 613-622.
3. Braun J, Brandt J, Listing J et al. Treatment of active ankylosing spondylitis with infliximab: a randomized controlled multicentre trial. *Lancet* 2002;359: 1187-1193.
4. Braun J, Brandt, Listing J et al. Long-term efficacy and safety of infliximab in the treatment of ankylosing spondylitis: an open, observational, extension of a three month, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2224-2233.
5. Braun J, Baraliakos X, Brandt J et al. Persistent clinical response to the anti-TNF-alpha antibody infliximab in patients with ankylosing spondylitis over 3 years. *Rheumatology*. 2005;44:670-676.
6. Van der Heijde D, Dijkmans B, Geusens P; Ankylosing Spondylitis Study for the Evaluation of Recombinant Infliximab Therapy Study Group. Efficacy and safety

- of infliximab in patients with ankylosing spondylitis: results of a randomized, placebo-controlled trial (AS-SERT). *Arthritis Rheum.* 2005; 52:582-591.
7. Collantes-Estevez E, Muñoz-Villanueva MC, Zarco P et al. Effectiveness of reducing infliximab dose interval in non-responder patients with refractory spondylarthropathies. An open extension of a multicentre study. *Rheumatology* 2005; 44:1555-1558.
 8. Kelling S, Oswald A, Malon C, Russel A, Maksymowich W. Prospective observational analysis of the efficacy and safety of low-dose (3 mg/kg) infliximab in ankylosing spondylitis: 4-year followup. *J Rheumatol* 2006; 33: 558-561.
 9. Sidiropoulos P, Kritikos HD, Siakka P et al. Low dose of infliximab is inadequate in most patients with spondyarthropathies. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23:513-516.
 10. Van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis: a proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum* 1984; 27:361-368.
 11. Grupo de consensos para as terapêuticas biológicas na espondilite anquilosante da Sociedade Portuguesa de Reumatologia. Consensos sobre a utilização de antagonistas do TNF- α na terapêutica da espondilite anquilosante. *Acta Reum Port.* 2005; 30: 155-159.
 12. Nestorov I. Clinical pharmacokinetics of TNF antagonists: how do they differ? *Semin Arthritis Rheum* 2005; 34 (Suppl):12-18.
 13. Rudwaleit M, Listing J, Brandt J, Braun J, Sieper J. Prediction of a major clinical response (BASDAI 50) to tumour necrosis factor alpha blockers in ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 2004; 63: 665-670.
 14. Braun J, Sieper J. Biological therapies in spondyloarthritis-the current state. *Rheumatology* 2004; 43: 1072-1084.
 15. Paul S, Keat A. Assessment of patients with spondyloarthropathies for treatment with tumor necrosis factor α blockade. *Rheumatology* 2005; 44: 17-23.

American College of Rheumatology 71st Annual Scientific Meeting

EUA, Boston
06-11 de Novembro de 2007

7th European Lupus Meeting

Holanda, Amsterdão
07-10 de Maio de 2008

Data limite para envio de resumos:
15 de Janeiro de 2008

PROTOCOLO DE MONITORIZAÇÃO CLÍNICA DA ARTRITE IDIOPÁTICA JUVENIL [PMAIJ]

Helena Canhão,^{***} João Eurico Fonseca,^{***} Maria José Santos,^{***} J.A. Melo Gomes^{****}

Resumo

O desenvolvimento de novas terapêuticas eficazes em casos anteriormente refractários, mas potencialmente tóxicas e com custos económicos associados, implicou uma modificação nos critérios de avaliação objectiva das doenças reumáticas inflamatórias e concomitantemente uma maior exigência na quantificação da resposta e na monitorização da doença e da terapêutica.

O objectivo do desenvolvimento e publicação deste protocolo (PMAIJ) é fornecer aos reumatologistas e pediatras que tratam crianças com artrite idiopática juvenil (AIJ), uma ferramenta útil para a avaliação clínica continuada destes doentes, com recurso a instrumentos válidos considerados os mais adequados para a quantificação da actividade da doença, capacidade funcional e resposta à terapêutica.

A ficha de monitorização é constituída por 2 páginas e por 2 anexos. Na avaliação inicial são preenchidas as duas páginas do protocolo e nas visitas de seguimento é preenchida apenas a segunda página e os anexos.

A utilização deste protocolo poderá contribuir para uniformizar a actuação dos diversos Centros de Reumatologia Pediátrica e, no futuro, obter informação útil sobre a evolução dos doentes com AIJ seguidos a nível nacional.

Palavras-chave: Artrite Idiopática Juvenil; Monitorização; Portugal; Protocolo de seguimento; Registo.

*Serviço de Reumatologia, Hospital de Santa Maria, Lisboa;

**Unidade de Investigação em Reumatologia, Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa

***Serviço de Reumatologia, Hospital Garcia de Orta, Almada

****Consulta de Reumatologia Infantil do Adolescente e do Adulto Jovem, Instituto Português de Reumatologia, Lisboa.

Abstract

The development of new and more efficacious therapeutic agents, though expensive and potentially toxic, helped to implement objective measures to quantify the improvement and to monitor the evolution of inflammatory rheumatic diseases.

The aim of our protocol (PMAIJ) is to supply rheumatologists and paediatricians with a useful tool for follow-up of juvenile arthritis patients using validated instruments for the evaluation of activity, functional capacity and response to treatment.

PMAIJ has 2 pages. The first page is filled only at the initial evaluation; the second page is filled at first and in all the appointments after that.

The application of this protocol would contribute to the standardization of procedures in different Paediatric Rheumatology Centres and would help to obtain useful information on the clinical evolution of JIA patients followed in Portugal.

Keywords: Juvenile Idiopathic Arthritis; Monitoring; Portugal; Follow-up protocol; Registry

Introdução

Na última década registaram-se avanços importantes no conhecimento de mecanismos fisiopatológicos subjacentes às doenças reumáticas inflamatórias, nomeadamente à artrite idiopática juvenil (AIJ). O desenvolvimento de fármacos dirigidos contra mediadores específicos da inflamação condicionou uma mudança significativa na terapêutica destas doenças. A eficácia demonstrada em adultos com terapêuticas antagonistas do factor de necrose tumoral (TNF)-alfa, do receptor da interleucina (IL)-1, do receptor da IL-6, de moléculas co-estimuladoras, e de linfócitos B, tem promovido o estudo destes agentes em crianças. Actualmente o etanercept, um receptor solúvel que exerce uma acção antagonista do TNF-alfa, está apro-

vado para a terapêutica do envolvimento poliarticular da AIJ¹ e é previsível que, no futuro, outros fármacos biológicos sejam aprovados para o tratamento desta patologia. Mas a utilização destes fármacos deve ser acompanhada de uma rigorosa e objectiva monitorização das suas eficácia e segurança e teve como consequência uma mudança de paradigma na avaliação clínica de todas as crianças com AIJ, cujo seguimento clínico ficou assente nos mesmos critérios objectivos de avaliação da actividade da doença e resposta às terapêuticas utilizadas.

O objectivo do desenvolvimento e publicação do PMAIJ é fornecer aos reumatologistas e pediatras que tratam as crianças com AIJ, uma ferramenta útil para o seguimento e monitorização destes doentes, com recurso a instrumentos válidos considerados os mais adequados para a avaliação da actividade, capacidade funcional² e resposta à terapêutica.³ O PMAIJ permite também o registo sistematizado dos efeitos adversos. A utilização deste protocolo poderá contribuir para uniformizar a actuação dos diversos Centros de Reumatologia Pediátrica e, no futuro, obter informação sobre a evolução dos doentes portugueses que sofrem de AIJ, através da eventual criação de um registo nacional de doentes com estas patologias.

O PMAIJ

O protocolo de monitorização da AIJ é um suporte escrito estruturado, de rápida execução, reproduzível e que permite obter dados relativos às características da AIJ, às terapêuticas efectuadas (passadas e presentes), à evolução da doença e às intercorrências. A elaboração deste protocolo resultou de um trabalho conjunto e de experiências prévias de reumatologistas do Hospital de Santa Maria (HSM), Hospital Garcia de Orta (HGO) e Instituto Português de Reumatologia (IPR) e tem sido aplicado nestes Centros. Um protocolo semelhante, mais antigo, elaborado em 1996, serviu de base à colheita de dados do Grupo de Reumatologia Pediátrica do Comité Ibero Americano de Reumatologia (CIAR), cujos resultados têm vindo a ser objecto de comunicações em reuniões nacionais e internacionais.^{4,5}

A duração do preenchimento da primeira avaliação é de cerca de 30 minutos e as reavaliações demoram cerca de 15 minutos.

O PMAIJ é composto por duas páginas para apli-

cação na primeira visita (Figura 1 e Figura 2) e por uma página (Figura 2) para as visitas subsequentes. É composto ainda por 2 anexos: um anexo (Figura 3) para registo das articulações dolorosas, tumefactas e com mobilidade limitada; e um segundo anexo com a versão portuguesa do *Child Health Assessment Questionnaire* (CHAQ)² para avaliação da capacidade funcional.

A primeira página (Figura 1) reúne dados demográficos como o sexo e a data de nascimento, a data do diagnóstico e o sub-tipo da AIJ. São ainda registados os antecedentes pessoais e patologia concomitante relevantes, terapêutica de fundo (DMARD) prévia, dados laboratoriais como factores reumatóides, anticorpos antinucleares e tipagem HLA B27, radiografia de tórax e resultado da prova tuberculínica. Na segunda página (Figura 2) são registados o peso, altura e superfície corporal. A caracterização da actividade da doença é efectuada através de escalas visuais analógicas do bem estar avaliado pelo doente ou pelos pais, da dor avaliada pelo doente ou pelos pais e da actividade da doença avaliada pelo médico; são ainda contabilizados o número de articulações dolorosas, tumefactas e com mobilidade limitada que se discriminam em documento anexo (Figura 3) e a presença de manifestações extra-articulares. O registo da terapêutica inclui a terapêutica de fundo actual, o consumo de anti-inflamatórios não esteróides e de corticosteroides (por via sistémica e intra-articular). Registam-se ainda os resultados laboratoriais mais relevantes (hemoglobina, plaquetas, velocidade de sedimentação (VS), proteína C reactiva (PCR), transaminases e creatinina) e a capacidade funcional avaliada através da versão portuguesa do CHAQ.² Em cada avaliação são ainda registadas as intercorrências infecciosas e não infecciosas. É desejável que na avaliação inicial e anualmente seja aplicado um questionário de qualidade de vida (*Child Health Questionnaire* (CHQ))⁶ e que seja efectuada uma avaliação radiológica das articulações envolvidas, a repetir com intervalos não inferiores a 1 ano.

Para as avaliações subsequentes utiliza-se apenas a segunda página (Figura 2) e os dois anexos.

A nossa experiência com a aplicação deste protocolo tem demonstrado a sua fácil aplicabilidade e interpretação. Permite a monitorização criteriosa da evolução da doença, serve como base para registos informatizados e permite uma avaliação global de resultados, quer em termos de eficácia, quer de segurança.

Correspondência para:

Helena Canhão
 Serviço de Reumatologia
 Hospital de Santa Maria, Lisboa
 E-mail – helenacanhao@netcabo.pt

Referências:

1. <http://www.emea.eu.int/humandocs/PDFs/EPAR/Enbrel/014600en6.pdf>.
2. Melo Gomes JA, Ruperto N, Canhão H, et al. The portuguese version of the childhood health assessment questionnaire (CHAQ) and the child assessment questionnaire (CHQ). Clin Exp Rheumatol 2001;19 (Suppl 23):S126-S130.
3. Giannini EH, Ruperto N, Ravelli A, Lovell DJ, Felson DT, Martini A. Preliminary definition of improvement in juvenile arthritis. Arthritis Rheum 1997; 40: 1202-1209.
4. Conde M, Melo Gomes JA, Hilário MO, and the CIAR Pediatric Rheumatology Group. Oligoarticular Juvenile Idiopathic Arthritis (JIA) With Positive ANA. [Abstract] Ann Rheum Dis 2003; (Suppl II): 62.
5. Melo Gomes JA, Conde M, Hilário MO, Bica B, Oliveira S, Pereira B. Artrite Idiopática Juvenil sistémica numa população Iberoamericana. [Abstract] Acta Reum Port 2006; 31 (suppl 1): S137.
6. Landgraf JL, Abetz L, Ware JE 1996. The CHQ User's Manual. The Health Institute. New England Medical Centre, Boston.

Figura 1.

Primeira página do PMAIJ

Identificação Nome do doente: _____ Sexo: M ☐ F ☐ Data de Nascimento (dd/mm/aa): ____ / ____ / ____ Data do diagnóstico da AIJ (dd/mm/aa): ____ / ____ / ____ Forma de início: Sistémica ☐ Oligoarticular ☐ Poliarticular FR+ ☐ Poliarticular FR- ☐ Artrite Psoriática ☐ Artrite-relacionada com entesite ☐ Outra ☐ Idade na altura do diagnóstico: _____ Patologia concomitante e antecedentes pessoais relevantes: _____ _____ _____ Antecedentes familiares reumatológicos (AR, LES, EASN): _____ Terapêutica de fundo prévia (DMARD) Nota: A informação deverá ser discriminada da seguinte forma: nome, dose, data de início e interrupção, motivo de interrupção (efeito adverso (EA): qual?; Ineficácia (I); outro motivo (O): qual?). _____ _____ _____ Rx torax (data, normal sim/não, descrição de alterações): _____ _____ Prova tuberculínica (data e resultado): _____ Exames laboratoriais (se aplicável): ANA _____ RA test _____ Waaler-Rose _____ Tipagem HLA B27 _____
--

Figura 2.
Segunda página do PMAIJ

Nome do doente: _____

Peso (Kg): _____ Altura (cm): _____ Superfície corporal: _____

Actividade da doença
Considerando todas as formas como a artrite afecta o seu filho, indique como ele está a passar colocando uma marca na linha abaixo:
(Mto bem) 0 _____ 10 (Mto mal)

Que intensidade de dor pensa que o seu filho teve devido à sua doença, NA SEMANA PASSADA
(S/Dor) 0 _____ 10 (Max. Dor)

Escala análoga visual da actividade global da doença, segundo a opinião do médico
(S/actividade) 0 _____ 10 (Max. Act.)

Número de articulações activas: _____

Número de articulações com mobilidade limitada: _____
(registo em anexo)

Manifestações extra-articulares (assinalar com cruz)
Uveíte: ☐ Febre: ☐ Rash: ☐ Serosite ☐ Adenopatias: ☐
Outros (discriminar) _____

Laboratório
Hb: _____ Plaquetas: _____ VS: _____ PCR (mg/dl): _____ / _____
Creatinina: _____ TGO: _____ TGP: _____

Terapêutica
Terapêutica de fundo actual (DMARD) [assinalar], dose e data de início:

Metotrexato	Ciclosporina
Sulfasalazina	Azatioprina
Hidroxicloroquina	Sais de ouro
Etanercept	Anakinra
Infliximab	Adalimumab

Efeitos adversos? _____

Intercorrências? _____

Consumo actual de AINE (nome e dose, data de início) _____

Consumo actual de corticóides (nome, dose, data de início) _____

Nº injeções intraarticulares de corticóides (corticóide usado, locais e dose):

Capacidade funcional: CHAQ [escala em nexo]: _____

Plano: _____

Data: _____ Nome do médico: _____

Figura 3.

Folha de registo das articulações dolorosas, tumefactas e com movimentos limitados

REGISTO DAS ARTICULAÇÕES ATINGIDAS COM: TUMEFACÇÃO (T), DOR (D) OU MOVIMENTOS LIMITADOS (ML)						
LADO DIREITO			Articulações	LADO ESQUERDO		
T	D	ML		T	D	ML
	☐	☐	Temporo-Mandibular		☐	☐
☐	☐		Esterno-Clavicular	☐	☐	
	☐		Acrómio-Clavicular		☐	
☐	☐	☐	Ombro	☐	☐	☐
☐	☐	☐	Cotovelo	☐	☐	☐
☐	☐	☐	Punho	☐	☐	☐
☐	☐	☐	MCF I	☐	☐	☐
☐	☐	☐	MCF II	☐	☐	☐
☐	☐	☐	MCF III	☐	☐	☐
☐	☐	☐	MCF IV	☐	☐	☐
☐	☐	☐	MCF V	☐	☐	☐
☐	☐	☐	IFP I	☐	☐	☐
☐	☐	☐	IFP II	☐	☐	☐
☐	☐	☐	IFP III	☐	☐	☐
☐	☐	☐	IFP IV	☐	☐	☐
☐	☐	☐	IFP V	☐	☐	☐
☐	☐	☐	IFD II	☐	☐	☐
☐	☐	☐	IFD III	☐	☐	☐
☐	☐	☐	IFD IV	☐	☐	☐
☐	☐	☐	IFD V	☐	☐	☐
	☐	☐	Coxo-Femoral		☐	☐
☐	☐	☐	Joelho	☐	☐	☐
☐	☐	☐	Tíbio-Társica	☐	☐	☐
☐	☐		Tarso	☐	☐	
	☐	☐	Astrágalo-calcaneana		☐	☐
☐	☐	☐	MTF I	☐	☐	☐
☐	☐	☐	MTF II	☐	☐	☐
☐	☐	☐	MTF III	☐	☐	☐
☐	☐	☐	MTF IV	☐	☐	☐
☐	☐	☐	MTF V	☐	☐	☐
☐	☐	☐	IF I	☐	☐	☐
☐	☐	☐	IF II	☐	☐	☐
☐	☐	☐	IF III	☐	☐	☐
☐	☐	☐	IF IV	☐	☐	☐
☐	☐	☐	IF V	☐	☐	☐
	☐	☐	Coluna Cervical			
	☐	☐	Coluna Dorsal			
	☐	☐	Coluna Lombar			
	☐		Sacro-Iliacas		☐	

	Dolorosas	Tumefactas	Com Movimentos Limitados
Número Total de Articulações	☐ ☐	☐ ☐	☐ ☐

Legenda: **MCF**= Metacarpofalângicas (I a V – 1º a 5º dedo das mãos); **IFP**=Interfalângicas proximais (I a V – 1º a 5º dedo das mãos); **IFD**= Interfalângicas distais (II a V – 2º a 5º dedo das mãos); **MTF**= Metatarsofalângicas (I a V – 1º a 5º dedo dos pés); **IF**= Interfalângicas dos dedos dos pés (I a V – 1º a 5º dedo dos pés). Com uma cruz, ou preenchendo totalmente o respectivo quadrado, indicam-se as articulações atingidas e o tipo de envolvimento detecta-

APRESENTAÇÃO ATÍPICA
DE NEOPLASIA DO PULMÃO

Ana Sofia Preto,* Rui Teixeira,** Rosa Cruz**

Resumo

Apresenta-se o caso clínico de um doente do sexo masculino de 61 anos de idade que recorre ao serviço de urgência por artrite do punho direito e joelho esquerdo, bem como celulite da perna esquerda *ad inicio*, hipocratismo digital e unhas «em vidro de relógio», cuja investigação conduziu ao diagnóstico definitivo de adenocarcinoma do pulmão em estadio IV, com metastização óssea. Discute-se a associação deste subtipo de neoplasia pulmonar a manifestações osteo-articulares e a sua apresentação por metastização óssea.

Palavras-chave: Adenocarcinoma Pulmonar; Metástases Ósseas; Artrite.

Abstract

The authors present the clinical case of a 61-year-old male admitted to the emergency department, with arthritis of his right wrist and left knee as well as left leg cellulitis, digital clubbing and «hourglass» nails. Subsequent clinical work-up led to the final diagnosis of stage IV adenocarcinoma of the lung, with bone metastasis. The authors discuss the association between this type of lung neoplasm and osteoarticular manifestations as well as its first presentation as bone metastasis.

Keywords: Lung Adenocarcinoma; Bone Metastasis; Arthritis.

Introdução

Metástases ósseas podem surgir como primeira ma-

nifestação de alguns carcinomas primários ocultos. Com o seguimento posterior ou mesmo na autópsia, as lesões primárias vêm a revelar-se como sendo do pulmão,^{1,2} mama, próstata, rim, tiróide ou de outros órgãos.^{2,3} Os autores apresentam um caso em que as primeiras queixas foram do foro osteo-articular e em que a investigação conduziu ao diagnóstico histológico de neoplasia do pulmão.

Caso Clínico

Doente do sexo masculino, 61 anos, com história pessoal de dislipidemia e carga tabágica de 125 UMA. Assintomático até Outubro de 2005, altura em que se apresenta no Serviço de Urgência (SU) do Hospital do Divino Espírito Santo (HDES) com sinovite do punho direito e joelho esquerdo, bem como «celulite» da perna esquerda que limitavam a mobilização activa e passiva, com algumas semanas de evolução e sem história de traumatismo. Não referia agravamento nocturno ou rigidez matinal e negava sintomas acompanhantes constitucionais. Ao exame objectivo observava-se ainda unhas em vidro de relógio e hipocratismo digital. Não apresentava nódulos subcutâneos ou sinovite de outras articulações. Analiticamente à entrada tinha Hb 14,3 g/dL [valores de referência (VR) 13-18g/dL], sem leucocitose, mas com neutrofilia relativa (81,70% - VR: 40-74%), 138.000 plaquetas/mL (VR: 150.000-400.000/mL), gama-glutamyltransferase (g-GT) 79 UI/L (VR: 8-61 UI/L), fosfatase alcalina (FA) 110 UI/L (VR: 40-129 UI/L), velocidade de sedimentação (VS) 41mm/1ª hora, proteína C reactiva (PCR) 7 mg/dl (VR: 0-0,57 mg/dl), gasimetria arterial sem alterações e estudo da coagulação normal. Radiologicamente apresentava osteólise do trapézio e trapezóide direitos e das extremidades proximais do 1º e 2º metacarpianos homolaterais com densificação dos tecidos moles envolventes, reabsorção endosteal ao nível do terço médio do cúbito direito, lesão lítica no terço médio da tíbia esquerda (Figura 1) e, na radiografia de tórax, múltiplas imagens nodulares bilaterais, algumas de contorno espiculado, tendo uma de-

*Serviço de Radiologia do Hospital Santo Espírito de Angra do Heroísmo

** Serviço de Radiologia no Hospital Divino Espírito Santo, Ponta Delgada



Figura 1. a) Osteólise do trapézio, trapezóide e das extremidades proximais do 1º e 2º metacarpos com densificação dos tecidos moles envolventes. Osteopenia difusa; b) Reabsorção endosteal ao nível do terço médio do cúbito; c) Lacuna óssea no terço médio da tíbia.



Figura 2. Visualizam-se múltiplos nódulos e massas bilaterais, algumas de contorno espiculado, tendo uma delas cerca de 3cm de maior diâmetro no lobo superior direito com «tail sign» sugestivo de aderência pleural.

las cerca de 3 centímetros de maior diâmetro no lobo superior direito com «tail sign» (sinal da cauda – Figura 2). Associavam-se também alterações degenerativas articulares e osteopenia em todos os segmentos visualizados.

Internamento

O doente manteve-se sempre consciente, colaborante, orientado e apirético. A dor osteo-articular foi controlada com anti-inflamatórios não esteróides e opióides quando necessário. Cerca de 1 semana após a admissão, inicia tosse, expectoração purulenta e estado subfebril. Num dos vários exames bacteriológicos das secreções traqueo-brônquicas foi isolado *S.pneumoniae* sensível a penicilina G, eritromicina e outros macrólidos, tendo efectuado claritromicina 500mg *per os* de 12/12h durante 10 dias, com melhoria da sintomatologia pulmonar. O exame citopatológico nunca evidenciou células malignas. As hemo e uroculturas foram negativas.

Durante o internamento verificou-se diminuição progressiva da hemoglobina (até 9 g/dL), da contagem leucocitária, persistindo elevadas a VS (superior a 40 mm/ 1ª hora) e a PCR; a calcemia e a fosforemia, inicialmente dentro dos valores normais (VR: cálcio – 8,4 a 10,6 mg/dL; fósforo – 2,5 a 5,0 mg/dL), subiram progressivamente para 12 e 7 mg/dL, respectivamente (valores máximos no internamento). A electroforese das proteínas demonstrou hipoproteíne-mia com hipoalbuminemia e hipergamaglobulinemia. A proteinúria total medida na urina de 24h foi de 0,13 g/24h (VR: 0,04-0,15 g/24h) e a *clearance* de creatinina foi de 201,37 mL/min.

Foram efectuados os seguintes exames e doseamentos, tendo em vista o despiste de algumas doenças infecciosas (sífilis), doenças reumáticas sistémicas, doenças metabólicas (hipo/hipertiroidismo,



Figura 3. Provável atipia do pulmão direito, com metastização parenquimatosa pulmonar e das glândulas suprarrenais. Adenopatias mediastinais bilaterais.

hipo/hiperparatiroidismo) e tumorais (mieloma múltiplo) – RPR e TPHA, factor reumatóide, ANA e fenómeno LE, C3, C4 e CH50, complexos imunes circulantes, imunoglobulinas G, A, M, e ainda T3, T4, TSH e PTH e proteinúria de Bence-Jones – tendo-se revelado negativos ou dentro dos valores da normalidade. Dos marcadores tumorais efectuados salienta-se aumento de CEA (439 ng/ml, VR <10), CA 125 (257,90 U/ml, VR 0-35) e CA 15,3 (118 U/ml, VR 0-25). O CA 19,9, o NSE, o PSA total, o α -FP e o β 2 – microglobulina estavam dentro dos valores de referência.

Acitologia do líquido sinovial do joelho esquerdo revelou um líquido de celularidade normal com elevação de proteínas (4 g/dL). Os exames bacteriológico directo e cultural do líquido articular foram negativos.

Apesar da melhoria dos sintomas pulmonares, radiologicamente o doente foi piorando ao longo das cerca de 4 semanas de internamento, tendo feito Tomografia Axial Computadorizada (TAC) de tórax que confirmou provável atipia do pulmão direito, com metastização parenquimatosa pulmonar e das glândulas suprarrenais, com adenopatias mediastinais bilaterais (Figura 3). Efectuou ainda ecografia da lesão do terço médio da perna esquerda, onde se registou a presença de uma lesão nodular de ecoestrutura heterogénea, com intensa vascularização no exame com *doppler* a cores (Figura 4).

Realizou broncofibroscopia que mostrou nódulo



Figura 4. Lesão nodular hipoeecogénica, com vascularização intensa no exame com *doppler* a cores.

de cor avermelhada, com pedúnculo sésil, na parede antero-interna do brônquio principal direito. O lavado bronco-alveolar foi negativo para células neoplásicas e a biopsia da lesão endobrônquica revelou adenocarcinoma broncogénico tubular (Figura 5), clinicamente em estadio IV dado já haver documentação de metastização à distância.

A ecografia cervical era normal, com hepato e esplenomegalia ligeira homogénea registadas na ecografia abdominopélvica.

Evolução

Teve alta orientado para a consulta de Oncologia, ini-

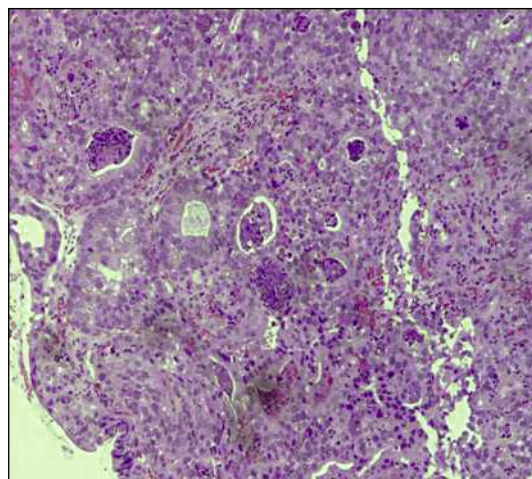


Figura 5. Biópsia de lesão endobrônquica – as células neoplásicas formam glândulas; têm núcleos ovais e nucléolos proeminentes – adenocarcinoma tubular.



Figura 6. a) Agravamento radiológico marcado na última vinda do doente ao SU; b) Aspecto da mão direita do doente um dia antes da sua morte.

ciando quimioterapia (Carboplatina+Gencitabina/Paclitaxel) em Novembro e radioterapia em Dezembro 2005.

Ainda em Dezembro de 2005 e durante o mês de Janeiro de 2006, sofreu fracturas patológicas do úmero e clavícula esquerdos.

Apesar da terapêutica, observou-se um agravamento progressivo do estado geral e dos aspectos radiológicos. Em Março de 2006, recorreu novamente ao SU do HDES por agravamento sintomático ficando internado em Oncologia e tendo falecido no dia seguinte (Figura 6).

Discussão

Este caso clínico corresponde a um adenocarcinoma do pulmão que se apresenta por manifestações osteo-articulares.

O carcinoma do pulmão é a principal causa de morte por cancro quando englobamos ambos os sexos,⁴ sendo o adenocarcinoma o subtipo mais comum^{4,5} e que se associa frequentemente a manifestações osteo-articulares.⁴

No caso presente a osteoartropatia hipertrófica constituía um diagnóstico clínico diferencial. É uma síndrome de etiologia desconhecida que se apresenta clinicamente como uma artrite.^{6,7} Pode ser primária ou secundária. A primária ou paquidermoperiostite manifesta-se com periostite, hipocratismo digital e espessamento cutâneo da palma e dorso das mãos.⁶ É de herança familiar, mais frequente no sexo masculino e normalmente deixa de se manifestar no adul-

to jovem. A forma secundária é uma periostite dolorosa das extremidades associada a um vasto grupo de doenças intra-torácicas. Para além do carcinoma broncogénico (1 a 10% dos casos, sendo no adenocarcinoma que a sua frequência é maior),⁴ este processo pode estar associado a outras entidades benignas, malignas ou crónicas supurativas do pulmão, doença cardíaca cianótica, cirrose biliar ou doença inflamatória intestinal.^{6,7} Radiologicamente as articulações apresentam-se com edema e derrame mas sem alterações erosivas ou proliferativas.⁷ A principal anomalia é uma reacção periosteal simétrica, mostrando aparente «onion skinning» (casca de cebola), irregularidade ou ondulação periosteal, dependendo da sua espessura e extensão da duração da doença.⁷ Nada disto foi verificado no nosso caso, tendo sido possível excluir esta entidade logo com os exames imagiológicos iniciais que mostraram evidentes alterações erosivas corticais.

No presente caso, a destruição óssea foi sempre marcante e, por isso, apesar de não se terem encontrado células malignas na citologia de líquido articular e de não se ter realizado cintigrafia óssea (baixa especificidade e não facilmente acessível na Região Autónoma dos Açores), o restante quadro clínico e imagiológico revelou tratar-se de metastização óssea de carcinoma do pulmão, em estadio IV de acordo com o TNM *International Staging System*,⁸ em que a sobrevida aos 5 anos é inferior a 1%.⁴

Depósitos ósseos metastáticos são descobertos em autópsias em cerca de 30% de doentes com carcinoma.³ Algumas neoplasias demonstram uma especial predileção pelo envolvimento ósseo. No sexo

masculino, o carcinoma da próstata é responsável por 60% de todas as metástases ósseas, enquanto que no feminino é ao carcinoma da mama que se pode atribuir cerca de 70% deste tipo de metastização.³ O carcinoma broncogénico pode manifestar-se com metástases ósseas em 10-44% dos casos.³

As lesões metastáticas podem ser classificadas em três categorias: osteolíticas, osteoblásticas e mistas. Este aspecto pode ser importante no estudo da origem do tumor primário. As puramente líticas estão muitas vezes associadas à neoplasia pulmonar.³ Além disso, a própria localização da lesão metastática pode também ser útil nesta investigação. A maior parte das metástases ósseas fica em topografia de esqueleto axial e diáfise proximal do fémur e úmero. Envolvimento distal aos cotovelos e joelhos é pouco usual e cerca de metade das vezes corresponde a carcinoma broncogénico secundário,³ tal como aconteceu no caso apresentado.

Em algumas circunstâncias, a aparência morfológica da lesão pode sugerir um diagnóstico. O melhor exemplo é provavelmente o carcinoma renal e tireóide, cujas metástases ósseas têm um aspecto geográfico, expansivo em «blow-up» (explosão).^{3,7} Uma maior propensão para o envolvimento do córtex, como foi observado neste caso, é típico do carcinoma broncogénico.³

É interessante notar que a maioria das metástases chegam até ao osso por via hematogénea, depositando-se inicialmente na medula óssea, com desmineralização e reabsorção das estruturas trabeculares adjacentes, resultando em destruição progressiva do osso endosteal com extensão posterior ao osso compacto do córtex. Isto pode ser observado na figura 1b). Esta sequência relaciona-se provavelmente com o suprimento sanguíneo predominantemente centrífugo para o córtex, facilitando o depósito de êmbolos metastáticos iniciais no osso esponjoso. Há teorias que especulam sobre a deposição precoce de

metástases na cortical óssea, perióstio ou mesmo nos tecidos moles adjacentes.³ Podemos também admitir esta hipótese no presente caso.

Qualquer lesão lítica envolvendo predominantemente o córtex de qualquer osso, com ou sem massa de tecidos moles demonstrável, deve levantar a hipótese de depósito metastático.³ A probabilidade desta hipótese ser confirmada aumenta se forem encontradas várias imagens líticas dispersas por vários segmentos ósseos, como no caso descrito.

Correspondência para:

Ana Sofia Preto
Avenida da República, 872, 9º Drt Frt
4450-240 Matosinhos
E-mail: sofia preto@hotmail.com

Referências

1. Sougawa M, Ishihara H, Nagata K et al. A case of Metastatic Bone Tumor of Missed Lung Cancer Showing Unusual Manifestations on Chest Radiogram. *Radiat Med* 2002; 20: 155-158.
2. Higashiyama M, Kodama K, Takami K et al. Surgical Treatment of Bone Metastasis Followed by a Primary Lung Cancer Lesion: Report of case. *Surg Today* 2004; 34: 600-605.
3. Deutsch A, Resnick D. Eccentric Cortical Metastases to the Skeleton from Bronchogenic Carcinoma. *Radiology* 1980; 137: 49-52.
4. Minna JD. Neoplasms of the lung. In Harrison TR, Fauci AS, Braunwald E et al. *Harrison's Principles of Internal Medicine* 16ª Edição. USA. McGraw Hill. 2005: 506-516.
5. Rosado-de-Christenson ML, Templeton PA, Moran CA. Bronchogenic Carcinoma: Radiologic-Pathologic Correlation. *Radiographics* 1994; 14: 429-446.
6. Ahmed MM, Dhawan R, Menard, HA. Hypertrophic Osteoarthropathy. In www.emedicine.com
7. Manaster BJ. Arthritis. In Manaster BJ, Disler DG, May DA. *Musculoskeletal Imaging, The Requisites* 2nd edition. USA. Mosby 1998: 101-104, 166-167.
8. CF Mountain. Revisions in the International System for Staging Lung Cancer *Chest* 1997; 111: 1710-1717.

ABCESSO EPIDURAL VERTEBRAL A
ESTREPTOCOCO DO GRUPO C

Adelino Carragoso,* Joana Capelo**

Resumo

Os abscessos epidurais vertebrais são entidades nosológicas raras, com uma apresentação clínica inespecífica e insidiosa, cujo diagnóstico precoce é difícil, com consequências potencialmente catastróficas se não for feito atempadamente. A abordagem terapêutica actualmente recomendada é a drenagem cirúrgica associada a antibioterapia sistémica durante 4 a 6 semanas, podendo-se dispensar a intervenção cirúrgica em casos cuidadosamente seleccionados. Descrevemos o caso de uma mulher de 56 anos de idade com antecedentes de diabetes mellitus a quem diagnosticámos um abscesso epidural vertebral a *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, um estreptococo do grupo C, que foi tratada com sucesso apenas com antibioterapia endovenosa seguida de oral. Os estreptococos do grupo C são agentes microbianos tipicamente associados a infecções em animais, mas que têm vindo a emergir como importantes agentes infecciosos no homem. Este é o primeiro caso descrito de abscesso epidural vertebral causado por *Streptococcus* do Grupo C.

Palavras-chave: Abscesso Epidural Vertebral; Estreptococos do Grupo C; *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*.

Abstract

Spinal epidural abscess is a rare clinical entity, presenting insidiously with nonspecific clinical manifestations. The diagnosis is usually difficult and, if not made early, the consequences may be disastrous. The therapeutic strategy consists of surgical drainage and systemic antibiotherapy for 4 to 6 weeks; in carefully selected patients, the surgical intervention may be avoided. We describe the case of

a diabetic woman who presented with a spinal epidural abscess due to *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, a group C *Streptococcus*, treated successfully with parenteral antibiotherapy followed by oral antibiotherapy. Group C streptococci are bacteria typically associated with disease in animals, nowadays emerging as important human pathogens. This is the first reported case of spinal epidural abscess due to a Group C *Streptococcus*.

Keywords: Spinal Epidural Abscess; Group C Streptococci; *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*.

Introdução

As infecções vertebrais apresentam-se habitualmente com sintomas e sinais clínicos inespecíficos, de evolução insidiosa. O seu diagnóstico é extremamente difícil nas fases iniciais da sua evolução clínica, a não ser que haja uma forte suspeita na presença de dor vertebral de características inflamatórias.¹⁻³

Os abscessos epidurais são colecções purulentas localizadas ao espaço entre a dura-mater e a gordura envolvente que, na fase de cronicidade, progredem para tecido de granulação. Distinguem-se duas variedades, de acordo com a sua localização no neuro-eixo: abscessos epidurais vertebrais (AEV) e abscessos epidurais intracranianos. Os AEV são entidades clínicas raras, estimando-se uma incidência que varia, nas diversas séries publicadas, entre 0,2 e 2,8 por cada 10.000 admissões hospitalares.^{2,4-9} Apesar da grande dificuldade, torna-se essencial o seu diagnóstico precoce de forma a impedir a evolução para défices neurológicos catastróficos e irreversíveis.³⁻⁶

Os estreptococos do grupo C de Lancefield são estreptococos β -hemolíticos comensais ou patogénicos de diversos animais, tendo vindo a ser descritos como agentes emergentes de infecções oportunistas e nosocomiais no Homem.¹⁰⁻¹³

Descrevemos um caso de AEV a um estreptococo-

*Serviço de Medicina Interna 2, Hospital de São Teotónio, E.P.E., Viseu.

**Serviço de Medicina Interna 1, Hospital de São Teotónio, E.P.E., Viseu.

co do Grupo C, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, o primeiro descrito, segundo o nosso conhecimento.

Caso Clínico

Uma mulher de 56 anos de idade, raça caucasiana, viúva, agricultora, foi admitida no nosso Hospital por dor lombar de características inflamatórias. Duas semanas antes iniciara dor lombar intensa, constante, representando agravamento de dor crónica que surgia apenas com esforços intensos por vezes irradiando pelo membro inferior direito. Nos primeiros dias teve calafrios e detectou febre (39°C). Referia ainda astenia, anorexia e emagrecimento não quantificado. Negava traumatismos prévios e não apresentava outras queixas à revisão de sistemas. Tinha antecedentes de diabetes mellitus tipo 2 e de espondilartrose e estava medicada habitualmente com metformina. Contactava com um asinino e com ovinos, não consumindo o seu leite nem seus derivados.

Objectivamente apresentava um bom estado geral, encontrava-se apirética e em estabilidade hemodinâmica; tinha dor à palpação da coluna lombar, contractura dos músculos paravertebrais e limitação das mobilidades da coluna lombar. O exame neurológico era normal e não apresentava outras alterações ao exame geral.

Analicamente apresentava leucocitose ($12,4 \times 10^9/L$), anemia normocrómica e normocítica (hemoglobina = 9,5 g/dL), trombocitose ($720 \times 10^9/L$), proteína C reactiva (PCR) = 13,7 mg/dL, Velocidade de Sedimentação Globular (VS) = 112 mm/1.^a hora, hipergamaglobulinemia policlonal e serologia da Brucelose (Rosa de Bengala e Wright) negativa. A radiografia da coluna lombar só evidenciou alterações degenerativas. Perante a forte suspeita clínica de infecção vertebral, realizou-se RMN da coluna lombar, que mostrou imagem compatível com um abscesso epidural posterior centrado ao espaço discal L3-L4, medindo cerca de 4 cm de extensão máxima, parecendo o ponto de partida situar-se no arco posterior deste segmento, onde se identifica hipersinal na ponderação T2 da apófise espinhosa L4 e dos tecidos da musculatura paravertebral adjacente, sugestivo de osteomielite (Figura 1). Entretanto houve desenvolvimento em hemoculturas de *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, sensível à Penicilina e à Ampicilina. A urocultura foi negativa. O ecocardiograma não mostrou



Figura 1. Imagens de RMN no plano sagital, ponderadas em T1 com contraste – à esquerda – e em T2 (técnica STIR) – à direita.

Colecção intra-raquidiana epidural posterior centrada ao nível de L4, com características sugestivas de abscesso. Na ponderação T2 (à direita), sensível à presença de processos inflamatórios, a apófise espinhosa L4 e os ligamentos adjacentes são hiperintensos, aspecto de osteomielite.

vegetações do endocárdio.

Instituiu-se antibioterapia endovenosa com Penicilina G 18 milhões de Unidades/dia. A doente apresentou melhoria clínica progressiva e mantida (mantendo-se sempre apirética desde a admissão), com progressiva diminuição da PCR (0,9 mg/dL às 3 semanas) e da VS (41 mm/1.^a hora às 3 semanas), tendo mostrado RMN às 3 semanas desaparecimento da imagem de abscesso epidural e franca melhoria dos aspectos de osteomielite vertebral. Após 4 semanas de antibioterapia endovenosa a doente teve alta, cumprindo mais 2 semanas de amoxicilina oral 1 g cada 8 horas. Em consulta de controlo, 3 meses após a alta, a doente apresentava-se assintomática, com normalização da PCR e da VS e resolução da anemia, não mostrando já a RMN quaisquer aspectos de infecção.

Discussão

A incidência dos AEV parece ter aumentado desde

a década de 1980, provavelmente devido ao envelhecimento da população, ao aumento do número de instrumentações vertebrais (nomeadamente analgesia epidural) e de acessos vasculares, ao uso de drogas de abuso por via endovenosa e ao aumento do número de doentes com SIDA.^{4,5,7-9} A maioria dos doentes apresenta pelo menos um factor de risco que predispõe à infecção, como compromisso do sistema imunitário (Diabetes Mellitus, alcoolismo, cirrose hepática, insuficiência renal crónica, neoplasia, uso de corticosteróides e/ou imunossuppressores, infecção ao Vírus da Imunodeficiência Humana), alteração estrutural ou intervenção vertebral prévias (espondilartrose, trauma, cirurgia, cateterização) ou infecção local ou à distância actuais ou prévias.^{1,3-9}

Os microorganismos atingem o espaço epidural por disseminação hematogénica (cerca de 50% dos casos), por extensão a partir de foco infeccioso contíguo (cerca de 1/3), por inoculação directa (traumatismo penetrante, pós-cirúrgico, procedimento invasivo não cirúrgico), não se identificando a fonte da infecção num número significativo de doentes.^{4-7,9} Os microrganismos mais frequentemente implicados são *Staphylococcus aureus* (cerca de 2/3 dos casos), estreptococos (18%) e bactérias gram negativo, estando raramente implicados anaeróbios, fungos, parasitas e micobactérias.^{2,4-9}

A apresentação clínica é habitualmente inespecífica, estando a sua tríade classicamente descrita (dor vertebral localizada, febre e défice neurológico de grau variável) presente num número reduzido de doentes (até 13%), quase sempre em fases evoluídas e tardias.⁴⁻⁶ A dor vertebral localizada é o sintoma mais frequente (mais de 3/4 dos doentes).^{1,4,5,7,8}

Os estudos laboratoriais são importantes, mas não diagnósticos. AVS e a PCR estão quase sempre elevadas (até 90% dos doentes) e cerca de 2/3 dos doentes apresentam leucocitose.^{4-6,8} A VS apresenta boa correlação com a resolução clínica dos AEV, pelo que a sua determinação seriada é importante no seguimento dos doentes.^{1,8} A PCR poderá ser mais específica e normaliza mais rapidamente do que a VS após o tratamento adequado.¹ O meio complementar de diagnóstico imagiológico de eleição é a RMN, dada a sua elevada sensibilidade (superior a 90%), por não ser invasivo, poder definir a extensão do abscesso e permitir fazer o diagnóstico diferencial com outras patologias como neoplasias.^{4-6,8,9} Dever-se-á tentar a identificação microbiana, através de cultura de aspirado do abscesso

e/ou hemoculturas. As hemoculturas são positivas em cerca de 60% dos doentes.^{4,5,7,9}

O tratamento dos AEV consiste na drenagem cirúrgica associada a antibioterapia sistémica por 4 a 6 semanas,³⁻⁶ sendo recomendado prolongar o tratamento até às 6 semanas pela habitual coexistência de osteomielite vertebral.^{3,5,6} É, contudo, aceite que em determinadas situações se poderá optar por um tratamento exclusivamente médico, como em doentes que recusam cirurgia ou com elevado risco cirúrgico, na presença de uma paralisia com mais de 24 a 36 horas, nas infecções pan-vertebrais e em doentes sem qualquer compromisso neurológico, desde que haja identificação microbiológica e nos quais se monitorize apertadamente a evolução clínica.^{4-6,8} Após 3 a 4 semanas de antibioterapia endovenosa, poder-se-á continuar o tratamento com antibiótico oral activo contra o agente isolado e com boa biodisponibilidade.^{14,15} A drenagem percutânea guiada por imagem tem sido descrita em alguns casos,^{4,6} em particular em crianças pequenas, para evitar as complicações tardias da cirurgia vertebral.⁶

Os *Streptococcus* do grupo C são *Streptococcus* β-hemolíticos comensais ou patogénicos de diversos animais como equídeos, ovinos, caprinos, suínos e porquinhos-da-índia.¹⁰⁻¹² Poderão também encontrar-se na flora humana normal da orofaringe, da pele e da vagina.¹⁰⁻¹² As infecções no ser humano a estes agentes são raras. Numa série de 222 bacteriemias por *Streptococcus* β-hemolíticos ocorridas durante 8 anos no *Massachusetts General Hospital* apenas 3,6% eram do grupo C.¹⁶ Estes microrganismos têm vindo a ser implicados em doença no homem: faringite, epiglote, pneumonite, peritonite, infecções de pele e dos tecidos moles, artrite séptica, osteomielite, endocardite, meningite, abscessos, bacteriemia,^{10,13} glomerulonefrite pós-infecciosa epidémica^{17,18} ou esporádica¹⁹ e síndrome do choque tóxico estreptocócico.^{20,21}

Tem havido inúmeras alterações na nomenclatura e na classificação dos *Streptococcus* β-hemolíticos deste grupo. Na actualidade reconhecem-se duas espécies: *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* e *Streptococcus equi*.²² Nesta última espécie estão descritas três sub-espécies: *S. equi* subsp. *equi*, *S. equi* subsp. *zooepidemicus* e *S. equi* subsp. *ruminatorum*.^{22,23} A maioria dos laboratórios de microbiologia não determina a espécie destes microrganismos, relatando os isolamentos clínicos apenas como *Streptococcus* do Grupo C. Estes microrganismos estão relacionados genetica-

mente, mas têm potencial patogénico muito distinto. *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* é o microrganismo do grupo colonizador e patogénico humano mais frequente.²² *Streptococcus equi* subsp. *equi* afecta apenas equídeos, não existindo relatos de infecções em humanos.²² *S. equi* subsp. *ruminatorum* está apenas descrito como agente de mastite em pequenos ruminantes.²³

O *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* é um comensal das mucosas de equídeos, bovinos, ovinos e suínos, que de modo oportunista pode determinar doença (infecções respiratórias, mastite, metrite) em caso de infecções víricas, stress ou traumatismo, estando raramente implicado em doença no Homem.¹² Num estudo realizado na Inglaterra, representou 1,4% de 214 isolamentos de *Streptococcus* do grupo C.²⁴ É a estirpe mais agressiva do grupo, não sendo considerada parte da flora normal do homem.²²

A maioria dos doentes com infecções a este agente apresenta doenças médicas crónicas subjacentes, como doenças cardiorrespiratórias, Diabetes Mellitus, doenças dermatológicas, imunossupressão, neoplasias, alcoolismo, doença hepática, insuficiência renal e toxicodependência por via endovenosa.^{10,16,22} A sua transmissão aos humanos provavelmente ocorre através de aerossóis, ingestão ou através da pele. Muitas infecções estão relacionadas com o consumo de leite e seus derivados não pasteurizados ou com contacto directo com animais, em particular equídeos.²² A maioria das infecções a *S. equi* subsp. *zooepidemicus* é esporádica, mas estão descritos surtos de infecções associados a consumo de leite e queijo fresco não pasteurizados.^{16,17,22,25,26}

O antibiótico de eleição no tratamento das infecções a estes agentes é a Penicilina G endovenosa, recomendando-se a associação de aminoglicosídeo em infecções graves invasivas como endocardites e meningites.^{10,13}

Na nossa doente, o padrão inflamatório da dor associado à presença de febre e à elevação da VS e da PCR fizeram suspeitar precocemente de uma infecção vertebral, pelo que realizámos de imediato uma RMN lombar que permitiu o diagnóstico de AEV. Apresentava como factores de risco diabetes e espondilartrose. O agente etiológico foi isolado em hemoculturas, considerando-se que era o agente implicado no abscesso, possibilitando a instituição precoce de antibioterapia dirigida sem recurso a aspiração do abscesso. Identificou-se *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, o qual terá

atingido o espaço epidural através de disseminação de foco infeccioso contíguo (osteomielite vertebral). Presume-se que a doente tenha adquirido a infecção por contacto próximo com animal colonizado (equídeo ou, menos provavelmente, ovino). Considerando a inexistência de compromisso neurológico e que pudemos instituir precocemente antibioterapia dirigida, decidimos não proceder a drenagem cirúrgica do abscesso. Dada a sensibilidade do agente e a excelente evolução clínica, analítica e imagiológica inicial, foi possível concluir o tratamento da doente com antibiótico oral em ambulatório.

Não encontramos descritos outros casos de abscessos epidurais vertebrais a estreptococos do grupo C, havendo contudo publicado um caso de abscesso epidural craniano.¹⁰

Correspondência para:

Dr. Adelino de Oliveira Carragoso
Rua de Santo António, Lote 47, 4.º Frente
3500-184 Viseu – Portugal
E-mail: acaragoso@gmail.com

Referências:

1. An HS, Seldomridge JA. Spinal Infections - Diagnostics Tests and Imaging Studies. Clin Orthop Relat Res 2006; 444: 27-33.
2. Balériaux DL, Neugroschl C. Spinal and spinal cord infection. Eur Radiol 2004; 14: E72-E83.
3. Tay BKB, Deckey J, Hu SS. Spinal Infections. J Am Acad Orthop Surg 2002; 10: 188-197.
4. Chao D, Nanda A. Spinal Epidural Abscess: A Diagnostic Challenge. Am Fam Physician 2002; 65: 1341-1346.
5. Darouiche RO. Spinal Epidural Abscess. N Engl J Med 2006; 355: 2012-2020.
6. Grewal S, Hocking G, Wildsmith JAW. Spinal abscesses. Br J Anaesth 2006; 96: 292-302.
7. Tang HJ, Lin HJ, Liu YC, Li CM. Spinal Epidural Abscess - Experience with 46 Patients and Evaluation of Prognostic Factors. J Infect 2002; 45: 76-81.
8. Rigamonti D, Liem L, Sampath P, et al. Spinal Epidural Abscess: Contemporary Trends in Etiology, Evaluation, and Management. Surg Neurol 1999; 52: 189-197.
9. Hlavin ML, Kaminsky HJ, Ross JS, Ganz E. Spinal Epidural Abscess: A Ten-Year Perspective. Neurosurgery 1990; 27: 177-184.
10. Salata RA, Lerner PI, Shlaes DM, Gopalakrishna KV, Wolinsky E. Infections Due to Lancefield Group C Streptococci. Medicine 1989; 68: 225-239.
11. Facklam R. What Happened to the Streptococci: Overview of Taxonomic and Nomenclature Changes. Clin Microbiol Rev 2002; 15: 613-630.
12. Timoney JE. The pathogenic equine streptococci. Vet

- Res 2004; 35: 397-409.
13. Zaoutis T, Schneider B, Moore LS, Klein JD. Antibiotic Susceptibilities of Group C and G Streptococci Isolated from Patients with Invasive Infections: Evidence of Vancomycin Tolerance among Group G Serotypes. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3380-3383.
 14. Sapico FL. Microbiology and Antimicrobial Therapy of Spinal Infections. *Orthop Clin North Am* 1996; 27: 9-13.
 15. Calhoun JH, Manring MM. Adult Osteomyelitis. *Infect Dis Clin North Am* 2005; 19: 765-786.
 16. Carmeli Y, Ruoff KL. Report of cases of and taxonomic considerations for large-colony-forming Lancefield group C streptococcal bacteremia. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2114-2117.
 17. Balter S, Benin A, Pinto SW, et al. Epidemic nephritis in Nova Serrana, Brazil. *Lancet* 2000; 335: 1776-1780.
 18. Barnham M, Thornton TJ, Lange K. Nephritis caused by *Streptococcus zooepidemicus* (Lancefield group C). *Lancet* 1983; 1: 945-948.
 19. Thorley AM, Campbell D, Moghal NE, Hudson S. Post Streptococcal acute glomerulonephritis secondary to sporadic *Streptococcus equi* infection. *Pediatr Nephrol* 2007; 22: 597-599.
 20. Korman TM, Boers A, Gooding TM, Curtis N, Visvanathan K. Fatal Case of Toxic Shock-Like Syndrome Due to Group C *Streptococcus* Associated with Superantigen Exotoxin. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2866-2869.
 21. Hashikawa S, Iinuma Y, Furushita M, et al. Characterization of Group C and G Streptococcal Strains That Cause Streptococcal Toxic Shock Syndrome. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 186-192.
 22. Johnson CC, Tunkel AR. Viridans Streptococci, Groups C and G Streptococci, and *Gemella morbillorum*. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, ed. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. New York: Churchill Livingstone, 2004: 2441-2446.
 23. Fernández E, Blume V, Garrido P. *Streptococcus equi* subsp. *ruminatorum* subsp. nov., isolated from mastitis in small ruminants. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004; 54: 2291-2296.
 24. Barnham M, Kerby J, Chandler RS, Millar MR. Group C streptococci in human infection: a study of 308 isolates with clinical correlations. *Epidemiol Infect* 1989; 102: 379-390.
 25. Espinosa FH, Ryan WM, Vigil PL, et al. Group C Streptococcal Infections Associated with Eating Home-made Cheese - New Mexico. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1983; 32: 515-516.
 26. Kuusi M, Lahti E, Virolainen A, et al. An outbreak of *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* associated with consumption of fresh goat cheese. *BMC Infect Dis* 2006;6:36.

EULAR Epidemiology Skills Workshop

Reino Unido, Manchester.
25-29 de Novembro de 2007

A RARE CASE OF SYSTEMIC AUTOIMMUNE DISEASE WITH INTRICATE FEATURES OF SYSTEMIC SCLEROSIS, LUPUS, POLYMYOSITIS AND RHEUMATOID ARTHRITIS. OVERLAP SYNDROME OR MIXED CONNECTIVE TISSUE DISEASE?

Dan Radulescu,* Sorin Pripon,** Felix Ciovicescu,* Nicolae A Constantea***

Abstract

We report an unusual case of connective tissue disease characterized by the coexistence of signs, symptoms and immunological features of 4 defined autoimmune diseases: systemic lupus erythematosus (SLE), systemic sclerosis (SSc), polymyositis (PM) and rheumatoid arthritis (RA). A 53-year-old female was admitted in our clinic with massive polyserositis (pretamponade) as well as skin, joint, muscular lesions and altered general status. The problem we found was the difficulty of including this case in a known clinical entity; SSc/SLE/PM/RA overlap syndrome and mixed connective tissue disease were the two most plausible diagnoses. We discuss the particularities of these clinical and immunological associations and the appropriate therapeutic options used in this kind of patients.

Keywords: Overlap Syndrome; Systemic Lupus Erythematosus; Systemic Sclerosis; Raynaud's Syndrome; Classification Criteria.

Resumo

Descrevemos um caso de doença do tecido conjuntivo em que coexistem sinais, sintomas e alterações imunológicas características de 4 doenças autoimunes definidas: lúpus eritematoso sistémico (LES), esclerose sistémica (ES), polimiosite (PM) e artrite reumatóide (AR). Uma mulher de 53 anos foi

admitida no nosso serviço por polisserosite maciça (pré-tamponamento), associada a manifestações cutâneas, articulares, musculares e alteração do estado geral. Deparamo-nos com o problema de incluir este caso numa entidade clínica conhecida; síndrome de sobreposição ES/LES/PM/AR e doença mista do tecido conjuntivo são os dois diagnósticos mais plausíveis. Discutimos as particularidades destas associações clínicas e imunológicas, bem como as opções terapêuticas apropriadas para este tipo de doentes.

Palavras-Chave: Síndrome de Sobreposição; Lúpus Eritematoso Sistémico; Esclerose Sistémica; Síndrome de Raynaud; Critérios de Classificação.

Introduction

The term "connective tissue disease" (CTD) includes a large group of conditions characterized by considerable clinical diversity, heterogeneity and complexity. It refers to a group of autoimmune disorders classified among the systemic rheumatic diseases that includes systemic lupus erythematosus (SLE), systemic sclerosis (SSc), polymyositis-dermatomyositis (PM-DM), primary Sjögren's syndrome (pSS), primary antiphospholipid syndrome (APS), and rheumatoid arthritis (RA). The etiology of autoimmune connective tissue diseases is unknown and its diagnosis depends on patterns of symptoms and signs. CTDs share a number of epidemiological, immunological and pathological features that suggest a common pathogenetic pathway.¹ For example, autoimmune disorders are associated with the production of autoantibodies and/or self-reactive mononuclear cell populations, many have high levels of immune complexes or defects in cell-mediated immunity.² Sharing of im-

*Internal Medicine Department, 5th Medical Clinic, Municipal Hospital; University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hatieganu", Cluj-Napoca, Romania

**University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hatieganu", Cluj-Napoca, Romania.

***Surgery Department, Municipal Hospital; University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hatieganu", Cluj-Napoca, Romania.



Figure 1. Patient's face suggestive of systemic sclerosis.

munogenetic markers may lead to the development of common clinical features, which frequently makes the differential diagnosis of a specific rheumatic disease difficult. Since the majority of CTD features are neither frequent nor pathognomonic for a single disease, the most common way to identify a CTD is to look for a cluster of clinical and laboratory results. This is also the main reason why internationally accepted criteria have been developed for CTDs, which frequently incorporate the detection of specific autoantibodies as unique diagnostic markers.^{3,4}

Case report

A 53-year-old female was admitted to our clinic due to drowsiness, fatigue, malaise, dizziness, diaphoresis, anorexia, severe weight loss (approximately 50 kg in 2 months), and intense muscle weakness. She also complained of progressive shortness of



Figure 2. Patient's palm and fingers.

breath on exertion but also at rest, reduced exercise capacity, muscle pain in the lower limbs at effort, abdominal pain, nausea, transient bilateral knee pain and swelling and progressive stiffening of both hands, predominantly in the morning with functional impairment. The physical examination revealed an underweight patient (body mass index = 16 kg/m²) with low-grade fever (37.8°C), characteristic facial expression suggestive of SSc (Figure 1), erythematous lesions on the palms and digits of both hands associated with areas of necrotic lesions, epidermal atrophy, induration, loss of mobility and retraction with immobilization of the fingers in a semi flexed position (Figure 2). Photosensitivity was absent. Other findings included reduced muscle mass and strength, inter-osseous atrophy, symmetrical pain, stiffness and swelling of the metacarpophalangeal and proximal interphalangeal joints, wrists and knees, mild ulnar deviation and bilateral Raynaud's phenomenon of the extremities. Dispersed raised red scaling plaques with central atrophy on the extremities, some of them having resolved causing hyper-pigmentation, atrophy and scarring, friable nails, brittle hair and patchy alopecia were also noticed. Firm, mobile, non-tender cervical, axillary and inguinal lymph nodes were identified. The assessment of the cardiovascular system revealed an increased area of cardiac dullness, tachycardia (heart rate = 120/min), hypertension (150/100 mm Hg), faint rhythmic heart sounds and pericardial friction rub. The liver was enlarged (5 cm below the right costal margin) and tender.

The laboratory results revealed hemoglobin 11.3g/dL (12.5-16g/dL), hematocrite 34% (38-

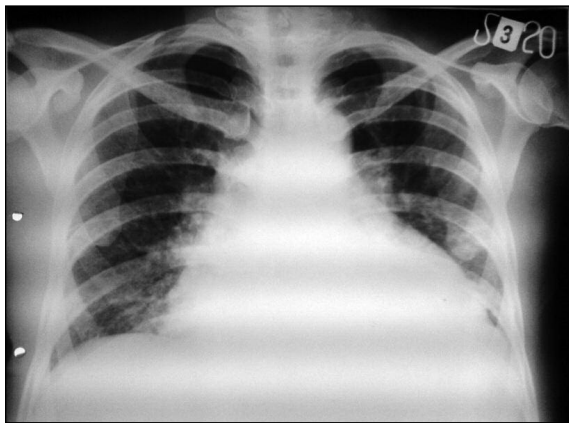


Figure 3. Chest X-ray: globally enlarged cardiac silhouette with a pleural effusion in the left costophrenic sinus.



Figure 5. Echocardiography: medium/large pericardial effusion (exudative pericarditis).

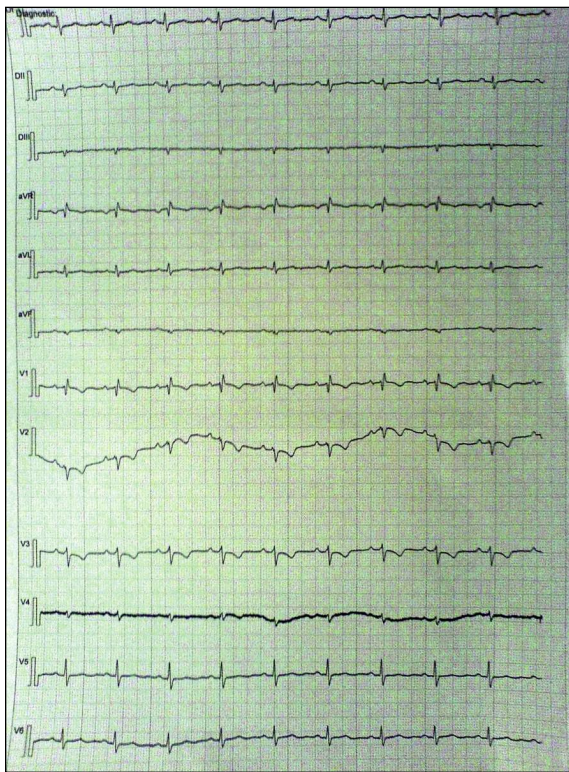


Figure 4. Electrocardiogram: low QRS voltage in all leads.

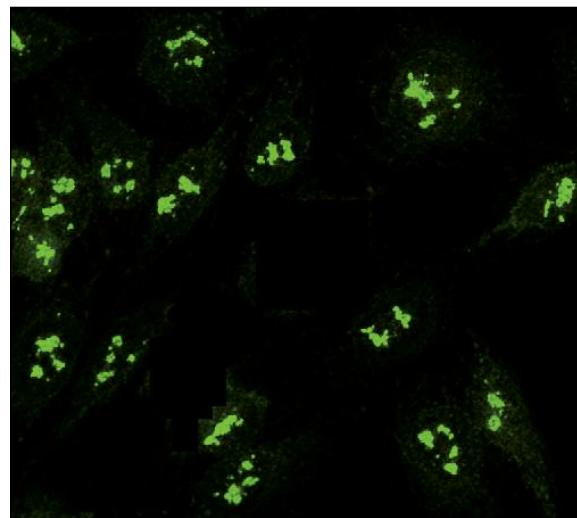


Figure 6. Immunofluorescence: ANA speckled pattern.

-53%), red blood cells $3.82 \times 10^6/\text{mm}^3$; erythrocyte sedimentation rate 80 mm/hour, C reactive protein 3.7 UI/mL (< 0.1 UI/mL); aspartate aminotransferase 198 U/L (< 46 U/L), alanine aminotransferase 78 U/L (< 49 U/L), alkaline phosphatase 372 U/L (98-279 U/L), γ glutamyl transferase 181 U/L (7-30 U/L), creatine kinase 428 U/L (22-198 U/L), 24-hour proteinuria 0.85g, hypoproteinemia 5.4g/

/dL (6-8.2g/dL), with hypoalbuminemia 3.1g/dL (3.5-5.4g/dL), polyclonal hypergamaglobulinemia (Ig G = 4064 mg/dL, Ig M = 180 mg/dL, Ig A = 205 mg/dL) and decreased serum complement fractions C3 and C4. The microbiological exams disclosed urinary tract infection (Enterobacter), oral candidosis and sterile blood cultures. HIV 1 and 2 test results were negative both by ELISA and PCR.

The chest X-ray (Figure 3) revealed a globally enlarged cardiac silhouette with a large pleural effusion in the left costophrenic sinus. The electrocardiogram showed a low QRS voltage (Figure 4) and the echocardiography confirmed large pericardial effusion with tendency for diastolic collapse of the right ventricle and right atrium (pretamponade) (Figure 5). The tricuspid gradient as well

as the pulmonary artery pressure were elevated. The abdominal ultrasound showed liver enlargement, with diffuse increased hepatic ecogenicity and ascites in moderate quantity. The Barium X-ray exam documented gastric and esophageal dysmotility and hypotonia with mildly diminished peristaltic movements and stasis.

The immunological profile revealed positive ANA (titer 1/1280) with speckled pattern (Figure 6) and also the presence of anti-Sm, anti-Ro/SSA, anti-La/SSB, anti-Jo1 and Rheumatoid Factor (85 U -Nephelometry test normal <43 U). Anti-centromere, anti-Scl-70 and anti-U1-RNP antibody were negative. The anti ds-DNA antibodies, ANCA (anti-neutrophil cytoplasm antibodies), SMA (smooth muscle antibody), AMA (antimitochondrial antibody), were also absent. When we repeated the immunological examination after 3 months, we found the same results except for a positive anti-U1-RNP antibody confirmed by double immunodiffusion.

The skin biopsy (from the finger lesions) and the deltoid muscle biopsy revealed typical aspects of vasculitis and characteristic lesions of myositis. The axillary lymph node biopsy ruled out the diagnosis of lymphoma. Percutaneous liver biopsy was also performed and was consistent with congestive hepatopathy. We intended to perform a kidney biopsy as well, to elucidate the renal dysfunction, but the patient refused the intervention.

The treatment consisted of corticotherapy (Methylprednisolone 32 mg/day), antibiotic treatment (for the urinary tract infection), local oral antimycotic and antihypertensive treatment (ACE inhibitor + beta blocker + diuretic). After approximately 1 month the evolution was excellent: remission of subjective clinical complaints, improved general status, afebrile, regression of hepatomegaly, ascites and pleurisy and improvement of laboratory parameters but pericardial effusion persisted. The patient was prescribed long-term treatment with oral corticosteroids and immunosuppressant drugs (Azathioprine).

The long-term prognosis is uncertain due to the multi-organ dysfunction and the persistence of the pericardial effusion. A close follow-up of the patient's evolution and accurate therapeutic adjustments are necessary.

Discussion

Although CTDs can generally be clinically and se-

rologically defined as distinct and separate entities, many patients diagnosed with autoimmune rheumatic disease cannot be categorized easily into one of the established conditions. Several diseases share similar genetic backgrounds, as reflected by study of loci within the major histocompatibility complex² and some genetic defects can predispose patients to more than one autoimmune disease.¹ The existence of patients with signs, symptoms and certain laboratory test results suggestive of a systemic autoimmune disease but fulfilling more than one classification criteria for well-defined CTDs is a more and more common experience in clinical practice. As opposed to some early stages of CTDs that might be undefined, unclassifiable or perhaps incomplete, with clinical elements and laboratory results suggestive of a systemic disease but not fulfilling criteria for well-defined CTDs, overlap syndromes define patients exhibiting enough features to meet the diagnosis of several CTDs at the same time. Thus, they "overlap" two or more diseases. Any CTD can be a partner in an overlap disorder.⁵ For example, patients can have a combination of RA and SLE («rhumus»), or SSc and PM.⁶ Overall, any CTD can appear in conjunction with features of another connective tissue diseases and thus, it does no longer fit in the traditional classification. The problem is even more complex by the tendency for one disease to merge with another, resulting in a continuous spectrum, with the traditionally accepted entities such as SLE or SSc occupying only part of the continuum with the overlap syndromes lying between. It is not only a co-association, but also a confluence and union of autoimmune disorders. Therefore, to identify an overlap syndrome it is essentially necessary to identify a constellation of distinctive features that constitute a true syndrome.

Mixed connective tissue disease (MCTD) is the prototype of an overlap syndrome. Since its original description by Sharp and collaborators⁷ in 1972, as an apparently unique syndrome combining clinical elements of SSc, SLE and PM, associated with antibodies to RNase sensitive extractable nuclear antigen, many clinical, serologic, and genetic studies have analyzed the different aspects of this entity. The relevance of defining MCTD as a separate disease entity has been challenged, some authors considering it just a subset of SLE.⁸ Over the past 30 years there has been a continuing debate as to whether MCTD constitutes a "distinct clinical entity" and it still remains a controversial

diagnosis.⁹ Follow-up studies showed that many patients originally diagnosed with MCTD have a tendency to develop a definite CTD, particularly scleroderma or SLE, within a few years.¹⁰ Initial observations of MCTD suggested infrequent renal disease, a good response to corticosteroids and favorable prognosis.¹¹ The early misconception that it has a relatively good prognosis has not proved to be correct, as pulmonary arterial hypertension and scleroderma renal crisis are two important causes of death.¹² The most important aspect of MCTD as a separate entity is its association with antibodies to U1-RNP. Recent studies have suggested that the production of anti-U1-RNP is an antigen-driven process, but the nature of the trigger for its production has not been yet elucidated. Levels of anti-U1-RNP antibodies seem to be concordant with disease activity in MCTD patients.¹³ Most authors agree that MCTD is a distinctive entity rather than a haphazard association of clinical and serological features and that the presence of high titres of autoantibodies to UIRNP influences the expression of connective tissue disease in ways that are relevant to prognosis and treatment.¹⁴ Long-term clinical studies showed that the clinical phenotype of MCTD is robust and can be defined by classification criteria that show reasonable sensitivity and specificity.¹⁴ In addition, the association of MCTD with particular HLA phenotypes (HLA-DR4) distinguishes it from SLE and SSc, and speaks to its being a disease entity, rather than a mixture of yet undifferentiated collagen vascular diseases.¹⁵ As indicated by many authors, MCTD remains a useful concept in daily practice and constitutes a disease entity of its own, helping to predict and diagnose organ problems and to educate the patient accordingly.¹⁵

In our patient, the data obtained did not permit us to include this case in one of the typical, well-established CTDs. The patient exhibited massive polyserositis and multisystemic dysfunction (cardiac, hepatic, renal impairment). Autoimmune hepatitis was initially suspected due to the significantly enlarged liver and very high titer of serum IgG, but the liver biopsy infirmed it. Cardiac and hepatic dysfunctions were probably secondary to the large pericardial effusion. The patient fulfilled most of the SSc criteria, but the presence of other intricate clinical and laboratory findings determined us to bear in mind and consider other entities that might account for the great complexity and diversity of this case. Therefore, after carefully re-

viewing our findings, we concluded that we were faced with an SSc overlap. In a study on 118 patients, Caramaschi and collaborators evaluated the coexistence of additional autoimmune disease in a population of patients suffering from SSc. Their findings showed that approximately one third of patients affected by SSc developed one or more additional autoimmune diseases.¹⁶ Therefore SSc patients must be carefully evaluated both at onset and during the follow-up for the possible coexistence of other autoimmune disorders. Besides SSc, our patient presented features of SLE, polymyositis and RA, which lead us towards a diagnosis of complex SSc/SLE/PM/RA overlap syndrome. In order to better differentiate and obtain a confirmation, we considered useful to obtain a second immunological profile after 3 months, which confirmed the existence of anti-U1-RNP antibody, although the first determination was negative. We intend to undergo a close follow-up of the patient's clinical status and to monitor repeatedly, the titers of the autoantibodies in order to obtain an overview of their dynamics.

In practice, the exact immunologic diagnosis makes a big difference because the detection of an autoantibody may help the clinician to anticipate particular complications and to evaluate the outcome of the patient. The identification of overlapping features in a given patient is also important because treatment needs to be directed specifically at some of these features.

Overall, the picture of overlap syndromes with respect to CTDs is complex and heterogeneous. Observer bias might play a role in disease classification, so the presence of specific autoantibody profiles is certainly a useful tool in the diagnosis evaluation of such patients.⁵ Further multi-center analysis is necessary to better define overlap syndromes, to clarify prognosis and facilitate disease management.¹⁷

Correspondence to:

Associate Professor Dr. Dan Radulescu
5th Medical Clinic, University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hatieganu",
Tabacarilor Street, Nr. 11,
Cluj-Napoca, Romania, 400139
E-mail: dr.radulescu_dan@yahoo.com

References:

- Davidson A, Diamond B. Autoimmune diseases. *N Engl J Med* 2001; 345:340-350.
- Lorber M, Gershwin ME, Shoenfeld Y. The coexistence of systemic lupus erythematosus with other au-

- toimmune diseases: the kaleidoscope of autoimmunity. *Semin Arthritis Rheum* 1994; 24:105-113.
3. Fries JF, Hochberg MC, Medsger TA, Hunder GG, Bombardier C. Criteria for rheumatic disease. Different types and different functions. The American College of Rheumatology Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. *Arthritis Rheum* 1994; 37:454-462.
 4. Smith EL, Shmerling RH. The American College of Rheumatology criteria for the classification of systemic lupus erythematosus: strengths, weaknesses, and opportunity for improvement. *Lupus* 1999; 8:586-595.
 5. Jury EC, D'Cruz D, Morrow WJ. Autoantibodies and overlap syndromes in autoimmune rheumatic disease. *J Clin Pathol* 2001; 54:340-347.
 6. Fiori G, Pignone A, Cerinic MM. Overlap syndromes. *Reumatizam* 2002; 49:12-15.
 7. Sharp GC, Irvin WS, Tan EM, Gould RG, Holman HR. Mixed connective tissue disease--an apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen (ENA). *Am J Med* 1972; 52:148-159.
 8. Mercado U. Mixed connective tissue disease, or should it be Sharp's syndrome? Comment on the article by Farhey and Hess. *Arthritis Care Res* 1999; 12:227.
 9. Venables PJ. Mixed connective tissue disease. *Lupus* 2006; 15:132-137.
 10. Swanton J, Isenberg D. Mixed connective tissue disease: still crazy after all these years. *Rheum Dis Clin North Am* 2005; 31:421-346.
 11. Minkin W, Rabhan N. Mixed connective tissue disease. *Arch Dermatol* 1976; 112:1535-1538.
 12. Zdrojewicz Z, Budzy E, Puawska J. Mixed connective tissue disease-etiology, pathogenesis, clinical significance, treatment. *Postepy Hig Med Dosw* 1999; 53:751-766.
 13. Kallenberg CG. Overlapping syndromes, undifferentiated connective tissue disease, and other fibrosing conditions. *Curr Opin Rheumatol* 1992; 4:837-842.
 14. Maddison PJ. Mixed connective tissue disease: overlap syndromes. *Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol* 2000; 14:111-124.
 15. Aringer M, Steiner G, Smolen JS. Does mixed connective tissue disease exist? Yes. *Rheum Dis Clin North Am* 2005; 31:411-420.
 16. Caramaschi P, Biasi D, Volpe A, Carletto A, Cecchetto M, Bambara LM. Coexistence of systemic sclerosis with other autoimmune diseases. *Rheumatol Int* 2007; 27:407-410.
 17. Fine RM. Overlap syndromes. *Int J Dermatol* 1991; 30:479-480.

CEFALEIA FEBRIL

Sandra Garcês,* Maria José Santos,* J. Canas da Silva*

Mulher de 64 anos, raça caucasiana, empregada de limpeza, referenciada à consulta de Reumatologia por cefaleias holocraneanas, com 3 semanas de evolução, muito intensas e pulsáteis. Referia ainda febre, cervicalgias e um episódio doloroso a nível da região massetéica direita que regrediu espontaneamente em poucas horas. Alguns dias depois teve episódio de diplopia e amaurose transitória à direita. O exame oftalmológico foi inconclusivo, não evidenciando aspectos sugestivos de nevrite isquémica. Não apresentava queixas de fadiga, emagrecimento, mialgias ou fraqueza muscular.

Na avaliação clínica existia dor à mobilização da coluna cervical, sem outras alterações objectiváveis, nomeadamente sem dor à palpação da região temporal ou sinais inflamatórios locais.

Analiticamente apresentava anemia normocítica e normocrômica, com hemoglobina de 10,9 g/dL, VS 95 mm na 1ª Hora, PCR 19,5 mg/dL, sem leucocitose ou outras alterações relevantes.

Excluída patologia infecciosa, procedeu-se à biopsia da artéria temporal que evidenciou uma proliferação exuberante da íntima, com infiltrado inflamatório mononuclear (Figura 1), disrupção da lâmina elástica interna e granulomas com células gigantes multinucleadas (Figura 2), aspectos característicos de arterite de células gigantes (ACG).

Iniciou medicação com prednisolona 1 mg/kg/dia com resolução das queixas e progressiva melhoria analítica.

A ACG é a vasculite sistémica mais comum nos adultos, afecta predominantemente mulheres com idade superior a 50 anos e associa-se muitas vezes a polimialgia reumática.^{1,2} Os vasos mais frequentemente envolvidos são os ramos extracranianos das artérias carótídeas, embora qualquer artéria possa estar lesada.³

As cefaleias recentes ou com características diferentes do habitual são o sintoma mais frequente (76%), associando-se em cerca de 50% dos casos a anomalias objectivas da artéria temporal (dilatação dolorosa, endurecimento, perda de pulsatibilidade).⁴ A hipersensibilidade do couro cabeludo é tam-

bém muitas vezes descrita. A claudicação da mandíbula surge em 34% devido à isquémia dos músculos mastigadores.⁴

As alterações visuais mais comuns são a diplopia e a perda visual. A diplopia, presente em cerca de 9% dos casos, resulta da isquémia dos músculos óculo-motores, revertendo habitualmente com instituição da corticoterapia.⁴ A perda visual está presente em 15-25% dos casos.⁵ Pode ser uni ou bilateral, total ou parcial e é habitualmente conse-

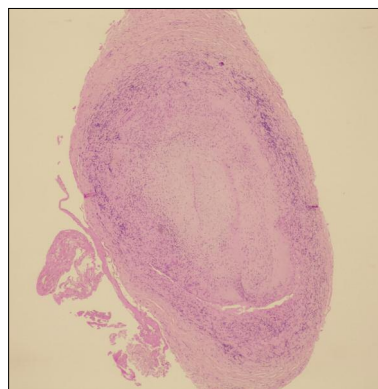


Figura 1. Secção da artéria temporal superficial onde se observa proliferação exuberante da íntima, com infiltrado inflamatório mononuclear, quase obliterando o lúmen (hematoxilina-eosina)

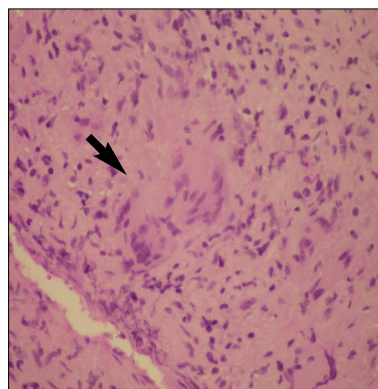


Figura 2. Em maior ampliação documenta-se a presença de granulomas com células gigantes multinucleadas, típicos da ACG (hematoxilina-eosina).

*Serviço de Reumatologia, Hospital Garcia de Orta EPE, Almada

quência da isquémia do nervo óptico devido à arterite oclusiva das artérias ciliares posteriores. Em cerca de 14% pode haver perda visual permanente, mas se não existir perda visual aquando da instituição da corticoterapia o risco do seu aparecimento é pouco significativo (1% nos 5 anos subseqüentes).⁵

Do ponto de vista anatomo-patológico é característica a proliferação da íntima com infiltrado linfocitário e a presença de granulomas contendo células gigantes multinucleadas. A inflamação arterial é segmentar, pelo que se recomenda biopsia com vários segmentos.⁶ As células gigantes estão presentes em apenas 50% das biopsias efectuadas, pelo que, apesar de muito típicas, não são imprescindíveis para o diagnóstico.⁷ Habitualmente a região mais afectada é a porção interna da íntima, adjacente à lâmina elástica interna, embora nos casos mais graves possa haver um atingimento transmural da artéria envolvida.

A avaliação histológica da nossa doente reúne o conjunto das alterações mais típicas que podemos encontrar numa arterite de células gigantes.

Endereço para correspondência

Sandra Garcês
Serviço de Reumatologia
Hospital Garcia de Orta
Av Prof Torrado da Silva
2800 Almada
E-mail: sandragarcesmail@gmail.com

Referências:

1. Hunder CG, Allen GL. Giant cell arteritis: A review. *Bull Rheum Dis* 1978-1979;29:980-986.
2. Smith CA, Fidler WJ, Pinals RS. The epidemiology of giant cell arteritis: report of a ten-year study in Shelby County, Tennessee. *Arthritis Rheum* 1983; 26:1214-1219.
3. Salvarani C, Cantini F, Boiardi L, Hunder GG. Poly-myalgia rheumatica and giant cell arteritis. *New Engl J Med* 2002; 347:261-271.
4. Smetana GW, Shmerling RH. Does this patient have temporal arteritis? *JAMA* 2002;287:92-101.
5. Aiello PD, Trautmann JC, McPhee TJ, Kunselman AR, Hunder GG. Visual prognosis in giant cell arteritis. *Ophthalmology* 1992;100:550-555.
6. Klein RG, Campbell RJ, Hunder CJ, Carney JA. Skip lesions in temporal arteritis. *Mayo Clin Proc* 1976;51: 504-510.
7. Weyand CM, Goronzy JJ. Arterial wall injury in giant cell arteritis. *Arthritis Rheum* 1999;42:844-853.

■ **Jornadas de Outono da Sociedade Portuguesa de Reumatologia 2007**

Local e Data: Vila Galé Clube de Campo, Beja. 05-07 de Outubro de 2007

Limite para envio de resumos: 15 de Setembro de 2007

■ **American College of Rheumatology 71st Annual Scientific Meeting**

Local e Data: EUA, Boston. 06-11 de Novembro de 2007

■ **EULAR Epidemiology Skills Workshop**

Local e Data: Reino Unido, Manchester. 25-29 de Novembro de 2007

■ **OsteoArthritis Research Society International World Congress on Osteoarthritis**

Local e Data: Estados Unidos, Miami. 06-09 de Dezembro de 2007

■ **XV Jornadas Internacionais do Instituto Português de Reumatologia**

Local e Data: Portugal, Lisboa. 13-14 de Dezembro de 2007

■ **XIV Congresso Português de Reumatologia**

Local e Data: Vilamoura, 02-06 de Abril de 2008

Data limite para envio de resumos: 15 de Janeiro de 2008

■ **7th European Lupus Meeting**

Local e Data: Holanda, Amsterdão. 07-10 de Maio de 2008

Data limite para envio de resumos: 15 de Janeiro de 2008

■ **IBMS Davos Workshop: Bone Biology & Therapeutics**

Local e Data: Suíça, Davos. 09-14 de Março de 2008

Data limite para envio de resumos: 30 de Novembro de 2007

■ **35th European Symposium on Calcified Tissues**

Local e Data: Espanha, Barcelona. 24-28 de Maio de 2008

Data limite para envio de resumos: 07 de Dezembro de 2007

■ **EULAR 2008**

Local e Data: França, Paris. 11-14 de Junho de 2008

Data limite para envio de resumos: 31 de Janeiro de 2008

■ **6th International Congress on Autoimmunity**

Local e Data: Portugal, Porto 03-07 de Setembro 2008

Data limite para envio de resumos: 28 de Abril de 2008

A Acta Reumatológica Portuguesa publica artigos originais sobre todos os temas da Reumatologia ou com ela relacionados. São também publicados artigos de revisão, casos clínicos, cartas ao editor e outros que se incluam na estrutura editorial da revista (notícias de reuniões de sociedades científicas, por ex.).

A Acta Reumatológica Portuguesa subscreve os requisitos para apresentação de artigos a revistas biomédicas elaboradas pela Comissão Internacional de Editores de Revistas Médicas (*Internacional Committee of Medical Journal Editors*), publicada na íntegra inicialmente em *N Engl J Med* 1991; 324: 424-28 e actualizada em Fevereiro de 2006 e disponível em www.ICMJE.org. A política editorial da Acta Reumatológica Portuguesa segue as Recomendações de Política Editorial (*Editorial Policy Statements*) emitidos pelo Conselho de Editores Científicos (*Council of Science Editors*), disponíveis em www.councilscienceeditors.org/services/draft_approved.cfm.

Os artigos podem ser redigidos em português ou inglês. As opiniões expressas são da exclusiva responsabilidade dos autores.

Os autores devem declarar potenciais conflitos de interesse financeiro.

Os artigos publicados ficarão propriedade da revista, não podendo ser reproduzidos, no todo ou em parte, sem autorização dos editores.

A aceitação dos originais enviados para publicação é sempre condicionada a avaliação pelos consultores editoriais. Nesta avaliação os artigos poderão ser:

- a) aceites sem alterações;
- b) aceites após modificações propostas pelos consultores;
- c) recusados.

Em todos os casos os pareceres dos consultores serão integralmente comunicados aos autores.

Quando são propostas alterações, o autor deverá endereçar uma carta ao editor e a cada um dos revisores respondendo a todos as questões colocadas. Deverá ainda enviar uma versão revista do artigo com as alterações inseridas destacadas com cor diferente.

Instruções aos Autores

Todos os manuscritos que não estejam em conformidade com as instruções que se seguem podem ser enviados para modificações antes de serem revistos pelos consultores.

Todos os trabalhos devem ser enviados por e-mail para arp@spreumatologia.pt. Poderá ser também enviada cópia impressa para:

Editor
Acta Reumatológica Portuguesa

(para o biénio 2007-2008):

para a morada permanente:

R. D. Estefânia, 177 -1º D. – 1000-154 Lisboa

ou para:

Serviço de Reumatologia
Hospital Garcia de Orta
Av. Prof. Torrado da Silva
2801-951 Almada
E-mail: arp@spreumatologia.pt

Os manuscritos devem ser acompanhados de declaração de originalidade e de cedência dos direitos de propriedade do artigo, assinada por todos os autores, conforme minuta publicada em anexo.

O texto deve ser enviado em formato digital (e-mail ou CD), a dois espaços, com tipo 12 e com margens não inferiores a 2,5 cm, em Word for Windows. Todas as páginas devem ser numeradas.

As imagens devem ser fornecidas independentemente do texto em formato JPEG ou TIFF; em alternativa, poderão ser enviados os originais em papel ou *slide*.

Os textos devem ser organizados da seguinte forma:

Página 1

Título; nome dos autores; categoria profissional; serviços ou organismos onde os autores exerçam a sua actividade e onde o trabalho foi executado; subsídios ou bolsas que contribuíram para a realização do trabalho; morada e contactos do autor responsável pela correspondência e contactos com os editores; título breve para rodapé.

Página 2

- a) Título (sem autores)
- b) Resumo

Resumo em português e inglês, que para os artigos originais deve ser estruturado da seguinte forma: Objectivos, Material e Métodos, Resultados, Conclusões. O resumo dos artigos originais não deve exceder as 250 palavras e o dos casos clínicos as 150 palavras.

- c) Palavras-chave

Um máximo de 5 palavras-chave que devem ser apresentadas imediatamente após o resumo.

Página 3 e seguintes

O texto dos artigos originais deve ser apresentado com os seguintes subtítulos: Introdução, Objectivos, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Bibliografia.

Em se tratando de casos clínicos, os subtítulos serão: Introdução, Caso clínico, Discussão, Bibliografia.

A partir da segunda página, inclusive, todas as páginas devem ter em rodapé o título breve indicado na página título.

O manuscrito não deve ultrapassar as 20 páginas para os artigos originais e revisões e as 6 páginas para os casos clínicos.

Referências: As referências devem ser classificadas e numeradas por ordem de entrada no texto. As abreviatu-

ras usadas na nomeação das revistas devem ser as utilizadas pelo *Index Medicus*.

Nas referências com 6 ou menos autores todos devem ser nomeados. Nas referências com 7 ou mais autores devem ser nomeados os 3 primeiros seguidos de *et al*.

Seguem-se alguns exemplos de como devem constar os vários tipos de referências:

– *Revista*

Nome(s) e iniciais do(s) autor(es). Título do artigo. Nome da revista Ano; Volume: Páginas.

Ex.: Hill J, Bird HA, Hopkins R, Lawton C, Wright V. Survey of satisfaction with care in a rheumatology outpatient clinic. *Ann Rheum Dis* 1992; 51:195-197.

– *Capítulo de livro*

Nome(s) e iniciais do(s) autor(es) do capítulo. Título do capítulo. In: Nome(s) e iniciais do(s) editor(es) médico(s). Título do livro. Cidade: Nome da casa editora, ano de publicação: primeira e última página do capítulo.

Ex.: Stewart AE. Hypercalcemia resulting from medications. In: Favus MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorder of Mineral Metabolism*. New York: Raven Press, 1993: 177-178.

– *Livro*

Nome(s) e iniciais do(s) autor(es). Título do livro. Cidade: Nome da casa editora, ano de publicação: página(s).

Ex.: Lorig K. *Patient Education. A practical approach*. St. Louis: Mosby-Year Book;1992: 51.

As referências a trabalhos ainda não publicados, comunicações em reuniões, não publicadas em livros de resumos, ou comunicações pessoais devem ser citadas no texto e não como referências formais.

A exactidão e o rigor das referências são da responsabilidade do autor.

Quadros: Os quadros a inserir devem ser assinalados no texto em numeração romana. Cada quadro deverá ser apresentado em folha separada, dactilografado a 2 espaços. Na parte superior devem apresentar um título sucinto mas informativo, de modo a poder ser compreendido sem recurso ao texto. Na parte inferior do quadro deve constar a explicação das abreviaturas utilizadas. Nos quadros devem ser evitados os traços verticais e os traços horizontais devem servir apenas como separadores de títulos e subtítulos.

Figuras: As figuras a inserir devem ser assinaladas no texto em numeração árabe. As legendas das figuras devem ser dactilografadas a dois espaços numa folha separada, depois da bibliografia. As figuras devem ser enviadas em suporte informático com ficheiros separados para cada figura, em formato JPEG ou TIFF; em alternativa, devem ser enviados três originais das figuras, que deverão apresentar uma boa qualidade de desenho ou serem feitas em impressora de alta resolução. As fotografias devem ser em papel brilhante, bem contrastado, com as dimensões 10°x15 cm. Todas as figuras devem apresentar no verso uma etiqueta autocolante com o número da figura, o nome do 1º autor, o título breve do artigo e a indicação da parte superior da figura.

Modificações e revisões: No caso da aceitação do ar-

tigo ser condicionada a modificações, estas deverão ser feitas pelos autores no prazo de quinze dias.

As provas tipográficas serão, sempre que possível, enviadas aos autores contendo a indicação do prazo para revisão consoante as necessidades editoriais da revista.

Editoriais: A maioria dos editoriais será solicitada pelo Editor. Os editoriais serão comentários sobre tópicos actuais ou sobre artigos publicados na revista. O texto dos editoriais não deve exceder as 1.200 palavras, um máximo de 15 referências e não deve conter quadros ou figuras.

Artigos de revisão: Estes artigos serão habitualmente encomendados pelo Editor. No entanto, os autores interessados em apresentar um artigo de revisão podem contactar com o Editor para discussão dos tópicos a apresentar.

Cartas ao Editor: As cartas ao editor devem constituir um comentário crítico a um artigo da revista ou uma pequena nota sobre um tema ou caso clínico. Não devem exceder as 600 palavras, uma figura ou quadro, e um máximo de 10 referências bibliográficas.

Separatas: Caso desejem separatas (até ao nº de 10) o 1º autor pode solicitá-las. Um maior número ficará a expensas do autor, aquando da revisão tipográfica.

Minuta da carta a enviar ao Editor

Enviar este documento com o manuscrito para:

Editor

Acta Reumatológica Portuguesa

O(s) autor(es) certifica(m) que o manuscrito intitulado: _____

é original, que todas as afirmações apresentadas como factos são baseados na investigação do(s) autor(es), que o manuscrito, quer em parte quer no todo, não infringe nenhum *copyright* e não viola nenhum direito da privacidade, que não foi publicado em parte ou no todo e que não foi submetido para publicação, no todo ou em parte, noutra revista, e que os autores têm o direito ao *copyright*.

Todos os autores declaram ainda que participaram no trabalho, se responsabilizam por ele e que não existe, da parte de qualquer dos autores conflito de interesses nas afirmações proferidas no trabalho.

Os autores, ao submeterem o trabalho para publicação, transferem para a Acta Reumatológica Portuguesa todos os direitos a interesses do *copyright* do artigo.

Todos os autores devem assinar

Data: _____

Nome (maiúsculas): _____

Assinatura: _____

Acta Reumatológica Portuguesa publishes original articles, reviews and case reports on all subjects related to Rheumatology.

Acta Reumatológica Portuguesa subscribes the requirements for the acceptance of manuscripts in biomedical journals proposed by the International Committee of Medical Journal Editors, published initially in *N Engl J Med* 1991; 324: 424-28, updated in February 2006 and available in www.ICMJE.org. The editorial policy of Acta Reumatológica Portuguesa follows the Editorial Policy Statements published by the Council of Science Editors, available in www.councilscienceeditors.org/services/draft_approved.cfm.

The articles can be written in Portuguese or in English.

Written opinions are of the exclusive responsibility of the author. Published articles will remain property of the journal and cannot be reproduced, as a whole or as a part, without the authorization of the editor.

Authors have to disclose financial conflicts of interest.

The acceptance of articles is subjected to the evaluation of the editorial board. Articles may be:

- a) accepted without changes;
- b) accepted after modifications suggested by the board;
- c) refused.

All the comments made by the reviewers will be sent to the author.

When changes are proposed, the author should send reply letters to the editor and to each of the reviewers answering to all the questions raised. The author should also send a reviewed version of the manuscript with the changes highlighted in a different colour.

Instructions to authors

Manuscripts not in accordance with the instructions may be sent for modification before review by the editorial board.

All manuscripts must be sent by e-mail to arp@spreumatologia.pt. In addition they can also be sent to:

Editor
Acta Reumatológica Portuguesa

(for 2005-2006):

to the permanent address:

R. D. Estefânia, 177 - 1º D
1000-154 Lisboa - Portugal

or to:

Serviço de Reumatologia
Hospital Garcia de Orta
Av. Prof. Torrado da Silva
2801-951 Almada
E-mail: arp@spreumatologia.pt

Manuscripts must be accompanied by a submittal letter, signed by all authors, stating the name of the article, that it is an original work, that the authors held the copyright of the manuscript, that it does not represent any conflict of interest, and that they transfer the copyright to the journal (see form below).

Text should be sent in digital support (e-mail or CD), typed double-spaced, type 12, with 1-inch margins, in Word for Windows. All pages must be sequentially numbered.

Images should be sent independently from the text in JPEG or TIFF file. Alternatively, they can be sent as printed proof or slide.

Manuscripts should be organized as explained below:

Page 1

Title; authors's names and degrees; institutions represented; source of grants support; address and telephone number of the author responsible for communications with the editor and reprints; sort title for footnote.

Page 2

- a) Title (without authors)
- b) Abstract

Abstract in portuguese and in english structured as follows for the original articles: Objectives; Material and Methods; Results; Conclusions. The abstract should not exceed 250 words for original articles and 150 words for case reports.

- c) Keywords

A maximum of 5 keywords should be presented after the abstract.

Page 3 and following pages

The text of original papers should be presented with the following subtitles: Introduction, Objectives, Material and Methods, Results, Conclusions, Acknowledgements, References. Subtitles for case reports should be: Introduction, Case report, Discussion, References.

From the second page on, all pages should have a short title on footnote.

Manuscripts should not exceed 20 pages for original articles and reviews and 6 pages for case reports.

References: References should be cited by the numerical system and listed, in the order cited in the text. Journal titles are abbreviated in accordance with the style of Index Medicus.

List all authors when 6 or less; when 7 or more list only first 3 and add *et al.*

References of unpublished work, presentations or personal observations should be inserted in the text (in parenthesis).

Authors are responsible for the accuracy of the references.

Examples:

– *Journal article*

Name(s) and initials of author(s). Article title. Journal

name Year; Volume or number: Page(s).

Ex: Hill J, Bird HA, Hopkins R, Lawton C, Wright V. Survey of satisfaction with care in a rheumatology outpatient clinic: *Ann Rheum Dis* 1992; 51: 195-197.

– *Chapter in Book*

Name(s) and initials of author(s) of chapter. Chapter title. In: Name(s) and initials of editor(s). Book title. City: Name of publisher, year of publication: pages.

Ex: Stewart AE. Hypercalcemia resulting from medications. In: Favus MD, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. New York: Raven Press, 1991: 177-178.

– *Book*

Name(s) and initials of author(s). Book title. City: Name of publisher, year of publication: page(s).

Ex: Lorig K. *Patient Education. A practical approach*. St Louis: Mosby-Year Book, 1992: 51.

Tables: Tables should be cited in the text with Roman numerals. Each table should be double typed on a separate sheet, have a title and contain no vertical rulers. Horizontal lines should be used only as separators between titles and subtitles. Explain all abbreviations at the bottom.

Figures: Cite each figure in the text in consecutive order using Arabic numerals. Legends should be listed on a separate sheet, double typed. Send the figures in separate files to each figure in the format JPEG or TIFF; in alternative three copies of each figure should be send. Figures should be professional drawn and photographed. Photographs should be 10x15 cm and on the back should be labelled with the number, article title, first author name, and have top indicated.

Modifications and proofreading: Articles accepted subject to modifications, will be sent to authors that will have 15 days to modify them according to suggestions. Contributors will receive page proofs and are asked to proofread them for printers' errors.

Editorials: Editorials will be requested by the editor and will be comments on important issues or on articles published in the journal. Editorials should not exceed 1200 words, with a maximum of 15 references and no tables or figures.

Review articles: Review articles will be commissioned by the editor. However, authors interested in presenting a review article are welcomed to contact the editor.

Letters: Letters to the editor must be a comment on a journal article or a short clinical study or case report. It cannot exceed 600 words, a maximum of 10 references and a table or figure.

Offprints: Authors will be sent, by their request, 10 copies of the Journal issue. Offprints may be charged to the authors upon request during the proofreading.

Letter draft:

Send with manuscript to The Editor:

The authors certify that the manuscript entitled _____ is original, all data are based on their own research and that the manuscript does not violate copyright or privacy regulations. They further state that the manuscript hasn't been partly or totally published or submitted to publication elsewhere.

The authors declare that they hold total copyright for this paper and that they assume collective responsibility for it's contents and also that any conflict of interest is acknowledged.

And submitting this paper, the authors transfer copyrights interests to Acta Reumatológica Portuguesa.

All authors must sign.

Name (capitals): _____

Date: _____

Signature: _____