

ARE THERE REGIONAL VARIATIONS IN THE PRESENTATION OF CHILDHOOD LEUKEMIA?

Klerize Anecely de Souza Silva¹, Ciliana Rechenmacher^{1,3}, Rahuany Velleda de Moraes^{2,3}, Mariana Bohns Michalowski^{1,3}, Liane Esteves Daudt¹

ABSTRACT

Clin Biomed Res. 2021;41(3):192-198

1 Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Centro de Pesquisa Experimental, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS, Brasil.

Corresponding author:

Liane Esteves Daudt
ldaudt@hcpa.edu.br
Serviço de Hematologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Rua Ramiro Barcelos, 2350
90035-935, Porto Alegre, RS, Brasil.

Introduction: Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) is based on risk stratification. This study aimed to assess the agreement between risk group classifications in the different childhood ALL treatment protocols used in a referral hospital in southern Brazil.

Methods: We retrospectively reviewed the medical records of patients aged 1 to 18 years with B-cell ALL treated at a hospital from January 2013 to April 2017. Agreement between risk classifications was assessed by the kappa coefficient.

Results: Seventy-five patients were analyzed. There was poor agreement between risk stratification by GBTLI 2009 and BFM 95 protocols ($\kappa = 0.22$; $p = 0.003$) and by GBTLI 2009 and IC-BFM 2002 protocols ($\kappa = 0.24$; $p = 0.002$). Risk group distribution was 13.3% for low risk, 32.0% for intermediate risk, and 54.7% for high risk based on stratification by the GBTLI 2009 protocol, and 28.0% for low risk, 42.7% for intermediate risk, and 29.3% for high risk based on stratification by the IC-BFM 2002 protocol. Overall survival was 68.6%.

Conclusion: This study provides numerous points to ponder about the treatment of leukemia in Brazil. The percentage of patients classified as high risk in our sample was higher than that reported in the international literature. This difference, however, had no impact on overall survival, which was shorter than that reported in the international literature.

Keywords: Childhood ALL; Risk factors; Immunophenotyping; Minimal residual disease

INTRODUCTION

Leukemia accounts for 30% of all cancers diagnosed in children younger than 15 years, and 75% of these cases are diagnosed as acute lymphoblastic leukemia (ALL)¹. As in other childhood cancers, the survival of children and adolescents with ALL has improved significantly over time². The 5-year survival rate for ALL increased from 60% to approximately 90% for children aged < 15 years and from 28 to 75% for adolescents aged 15 to 19 years between 1975 and 2010 in the United States³.

Much of this improvement is attributable to the tailoring of treatment to the individual characteristics of each patient and of the disease and, more recently, to novel targeted therapies⁴. For decades, groups that study childhood ALL have used risk classification systems to allocate patients to treatment regimens based on their estimated risk of treatment failure. That is, children with favorable clinical and biological features receive less toxic therapy, while more aggressive therapy is reserved for patients who are at higher risk of relapse and less likely to survive in the long term⁵.

This stratification is possible using prognostic factors⁶. Early risk classification systems were based only on clinical factors, such as age and white blood cell count at diagnosis. Current classification systems include the molecular characteristics of leukemic cells at diagnosis and response to treatment. One of the methods used is the detection of minimal residual disease (MRD). Currently, MRD is the most important prognostic factor for

ALL in children⁷. Early response to chemotherapy, with rapid reduction of leukemic cells, especially at the end of remission induction therapy, is an important indicator of a more favorable outcome and a lower risk of relapse⁸.

In Brazil, most centers treating pediatric patients with ALL base their treatment on the Berlin-Frankfurt-Münster (BFM) group protocols or on the Brazilian Cooperative Group for the Treatment of Childhood ALL (Grupo Brasileiro de Tratamento da Leucemia Infantil, GBTLI) protocols. At the hospital, two different protocols were used between 2009 and 2017: treatment suggested by the GBTLI 2009 protocol and treatment regimen proposed by the BFM group.

The present study aimed to describe the clinical and laboratory profile, as well as the outcome of patients with B-cell ALL (B-ALL) treated, and to assess the agreement between risk group classifications in patients classified according to the different childhood ALL treatment protocols or regimens used in the institution.

METHODS

Study population

We conducted a descriptive cross-sectional epidemiological study with retrospective data collection of 75 patients aged 1 to 18 years with B-ALL treated from January 2013 to April 2017. All patients were treated in the same hospital during the study period.

The patients' medical records were reviewed for the following data at the time of diagnosis and after initiation of treatment: age; leukocyte count; central nervous system (CNS) involvement; morphology of leukemic cells; immunophenotyping; cytogenetics; molecular biology; MRD by flow cytometry (FCM) and morphology at day 15 (D15) of induction; MRD by FCM and morphology at the end of induction (D33/D35); risk stratification based on the National Cancer Institute (NCI) criteria and on the criteria of the BFM 95, Intercontinental (IC)-BFM 2002, IC-BFM 2009, GBTLI 99, and GBTLI 2009 treatment regimens/protocols (Table 1)⁹⁻¹⁵; occurrence of relapse or death; current patient status; and date of last update.

Table 1: Risk classification according to the NCI criteria and to the BFM and GBTLI treatment regimens.

NCI criteria and treatment regimens	Risk groups		
	LR	IR	HR
NCI	– Leukocytes < 50,000/mm ³ at diagnosis and age > 1 year and < 10 years		– Leukocytes > 50,000/mm ³ at diagnosis and/or age ≥ 10 years
GBTLI 99	– Age > 1 year and < 9 years; – Leukocytes < 50,000/mm ³ at diagnosis and < 5,000/mm ³ in PB at D8; – Absence of blasts in PB at D14 and M1/M2 BM at D14; – M1 BM at D28; – Patients classified as LR who during treatment meet the requirements for inclusion in the HR group will change groups.		– Age < 1 year and ≥ 1 year and fied as LR who during 3 at diagnosis; – Slow response to treatment (leukocytes ≥ low resp3 at D7 of induction); – Presence of blasts in PB at D14; – M3 BM at D14 and/or M2/M3 BM at D28 and/or evidence of extramedullary leukemic involvement.
GBTLI 2009	– Age ≥ 1 year and/or – Leukocytes < 50,000/mm ³ ; – Negative CNS; – No poor-prognosis cytogenetics (BCR-ABL, MLL rearrangement, and hypodiploidy < 46 chromosomes). True low risk: – PB at D8 < 1,000 blasts/μL; – BM at D15 = M1 with MRD-FCM < 0.01% and at D35 = M1 with MRD-PCR < 10 ⁻³ .	PB at D8 < 1,000 blasts/μL; – BM at D15 = M1/M2 with MRD-FCM (0.01 < 10%); – D35 = M1 with MRD-PCR < 10 ⁻³ .	All of the previous criteria. Rapid responders: – D8 < 1,000 blasts/μL; – BM at D15 = M1/M2 with MRD-FCM < 10%; at D35 = M1 with MRD-PCR < 10 ⁻³ . Slow responders: – D8 > 1,000 blasts/μL; – BM at D15 = M2/M3 with MRD-FCM ≥ BM – D35 = M2/M3 with MRD-PCR < 10 ⁻³ .

Table 1: Continuação

NCI criteria and treatment regimens	Risk groups		
	LR	IR	HR
BFM 95	– No criteria for high risk; – Leukocytes < 20,000/μL; – Age at diagnosis between 1 and 6 years;	– No criteria for high risk; – And leukocytes < 20,000/μL; – And/or age at diagnosis < 1 year or $\geq$ 6 years	– Poor response to corticosteroids; – And/or no CR at D33 of induction; – And/or evidence of t(9;22) or BCR-ABL; – And/or evidence of t(4;11) or <i>MLL-AF4</i> fusion gene.
IC-BFM 2002	– PB at D8 of induction < 1,000 blasts/μL; – And age at diagnosis on < 1,000 blasts/μL; D – Leukocytes at diagnosis < 20,000/μL; – And BM at D15 = M1 or M2; – And BM at D33 = M1.	– PB at D8 of induction < 1,000 blasts/μL; – And age at diagnosis < 1 year or $\geq$ 6 years and/or leukocytes at diagnosis $\geq$ 20,000/μL; – BM at D15 = M1 or M2; – And BM at D33 = M1 or standard risk criteria, but BM at D15 = M3; – BM at D33 = M1.	– At least one of the following criteria: – IR and BM at D15 = M3 (non-standard risk and M3 at D15); – Blasts in PB at D8 $\geq$ Blasts in PB at – BM at D33 = M2 or M3; – Presence of t(9;22) or t(4;11) [<i>MLL-AF4</i>].
IC-BFM 2009	– PB at D8: < 1,000 blasts/μL; – And age $\geq$ 1 year and < 6 years; – And initial leukocytes < 20,000/μL; – And if available: MRD-FCM < 0.1% or M1/M2 BM at D15; – And M1 BM at D33. – All criteria must be met.	– All patients who are not stratified as LR or HR.	– IR and, if available: MRD-FCM 10% or M3 BM at D15; – LR and, if available: MRD-FCM > 10%; – PB at D8 $\geq$ 1,000 blasts/μL; – M2 or M3 BM at D33; – Translocation t(9;22) [BCR-ABL] or t(4;11) [<i>MLL-AF4</i>]; – Hypodiploidy $\leq$ ypodiploidy on – Any one of these criteria is sufficient to classify as HR.

BFM: Berlin-Frankfurt-Münster group; BM: bone marrow; CNS: central nervous system; CR: complete remission; D8: day 8 of induction; D15: day 15 of induction; D33: day 33 of induction; FCM: flow cytometry; GBTLI: Brazilian Cooperative Group for the Treatment of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia (Grupo Brasileiro de Tratamento da Leucemia Infantil); HR: high risk; IC: Intercontinental; IR: intermediate risk; LR: low risk; M1: BM blasts < 5%; M2: BM blasts 5 to < 25%; M3: BM blasts $\geq$ 25%; MRD: minimal residual disease; NCI: National Cancer Institute; PB: peripheral blood; PCR: polymerase chain reaction.

Adapted from Smith et al.; Moricke et al.; Stary et al.; Schrappe et al.; Brandalise et al.; Scrideli et al.; Brandalise et al.⁸⁻¹⁴.

Exclusion criteria were patients with missing data for risk stratification or those with non-B-cell ALL.

The study was approved by the Research Ethics Committee (approval number: CAAE 55303916.5.0000.5327).

Data structure and statistical analysis

Sample size was calculated using WinPepi (v11.43). Based on an expected kappa value of 0.8, a maximum range of kappa of 0.28, a significance level of 5%, and a prevalence rate of 47%¹⁶, a sample size of 74 patients was required.

Data were entered into an Excel spreadsheet, version 2016, and then exported to SPSS, version 20.0, for statistical analysis. Data were expressed as absolute or relative frequencies and means, medians, or percentiles. Survival curves were

estimated by the Kaplan-Meier method and compared by the log-rank test. Overall survival was measured from the date of the diagnosis of ALL to the date of death or last contact. Event-free survival was measured from the date of the diagnosis of ALL to the date of relapse, refractoriness to treatment, death, or last contact. Refractoriness was defined as the failure to achieve a complete response after regular chemotherapy.

The risk classifications of each protocol were analyzed for agreement using the kappa coefficient, and the results were interpreted according to the different ranges of kappa values suggested by Landis & Koch¹⁷. Kappa values > 0.75 indicate excellent agreement, values < 0.40 indicate poor agreement, and values between 0.40 and 0.75 indicate fair to good agreement. To calculate the kappa coefficient,

we excluded the classifications based solely on the NCI criteria and the classifications based on the GBTLI 99 protocol criteria.

All data were updated to October 2017, and a p-value <0.05 was considered significant.

RESULTS

A total of 75 patients aged 1–18 years with a diagnosis of B-ALL were analyzed. Of these, 57.3% were male. Median age was 5 years; 25% of children were younger than 3 years, while 25% were older than 10 years. The main clinical and laboratory characteristics at diagnosis are summarized in Table 2.

Table 2: Clinical and laboratory characteristics and risk group distribution (N = 75).

Characteristics	n	%
Age		
– Median, years (25th/75th percentile)	5	
– Minimum/maximum	(3/10)	
	1/17	
Male	43	57.3
Initial leukocyte count (/mm ³)		
< 20,000	39	52
20,000 and 50,000	18	24
> 50,000	18	24
CNS		
CNS 1	66	88
CNS 2	4	5.3
CNS 3	5	6.7
ALL subtypes		
Pro-B ALL	3	4
Common-B ALL	70	93.3
Pre-B ALL	2	2.7
Karyotype		
Normal	28	
No metaphases growth	12	
Hyperdiploidy	10	
High hyperdiploidy	3	
Low hypodiploidy	1	
Almost diploid	3	
t(1;19)(q23;p13)	2	
t(4;11)(q21;q23)	1	
t(9;22)(q34;q11)	8	
Trisomy 21	2	
Other changes:	3	
46, XY, – 1, + mar [15]		
46, XX, + 1der(1;16)(q10p10)[20]		
46, XX, dup(1)(q21q32)[26]		
Data not available	2	

Table 2: Continuação

Characteristics	n	%
Molecular biology		
<i>IKZF1</i> deletions	5	
<i>TCF3-PBX1</i>	1	
<i>MLL</i> rearrangement	1	
<i>ETV6-RUNX1</i>	1	
No molecular changes	45	
No data available	22	
Relapse	16	
BM	9	
Testis	2	21.3
CNS	2	
BM + CNS	2	
BM + lymph nodes	1	
Deaths	17	
Disease	9	22.6
In CR after CT	7	
In CR after BMT	1	
NCI criteria		
LR	44	58.7
HR	31	41.3
GBTLI 99 classification		
LR	37	49.3
HR	38	50.7
GBTLI 2009 classification		
LR	10	13.3
IR	24	32
HR	41	54.7
BFM 95 classification		
LR	23	30.7
IR	30	40
HR	22	29.3
IC-BFM 2002 classification		
LR	21	28
IR	32	42.7
HR	22	29.3
IC-BFM 2009 classification		
LR	8	10.7
IR	41	54.7
HR	26	34.7

ALL: acute lymphoblastic leukemia; BFM: Berlin-Frankfurt-Münster group; BM: bone marrow; BMT: bone marrow transplantation; CNS: central nervous system; CR: complete remission; CT: chemotherapy; GBTLI: Brazilian Cooperative Group for the Treatment of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia (Grupo Brasileiro de Tratamento da Leucemia Infantil); HR: high risk; IC: Intercontinental; IR: intermediate risk; LR: low risk; NCI: National Cancer Institute.

Regarding karyotype, 73 (97.3%) patients had available information. Of these, 28 (38.4%) had a normal karyotype and 33 (45.2%) had an altered karyotype; in 12 (16.4%) patients, no growth was observed (no metaphases).

Of the 75 patients, 53 (70.6%) had access to immunomolecular analysis. In these cases, there were five *IKZF1* deletions, one *TCF3-PBX1* fusion, one *MLL* rearrangement, and one *ETV6-RUNX1* fusion.

Sixteen (21.3%) patients relapsed, and 17 (22.6%) patients died.

Risk classifications were compared between protocols, and agreement was assessed by the kappa coefficient. All kappa values were statistically significant.

There was poor agreement between GBTLI 2009 and BFM 95 protocols (kappa = 0.22; $p = 0.003$), and between GBTLI 2009 and IC-BFM 2002 protocols (kappa = 0.24; $p = 0.002$). The level of agreement was fair between GBTLI 2009 and IC-BFM 2009 protocols (kappa = 0.44; $p < 0.001$) (Table 3).

Table 3: Agreement analysis of risk classifications between GBTLI 2009 and BFM 95; GBTLI 2009 and IC-BFM 2002; GBTLI 2009 and IC-BFM 2009.

	GBTLI 2009 classification				Total
	LR	IR	HR		
BFM 95 classification	LR	7	13	3	23
	IR	3	9	18	30
	HR	0	2	20	22
Total		10	24	41	75
IC-BFM 2002 classification	LR	7	12	2	21
	IR	3	10	19	32
	HR	0	2	20	22
Total		10	24	41	75
IC-BFM 2009 classification	LR	6	2	0	8
	IR	4	20	18	42
	HR	0	2	23	25
Total		10	24	41	75

BFM: Berlin-Frankfurt-Münster group; GBTLI: Brazilian Cooperative Group for the Treatment of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia (Grupo Brasileiro de Tratamento da Leucemia Infantil); HR: high risk; IC: Intercontinental; IR: intermediate risk; LR: low risk.

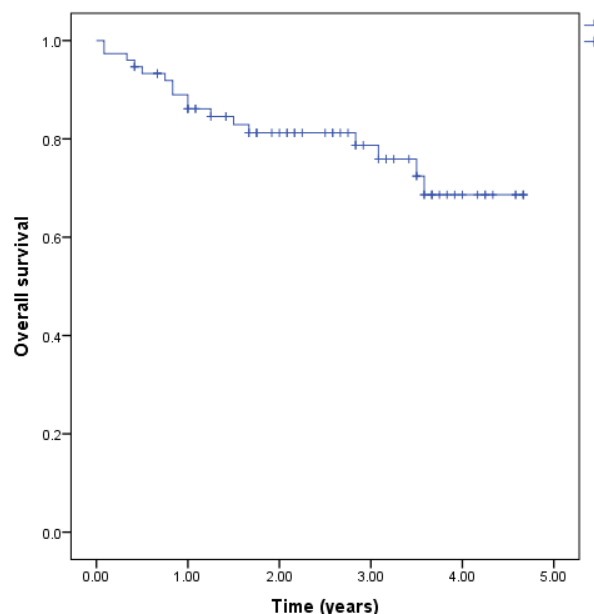
There was better agreement between risk stratification by IC-BFM 2009 and BFM 95 protocols, and between risk stratification by IC-BFM 2009 and IC-BFM 2002 protocols. The kappa coefficient was 0.67 ($p < 0.001$) and 0.68 ($p < 0.001$), respectively.

There was an association between risk group and death in cases stratified as high risk, regardless of the treatment protocol used. The percentage of deaths in patients classified as high risk according to the risk classifications of GBTLI 99, GBTLI 2009, BFM 95, IC-BFM 2002, and IC-BFM 2009 protocols was 39.5% ($p = 0.003$; chi-square test), 36.6% ($p = 0.013$; chi-square test), 54.5% ($p < 0.001$; chi-square test), 54.5% ($p < 0.001$; chi-square test), and 48.0% ($p = 0.001$; chi-square test), respectively. There was also a significant association between high

risk and relapse: GBTLI 2009, 29.3% ($p = 0.03$; chi-square test); and IC-BFM 2002, 45.5% ($p = 0.003$; chi-square test).

The 4-year overall survival was 68.6%, regardless of the treatment protocol used. Mean overall survival was 45.2 months (standard error, 2.2 months). The 4-year event-free survival was 66.6%. Mean event-free survival was 44.7 months (standard error, 2.2 months) (Figure 1).

A



B

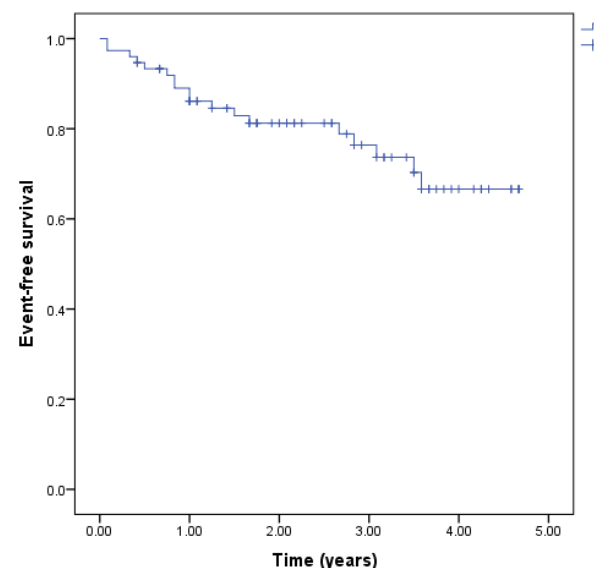


Figure 1: A: Estimated overall survival and; B: estimated event-free survival of the 75 patients, regardless of protocol.

DISCUSSION

Our results show that, as expected, there was better agreement between risk classifications of the BFM group, achieving substantial agreement, or nearly excellent agreement, according to the interpretation proposed by Landis & Koch¹⁷. When risk stratification was compared between BFM and GBTLI protocols, the main differences were age and leukocyte count at diagnosis.

Age ≥ 9 years, leukocyte count $\geq 50,000/\text{mm}^3$, and CNS involvement at diagnosis are considered high-risk features by the Brazilian protocols, regardless of the response to induction therapy¹⁵. In the BFM protocols, however, patients aged ≥ 6 years or with leukocyte count $\geq 20,000/\text{mm}^3$ are initially classified as intermediate risk in the absence of high-risk cytogenetic and molecular abnormalities, and these patients may be transferred to the high-risk group, depending on their response to induction therapy. CNS involvement does not change the initial risk stratification¹¹. This may explain why, as demonstrated in the present study, the Brazilian protocols tend to have a higher percentage of patients classified as high risk (Table 2).

Agreement was only moderate between risk stratification by the GBTLI 2009 and IC-BFM 2009 protocols, although both protocols have already incorporated the concept of MRD into their risk classification systems. A possible explanation is that MRD is assessed somewhat differently in these protocols. While IC-BFM 2009 considers MRD only at D15 of induction by FCM, GBTLI 2009 considers MRD at D15 by FCM and MRD at D35 by polymerase chain reaction (PCR)^{12,15}. However, in the present study, MRD was assessed only by FCM in all patients, because the hospital does not have appropriate technology for detecting MRD by PCR.

When the risk group distribution of our patients, based on the GBTLI 2009, IC-BFM 2002 and IC-BFM 2009 protocols, was compared with the risk group distribution published in the literature, we found a higher percentage of high-risk patients (54.7%, 29.3%, and 34.7%, respectively, vs. 16.7% in the literature). Furthermore, a lower percentage of low-risk patients was observed using the risk classifications of the GBTLI 2009 and IC-BFM 2009 protocols (13.3% and 10.7%, respectively, vs. 30.9% in the literature)^{10,11,18}.

The 4-year overall and event-free survival rates were 68.6% and 66.6%, respectively. These rates are lower than recent international rates from clinical trials conducted in North America and Western Europe, which have reported event-free survival

rates of up to 85% and overall survival rates of up to 90%¹⁹. Some studies have even reported survival rates above 90% for some specific subtypes treated with risk-adapted therapy in B-ALL²⁰.

In sum, the analysis of the present data showed that there was a difference in risk stratification depending on the treatment protocol or regimen used in our institution. This difference, however, had no impact on the overall survival of affected children.

This study provides numerous points to ponder about the treatment of leukemia in our context. The percentage of patients classified as high risk in our sample was higher than that reported in the international literature. In addition, although the patients were treated in a referral hospital in southern Brazil, which has specialized cancer treatment teams and appropriate resources to ensure supportive care for patients, survival rates were lower than those reported in the literature. However, we must consider that this center receives patients with serious clinical presentation and worse prognosis more frequently, due to the high specialized team. This may also have contributed to the finding of a greater number of patients classified as high risk. These data may also be related to the lower survival rate.

Furthermore, the present study raises some questions for future research: would study findings result from a difference in the Brazilian pediatric population with ALL? Are there regional variations in the presentation of childhood leukemia in Brazil? Is there a genetic or molecular alteration more prevalent among Brazilians that should be better studied in a larger sample of patients?

Therefore, further prospective laboratory and clinical studies are needed to explore the reasons underlying these differences, and whether they are sensitive to population or sample size, and to investigate the impact of risk stratification on toxicity and cure rates in our.

New approaches should probably improve diagnosis, prognosis and precision medicine in our population. For example, a study of genomic sequencing would allow the identification of subtypes and genetic alterations with prognostic importance and of their potential role in risk stratification²¹. These questions need to be better explored in our context in larger multicenter studies.

Data statement

All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

REFERENCES

1. Belson M, Kingsley B, Holmes A. Risk factors for acute leukemia in children: a review. *Environ Health Perspect.* 2007;115(1):138-45.
2. Smith MA, Altekruse SF, Adamson PC, Reaman GH, Seibel NL. Declining childhood and adolescent cancer mortality. *Cancer.* 2014;120(16):2497-506.
3. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Bishop K, Altekruse SF, et al. *SEER Cancer Statistics Review* [Internet]. 1975-2013 [cited on 2018 Mar 14]. Available from: https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2013/.
4. Karol SE, Pui CH. Personalized therapy in pediatric high-risk B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Ther Adv Hematol.* 2020;11:2040620720927575.
5. Hunger SP, Loh ML, Whitlock JA, Winick NJ, Carroll WL, Devidas M, et al. Children's Oncology Group's 2013 blueprint for research: acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer.* 2013;60(6):957-63.
6. Vrooman LM, Silverman LB. Childhood acute lymphoblastic leukemia: update on prognostic factors. *Curr Opin Pediatr.* 2009;21(1):1-8.
7. Borowitz MJ, Devidas M, Hunger SP, Bowman WP, Carroll AJ, Carroll WL, et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's Oncology Group study. *Blood.* 2008;111(12):5477-85.
8. Stow P, Key L, Chen X, Pan Q, Neale GA, Coustan-Smith E, et al. Clinical significance of low levels of minimal residual disease at the end of remission induction therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2010;115(23):4657-63.
9. Smith M, Arthur D, Camitta B, Carroll AJ, Crist W, Gaynon P, et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol.* 1996;14(1):18-24.
10. Moricke A, Reiter A, Zimmermann M, Gadner H, Stanulla M, Dordelmann M, et al. Risk-adjusted therapy of acute lymphoblastic leukemia can decrease treatment burden and improve survival: treatment results of 2169 unselected pediatric and adolescent patients enrolled in the trial ALL-BFM 95. *Blood.* 2008;111(9):4477-89.
11. Stary J, Zimmermann M, Campbell M, Castillo L, Dibar E, Donska S, et al. Intensive chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: results of the randomized intercontinental trial ALL IC-BFM 2002. *J Clin Oncol.* 2014;32(3):174-84.
12. Campbell M, Castillo L, Riccheri C, Janic D, Jazbec J, Bratislava EK, et al. *ALL IC-BFM 2009: a randomized trial of the I-BFM-SG for the management of childhood acute lymphoblastic leukemia. final version of therapy protocol.* Germany: [publisher unknown]; 2009.
13. Brandalise SR, Pinheiro VR, Aguiar SS, Matsuda EI, Otubo R, Yunes JA, et al. Benefits of the intermittent use of 6-mercaptopurine and methotrexate in maintenance treatment for low-risk acute lymphoblastic leukemia in children: randomized trial from the Brazilian Childhood Cooperative Group-protocol ALL-99. *J Clin Oncol.* 2010;28(11):1911-8.
14. Scrideli CA, Assumpção JG, Ganazza MA, Araujo M, Toledo SR, Lee MLM, et al. A simplified minimal residual disease polymerase chain reaction method at early treatment points can stratify children with acute lymphoblastic leukemia into good and poor outcome groups. *Haematologica.* 2009;94(6):781-9.
15. Brandalise SR, Pinheiro VR, Lee MLM, Toledo S, Delbuno E, Oliveira MSP, et al. *Protocolo de tratamento da leucemia linfoblástica aguda da criança e do adolescente – GBTLI LLA – 2009.* Brazil: [publisher unknown]; 2009.
16. Basso G, Veltroni M, Valsecchi MG, Dworzak MN, Ratei R, Silvestri D, et al. Risk of relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia is predicted by flow cytometric measurement of residual disease on day 15 bone marrow. *J Clin Oncol.* 2009;27(31):5168-74.
17. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* 1977;33(1):159-74.
18. Conter V, Bartram CR, Valsecchi MG, Schrauder A, Panzer-Grumayer R, Moricke A, et al. Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFM ALL 2000 study. *Blood.* 2010;115(16):3206-14.
19. Hunger SP, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukemia in children. *N Engl J Med.* 2015;373(16):1541-52.
20. Pui CH, Pei D, Raimondi SC, Coustan-Smith E, Jeha S, Cheng C, et al. Clinical impact of minimal residual disease in children with different subtypes of acute lymphoblastic leukemia treated with Response-Adapted therapy. *Leukemia.* 2017;31(2):333-9.
21. Hunger SP, Mullighan CG. Redefining ALL classification: toward detecting high-risk ALL and implementing precision medicine. *Blood.* 2015;125(26):3977-87.

Received: Oct 27, 2020

Accepted: Apr 5, 2021

PROTÓTIPO DE UMA CADEIRA TERAPÊUTICA NEONATAL: DESENVOLVIMENTO, CONFEÇÃO E APLICABILIDADE

PROTOTYPE OF A NEONATAL THERAPEUTIC CHAIR: DEVELOPMENT, CONFECTION AND APPLICABILITY

Graziela Ferreira Biazus¹, Silvia Raquel Jandt¹, Cidia Cristina Kupke¹,
Rita C. Silveira^{2,3}

RESUMO

Introdução: A longa hospitalização dos neonatos na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal tem como consequência o aumento dos riscos de alterações posturais devido ao tempo prolongado dentro de incubadoras e berços. O objetivo do estudo foi desenvolver um dispositivo para promover uma alternativa de mudança de decúbito denominada Cadeira Terapêutica Neonatal.

Métodos: Estudo qualitativo e descritivo de desenvolvimento e produção, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com o nº 17-0254 e constituído por três etapas: desenvolvimento e confecção do protótipo; avaliação da aplicabilidade do protótipo por meio de um questionário de aplicabilidade, após transcorridos 10 minutos do posicionamento funcional; e definição do modelo e solicitação do pedido de invenção pelo Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI).

Resultados: Foram desenvolvidos e confeccionados dois modelos de protótipos de Cadeira Terapêutica Neonatal. Vinte e oito colaboradores da equipe assistencial responderam ao questionário: 82% consideraram muito bom na avaliação no grau de conforto e adaptação do neonato; 96% avaliaram como muito fácil de realizar o processo de higienização. Onze (39,28%) colaboradores sugeriram promover medidas de melhorias no cinto de segurança. Definiu-se o modelo do invento e foi feita a inserção do pedido sob o número BR 20.2020.005865 2 no INPI.

Conclusão: O modelo proposto promoveu uma alternativa de mudança de postura, tendo como característica a aplicabilidade e a usabilidade.

Palavras-chave: Neonato; Posicionamento do paciente; Fisioterapia; Inovação tecnológica; Neuroproteção; Neonatologia

ABSTRACT

Introduction: The long hospitalization of neonates in the Neonatal Intensive Care Unit has the consequence of increasing the risks of postural changes due to the prolonged time inside incubators and cradles. The aim of the study was to develop a device to promote an alternative for changing the decubitus position called "Neonatal Therapy Chair".

Methods: Qualitative and descriptive study of development and production, approved Human Research Protection Office number 17-0254 – consisting of three stages: Stage 1- development and making of the prototype; Step 2- evaluation of the applicability of the prototype through an Applicability Questionnaire, after 10 minutes of functional positioning; Stage 3- definition of the model and request for an invention request by the NIIP (National Institute of Industrial Property).

Results: Stage 1: two prototype. Stage 2: Twenty-eight employees of the assistance team answered the questionnaire: 82% consider it very good in assessing the degree of comfort and adaptation of the newborn; 96% rated it as very easy to carry out the

Clin Biomed Res. 2021;41(3):1-204

1 Serviço de Fisioterapia e Neonatologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Departamento de Pediatria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Serviço de Neonatologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS, Brasil.

Autor correspondente:

Graziela Ferreira Biazus
gbiazus@hcpa.edu.br
Serviço de Fisioterapia e Neonatologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Rua Atílio Bilibio, 251, apto. 1204 E
91530-008, Porto Alegre, RS, Brasil.

cleaning process. Eleven (39.28%) employees suggested promoting measures to improve seat belts. Step 3: definition of the model of the invention and insertion of the order under number BR 20 2020 005865 2 at NIIP.

Conclusion: The proposed model promoted an alternative posture change, having a characteristic of applicability and usability.

Keywords: *Newborn; Patient positioning; Physical therapy; Inventions; Neuroprotection; Neonatology*

INTRODUÇÃO

A longa hospitalização dos neonatos na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) tem como consequência aumento dos riscos de alterações posturais devido ao tempo prolongado dentro de incubadoras neonatais e berços. As intervenções posturais visam melhorar as aquisições motoras e qualidade de vida^{1,2}. O posicionamento do neonato deve ser um cuidado constante, pois envolve toda a dinâmica corpórea, interferindo diretamente sobre as funções fisiológicas primordiais, como a respiração, a função cardíaca e a circulação cerebral³. A variação regular da postura e o posicionamento funcional correto enquanto estratégias de cuidado podem atenuar as anormalidades e as assimetrias posturais, favorecendo o desenvolvimento da atividade motora adequada^{4,5}.

Estudo desenvolvido por Kochan et al.⁶ na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal do Children's Hospital of The King's Daughters in Norfolk, Virginia (USA), apresenta "uma moldura em forma de cunha personalizada" para elevar neonatos dentro das incubadoras modelo *Giraffe*. Os pesquisadores avaliaram o efeito da elevação e do posicionamento da cabeça da linha média na função cardiopulmonar e na incidência de Hemorragia Peri Intraventricular (HPIV). As principais conclusões foram que a posição elevada a 30 graus e cabeça na linha média nos primeiros 4 dias de vida promove diminuição da probabilidade de HPIV grave e melhora da sobrevivência⁶. Em consonância ao tema, a Revisão Sistemática realizada por Romantsik, Calevo e Bruschettini⁷, relata a importância de manter os recém nascidos (RNs) prematuros posicionados com a cabeça na linha média e decúbito elevado nos primeiros dias de vida com objetivo de neuroproteção⁷.

Os RNs prematuros têm um risco aumentado de paralisia cerebral, problemas motores e atrasos cognitivos. Esses frequentemente apresentam deficiências neurocomportamentais (autorregulação, controle do estado, desenvolvimento reflexo, tônus muscular e movimento) que podem ser detectados na idade equivalente a 35-40 semanas de gestação, período da internação na UTIN. Desta forma, recomenda-se promover alinhamento corporal com as mãos próximas da linha média e mudanças posturais para evitar assimetrias⁸.

De acordo com a revisão em Bases de Patentes de criações como *Orbit e Patents*, INPI (Instituto Nacional de Propriedade Industrial) e *Google patents*, os pesquisadores não encontraram um invento que

apresentasse as características necessárias para promover alternativa de postura dos neonatos dentro de incubadoras e berços. Desta forma, pretendeu-se desenvolver um invento denominado "Cadeira Terapêutica Neonatal" para estabelecer uma postura funcional que pudesse ser aplicável na UTIN.

MÉTODOS

Este estudo foi constituído pela população de neonatos internados em uma UTIN nível II com 32 leitos e em uma UTIN nível III com 20 leitos, em uma área urbana na região Sul do Brasil. Trata-se de um estudo qualitativo e descritivo de desenvolvimento e produção, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, sob o número 170254, de acordo com a resolução nº 466 de 2012, com formalização de assinatura do Termo de Compromisso de Utilização de Dados e apoio do Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia da mesma instituição.

Etapas do projeto

Etapa 1: Desenvolvimento e confecção do protótipo, elaboração de desenhos, planejamento das dimensões do produto conforme o tamanho das incubadoras neonatais e dos berços, seleção do material a ser utilizado no invento.

Etapa 2: Avaliação da aplicabilidade do protótipo ocorreu por meio do preenchimento de um Questionário. Este questionário foi elaborado pelas pesquisadoras do estudo utilizando como referência Métodos de Pesquisa de Tatiana Engel Gerhardt e Denise Tolfo Silveira⁹, contendo perguntas de múltipla escolha sobre grau de conforto do neonato (ruim, bom, muito bom), segurança (ruim, bom, muito bom) e adaptação do neonato no dispositivo (ruim, bom, muito bom), facilidade no manuseio (muito difícil, fácil, muito fácil) e processo de higienização (muito difícil, fácil, muito fácil) e por fim, uma pergunta aberta, permitindo ao informante responder livremente, usando linguagem própria e emitir opiniões sobre sua observação.

Depois de aceite em participar da pesquisa e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), os avaliadores formados por profissionais da saúde anônimos alocados na UTIN, preencheram o Questionário de Aplicabilidade após transcorridos 10 minutos do posicionamento funcional do neonato na "Cadeira Terapêutica Neonatal".

Tempo estimado para ocorrer adaptação do mesmo no dispositivo.

Madlinger-Lewis et al.⁸ desenvolveram um estudo para avaliar os efeitos do posicionamento alternativo em recém-nascidos prematuros em uma UTIN, do qual recomendam a permanência de até duas horas durante três vezes na semana como proposta terapêutica. Dessa forma, foi estipulado como critério de permanência na “Cadeira Terapêutica Neonatal” duas horas.

Critérios de participação dos neonatos no estudo

Os critérios de inclusão para os neonatos serem posicionados no dispositivo constituíram-se por estar respirando em ar ambiente, sem utilização de tecnologia assistiva como Ventilação Pulmonar Invasiva ou Não Invasiva, TCLE assinado pelos pais e/ou responsáveis, sendo os mesmos informados sobre os objetivos do estudo, assegurando a liberdade de retirar o seu consentimento, se assim o desejassem, em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer ônus. Os critérios de exclusão foram: apresentar sinais de desconforto, instabilidade hemodinâmica, fototerapia, ou outro fator durante o tempo em que o neonato estivesse na “Cadeira Terapêutica Neonatal”, sendo recomendada sua retirada imediata do estudo.

Intervenções

A população foi composta pelos recém-nascidos internados em uma UTIN nível II e III. Foram selecionados aleatoriamente para a amostra de acordo com critérios de inclusão 10 RNs prematuros internados na UTIN no período entre Abril a Outubro de 2018, estes foram posicionados no dispositivo no turno da manhã e/ou tarde, sempre após 30 minutos do término da dieta. Cada RN foi testado uma vez. O invento suporta o peso máximo de 4 quilos. Sendo avaliado o nível de conforto como alteração dos sinais vitais (frequência cardíaca e respiratória, saturação de oxigênio no sangue) e a *Neonatal Infant Pain Scale* (NIPS) composta por 6 indicadores de dor¹⁰.

Riscos do estudo

Caso ocorra a não adaptação do RN no dispositivo como alterações dos sinais vitais e pontuação igual ou maior a 4 na NIPS, este recebe indicação imediata da sua retirada.

Etapas 3: definição do modelo final e solicitação do pedido de invenção pelo INPI (Instituto Nacional de Propriedade Industrial).

O Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

e Herval Indústria de Móveis, Colchões e Espumas Ltda colaboraram na execução das Etapas 1 e 3.

RESULTADOS

Dois protótipos com características semelhantes foram desenvolvidos na Etapa 1: cunha elevada a 45 graus, espuma flexível e tecido impermeável, cinto de segurança com forma triangular (uma ponta inferior fixa e duas pontas laterais móveis, nas regiões laterais dos quadris), com objetivo de estabilizar a região pélvica, prevenindo que o RN deslize-se para baixo, parte interna do dispositivo com desenho anatômico e apoio cervical nas laterais.

Anterior à testagem, o dispositivo recebeu avaliação pelo departamento de Controle de Infecção da Instituição. Este departamento emitiu parecer favorável de utilidade e um guia de orientações para o seu processo de higienização.

Antes de colocar o dispositivo “Cadeira Terapêutica Neonatal” dentro das incubadoras e berços, retira-se o colchão e deixa a plataforma na posição horizontal, não sendo necessárias fixações para estabilizá-lo.

Na Etapa 2, foram selecionados de acordo com critérios de inclusão dez recém-nascidos prematuros internados na UTIN: com médias de idade gestacional de 30 ± 1 semana e de peso ao nascimento de 1458 ± 102 gramas. No momento do posicionamento para a avaliação, o tempo médio de internação estava em 2 meses e 15 dias, peso médio de 2426 gramas e idade gestacional corrigida 38 semanas. Nenhum neonato foi excluído do estudo por apresentar alterações clínicas durante o período do posicionamento funcional.

O Questionário de Aplicabilidade foi preenchido por vinte e oito profissionais da saúde anonimamente. As respostas referentes ao grau de conforto, grau de segurança do dispositivo e adaptação do neonato estão presentes na Tabela 1 e avaliação sobre facilidade no manuseio e processo de higienização da “Cadeira Terapêutica Neonatal” apresentados na Tabela 2.

Tabela 1: Resposta de profissionais da saúde anônimos: dados referentes ao grau de conforto, segurança e adaptação do neonato.

	Grau de Conforto	Grau de Segurança	Adaptação do neonato
Ruim	0	3 (10.72%)	2 (8%)
Bom	5 (18.8%)	16 (57.14%)	3 (10.7%)
Muito Bom	23 (82.2%)	9 (32.14%)	23 (82.1%)
Colaboradores (nº Total)	28 (100%)	28 (100%)	28 (100%)

Tabela 2: Resposta de profissionais da saúde anônimos: dados referentes ao manuseio e higienização da “Cadeira Terapêutica Neonatal”.

	Manuseio	Higienização
Muito difícil	1 (3.57%)	0
Fácil	6 (21.43%)	1 (3.57%)
Muito fácil	21 (75%)	27 (96.43%)
Colaboradores (nº Total)	28 (100%)	28 (100%)

Em relação à pergunta aberta, onze (39.28%) profissionais de saúde emitiram opiniões sobre promover medidas de melhorias no cinto de segurança.

Na etapa 3 foram realizados os ajustes e definição do modelo final do invento: constituindo-se por uma cunha elevada a 45 graus com acomodação anatômica, altura entre 20 cm e 30 cm, comprimento de 50 cm a 65 cm e largura entre 30 e 40 cm, medidas possibilitando inserção dentro das incubadoras e berços neonatais. Composto por espuma flexível de poliuretano de média densidade e revestida por tecido impermeável. A estrutura interna formada por um desenho anatômico, presença de um apoio cervical nas laterais para evitar deslocamento da cabeça e cinto de segurança com quatro pontas para sustentar a região torácica e abdominal (Figuras 1 e 2).

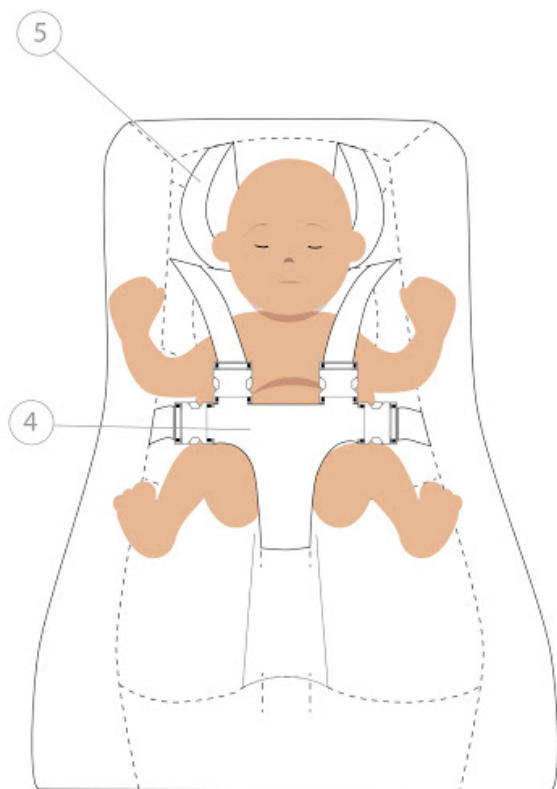


Figura 1: Vista frontal da “Cadeira Terapêutica Neonatal”.

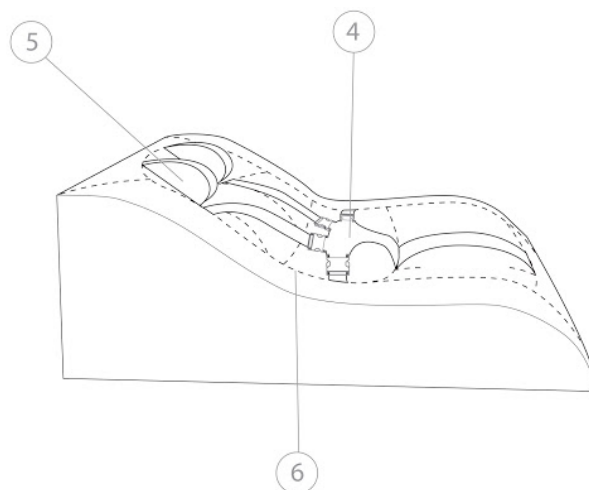


Figura 2: Vista lateral da “Cadeira Terapêutica Neonatal”.

4: cinto de segurança com quatro pontas; 5: apoio cervical nas laterais; 6: desenho anatômico.

Após o desenvolvimento do protótipo foi encaminhado o pedido de patente para o INPI (BR 20 2020 005865 2) em 24/03/2020. O modelo foi registrado na categoria de modelo de utilidade, pois foi baseada no objetivo de uso prático, suscetível a aplicação industrial e tem como resultado uma melhoria funcional no seu uso e na sua fabricação¹¹.

DISCUSSÃO

Foram encontrados na base de pesquisa Bases de Patentes, INPI e *Google patents*, dois modelos de utilidade que possibilitam posicionamento funcional dos neonatos: sendo o modelo “Dispositivo Construtivo Aplicada em Leitos Envoltório para Bebês e Crianças Pequenas”, berço de material acolchoado, sustentado por uma estrutura articulável semelhante a de uma cadeira reclinável, proporcionando um ambiente confortável, reproduzindo uma sensação assemelhada com a do ambiente intra-uterino, tendo como objetivo auxiliar o desenvolvimento físico, neurológico e na prevenção de asfixia em decorrência de refluxo gastroesofágico, indicado para bebês acima de 2000 g. No entanto, tem como principal desvantagem a difícil técnica de higienização e adaptação dentro das incubadoras neonatais, restrita apenas para bebês acima de 2000 g, não aplicável para bebês de baixo peso ao nascimento¹².

O segundo modelo de utilidade encontrado na literatura foi o dispositivo espanhol “*Sistema de Contención y Estimulación Sensorial para Bebés Prematuros*”, um sistema de contenção de estímulo tátil para neonatos prematuros, possibilitando uma contenção em forma de “ninho”, tratando-se de

um dispositivo robusto, mas não permite elevação a 45 graus da cabeça¹³.

Na busca pela estabilidade postural ou contenção no ambiente extra-uterino, o neonato fixa-se através de uma hiperextensão cervical, que atuará bloqueando o desenvolvimento da mobilidade e co-contracção dessa região. Essa estabilização postural anormal pode acarretar bloqueios sequenciais nas regiões do ombro, pelve e quadris, determinando o atraso no desenvolvimento motor. Um dos primeiros desafios enfrentados por ele é a necessidade de lidar com a organização de sua postura no ambiente extra-uterino, sendo incapaz de realizar ajustes posturais devido ao seu baixo tônus muscular e a incapacidade de seus sistemas de organização¹⁴. Desta forma, o modelo do protótipo “Cadeira Terapêutica Neonatal” difere dos modelos apresentados na literatura e em bases de patentes por apresentar uma alternativa de mudança postural e ajuste postural adequado.

De acordo Alpino et al. o controle postural estável forma a base para organizar e executar o movimento voluntário. É importante para a interação social e a comunicação precoce, pois serve como uma interface com o mundo externo para percepção e ação¹⁵. Desta forma, foi desenvolvido um invento que facilita as modificações posturais dos neonatos, pretendendo solucionar as dificuldades encontradas de posicionamento no leito. Este modelo visa promover conforto, estabilidade fisiológica e comportamental, objetivando facilitar a biomecânica diafragmática, melhora do sincronismo toracoabdominal, bem como controle postural e alinhamento da cabeça.

Estudos como de Bijl-Marcus et al.¹⁶, Kochan M et al.⁶ e Bass¹⁷ relatam a importância do posicionamento do RN prematuro a 30 graus com objetivo de manter adequado fluxo sanguíneo cerebral. Além desse objetivo, a escolha de desenvolver um dispositivo

com elevação superior foi possibilitar estimulação neurocomportamental (autorregulação do sistema vestibular e visual, alinhamento da cabeça, postura antigravitária e anti-refluxo). Assim, não recomendamos o posicionamento do neonato em decúbito lateral neste invento.

Estratégias de mudança postural são extremamente importantes para os RNs prematuros, sendo um período crítico para o seu desenvolvimento infantil. A “Cadeira Terapêutica Neonatal” tem como umas de suas indicações na prevenção da plagiocefalia¹⁸, regulação dos três níveis de controle sensorio-motor dentro do sistema nervoso central¹⁹ e medida preventiva e tratamento conservador nos casos de refluxo gastroesofágico²⁰.

Conclui-se que o invento demonstra propiciar bom grau de conforto e adaptação do neonato, tendo característica de aplicabilidade e usabilidade no ambiente da UTIN. No entanto, futuros estudos serão necessários para avaliar o impacto no tempo de internação hospitalar, função pulmonar e neuroproteção do sistema nervoso central.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fernanda dos Santos de Oliveira, Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Enilda Stolzenberg, Fábio Rigon, Felício Agostini Lampert, Livia Lobel da Luz e equipe assistencial da Unidade de Internação Neonatal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Conflitos de Interesse

Os autores declaram não ter conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Santos AMG, Viera CS, Toso BRGO, Barreto GMS, Souza SNDH. Aplicação clínica do Procedimento Operacional Padrão de Posicionamento com Prematuros. *Rev Bras Enferm.* 2018; 71(3):1205-11.
2. Stephens BE, Vohr BR. Neurodevelopmental outcome of the premature infant. *Pediatr Clin North Am.* 2009;56(3):631-46.
3. Garcia A, Lima M. Estimulação suplementar para o recém-nascido de alto risco. In: Juliani RCTP, Nicolau CM, Paula LCS, Lahóz ALC, editores. *Fisioterapia em UTI pediátrica e neonatal*. Barueri: Manole; 2009. p. 133-40.
4. Santos PNL, Dittz ES, Alves CO. Premature newborn babies' positioning at the neonatal intensive care unit and its relation with motor development. *Temas Desenvolv.* 2011;18(101):22-31.
5. Sociedade de Pediatria de São Paulo, Departamento Científico de Neonatologia. *Organização postural do recém-nascido pré-termo em unidades neonatais: considerações sobre o uso do ninho* [Internet]. São Paulo: Sociedade de Pediatria de São Paulo; 2020 [citado 2021 Mar 10]. Disponível em: <https://www.spsp.org.br/2020/09/11/organizacao-postural-do-recem-nascido-pre-termo-em-unidades-neonatais-consideracoes-sobre-o-uso-do-ninho/>.
6. Kochan M, Leonardi B, Firestone A, McPadden J, Cobb D, Shah TA, et al. Elevated midline head positioning of extremely low birth weight infants: effects on cardiopulmonary function and the incidence of periventricular-intraventricular hemorrhage. *J Perinatol.* 2019; 39:54-62.
7. Romantsik O, Calevo MG, Bruschetti M. Head midline position for preventing the occurrence or extension of germinal matrix

- intraventricular hemorrhage in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;7(7):CD012362.
8. Madlinger-Lewis L, Reynolds L, Zarem C, Crapnell T, Inder T, Pineda R. The effects of alternative positioning on preterm infants in the neonatal intensive care unit: a randomized clinical trial. *Res Dev Disabil*. 2014;35(2):490-7. Erratum in: *Res Dev Disabil*. 2015;41-42:101.
 9. Gerhardt TE, Silveira DT, editores. *Métodos de pesquisa*. Porto Alegre: Editora da UFRGS; 2009.
 10. Motta GC, Schardosim JM, Cunha ML. Neonatal Infant Pain Scale: Cross-Cultural Adaptation and Validation in Brazil. *J Pain Symptom Manage*. 2015;50(3):394-401.
 11. Luz LL, Gália CR, Kulzer AM, Sanches PRS. Development, manufacturing and evaluation of effects and safety of a hip orthosis prototype used in the functional rehabilitation of a patient undergoing Girdlestone arthroplasty. *Clin Biomed Res*. 2018;38(3):301-4.
 12. Bueno L, inventor. Dispositivo Construtivo Aplicada em Leitos Envolvório para Bebês e Crianças Pequenas. Patente brasileira MU9001423-5U2. 2012 Dez 26.
 13. Diaz ED, González AMC, Colominas MG, Fernandez MG, Urquijo IC, inventores. Sistema de Contención y Estimulación Sensorial para Bebés Prematuros. Patente española ES1180334U. 2017 Abr 7.
 14. Barradas J, Fonseca A, Guimarães CLN, Lima GMS. A relação entre posicionamento do prematuro no Método Mãe-Canguru e desenvolvimento neuropsicomotor precoce. *J Pediatr (Rio J)*. 2006;82(6):475-80.
 15. Alpino C, Compagnone E, Montanaro ML, Cacciatore D, De Luca A, Cerulli A, et al. Preterm birth and neurodevelopmental outcome: a review. *Childs Nerv Syst*. 2010;26(9):1139-49.
 16. de Bijl-Marcus K, Brouwer AJ, De Vries LS, Groenendaal F, Wezel-Meijler GV. Neonatal care bundles are associated with a reduction in the incidence of intraventricular haemorrhage in preterm infants: a multicentre cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2020;105(4):419-24.
 17. Bass WT. Elevated midline head positioning of extremely low birth weight infants: effects on cardiopulmonary function and the incidence of periventricular-intraventricular hemorrhage. *J Perinatol*. 2019;39(3):517-8.
 18. Aarnivala H, Vuollo V, Harila V, Heikkinen T, Pirttiniemi P, Valkama AM. Preventing deformational plagiocephaly through parent guidance: a randomized, controlled trial. *Eur J Pediatr*. 2015;174(9):1197-208.
 19. Kobesova A, Kolar P. Developmental kinesiology: three levels of motor control in the assessment and treatment of the motor system. *J Bodyw Mov Ther*. 2014; 18(1):23-33.
 20. Ferreira CT, Carvalho E, Sdepanian VL, Morais MB, Vieira MC, Silva LR. Doença do refluxo gastroesofágico: exageros, evidência e a prática clínica. *J Pediatr (Rio J)*. 2014;90(2):105-18.

Recebido: 06 dez, 2020

Aceito: 29 mar, 2021

INCREASED SYSTEMIC IL-6 LEVELS POINT TO INFLAMMATION AS A DETERMINANT OF RENAL CELL CARCINOMA DEVELOPMENT

Giovana Cechim¹, Joel Henrique Ellwanger¹, Valéria de Lima Kaminski¹, Milton Berger², José Artur Bogo Chies¹

ABSTRACT

Introduction: Renal cell carcinoma (RCC) is one of the most prevalent kidney tumors. Inflammation is believed to be a key factor in its progression and spread since inflammatory markers are generally associated with poor prognosis in RCC patients. Cytokines are cell communication molecules involved in both healthy and pathological processes, including tumor growth and progression. Recent findings suggest that cytokine level measurements could be used for cancer monitoring and prognosis.

Methods: This study characterized and compared the levels of different cytokines associated with the classical Th1, Th2, and Th17 immune responses in plasma samples from RCC patients (n = 25) and healthy controls (n = 29). Cytokine levels (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ , and IL-17A) were evaluated by flow cytometry using a BD Cytometric Bead Array (CBA) kit.

Results: No statistical differences in systemic IL-2, IL-4, IL-10, IL-17A, TNF, and IFN- γ levels were observed between RCC patients and controls ($p > 0.05$). However, higher systemic IL-6 levels were observed in RCC patients ($p = 0.0034$).

Conclusions: This study highlights the importance of assessing the impact of IL-6 on RCC pathogenesis and its potential role as a biomarker of disease progression.

Keywords: CBA; Cytokines; IL-6; Inflammation; Renal cancer

Clin Biomed Res. 2021;41(3):1-211

1 Departamento de Genética,
Universidade Federal do Rio Grande
do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Departamento de Urologia, Hospital
de Clínicas de Porto Alegre.
Porto Alegre, RS, Brasil.

Corresponding author:

José Artur Bogo Chies.
jabchies@terra.com.br
Instituto de Biociências, Universidade
Federal do Rio Grande do Sul
Av. Bento Gonçalves, 9500
91509-900, Porto Alegre, RS, Brasil.

INTRODUCTION

Inflammation is one of the hallmarks of cancer biology¹. Inflammatory processes have been associated with cancer-related mechanisms such as the proliferation and survival of malignant cells, angiogenesis, and metastasis². Moreover, there is evidence showing a cytokine-mediated link between inflammation and cancer³. In the context of renal cell carcinoma (RCC), the presence of inflammation is generally associated with poor prognosis^{4,5}. In addition to resistance to chemotherapy and radiation, features of RCC include an absence of early warning symptoms and variable clinical manifestations⁶.

T-helper (Th) lymphocytes show heterogeneous cell populations, playing essential roles in the immune system. These cells promote cell-mediated immunity by inducing pro- or anti-inflammatory reactions mainly through the secretion of different sets of cytokines that determine the direction of the immune response⁷. Interleukins (ILs) are a subset of cytokines that allow for both cell-signaling in the immune system and the generation of a tightly controlled and specific immune response. Distinct immune cell subsets, such as Th1, Th2, and Th17, produce and secrete ILs that will locate and attach to specific targets via cell surface receptors, triggering a cascade of events within the target cell and ultimately altering its behavior. In this context, ILs play a variety of immunomodulatory roles and can induce the maturation, differentiation, migration, and adhesion of immune cells⁸.

The importance of pro-inflammatory mediators in the development of renal cancer has been increasingly recognized in recent years. An adequate microenvironment for tumor growth and development encompasses the inflammation-mediated recruitment of leukocytes, expression of tumor-promoting chemokines and cytokines, and induction of an angiogenic switch for tumor blood supply^{2,9}. Inflammatory molecules can also mediate cell communication to favor tumor development, illustrating the crucial role of cancer-related inflammation. As they grow, solid malignant masses often lose their blood supply, resulting in inadequate oxygen and nutrient levels and leading to necrotic cell death and the release of pro-inflammatory mediators. This phenomenon establishes a cycle that induces neo-angiogenesis, allowing for the continued growth of remaining cancer cells⁹.

Interestingly, tumor progression requires strategies to avert immune system recognition through the establishment of an adequate tumor microenvironment¹⁰. Tumors can secrete factors that suppress and disrupt T-cell responsiveness, including immunosuppressive cytokines¹¹. Another immune escape mechanism found in tumors involves the adaptive immune response⁸. ILs in the tumor microenvironment interact with various biomolecules and cell subpopulations, such as cancer stem cells, microRNA, epithelial-mesenchymal transition markers, and transcription factors¹². These interactions have been translated into several cytokine-based approaches for cancer monitoring and therapy.

Although cytokines are mainly involved in the tumor microenvironment, systemic inflammation levels can also provide important information on tumor and cancer progression². According to the literature, plasma levels of inflammatory cytokines are associated with poor prognosis in patients with RCC^{2,12-15}. The comprehension of the biological impact of individual cytokines on tumor progression is essential for the development of new biomarkers and possibly new therapeutic targets. Thus, considering the role of cytokines in cancer and the recent advances in RCC progression monitoring, the aim of this study was to evaluate the plasma levels of Th1, Th2, and Th17 cytokines in pre-treatment patients with RCC and healthy controls.

METHODS

Patients and ethical concerns

Pre-treatment patients diagnosed with RCC (Cancer group, n = 25) were recruited at the Urology Service of the *Hospital de Clínicas de Porto Alegre*, located in the metropolitan region of the state of Rio Grande do Sul (southern Brazil). The diagnosis of renal cancer was confirmed by imaging and histopathological

analysis. Healthy individuals with no cancer history (Control group, n = 29) were also recruited in southern Brazil. These participants had a similar age to the individuals in the RCC group. This study was approved by the ethics committees of the *Hospital de Clínicas de Porto Alegre* and *Universidade Federal do Rio Grande do Sul* (CAAE No. 11858512.3.0000.5327). All participants signed a consent form in accordance with Resolution No. 466/2012 from the *Ministério da Saúde*¹⁶.

Tumor classification and plasma samples

Tumors were classified by histopathological analysis according to two systems: I. Fuhrman System¹⁷; briefly lesions are classified into four grades (G1, G2, G3, and G4) according to nuclear size and presence of nucleoli¹⁸. II. TNM Classification of Malignant Tumors/TNM staging; originally proposed by Denoix¹⁹, this system is adopted by the Union for International Cancer Control (UICC)²⁰. "T" refers to the primary tumor, "N" refers to regional lymph node involvement, and "M" refers to the presence or absence of distant metastasis²⁰. This system classifies primary tumors (T) into four stages according to their size and extent. Each stage can be divided into subcategories (a, b, c). For this study, we considered only the primary tumor (T) classification, since N and M classifications were unavailable or not applicable to many of the tumors investigated.

Plasma samples were obtained from peripheral blood by centrifugation, after which the samples were kept under refrigeration (-80°C) until the cytokine analyses. Of note, samples of individuals from the Cancer group were collected at the hospital on the day of tumor excision, prior to any other treatment.

CBA analysis

Cytokine levels were evaluated by flow cytometry using the BD Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2/Th17 Cytokine kit (Catalog No. 560484, BD Biosciences, San Jose, CA, USA) at the Laboratory of Immunobiology and Immunogenetics (UFRGS, Brazil). This kit allows for the simultaneous detection of the following cytokines: IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ , and IL-17A. CBA analysis was performed using plasma samples, according to the manufacturer's instructions. The FCAP Array software (BD Biosciences) was used to analyze the raw data obtained with the FACSDiva software (BD Biosciences). Cytokine levels were expressed in pg/mL.

Statistical analysis

Once age was confirmed to be normally distributed, it was compared between groups using unpaired t-tests. Sex ratios were compared using Pearson's chi-square with Yates' correction. Cytokine levels did not show a normal distribution and were therefore

compared through non-parametric tests. The Kruskal-Wallis test was used for comparisons involving three groups and the Mann-Whitney U test was used for comparisons between two groups. A p -value < 0.05 was defined as statistically significant. The analyses were performed using WINPEPI²¹ and GraphPad Prism 5.01 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). The latter was also used for plotting graphs.

RESULTS

Table 1 shows the age and sex distribution of both groups. Neither variable differed significantly between the Cancer and Control groups ($p > 0.05$). Table 1 also shows the distribution of tumors according to TNM staging. The Fuhrman classification could not be made in three cases due to unavailable data.

Table 1: Characteristics of participants included in the study.

Characteristic		Cancer group (n = 25)	Control group (n = 29)	p-value
Age, years; median (IQR)		58.00 (50.00–62.50)	51.00 (45.50–57.50)	0.1246 ^b
Sex, n (%)	Male	14 (56.00)	14 (48.28)	0.769 ^c
	Female	11 (44.00)	15 (51.72)	
TNM staging, n (%)	T1a	11 (44.00)	-	
	T1b	5 (20.00)	-	
	T3a	9 (36.00)	-	
	G1	1 (4.55)	-	
Fuhrman System, n (%a)	G2	13 (59.09)	-	
	G3	6 (27.27)	-	
	G4	2 (9.09)	-	

IQR: interquartile range; n: sample size; a: based on n = 22; b: Unpaired t-test; c: Pearson's chi-square with Yates' correction.

Table 2 shows the levels of IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ , and IL-17A in both groups. IL-6 levels were significantly higher in the Cancer group compared

to the Control group ($p = 0.0034$). No statistically significant differences were observed between the groups on any of the other cytokines ($p > 0.05$).

Table 2: Cytokine levels in cancer group and control group.

Cytokine	Cancer group pg/mL, median (IQR) (n = 25)	Control group pg/mL, median (IQR) (n = 29)	p-value (Mann-Whitney U test)
IL-2	0.0 (0.0-0.14)	0.0 (0.0-0.0)	0.7300
IL-4	0.0 (0.0-0.0)	0.0 (0.0-0.075)	0.2389
IL-6	2.30 (1.06-4.47)	0.85 (0.65-1.72)	0.0034
IL-10	0.78 (0.17-1.60)	0.58 (0.305-0.765)	0.2414
IL-17A	0.0 (0.0-0.0)	0.0 (0.0-0.0)	0.4543
TNF	0.0 (0.0-0.83)	0.0 (0.0-0.68)	0.6286
IFN- γ	0.0 (0.0-0.135)	0.0 (0.0-0.02)	0.2868

IQR: interquartile range. Significant p -value is shown in bold.

Since only IL-6 and IL-10 showed median values > 0 pg/mL, these two cytokines were chosen for subsequent analyses involving the stratification of individuals in the Cancer group according to TNM staging and Fuhrman grades. Patients with Fuhrman grades G1 and G2 were included in one group while

those with grades G3 and G4 were placed in a second group. This procedure was adopted due to the small number of individuals classified as G1 (n = 1) and G4 (n = 2). However, no statistically significant differences ($p > 0.05$) were found in IL-6 and IL-10 levels between tumor grade groups (Figure 1).

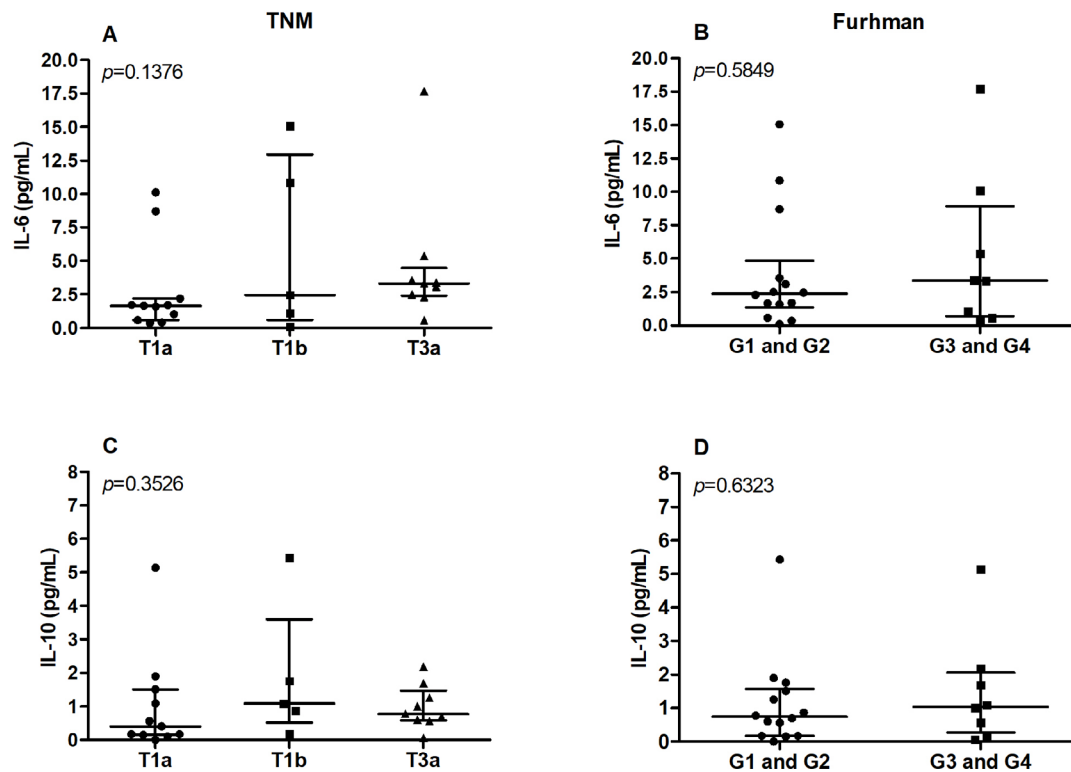


Figure 1: Comparison of IL-6 and IL-10 levels in cancer patients according to TNM ($n = 25$) and Furhman scale ($n = 22$). Kruskal-Wallis test was used for comparisons between TNM stages. Mann-Whitney U test was used for comparisons between Furhman grades.

DISCUSSION

In this study, we measured plasma levels of IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF, and IFN- α in patients with renal cancer. Our results indicated that IL-6 levels were increased in RCC patients in the pre-treatment stage. However, these levels did not differ between patients with tumors of different histopathological grades.

Inflammation plays an important role in the initiation of malignant transformation and cancer progression^{2,9,22}. Furthermore, the presence of inflammatory cytokines such as TNF- α and IL-6 can increase the invasive capacity of malignant cells²³⁻²⁶. In this study, only IL-6 was present at significantly higher levels in renal cancer patients compared to controls. This result adds to the growing evidence of the role of IL-6 in the development and progression of renal cancer^{6,27}. IL-6 promotes cell proliferation, migration, and invasion mainly by the activation of transcription factors STAT3 and NF- κ B²⁸⁻³¹. IL-6 has also been found to modulate angiogenesis in RCC by increasing the expression of HIF1 α and VEGF³².

IL-6 is a pro-inflammatory cytokine with multiple immune regulatory functions. It is produced by

a variety of cells, including macrophages, T and B cells, fibroblasts, endothelial cells, and epithelial cells, particularly renal mesangial and tubular cells^{12,33}. IL-6 function is largely mediated by two membrane proteins: an 80 kDa binding receptor (IL-6R) and the signal transducer gp130 protein. The soluble IL-6 receptor gp80 (sIL-6R) binds to circulating IL-6 molecules forming the IL-6/sIL-6R complex, which can then bind to and activate the gp130 transducer chain in any cell expressing the gp130 receptor subunit³⁴.

Considering the link between inflammation and cancer, it is important to highlight that renal carcinoma cells exposed to hypoxia can secrete IL-6, and increased local IL-6 expression promotes carcinoma cell invasion¹⁵. Indeed, elevated IL-6 mRNA expression levels and IL-6 secretion have been detected in primary RCC tissues⁶. In this same direction, IL-6 mRNA and IL-6 protein receptors have been identified in both primary RCC cultures and established RCC cell lines^{6,35}. In a study by Sakai et al.³⁶, high serum levels of IL-6 were observed in patients with RCC both before and after nephrectomy. The presence of abnormally high IL-6 serum levels in patients with metastatic RCC has been suggested as a potential

independent prognostic factor for these individuals¹⁴. Blay et al.³⁷ investigated the potential role of circulating IL-6 in the paraneoplastic inflammatory and cholestatic syndrome associated with metastatic RCC. In their study, a correlation between the presence of serum IL-6 and systemic symptoms was observed, as were increased serum levels of C-reactive protein and haptoglobin³⁷. Costes et al.³⁸ showed a correlation between the size and stage of RCC with serum IL-6 concentration. Also, IL-6 levels correlated with a worse prognosis in patients with metastatic RCC³⁹.

Of note, in our study, the patient with the highest IL-6 levels was also the only one with metastasis, presenting with lymph node involvement. This corroborates the previously mentioned association between IL-6 and a higher invasive capacity of malignant cells. Thus, the measurement of IL-6 plasma levels in patients with metastatic renal cancer might represent a complementary approach to the evaluation or prediction of the response to immunotherapy. Importantly, the most common drugs used in the treatment of metastatic renal cancer (for example, Sunitinib, Bevacizumab, Pazopanib and Sorafenib) inhibit tyrosine kinase and STAT3 signaling pathways, both of which can be directly activated by IL-6^{40,41}.

The IL-6/sIL-6R complex has been implicated in various deleterious effects of IL-6 in chronic inflammatory diseases and cancer³⁴. This could explain the elevated levels of this IL in RCC and other cancer types, with and without metastasis, observed by our group and other researchers. In the tumor microenvironment, tumor endothelial cells up-regulate the expression of gp130, down-regulate the expression of membrane-bound IL-6R, and are targeted by the IL-6/IL-6sR complex, which leads to cell proliferation, inhibition of apoptosis, and enhanced carcinogenesis⁴². Furthermore, as gp130 is expressed in almost every human cell, the IL-6/sIL-6R complex can affect many circulating cells, which can further explain the high levels of this IL in RCC, other types of cancer, and chronic inflammatory diseases^{6,43}.

In conclusion, considering the important role of IL-6 in the establishment and maintenance of renal cancer, immunotherapeutic drugs that directly

interfere with IL-6 signaling pathways may constitute a promising alternative for the treatment of metastatic renal cancer. Some of these drugs [Tocilizumab (anti-human IL-6R) and Siltuximab (anti-IL-6 monoclonal antibody)] are already used to treat other diseases and could potentially be tested for the treatment of renal cancer^{6,30,44-46}. In summary, the higher systemic IL-6 levels observed in RCC patients point to the importance of future studies of this IL, with a special focus on IL-6-targeted therapeutic strategies and the role of IL-6 in the establishment, development, and progression of cancer.

Acknowledgments and funding

This study received financial support from the *Hospital de Clínicas de Porto Alegre* (HCPA, Porto Alegre, Brazil), *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq, Brazil; Grant No. 473115/2011-5 and 305839/2015-2), and *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES, Brazil). GC, JHE, and VLK received doctoral fellowships from Capes (Brazil). JABC has a research fellowship from CNPq (Brazil). Currently, JHE has a postdoctoral fellowship from CAPES (*Programa Nacional de Pós-Doutorado – PNPd*) and VLK has a postdoctoral fellowship from the *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo* (Fapesp).

Author contributions

GC and MB collected the samples and data from participants in the study. GC, JHE, and VLK performed the analyses and wrote the first version of the manuscript. JABC supervised the work and revised the manuscript.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest regarding this study.

REFERENCES

1. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74.
2. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature*. 2008;454:436-44.
3. Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest*. 2007;117(5):1175-83.
4. Yoshida N, Ikemoto S, Narita K, Sugimura K, Wada S, Yasumoto R, et al. Interleukin-6, tumour necrosis factor alpha and interleukin-1beta in patients with renal cell carcinoma. *Br J Cancer*. 2002;86(9):1396-400.
5. Cuadros T, Trilla E, Sarro E, Vila MR, Vilardell J, Torres I, et al. HAVCR/KIM-1 activates the IL-6/STAT-3 pathway in clear cell renal cell carcinoma and determines tumor progression and patient outcome. *Cancer Res*. 2014;74(5):1416-28.
6. Kaminska K, Czarnecka AM, Escudier B, Lian F, Szczylik C. Interleukin-6 as an emerging regulator of renal cell cancer. *Urol Oncol*. 2015;33(11):476-85.
7. Annunziato F, Romagnani S. Heterogeneity of human effector CD4+ T cells. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(6):257.

8. Anastakis D, Petanidis S, Kalyvas S, Nday CM, Tsave O, Kioseoglou E, et al. Mechanisms and applications of interleukins in cancer immunotherapy. *Int J Mol Sci*. 2015;16(1):1691-710.
9. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*. 2010;140(6):883-99.
10. Bhatia A, Kumar Y. Cellular and molecular mechanisms in cancer immune escape: a comprehensive review. *Expert Rev Clin Immunol*. 2014;10(1):41-62.
11. Mao Y, Poschke I, Kiessling R. Tumour-induced immune suppression: role of inflammatory mediators released by myelomonocytic cells. *J Intern Med*. 2014;276(2):154-70.
12. Setrerrahmane S, Xu H. Tumor-related interleukins: old validated targets for new anti-cancer drug development. *Mol Cancer*. 2017;16(1):153.
13. Dosquet C, Schaetz A, Faucher C, Lepage E, Wautier JL, Richard F, et al. Tumour necrosis factor- α , interleukin-1 β and interleukin-6 in patients with renal cell carcinoma. *Eur J Cancer*. 1994;30A(2):162-7.
14. Negrier S, Perol D, Menetrier-Caux C, Escudier B, Pallardy M, Ravaud A, et al. Interleukin-6, interleukin-10, and vascular endothelial growth factor in metastatic renal cell carcinoma: prognostic value of interleukin-6--from the Groupe Français d'Immunothérapie. *J Clin Oncol*. 2004;22(12):2371-8.
15. Fitzgerald JP, Nayak B, Shanmugasundaram K, Friedrichs W, Sudarshan S, Eid AA, et al. Nox4 mediates renal cell carcinoma cell invasion through hypoxia-induced interleukin 6- and 8- production. *PLoS One*. 2012;7(1):e30712.
16. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. *Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012*. Brasília, DF; 2012.
17. Fuhrman SA, Lasky LC, Limas L. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 1982;6(7):655-63.
18. Ficarra V, Martignoni G, Maffei N, Brunelli M, Novara G, Zanolla L, et al. Original and reviewed nuclear grading according to the Fuhrman system: a multivariate analysis of 388 patients with conventional renal cell carcinoma. *Cancer*. 2005;103(1):68-75.
19. Denoix PF. Enquete permanente dans les centres anticancéreux. *Bull Inst Nat Hyg*. 1946;1:70-5.
20. Union for International Cancer Control. *TNM* [Internet]. c2021 [cited 2021 May 21] Available from: <https://www.uicc.org/resources/tnm>
21. Abramson JH. WINPEPI updated: computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. *Epidemiol Perspect Innov*. 2011;8(1):1.
22. Trinchieri G. Cancer and inflammation: an old intuition with rapidly evolving new concepts. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:677-706.
23. Xie TX, Wei D, Liu M, Gao AC, Ali-Osman F, Sawaya R, et al. Stat3 activation regulates the expression of matrix metalloproteinase-2 and tumor invasion and metastasis. *Oncogene*. 2004;23(2):3550-60.
24. Sullivan NJ, Sasser AK, Axel AE, Vesuna F, Raman V, Ramirez N, et al. Interleukin-6 induces an epithelial-mesenchymal transition phenotype in human breast cancer cells. *Oncogene*. 2009;28(33):2940-7.
25. Elinav E, Nowarski R, Thaiss CA, Hu B, Jin C, Flavell RA. Inflammation-induced cancer: crosstalk between tumours, immune cells and microorganisms. *Nat Rev Cancer*. 2013;13:759-71.
26. Cathcart JM, Banach A, Liu A, Chen J, Goligorsky M, Cao J. Interleukin-6 increases matrix metalloproteinase-14 (MMP-14) levels via down-regulation of p53 to drive cancer progression. *Oncotarget*. 2016;7(38):61107-20.
27. Gudbrandsdottir G, Aarstad HH, Bostad L, Hjelle KM, Aarstad HJ, Bruserud O, et al. Serum levels of the IL-6 family of cytokines predict prognosis in renal cell carcinoma (RCC). *Cancer Immunol Immunother*. 2021;70(1):19-30.
28. Lee H, Herrmann A, Deng JH, Kujawski M, Niu G, Li Z, et al. Persistently activated Stat3 maintains constitutive NF-kappaB activity in tumors. *Cancer Cell*. 2009;15(4):283-93.
29. Yu H, Pardoll D, Jove R. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(11):798-809.
30. Johnson DE, O'Keefe RA, Grandis JR. Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(4):234-48.
31. Taniguchi K, Karin M. NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nat Rev Immunol*. 2018;18(5):309-24.
32. Santoni M, Conti A, Piva F, Massari F, Ciccarese C, Burattini L, et al. Role of STAT3 pathway in genitourinary tumors. *Future Sci OA*. 2015;1(3):FSO15.
33. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood*. 1989;74(1):1-10.
34. Nguyen DP, Li J, Tewari AK. Inflammation and prostate cancer: the role of interleukin 6 (IL-6). *BJU Int*. 2014;113(6):986-92.
35. Takenawa J, Kaneko Y, Fukumoto M, Fukatsu A, Hirano T, Fukuyama H, et al. Enhanced expression of interleukin-6 in primary human renal cell carcinomas. *J Natl Cancer Inst*. 1991;83(22):1668-72.
36. Sakai A, Kawano M, Kuramoto A. Interleukin-6 produced by renal-cell carcinoma cells and progression of multiple myeloma. *N Engl J Med*. 1991;324(26):1893-4.
37. Blay JY, Rossi JF, Wijdenes J, Menetrier-Caux C, Schemann S, Negrier S, et al. Role of interleukin-6 in the paraneoplastic inflammatory syndrome associated with renal-cell carcinoma. *Int J Cancer*. 1997;72(3):424-30.
38. Costes V, Liautard J, Picot MC, Robert M, Lequeux N, Brochier J, et al. Expression of the interleukin 6 receptor in primary renal cell carcinoma. *J Clin Pathol*. 1997;50(1):835-40.
39. Stadler WM, Richards JM, Vogelzang NJ. Serum interleukin-6 levels in metastatic renal cell cancer: correlation with survival but not an independent prognostic indicator. *J Natl Cancer Inst*. 1992;84(23):1835-6.
40. Hodge DR, Hurt EM, Farrar WL. The role of IL-6 and STAT3 in inflammation and cancer. *Eur J Cancer*. 2005;41(16):2502-12.
41. Ranieri G, Marech I, Asabella AN, Di Palo A, Porcelli M, Lavelli V, et al. Tyrosine-kinase inhibitors therapies with mainly anti-angiogenic activity in

- advanced renal cell carcinoma: value of PET/CT in response evaluation. *Int J Mol Sci.* 2017;18(9):1937.
42. Matsumoto S, Hara T, Mitsuyama K, Yamamoto M, Tsuruta O, Sata M, et al. Essential roles of IL-6 trans-signaling in colonic epithelial cells, induced by the IL-6/soluble-IL-6 receptor derived from lamina propria macrophages, on the development of colitis-associated premalignant cancer in a murine model. *J Immunol.* 2010;184(3):1543-51.
43. Uciechowski P, Dempke WCM. Interleukin-6: a masterplayer in the cytokine network. *Oncology.* 2020;98(3):131-7.
44. Oguro T, Ishibashi K, Sugino T, Hashimoto K, Tomita S, Takahashi N, et al. Humanised antihuman IL-6R antibody with interferon inhibits renal cell carcinoma cell growth in vitro and in vivo through suppressed SOCS3 expression. *Eur J Cancer.* 2013;49(7):1715-24.
45. Ishibashi K, Haber T, Breuksch I, Gebhard S, Sugino T, Kubo H, et al. Overriding TKI resistance of renal cell carcinoma by combination therapy with IL-6 receptor blockade. *Oncotarget.* 2017;8(33):55230-45.
46. Garbers C, Heink S, Korn T, Rose-John S. Interleukin-6: designing specific therapeutics for a complex cytokine. *Nat Rev Drug Discov.* 2018;17(6):395-412.

Received: Oct 13, 2020

Accepted: Apr 15, 2021

SUBJECTIVE GLOBAL NUTRITIONAL ASSESSMENT: APPLICABILITY IN CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH MALIGNANT TUMORS

Kellen Benites Nemetz¹, Laura de Carvalho Bastos Domingues²,
Lauro José Gregianin^{1,3}, Luciane Beitler da Cruz³

ABSTRACT

Clin Biomed Res. 2021;41(3):212-219

1 Programa de Pós-graduação em
Saúde da Criança e do Adolescente,
Universidade Federal do Rio Grande
do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Pontifícia Universidade Católica do
Rio Grande do Sul. Porto Alegre,
RS, Brasil.

3 Serviço de Oncologia Pediátrica,
Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
Porto Alegre, RS, Brasil.

Corresponding author:

Kellen Benites Nemetz
kellenb.nutri@gmail.com
Faculdade de Medicina, Universidade
Federal do Rio Grande do Sul
Rua Ramiro Barcelos, 2400
90035-002, Porto Alegre, RS, Brasil.

Introduction: This study investigated the applicability of the Subjective Global Nutritional Assessment (SGNA) tool to evaluate the nutritional status of pediatric cancer patients.

Methods: This was a multicenter, observational cohort study of infants, children, and adolescents diagnosed with malignant tumors. Participants were evaluated at the moment they were diagnosed with a malignant tumor (EV1) and at the third month of treatment (EV2). Objective data were collected and the SGNA questionnaire was applied. Correlation between the methods was performed using the Kendall test.

Results: We evaluated 216 patients at EV1 and 172 patients at EV2. During EV1, 7% of patients presented with some degree of malnutrition, according to objective measures, and 35.7% according to the SGNA. During EV2, they presented 6.4% and 26.8%, respectively. The SGNA showed ability to diagnose more malnutrition than objective indicators and the agreement found between both methods was moderate and weak. We observed a significant correlation between the SGNA and the nutritional indicators ($p = <0.002$), thus proving its efficacy in assessing nutritional status.

Conclusion: The SGNA was applicable for evaluating the nutritional status of children and adolescents diagnosed with malignant tumors, and effective in tracking malnutrition prevalence when compared to objective nutritional assessment methods.

Keywords: *Tumor; Pediatrics; Nutritional status; Nutritional assessment*

INTRODUCTION

Noncommunicable diseases (NCDs) are the leading cause of morbidity and mortality worldwide. Cancer is an NCD and represents a major public health problem in both developed and developing countries¹. In Brazil, an estimated 420,000 new cancer cases were diagnosed between 2018 and 2019. For young children and adolescents, there were an estimated 12,500 new cases. According to these estimates, the southeast and northeast regions showed the highest incidence (5,300 and 2,900, respectively), followed by the midwest, with 1800 new cases, the southern region, with 1,300, and the northern region, with 1,200 new cases¹⁻³.

Malnutrition in children and adolescents undergoing cancer treatment is a poor prognostic factor. Cancer treatment itself predisposes patients to loss of appetite, increased basal metabolism, fever, and infection, which, in turn, may favor depletion of nutritional status (NS), thus delaying antineoplastic treatment and increasing the average length of hospital stay⁴⁻⁸.

Our group observed that the NS assessment protocol in pediatric cancer patients is based only on objective parameters. However, objective measures in the clinical setting are at times difficult to perform and may be biased, such as in the presence of large tumors or during periods of hyperhydration⁹. Thus, there is a need for new nutritional assessment tools that evaluate children and

adolescents diagnosed with cancer beyond objective measures to better screen for nutritional risk.

In 1987, Detsky et al.¹⁰, recommended the Subjective Global Assessment (SGA) evaluation for adults. Subsequently, in 2007, Secker & Jeejeebhoy¹¹ proposed another tool called the Subjective Global Nutritional Assessment (SGNA) for pediatric populations. This method was proven valid for evaluating children and adolescents at nutritional risk associated with postoperative complications and longer hospital stays¹¹. In 2015, Carniel et al.¹² validated this instrument for the Brazilian population, and it has since been tested in a general pediatric population at a hospital in southern Brazil. The SGNA was proven a valid and reliable method for the evaluation of NS when compared to traditional methods based only on anthropometric parameters^{11,12}. Since then, the SGNA was also tested in different pediatric subspecialties to verify its effectiveness in screening for malnutrition, similarly to the objective nutritional assessment method. The subjective evaluation has been effective in the perception of nutritional changes, working as an auxiliary method for the nutrition professional in the identification of patients who would benefit from early nutritional intervention^{13,14}. To improve knowledge of this method, the present study tested whether the SGNA could be applied to a pediatric oncology population, comparing the SGNA scores to the anthropometric parameters currently used in the clinical setting. Thus, the purpose of this study was to evaluate the applicability of the SGNA questionnaire in evaluating the NS of infants, children, and adolescents soon after the diagnosis of a malignant tumor and during 3 months of treatment.

METHODS

Study design and location

This was a multicentric, observational cohort study with primary data collection, which was conducted at the Pediatric Oncology Services of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, the Hospital da Criança Santo Antônio, and the Hospital da Criança Conceição in Porto Alegre, state of Rio Grande do Sul.

Population

Patients between 30 days and 18 years of age, of both sexes, who were diagnosed with malignant tumors and began treatment in either one of the 3 hospitals, were invited to participate in the study. Exclusion criteria included (1) diagnosis of recurring malignant tumors, (2) terminal illness, (3) pregnancy, (4) delayed neuropsychomotor development, (5) underlying chronic pathologies (congenital malformations, innate metabolism errors, heart disease, neuropathy, liver disease), (6) impossibility to collect anthropometric data, and (7) not being able to speak Portuguese.

Sample size

A sample of 216 patients was collected continuously from December 2016 to December 2018. The study sample size was calculated using **WINPEPI**, version 11.43. Considering a 90% statistical power, significance level of 5%, and a **-0.23** (Kendall) correlation obtained in the SGNA validation, according to Carniel et al.¹², the minimum total sample size should be 210 subjects, already accounting for 10% of losses and refusals.

Study variables

Demographic information and identification were collected from participants and their legal guardians. Weight and height measurements were performed according to the Technical Standard of the Food and Nutrition Surveillance System (Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional)¹⁵, with INMETRO-certified digital scales and stadiometers. Circumference and skinfolds were measured according to the Brazilian Society of Pediatrics Manual¹⁶. Arm circumference was measured with an inelastic, retractable tape measure, in millimeters; and tricipital and subscapular skinfold thickness were measured with a Lange (US) or Cescorf (Porto Alegre, Brazil) scientific plicometer. To obtain the values of upper arm muscle circumference, the formula proposed by Frisancho was employed¹⁷. The measures weight-for-age (W/A), height-for-age (H/A), weight-for-height (W/H), and body mass index-for-age (BMI/A) for children under 5 years of age were calculate using the World Health Organization (WHO) Anthro software (version 3.2.2), and the WHO Anthro Plus software (version 1.0.4), for children 5 years of age or older. The percentiles and Z-scores were interpreted according to cutoff points defined by the World Health Organization^{16,18,19}. The objective nutritional assessment was performed by analyzing the set of nutritional indicators mentioned above.

The "SGNA Questionnaire for Infants and Children Under 2 Years" and the "SGNA Questionnaire for Adolescents and Children Over 2 Years" were applied to patients and/or the parent/guardian to collect data from clinical history, weight and height history, parents' height, food intake, and recent changes, as well as physical examination (muscle mass, subcutaneous fat, and edema). Children and adolescents were classified as well nourished, moderately malnourished, or severely malnourished. The questionnaires and the scores for each classification are attached to the instrument validation article¹².

Logistics

Data collection, and objective and subjective nutritional assessments were performed by 2 nutritionists, who were familiar with the same research study protocol. The first evaluation (EV1) was performed soon after

the diagnosis of malignant tumor in the patient's primary hospital. The second evaluation (EV2) was performed during the third month of treatment, and occurred either during hospitalization, during outpatient appointments at the patient's primary hospital, or at private clinics. Data regarding EV1 and EV2 could be collected within 15 days of the established data collection time points.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the SPSS software (Statistical Package for Social Sciences), version 21.0. Quantitative variables were described by their mean and standard deviation or median and interquartile range; and the Shapiro-Wilk test was performed to assess normal distribution. Categorical variables were described by absolute and relative frequencies. To verify association between continuous variables, the Spearman correlation coefficient and the Student's *t* test for paired samples were employed. Proportions between groups were compared using Pearson's chi-square test with a prevalence ratio of 95%. The association between the assessment methods was evaluated by the Kendall rank correlation coefficient. Comparisons between the categorical variables during both time points, labelled as EV1 and EV2, were performed using the McNemar test. In all analyses, significance was established at 5%.

Ethical considerations

This study was performed according to the national ethics guidelines (NR 466/2012) of the Brazilian National Health Council²⁰. The Research Ethics Committees of each participating hospital evaluated and approved the study design (Grupo Hospitalar Conceição: approval number 1.931.294; Hospital de Clínicas de Porto Alegre: approval number 1.815.232; Hospital da Criança Santo Antônio: approval number 1.878.494). Signed informed consent was obtained by all study participants (patients or their legal guardians).

RESULTS

A total of 216 assessments were performed at the moment of diagnosis of a malignant tumor (EV1) and 172 evaluations were performed during the third month of treatment (EV2).

Most patients were aged 2-10 years and boys were more prevalent than girls in both EV1 and EV2. The most prevalent diagnosis was lymphohematopoietic neoplasms. Most patients in EV1 reported hypocaloric food intake, one or more gastrointestinal symptoms, and restriction to strenuous activities. During EV2, there were improvements in all of these conditions, but only the improvement in gastrointestinal symptoms was statistically significant ($p = 0.027$), as described in Table 1.

Table 1: Clinical and nutritional characteristics at diagnosis (EV1) and after 3 months of treatment (EV2).

Indicators	EV1	EV2	<i>p</i>
Sample size, n	216	172	
Age, months	72 [31 – 140]	76 [37 – 146]	0.135
< 2 years	38 (17.6%)	26 (15.1%)	
2-10 years	118 (54.6%)	97 (56.4%)	
> 10 years	60 (27.8%)	49 (28.5%)	
Sex			-
Female	87 (40.3%)	69 (40.1%)	
Male	129 (59.7%)	103 (59.9%)	
Diagnosis			-
Lymphohematopoietic neoplasms	143 (66.2%)	113 (65.7%)	
Neuroblastoma	19 (8.8%)	15 (8.7%)	
Wilms' tumor	15 (6.9%)	13 (7.6%)	
Retinoblastoma	12 (5.6%)	9 (5.2%)	
Bone tumors	11 (5.1%)	10 (5.8%)	
Other abdominal tumors	6 (2.8%)	5 (2.9%)	
Soft tissue sarcoma	5 (2.3%)	4 (2.3%)	
Germ cell tumors	4 (1.9%)	2 (1.2%)	
Nasopharyngeal tumors	1 (0.5%)	1 (0.6%)	
Food consumption			0.064
Adequate	95 (44%)	93 (54.1%)	
Hypocaloric	98 (45.4%)	59 (34.3%)	
Low intake	23 (10.6%)	20 (11.6%)	
Gastrointestinal symptoms			0.027
No symptoms	92 (42.6%)	98 (57%)	
One or more symptom, not daily	105 (48.6%)	67 (39%)	
Several symptoms, daily	19 (8.8%)	7 (4%)	

Table 1: Clinical and nutritional characteristics at diagnosis (EV1) and after 3 months of treatment (EV2).

Functional capacity			0.297
No dysfunction	87 (40.3%)	86 (50%)	
Restricted	104 (48.1%)	66 (38.4%)	
Little or no activity	25 (11.6%)	20 (11.6%)	
Subcutaneous fat loss			0.166
No loss/mild loss	189 (87.5%)	151 (87.8%)	
Moderate loss	20 (9.3%)	19 (11%)	
Severe loss	7 (3.2%)	2 (1.2%)	
Muscle mass loss			0.096
No loss/mild loss	189 (87.5%)	150 (87.2%)	
Moderate loss	19 (8.8%)	21 (12.2%)	
Severe loss	8 (3.7%)	1 (0.6%)	
Edema			0.500
None	215 (99.5%)	170 (98.8%)	
Moderate	1 (0.5%)	2 (1.2%)	
Severe	-	-	
Objective nutritional assessment			0.588
Severely malnourished	6 (2.8%)	3 (1.7%)	
Mildly malnourished	9 (4.2%)	8 (4.7%)	
At risk for low weight	6 (2.8%)	9 (5.2%)	
Well-nourished	116 (53.7%)	96 (55.8%)	
At risk for being overweight	30 (13.9%)	16 (9.3%)	
Overweight	26 (12%)	21 (12.2%)	
Obese	21 (9.7%)	15 (8.7%)	
Severely obese	2 (0.9%)	4 (2.3%)	
Circumference and skinfolds			
AC (n = 189)			1.000
Adequate	165 (87.3%)	142 (89.9%)	
Below expected	24 (12.7%)	16 (10.1%)	
TST (n = 184)			0.549
Adequate	165 (89.7%)	141 (93.4%)	
Below expected	19 (10.3%)	10 (6.6%)	
UAMC (n = 184)			0.581
Adequate	160 (87%)	134 (89.3%)	
Below expected	24 (13%)	16 (10.7%)	
SST (n = 180)			0.065
Adequate	164 (91.1%)	141 (96.6%)	
Below expected	16 (8.9%)	5 (3.4%)	
SGNA			0.426
Well-nourished	139 (64.3%)	126 (73.2%)	
Moderately malnourished	65 (30.1%)	39 (22.7%)	
Severely malnourished	12 (5.6%)	7 (4.1%)	

CNS: Central nervous system; SGNA: Subjective global nutritional assessment; AC: Arm circumference, adequate if percentile > 5; TST: Tricipital skinfold thickness, adequate if percentile > 15; UAMC: Upper arm muscle circumference, adequate if percentile > 5; SST: Subscapular skinfold thickness, adequate if percentile > 15. []: Data presented as median P50 (P25 – P75); (): Data presented as absolute and relative frequencies.

With regards to the physical examination, we did not observe any loss of subcutaneous fat or muscle mass and edema for most patients in both evaluations.

In relation to nutrition diagnosis, it was noted that, at the time of EV1 and EV2, most patients were well nourished, according to both objective and subjective parameters. At the time of diagnosis (EV1), 7% (n = 15) of the patients had some degree of malnutrition according to the objective nutritional assessment, and 35.7% (n = 77) according to the subjective nutritional assessment. During the third month of treatment (EV2), there was an increase

in percentiles related to perimeter and skin folds, according to the objective and subjective evaluations. At the time of EV2, 6.4% (n = 11) of patients were malnourished, according to the objective nutritional assessment and 26.8% (n = 46), according to the SGNA. The clinical and nutritional characteristics of EV1 and EV2 are described in Table 1.

Of the 216 patients included in EV1, there were 20% of losses at EV2, since 22 patients were not hospitalized and had no appointments within the stipulated time period. Eleven patients died within 3 months, 4 patients continued treatment in another

hospital, 2 patients were over 18 years old, 2 refused to attend EV2, 1 was restricted to bed, 1 had already completed treatment, and 1 patient's parents chose to interrupt treatment. Of the 172 patients remaining for EV2 evaluation, 47 had their EV1 and EV2 evaluations completed by different researchers.

To analyze the evolution of each patient's nutritional status, only the patients evaluated at both moments

(n = 172) were considered. There was an improvement in subjective and objective parameters, as shown in Table 2. According to the McNemar test and Student's *t*-test, there was no significant difference between the objective and subjective nutritional assessments comparing EV1 and EV2.

The results of the correlation analysis between the methods are described in Table 3.

Table 2: Change in nutritional status during the first 3 months after diagnosis.

Nutritional status classification (n = 172)	EV1	EV2	p
Anthropometric indicators			
Z-Score Weight-for-height	0.55 ± 1.22 ^A	0.36 ± 1.20 ^A	0.100 ^C
Z-Score Weight-for-age	0.33 ± 1.31 ^A	0.24 ± 1.42 ^A	0.151 ^C
Z-Score Height-for-age	-0.09 ± 1.17 ^A	-0.19 ± 1.18 ^A	0.003 ^C
Z-Score BMI-for-age	0.49 ± 1.34 ^A	0.48 ± 1.46 ^A	0.804 ^C
Subjective Global Nutritional Assessment			0.426 ^D
Well-nourished	115 (66.5%) ^B	126 (73.2%) ^B	
Moderately malnourished	49 (28.9%) ^B	39 (22.7%) ^B	
Severely malnourished	8 (4.6%) ^B	7 (4.1%) ^B	

BMI: Body mass index. Data are presented as absolute and relative frequencies. A: Data are presented as mean ± standard deviation; B: Data are presented as absolute and relative frequencies; *p* ≤ 0.05: denotes statistically significant results; C: Student's *t*-test; D: McNemar test.

Table 3: Correlation between data obtained from the SGNA and objective measurements.

Indicators	N	Objective measurements	r Kendall	p
EV1				
W/H	91	0.47 ± 1.26 ^B	-0.304**	0.002**
W/A	156	0.28 ± 1.34 ^B	-0.260*	0.001*
H/A	216	0.11 ± 1.17 ^B	-0.280*	< 0.001*
BMI/A	216	0.51 ± 1.39 ^B	-0.287*	< 0.001*
AC	180	19 (16-24) ^A	0.459**	< 0.001**
TST	180	10 (7-15) ^A	0.249*	0.001*
UAMC	180	15 (13-19) ^A	0.447**	< 0.001**
SST	180	7 (5-10) ^A	0.292*	< 0.001*
EV2				
W/H	67	0.37 ± 1.20 ^B	-0.292*	0.013*
W/A	123	0.24 ± 1.42 ^B	-0.312**	< 0.001**
H/A	172	-0.19 ± 1.18 ^B	-0.162*	0.030*
BMI/A	172	0.48 ± 1.47 ^B	-0.197*	0.005*
AC	145	20 (16-24) ^A	0.323**	< 0.001**
TST	145	11 (8-15) ^A	-0.027	0.739
UAMC	145	16 (14-19) ^A	0.293*	< 0.001*
SST	145	8 (6-11) ^A	0.061	0.455

SGNA: Subjective global nutritional assessment; W/H: Weight-for-height; W/A: Weight-for-age; H/A: Height-for-age; BMI/A: Body mass index-for-age; AC: Arm circumference; TST: Tricipital skinfold thickness; UAMC: Upper arm muscular circumference; SST: Subscapular skinfold thickness; EV1: Evaluation at the time of diagnosis; EV2: Evaluation after the third month of treatment. A: Data presented as median P50 (P25 – P75); B: Data presented as average ± standard deviation; *p* ≤ 0.05: Denotes statistically significant results. Kendall rank correlation coefficient; *: Weak correlation; **: Moderate correlation.

On average, the SGNA questionnaire was completed in 10 minutes. There was no correlation and significant difference between age and/or education level of the caregivers with regards to the time taken to answer the SGNA questionnaire, for both EV1 and EV2 evaluations.

DISCUSSION

The SGNA is a non-invasive, quick-to-apply, low-cost instrument that can be performed at the patient's bedside. This instrument was validated for the general pediatric population and showed significant correlation with the anthropometric measurements currently used for nutritional diagnosis of children and adolescents (W/H, W/A, H/A, BMI/A, AC, TST, and SST)¹². The present study indicated a moderate and weak correlation between the SGNA and other anthropometric indicators, assessed at diagnosis (EV1) and during the third month of treatment (EV2). Agreement analysis among the nutritional assessment methods was performed using the Kendall coefficient. In EV1, moderate agreement was found in W/H (9%), AC (21%), and UAMC (20%), and weak agreement was found in all other parameters. In EV2, a moderate agreement between W/A (10%) and AC (10%) was detected, whereas W/H (8%), H/A (3%), BMI/A (4%), and UAMC (8%) demonstrated weak correlations with other anthropometric indicators. In spite of these results, the SGNA remains an important tool for understanding the current nutritional assessment of pediatric cancer patients considering food intake, appetite, and weight loss, among others.

The nutrition diagnosis based on the SGNA and the objective nutritional assessment demonstrated that most patients were well nourished at EV1 and EV2. Nearly all the subjective and objective parameters were stable during EV2. The high prevalence of acute leukemia in this study may have contributed to the large number of well-nourished patients at diagnosis and during the third month of treatment, since leukemia patients present with lower risk of malnutrition, with 5 to 10% at diagnosis and 0 to 5% during treatment²¹. A large difference was found between the number of patients diagnosed with some degree of malnutrition using the SGNA assessment compared to objective methods of nutritional assessment. This may be due to the fact that the objective assessment considers only weight, height, and body mass, while the SGNA takes into consideration other parameters that influence nutritional status, such as appetite, functional capacity, and gastrointestinal symptoms.

Studies indicate a decrease in the prevalence of malnutrition, all the while with an increase in sarcopenic obesity and in overweight patients

during treatment for malignant tumors. This is associated with a higher risk of presenting minimal residual disease, toxicity associated with adiposity, and disease relapse. Reports also associate this weight gain with a gradual decrease in the release of inflammatory markers and the use of high doses of glucocorticoids²²⁻²⁵. A cohort study published in 2015 showed a decrease in the number of malnourished patients (8.3% to 4.1%) and an increase in the number of overweight patients (4.5% to 6.6%) when comparing the NS at diagnosis and during the third month of treatment, which is in agreement with the findings presented herein²⁵. Monitoring weight changes during cancer treatment may prevent cancer survivors from developing chronic diseases such as obesity, insulin resistance, dyslipidemia, hypertension, and depression, which in turn increase the risk of cardiovascular disease²⁶⁻²⁹. Strategies to identify patients at nutritional risk, whether for malnutrition or obesity, should be adopted in health services that assist pediatric cancer patients. In this regard, nutrition services, nutritional counseling, and appropriate interventions should be offered to patients and/or their caregivers^{8,22,30}.

It is known that evaluations taking into account objective nutritional measures alone may underestimate proper nutritional diagnosis. This justifies the importance of using specific nutritional assessment instruments to better characterize each population, their specific pathology and hospital environment, in addition to objective measures^{23,31}. In 2016, an adapted equivalent of the subjective nutritional assessment proposed by Secker & Jeejeebhoy¹¹ was released for use in pediatric cancer patients^{11,32}. Subsequently, another article was published with cross-cultural adaptations and instrument validations³³. The SGNA offers a better assessment of NS, since it investigates changes in body weight, food intake, gastrointestinal symptoms, and functional capacity, as well as physical changes in subcutaneous fat, muscle mass, and edema. Objective assessments alone do not contemplate these changes, which may influence NS.

The limitations found in this study were that some patients and/or guardians had difficulty answering certain questions of the assessment instrument, such as specific food intake. Because of logistics, some patients were not evaluated by the same researcher at both moments of the evaluation. This should be taken into consideration since the SGNA is a subjective evaluation method and therefore depends on the researcher's ability to collect and interpret data.

CONCLUSION

In this study, the SGNA tool proved to be adequate for assessing the nutritional status of infants, children,

and adolescents diagnosed with malignant tumors. Since it diagnosed more malnutrition than objective indicators, it seems to be effective in screening for malnutrition in this population, which is important as it allows for early nutritional intervention. Thus, further studies should be conducted to analyze the efficacy of the SGNA as a screening tool for malnutrition. This tool can be part of the routine nutritional assessment for children and adolescents with cancer and should be applied within the first hours of hospitalization, allowing for early and individualized nutritional interventions.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Acknowledgements

We would like to thank all the patients and families who participated in this study.

Note

Preliminary data from this work has already been published in the journal Clinical & Biomedical Research (<https://doi.org/10.4322/2357-9730.80224>).

REFERENCES

- World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. *International Childhood Cancer Day: Much remains to be done to fight childhood cancer* [Internet]. Lyon: IARC; 2016 [cited 2019 Oct 19]. Available from: https://www.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/07/pr241_E.pdf
- Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva, Coordenação de Prevenção e Vigilância. *Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil* [Internet]. Rio de Janeiro: INCA; 2017 [cited 2019 Oct 21]. Available from: <https://rbc.inca.gov.br/revista/index.php/revista/article/view/115>
- American Cancer Society. *The Cancer Atlas* [Internet]. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; 2014 [cited 2019 Oct 19]. Available from: www.cancer.org/canceratlas
- Peres GB, Valim GS, Silva VL, El-Kik RM. Comparação entre métodos de avaliação subjetiva global em oncologia. *Cienc Saude (Porto Alegre)*. 2009;2(1):37-42.
- Cohen J, Wakefield CE, Laing DG. Smell and Taste Disorders Resulting from Cancer and Chemotherapy. *Curr Pharm Des*. 2016;22(15):2253-63.
- Pribnow AK, Ortiz R, Báez LF, Mendieta L, Luna-Fineman S. Effects of malnutrition on treatment-related morbidity and survival of children with cancer in Nicaragua. *Pediatr Blood Cancer*. 2017;64(11):1-7.
- Conner JM, Aviles-Robles MJ, Asdahl PH, Zhang FF, Ojha RP. Malnourishment and length of hospital stay among paediatric cancer patients with febrile neutropaenia: a developing country perspective. *BMJ Support Palliat Care*. 2016;6(3):338-43.
- Ghafoor T. Prognostic factors in pediatric Hodgkin lymphoma: experience from a developing country. *Leuk Lymphoma*. 2020;61(2):344-50.
- Andrassy RJ, Chwals WJ. Nutritional support of the pediatric oncology patients. *Nutrition*. 1998;14(1):124-9.
- Detsky AS, McLaughlin JR, Baker JP, Johnston N, Whittaker S, Mendelson RA, et al. What is subjective global assessment of nutritional states? *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 1987;11(1):8-13.
- Secker DJ, Jeejeebhoy KN. Subjective Global Nutritional Assessment for children. *Am J Clin Nutr*. 2007;85(4):1083-9.
- Carniel MP, Santetti D, Andrade JS, Favero BP, Moschen T, Campos PA, et al. Validation of a subjective global assessment questionnaire. *J Pediatr (Rio J)*. 2015;91(6):596-602.
- Pimenta FS, Oliveira CM, Hattori WT, Teixeira KR. Agreement between Subjective Global Nutritional Assessment and the nutritional assessment of the World Health Organization. *J Pediatr (Rio J)*. 2018;94(6):602-8.
- Matsuyama M, Bell K, White M, Lawson K, David M, Doolan A, et al. Nutritional Assessment and Status of Hospitalized Infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017;65(3):338-42.
- Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. *Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde: Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional – S/SVAN* [Internet]. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2011 [cited 2017 Sep 16]. Available from: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/orientacoes_coleta_analise_dados_antropometricos.pdf
- Sociedade Brasileira de Pediatria, Departamento de Nutrologia. *Avaliação nutricional da criança e do adolescente: Manual de Orientação*. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Pediatria; 2009 [cited 2018 Sep 17]. Available from: http://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/pdfs/MANUAL-AVAL-NUTR2009.pdf
- Frisancho AR. *Anthropometric Standards for the Assessment of Growth and Nutritional Status*. Ann Arbor: University of Michigan Press; 1990.
- World Health Organization. *WHO Child Growth Standards: length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: methods and development*. Geneva: WHO; 2006.
- World Health Organization. *WHO Child Growth Standards: head circumference-for-age, arm circumference-for-age, triceps skinfold-for-age, and subscapular skinfold-for-age: methods and development*. Geneva: WHO; 2007.
- Ministério da Saúde (BR), Conselho Nacional de Saúde. Resolução CNS Nº 466, de 12 de dezembro de 2012. *Diário Oficial da União* [Internet]. 2012 [cited 2018 Sep 19];1:59. Available from: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466_12_12_2012.html

21. Brinksma A, Huizinga G, Sulkers E, Kamps W, Roodbol P, Tissing W. Malnutrition in childhood cancer patients: a review on its prevalence and possible causes. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2012;83(2):249-75.
22. Orgel E, Tucci J, Alhushki W, Malvar J, Spoto R, Fu CH, et al. Obesity is associated with residual leukemia following induction therapy for childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2014;124(26):3932-8.
23. Orgel E, Mueske NM, Spoto R, Gilsanz V, Freyer DR, Mittelman SD. Limitations of body mass index to assess body composition due to sarcopenic obesity during leukemia therapy. *Leuk Lymphoma*. 2018;59(1):138-14.
24. Belle FN, Wenke-Zobler J, Cignacco E, Spycher BD, Ammann RA, Kuehni CE, et al. Overweight in childhood cancer patients at diagnosis and throughout therapy: A multicenter cohort study. *Clin Nutr*. 2019;38(2):835-41.
25. Brinksma A, Roodbol PF, Sulkers E, Kamps WA, de Bont ES, Boot AM, et al. Changes in nutritional status in childhood cancer patients: a prospective cohort study. *Clin Nutr*. 2015;34(1):66-73.
26. Withycombe JS, Smith LM, Meza JL, Merkle C, Faulkner MS, Ritter L, et al. Weight Change During Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Induction Therapy Predicts Obesity: A Report From the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer*. 2014;62(3):434-9.
27. Tselovalnikova TY, Pavlova MG, Zilov AV, Mazerkina NA, Zheludkova OG, Arefyeva IA, et al. Growth disorders after treatment for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *Vopr Onkol*. 2016;62(6):817-21.
28. Orgel E, Genkinger JM, Aggarwal D, Sung L, Nieder M, Ladas EJ. Association of Body Mass Index and Survival in Pediatric Leukemia: a meta-analysis. *Am J Clinical Nutr*. 2016;103(3):808-17.
29. Zhang FF, Parsons SK. Obesity in Childhood Cancer Survivors: Call for Early Weight Management. *Adv Nutr*. 2015;6(5):611-9.
30. Teixeira JFC, Maia-Lemos PS, Cypriano MS, Pisani LP. The influence of antineoplastic treatment on the weight of survivors of childhood cancer. *J Pediatr(Rio J)*. 2016;92(6):559-66.
31. Collins L, Beaumont L, Cranston A, Savoie S, Nayiager T, Barr R. Anthropometry in Long-Term Survivors of Acute Lymphoblastic Leukemia in Childhood and Adolescence. *J Adolesc Young Adult Oncol*. 2017;6(2):294-8.
32. Saraiva DCA, Afonso WV, Pinho NB, Peres WAF, Padilha PC. Equivalência Semântica do Questionário Pediatric Subjective Global Nutritional Assessment para Triage Nutricional em Pacientes Pediátricos com Câncer. *Rev Nutr*. 2016;29(2):211-27.
33. Saraiva DCA, Afonso WV, Pinho NB, Peres WAF, Padilha PC. Adaptação transcultural e validação do conteúdo em português da Pediatric Subjective Global Nutrition Assessment em pacientes pediátricos hospitalizados com câncer. *Rev Nutr*. 2017;30(3):307-20.

Received: Jul 5, 2020

Accepted: May 4, 2021

CORTICAL VOLUME IS INVERSELY CORRELATED WITH INTERLEUKIN-6 SERUM LEVELS IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

Sandra Lermen Polita¹, Raffael Massuda², Bruna Panizzutti³,
Clarissa S. Gama³, Juliana Avila Duarte¹

ABSTRACT

Clin Biomed Res. 2021;41(3):1-223

1 Departamento de Radiologia e
Ressonância Magnética, Hospital
de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).
Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Departamento de Psiquiatria,
Universidade Federal do Paraná
(UFPR). Curitiba, PR, Brasil.

3 Laboratório de Psiquiatria Molecular,
Hospital de Clínicas de Porto Alegre
(HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

Corresponding author:

Sandra Lermen Polita
spolita@hcpa.edu.br
Hospital de Clínicas de
Porto Alegre (HCPA)
Rua Ramiro Barcelos, 2350
90035-007, Porto Alegre, RS, Brasil.

Introduction: It is well established that cortical volume are decreased in patients with schizophrenia. One possible explanation is that the increased pro-inflammatory status in schizophrenia is related to volumetric decrease of gray matter. The aim of this study was to correlate interleukin 6 (IL-6) with cortical volume in patients with schizophrenia and controls.

Methods: We selected 36 patients with schizophrenia and 35 controls. Interleukin 6 (IL-6) was correlated with cortical volume in patients with schizophrenia and controls.

Results: IL-6 was negatively correlated with cortical volume ($p = 0.027$; $\rho = -0.370$) in patients, but not in controls ($p = 0.235$).

Discussion: Our results are in line with previous studies suggesting that chronic inflammatory activation in patients with schizophrenia could be one plausible mechanism that could contribute for the cortical volumetric decrease often seen in this population. However, this cross-sectional study with a small number of patients does not allow us to establish causal relations.

Keywords: Schizophrenia; Inflammation; MRI

INTRODUCTION

Schizophrenia may be associated with progressive enlargement of brain ventricles¹. Although not conclusive, structural deficits noted in studies include increased lateral ventricular volumes, decreased frontal lobes and thalamic volumes, grey matter loss within the anterior cingulate, superior temporal gyrus and hippocampus, and decreased overall cerebral size². The progressive volume changes in temporal and frontal lobes observed in patients with schizophrenia are striking in light of cross-sectional magnetic resonance imaging (MRI) studies showing particularly prominent volume deficits in these regions. Decline in temporal lobe tissue or gray matter was observed in patients with childhood-onset and first-episode schizophrenia³. The hippocampal volume of anyone is the result of several features; for instance, the presence and severity of comorbidities (like diabetes mellitus), as well as therapeutic measures aiming to get better fitness, can enlarge the size of the hippocampus. Besides that, the size of the hippocampus, as much as the whole brain, is associated with individual's height – the intracranial contents are scaled to the size of the cranial cavity. Many medical conditions can influence the size of the hippocampus with ageing, including vascular risk factors and cardiovascular disease, as well as other common diseases like traumatic brain injury and clinical depression. The pronounced cognitive decline observed in patients after cardiac arrest, obesity, diabetes mellitus, atrial fibrillation, hypertension, or obstructive sleep apnea can be related to hippocampal atrophy. Usually, multiple vascular risk factors are present in the

same patient and can have synergistic outcomes in the normal ageing of the brain. Nevertheless, a single risk factor can also influence cognitive function through a reduction in the size of the whole brain, and the hippocampus in particular. To exemplify, children with heart failure have a great reduction in hippocampal volume without obesity, hypertension, and other vascular comorbidities⁴.

Cytokines regulate inflammation and coordinate both innate and adaptive arms of the immune system, being important mediators of the cross-talk between the central nervous system and the immune system, which might have implications for clinical psychiatry⁵.

Examples of cytokines include interleukins (IL) and tumor necrosis factors (TNF). IL-1, IL-6 and TNF- α are considered pro-inflammatory, in the sense that they augment the immune response to infection and inflammation by promoting leukocyte recruitment to inflammatory sites and/or by activating inflammatory cells⁶. IL-10 is an anti-inflammatory cytokine that contributes to dampen the immune and inflammatory response⁶. Thiobarbituric acid-reactive substances is one of the well-known secondary products of lipid peroxidation and was used as an indicator of oxidative damage for several diseases⁷.

A chronic inflammatory state with increased levels of pro-inflammatory cytokines and altered levels of Th-1-like and Th-2-like cytokines may characterize schizophrenia⁸. Hypothesized signs of inflammation and monocyte activation include increased levels of pro-inflammatory cytokines, e.g. TNF- α , IL-1 and IL-6, acute phase proteins, and complement factors⁹.

Oxidative damage is a mechanism of cellular injury in a number of conditions, including cancer, inflammatory states, and neurodegeneration¹⁰. Increased neuronal oxidative stress levels produce deleterious effects on signal transduction, structural plasticity, and cellular resilience, mostly by inducing lipid peroxidation in membranes and direct damage in protein and genes¹¹. Neurons and glia are particularly vulnerable to inflammatory processes and redox status, and are dependent on the maintenance of neurotrophic activity¹². Furthermore, oxidative stress has been identified as a possible element in the neuropathological processes of schizophrenia¹³.

IL-6 has been associated with brain anatomical abnormalities in animal studies. Modeling the association between prenatal infection/inflammation and schizophrenia-related disorders in rodent models of prenatal immune activation has yielded a plethora of experimental data which strongly support the utility of these models in preclinical schizophrenia research. The poly(I:C) model in mice and rats is one of the currently available prenatal immune activation models which holds strong promise in this research area. The heuristic value of the poly(I:C) model for preclinical schizophrenia research is supported

because it successfully accounts for several aspects of schizophrenia epidemiology, pathophysiology, symptomatology and treatment¹⁴. The aim of this study was to correlate interleukin 6 (IL-6) with cortical volume in patients with schizophrenia and controls.

METHODS

Seventy-one subjects were enrolled to this study protocol, 36 patients with schizophrenia (28 males; mean age 37.17 ± 12.05 ; years of disease 15.56 ± 11.75) and 25 controls (21 males, mean age 36.97 ± 13.04). Inclusion criteria for patients and controls have been described elsewhere¹⁵. All patients received pharmacological treatment by their psychiatrist according to clinical protocols. Written informed consent was obtained from all subjects in accordance with the Declaration of Helsinki and the local ethics committee approved the study protocol.

The Structured Clinical Interview for DSM-IV (SCID) Axis I and Axis II was administered to confirm diagnosis. Sociodemographic, clinical and pharmacological data were collected via a structured interview with the patient and examination of clinical records. Trained raters assessed the psychopathological status by the 18-item Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS)¹⁶. Each subject had 5 mL blood samples collected by venipuncture without anticoagulants, and serum was obtained by centrifugation at 300 g for 5 min and kept frozen at 70 °C for up to 6 months, until the assay. Serum IL-6 was measured according to the procedures supplied by the manufacturer using highly sensitive sandwich-ELISA kits for IL-6 (Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, USA). All samples were assayed in duplicates.

T1-weighted magnetic resonance images were acquired with a Philips Achieva 1.5 Tesla scanner (Amsterdam, the Netherlands). The cortical volumetric segmentations were performed with the Freesurfer image analysis suite v.5.1.0, (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>), an automated software that allows the MRI measurement of cortical and intracranial volumes¹⁷. All images were processed and checked by the same researcher. Intracranial volume was regressed out from total cortex volume.

Demographic and clinical characteristics were analyzed using chi-square, Mann-Whitney or *t*-test. The correlation between cortex volume and IL-6 serum levels was obtained by Spearman-rank correlation coefficient.

RESULTS

Demographic data and comparisons between groups are shown in Table 1. IL-6 was negatively correlated with cortical volume ($p = 0.027$; $\rho = -0.370$) in patients but not in controls ($p = 0.235$).

Table 1: Characteristics of healthy controls and patients with schizophrenia.

	Healthy controls (n = 35)	Patients with schizophrenia (n = 36)	p-value
Gender (male/female)	21/14	28/8	0.11 ^b
Age^a	36.97 (13.04)	37.17 (12.05)	0.94 ^c
Years of education^a	10.86 (2.54)	10.42 (3.16)	0.52 ^c
Cortical volume (cm³)^d	475.62 (467.66-483.58)	439.60 (431.75-447.46)	< 0.001
IL-6^e	7.51 (1.43)	6.99 (1.99)	0.61 ^f
Intracranial volume (cm³)	1587.86 (141.16)	1583.58 (166.27)	0.91 ^c
Correlation of cortex volume and IL-6 (pg/mL)^g	-0.206	-0.370*	

^a Mean (standard deviation); ^b Chi-square; ^c T-test; ^d ANCOVA with estimated mean (95% confidence interval). Covariates: age, years of education, and intracranial volume; ^e Median (interquartile range); ^f Mann-Whitney test; ^g Intracranial volume was regressed out from cortical volume. Spearman correlation (rho).

* p < 0.05

DISCUSSION

In our study, we found a correlation between IL-6 and cortical volume in patients with schizophrenia. Increased pro-inflammatory tonus has been one theory for the gray matter loss in schizophrenia. Many studies highlight the importance of IL-6 as a protagonist in this inflammatory scenario, at least in acute phases⁵. There are some limitations in the present study. It is a cross-sectional study; longitudinal studies are needed to correlate inflammation to cortical volume. An important limitation of our study is that we did not correlate brain volumes and IL-6 levels with cigarette smokers, although cross-sectional brain imaging studies suggest that healthy subjects who smoke cigarettes show smaller gray matter volumes and/or densities in the prefrontal, anterior

cingulate, occipital, and temporal cortices (including parahippocampal gyrus), thalamus, substantia nigra and cerebellum as compared to non-smokers¹⁸. Our results are in line with previous studies suggesting that chronic inflammatory activation in patients with schizophrenia could be one plausible mechanism that could contribute for the cortical volumetric decrease often seen in this population. However, this cross-sectional study with a small number of patients does not allow us to establish causal relations.

Acknowledgment

This study was supported by CAPES, FAPERGS and CNPq (Brazil).

REFERENCES

1. Van Haren NE, Cahn W, Hulshoff Pol HE, Kahn RS. The course of brain abnormalities in schizophrenia: can we slow the progression? *J Psychopharmacol.* 2012;26(5 suppl):8-14.
2. Andreasen NC, Nopoulos P, Magnotta V, Pierson R, Ziebell S, Ho BC. Progressive brain change in schizophrenia: a prospective longitudinal study of first-episode schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 2011;70(7):672-9.
3. Mathalon DH, Sullivan EV, Lim KO, Pfefferbaum A. Progressive brain volume changes and the clinical course of schizophrenia in men: a longitudinal magnetic resonance imaging study. *Arch Gen Psychiatry.* 2001;58(2):148-57.
4. Fotuhi M, Do D, Jack C. Modifiable factors that alter the size of the hippocampus with ageing. *Nat Rev Neurol.* 2012;13(4):189-202.
5. Pedrini M, Massuda R, Fries GR, Pasquali MAB, Schnorr CE, Moreira JCF, et al. Similarities in serum oxidative stress markers and inflammatory cytokines in patients with overt schizophrenia at early and late stages of chronicity. *J Psychiatr Res.* 2012;46(6):819-24.
6. Potvin S, Stip E, Sepehry AA, Gendron A, Bah R, Kouassi E. Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol Psychiatry.* 2008;63(8):801-8.
7. Huang TL, Liou CW, Lin TK. Serum thiobarbituric acid-reactive substances and free thiol levels in schizophrenia patients: effects of antipsychotic drugs. *Psychiatry Res.* 2010;177(1-2):18-21.
8. Miller BJ, Buckley P, Seabolt W, Mellor A, Kirkpatrick B. Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects. *Biol Psychiatry.* 2011;70(7):663-71.
9. Mayilyan KR, Arnold JN, Presanis JS, Soghoyan AF, Sim RB. Increased complement classical and mannan-binding lectin pathway activities in schizophrenia. *Neurosci Lett.* 2006;404(3):336-41.

10. Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Teixeira AL, Magalhaes PV, Kauer-Sant'Anna M, Klamt F, et al. Peripheral biomarkers and illness activity in bipolar disorder. *J Psychiatr Res.* 2001;45(2):156-61.
11. Gama CS, Andreazza AC, Kunz M, Berk M, Belmonte-de-Abreu PS, Kapczinski F. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Neurosci Lett.* 2007;420(1):45-8.
12. Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Teixeira AL, Magalhaes PV, Kauer-Sant'Anna M, Klamt F, et al. A systemic toxicity index developed to assess peripheral changes in mood episodes. *Mol Psychiatry.* 2010;15(8):784-6.
13. Riegel RE, Valvassori SS, Moretti M, Ferreira CL, Steckert AV, Souza B, et al. Intracerebroventricular ouabain administration induces oxidative stress in the rat brain. *Int J Dev Neurosci.* 2010;28(3):233-7.
14. Meyer U, Feldon J. To poly(I:C) or not to poly(I:C): advancing preclinical schizophrenia research through the use of prenatal immune activation models. *Neuropharmacology.* 2012;62(3):1308-21.
15. Czepielewski LS, Massuda R, Goi P, Sulzbach-Vianna M, Reckziegel R, Costanzi M, et al. Verbal episodic memory along the course of schizophrenia and bipolar disorder: a new perspective. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2015;25(2):169-75.
16. Romano F, Elkis H. Tradução e adaptação de um instrumento de avaliação psicopatológica das psicoses: a escala breve de avaliação psiquiátrica-versão ancorada (BPRS-A). *J Bras Psiquiatr.* 1996;45(1):43-9.
17. Fischl B. FreeSurfer. *Neuroimage.* 2012;62(2):774-81.
18. Van Haren NE, Koolschijn PC, Cahn W, Schnack HG, Hulshoff Pol HE, Kahn RS. Cigarette smoking and progressive brain volume loss in schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2010;20(7):454-8.

Received: Aug 24, 2020

Accepted: May 1, 2021

PREVALÊNCIA DE DOR LOMBAR E FATORES DE RISCO EM TRABALHADORES DE UMA LAVANDERIA HOSPITALAR: UM ESTUDO TRANSVERSAL

PREVALENCE OF LOW BACK PAIN AND RISK FACTORS IN HOSPITAL LAUNDRY WORKERS: A CROSS-SECTIONAL STUDY

Vânia das Dores Ant3nio Manhique¹, Jussara Maria Rosa Mendes², Paulo Antonio Barros Oliveira³, Eunice Beatriz Martin Chaves⁴, F3bio Fernandes Dantas Filho⁴

RESUMO

Clin Biomed Res. 2021;41(3):224-231

1 Escola de Enfermagem, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Instituto de Psicologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

4 Serviço de Medicina Ocupacional, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS, Brasil.

Autor correspondente:

Jussara Maria Rosa Mendes
jussaramaria.medes@gmail.com
Departamento de Serviço Social,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Rua Itaboraí, 802/1007
90670-030, Porto Alegre, RS, Brasil.

Introdução: A dor lombar representa um problema de saúde pública na população em idade economicamente ativa em todo o mundo, incluindo trabalhadores de lavanderia hospitalar. Neste artigo é avaliada a prevalência de dor lombar em trabalhadores de lavanderia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e sua associação com dados sociodemográficos, clínicos, ocupacionais e prática de exercícios físicos.

Métodos: Foi realizado um estudo transversal do qual participaram 99 funcionários da lavanderia do Hospital. Foi utilizado instrumento de pesquisa composto por um questionário com questões sociodemográficas, clínicas e ocupacionais dos trabalhadores. Os dados obtidos foram processados pelo Teste Qui-Quadrado de Pearson e pela regressão de Poisson com variâncias robustas.

Resultados: A prevalência de dor lombar encontrada foi de 68,69% (IC 95% 59,4%;78,0%). Entre os participantes, 12,1% relataram afastamento do trabalho pela Previdência Social devido a dor lombar. Na análise multivariada, ser trabalhador do setor costura foi associado a maior risco de apresentar dor lombar, enquanto que ter duplo emprego e tempo de serviço na função não estiveram significativamente associados.

Conclusões: A dor lombar foi uma queixa prevalente em trabalhadores da lavanderia hospitalar, especialmente no setor costura. Ter duplo emprego ou maior tempo de trabalho na função não se mostraram fatores associados à prevalência de dor lombar na população estudada. Sugere-se a adoção de estratégias de prevenção e controle da dor lombar e a realização de mais estudos no tema, a fim de aprofundar os fatores associados e estabelecer medidas preventivas eficazes.

Palavras-chave: *Hospitais; Serviço hospitalar de lavanderia; Dor lombar*

ABSTRACT

Introduction: Low back pain represents a public health problem in the working-age population worldwide, including hospital laundry workers. This article evaluates the prevalence of low back pain in laundry workers at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre and its association with sociodemographic, clinical, and occupational data and physical exercises.

Methods: We conducted a cross-sectional study of 99 laundry workers at the Hospital. We applied a research instrument consisting of a questionnaire with sociodemographic, clinical, and occupational questions. We used Pearson's chi-square test and Poisson regression with robust variance for data analysis.

Results: The prevalence of low back pain was 68.69% (95% confidence interval, 59.4%- 78.0%). Among the participants, 12.1% reported previous sick leave due to

low back pain. In the multivariate analysis, being a sewing worker was associated with a higher risk of developing low back pain, whereas keeping two jobs and length of service were not significantly associated with low back pain.

Conclusions: Low back pain was a prevalent complaint among hospital laundry workers, especially in the sewing sector. Keeping two jobs and longer length of service were not associated with low back pain prevalence in the study population. We suggest that strategies to prevent and control low back pain should be adopted and that further studies on the topic should be conducted to better understand the associated factors and to establish effective preventive measures.

Keywords: *Hospitals; Hospital laundry service; Low back pain*

INTRODUÇÃO

A dor lombar é um dos principais motivos de procura de assistência médica nos postos de saúde e a segunda causa de afastamento laboral¹. Refere-se, especificamente, à dor e ao desconforto abaixo da margem costal e acima das pregas glúteas, com ou sem irradiação para as pernas².

Entre as causas de lombalgia ocupacional têm se destacado fatores individuais como gênero, idade, estatura, obesidade, força muscular relacionada às demandas da função, resistência da musculatura da região lombar, tabagismo e fatores organizacionais, como movimentos de elevação vigorosos e pesados, flexão e torção da coluna vertebral, vibração de todo o corpo e atividades fisicamente cansativas³.

Manzini et al., citados por Alnaami et al.⁴, descrevem que a dor lombar é frequentemente observada em indivíduos com ocupações desgastantes. Mundialmente, 37% dos casos de dor lombar estão relacionados a ocupações em que os profissionais estão expostos a vibrações ou trabalham em pé por períodos prolongados, como mineiros, trabalhadores de saúde e motoristas profissionais.

Isso também ocorre nas lavanderias de hospitais, cuja principal função é o processamento da roupa e sua alocação em perfeitas condições de uso, em quantidade adequada às unidades hospitalares⁵. Para o exercício de atividades laborais nesse local, os funcionários exercem esforço físico para pesar, passar, dobrar e transportar roupas, estando expostos ao risco ergonômico⁶. Ademais, estão expostos a riscos biológicos, físicos, químicos e a acidentes no exercício de sua atividade laboral⁶.

A exposição ao risco ergonômico, em particular devido a posturas inadequadas e esforço físico intenso a que os trabalhadores estão expostos, pode afetar a região lombar, ocasionando, conseqüentemente, dor e comprometimento da jornada de trabalho.

Os trabalhadores do Serviço de Processamento de Roupas (SPR) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) têm apresentado queixas de dor lombar nas consultas, o que motivou a realização desta pesquisa. Logo, o presente estudo tem por objetivo avaliar a prevalência da dor lombar nos trabalhadores do SPR do HCPA no período de dezembro de 2019 a março de 2020 e verificar sua

associação a variáveis sociodemográficas, clínicas, ocupacionais e exercícios físicos.

Esta pesquisa não apresenta conflitos de interesse e não permite estabelecer a relação causa-efeito, todavia espera identificar informações referentes à prevalência da lombalgia em trabalhadores de lavanderia hospitalar e os fatores a ela associados.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo de delineamento transversal cuja variável dependente é a dor lombar e cujas variáveis independentes são as variáveis sociodemográficas, clínicas, ocupacionais e a realização de exercícios físicos regulares.

A investigação foi realizada no SPR do HCPA, que engloba os setores de costura, rouparia, área suja e área limpa. A população do estudo foi constituída por todos os trabalhadores do SPR, e a seleção da amostra foi feita por conveniência. O Serviço de Processamento de Roupas contém 114 trabalhadores, sendo 25 na rouparia, 75 na área limpa da lavanderia, 10 na costura e 4 na liderança administrativa. Todos os funcionários do SPR foram convidados a participar da pesquisa. Foram incluídos indivíduos adultos com 18 anos de idade ou mais, que não estavam afastados do trabalho no momento do estudo e que concordaram participar da pesquisa mediante o preenchimento do termo de consentimento informado livre e esclarecido eletrônico.

Como critérios de exclusão foram considerados: ser gestante, ter manifestações sistêmicas de infecção ou ser funcionário utilizando medicação anti-inflamatória e/ou analgésica de maneira contínua. Os questionários foram enviados por e-mail, e a coleta de dados ocorreu de forma faseada, entre dezembro de 2019 e março de 2020.

O questionário elaborado era autoaplicado, trazia informações sobre os objetivos do estudo e investigava características sociodemográficas (como sexo, idade, raça, escolaridade), características ocupacionais (como função, casos de duplo emprego e tempo de serviço), e características comportamentais (relacionadas à prática de exercício físico, por exemplo). Ao fim, o funcionário era questionando sobre a presença ou não de dor lombar e as variáveis relacionadas a essa dor eram investigadas, como tipo de dor,

recorrência, afastamentos pelo Instituto Nacional do Seguro Social (INSS), traumas associados, o fato de acordar com dor e também os fatores aliviadores e agravantes.

A raça dos participantes foi autorrelatada, e foram consideradas, neste estudo, raça branca e não branca (preta, amarela, parda e indígena). A escolaridade foi dividida em dois grupos: menos de 12 anos de escolaridade e mais de 12 anos de escolaridade. O peso e a altura dos trabalhadores foram autodeclarados, e o índice de massa corporal (IMC) foi calculado pelos pesquisadores, o que resultou em três grupos: 20 a 25 (normal), 25 a 30 (sobrepeso) e mais de 30 (obesidade).

O processamento de dados foi realizado no software SPSS, versão 18.0. Realizou-se, inicialmente, a análise descritiva para a caracterização da amostra e da prevalência. Através da abordagem inferencial, avaliou-se a associação das variáveis que constam dos objetivos específicos com o resultado de dor lombar através de testes de hipóteses, como Teste Qui-Quadrado de Pearson ou Teste Exato de Fisher. Por fim, foi feita a Regressão de Poisson com variâncias robustas para analisar a razão de prevalência e avaliar quem tem mais probabilidade de ter dor lombar.

Para avaliar a associação entre as variáveis, considerou-se significância estatística de 5%. O valor $p < 0,10$ foi levado em consideração como critério para seleção de preditores na realização da regressão de Poisson e prevaleceram, no modelo

final, aquelas com valor $p < 0,05$. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo comitê de ética do HCPA com o número 79659317.4.0000.5327.

RESULTADOS

O estudo teve a participação de 99 funcionários do SPR(rouparia, área limpa da lavanderia, costura e liderança administrativa), o que corresponde a 87% do total de funcionários do Serviço. Entre os 99 participantes, 60 eram da área de lavanderia (limpa), 10 do setor costura, 14 eram da rouparia, 10 eram da área administrativa (analistas, supervisores e chefes), e 5 eram camareiras.

A amostra do estudo foi constituída predominantemente por indivíduos do sexo feminino (65,7%). Em relação à idade, 10,1% dos funcionários apresentou-se com menos de 35 anos, 43,4% com idades compreendidas no intervalo de 35 a 50 anos e 46,5% dos funcionários com mais de 50 anos de idade. A maioria dos participantes declarou ser de raça branca (67,3%), ter menos de 50 anos de idade (53,5%) e apresentar o nível de 12 ou mais anos de escolaridade (56,1%), sendo que uma das participantes não respondeu seu grau de escolaridade e raça. Tais estatísticas para as variáveis sociodemográficas são apresentadas na Tabela 1.

A distribuição das variáveis ocupacionais como duplo emprego, tempo de serviço e função estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 1: Estatísticas descritivas para as variáveis sociodemográficas e estilo de vida.

Variável	Referência	N	Percentual
Sexo	Masculino	34	34,30
	Feminino	65	65,70
Faixa etária	Menos de 35	10	10,10
	Entre 35 e 50	43	43,40
	Mais de 50	46	46,50
Raça	Branca	66	67,30
	Não branca	32	32,60
Escolaridade	Menos de 12 anos	43	43,90
	12 anos ou mais	55	56,12
Exercício físico	Não	61	61,60
	Sim	38	38,40

Fonte: autoria própria (2020).

Tabela 2: Estatísticas descritivas para as variáveis ocupacionais.

Variável	Referência	N	Percentual
Duplo emprego	Sim	6	6,10
	Não	93	93,90
Tempo de serviço	Menos de 10 anos	33	33,30
	Entre 10 e 20 anos	36	36,40
	Mais de 20 anos	30	30,30
	Camareira	5	5,10
Função	Costureira	10	10,10
	Lavanderia	60	60,60
	Rouparia	14	14,10
	Chefia	10	10,10

Fonte: autoria própria (2020).

A maior parte dos participantes indicou que não realiza exercícios físicos (61,6%). Entre aqueles que responderam realizar exercícios físicos, os principais tipos mencionados foram caminhadas (41,7%), futebol (16,7%), academia (13,9%) e corrida e alongamentos (11,1%). Em relação a questões de saúde, 43,4% apresentaram sobrepeso e 30,3% revelaram comorbidades, sendo as principais: hipertensão (57,1%), obesidade (17,9%) e diabetes (17,9%).

Dois participantes não responderam o tipo de comorbidade. Nota-se que, quando questionados em relação às comorbidades, embora 17,9% tenham mencionado obesidade, esse dado contradiz o resultado calculado. Transtornos psiquiátricos foram mencionados por 20,2%, como depressão (10,1%), ansiedade (7,1%), transtornos de humor (2%) e outros transtornos psiquiátricos (1%).

Neste estudo, a prevalência de dor lombar relatada pelos trabalhadores do serviço de processamento de roupas foi de 68,7% (IC 95% 59,4; 78,0). Dos 75 profissionais da área limpa, 44 relataram sentir dor, na sua maioria trabalhadores com idade superior a 50 anos. As camareiras têm majoritariamente idades entre 35 e 50 anos, e apenas uma referiu ter dor lombar. Do total, 53,5% afirmaram crises recorrentes. Todas as costureiras relataram a dor, sendo que somente uma declarou ser o primeiro episódio de lombalgia. Metade delas tem mais de 50 anos e 5 fazem exercício físico.

Em relação à dor lombar, 50,7% relataram apresentar dor crônica (com duração superior a 12 semanas), 38,8% relataram dor aguda (com duração inferior a 6 semanas) e 10,4% citaram dor subaguda (com duração de 6 a 12 semanas). A maioria referiu que sentia dor durante três dias ao longo da semana.

Do total da amostra, 12,1% relataram afastamento prévio pelo INSS por dor lombar. Ainda, 4,1% descreveram traumas prévios associados, nomeadamente um caso de trauma e luxação no cóccix (contusão com carrinho de apoio) e dois casos de trauma secundário à queda, com posterior contusão na coluna lombar. Em relação a fatores de alívio da dor lombar, na maioria das vezes (69,8%) a melhora esteve relacionada ao repouso, mas também ao uso de analgésicos (28,6%) e calor local (25,4%).

Em relação aos fatores de piora da dor, questionado a 61 dos 99 funcionários, a alternância de postura foi considerada o principal fator (39,3%), seguida de carregar peso (26,2%) e ficar na posição deitada (24,6%).

A Tabela 3 mostra que a dor lombar foi significativamente maior em indivíduos do sexo feminino (valor-p = ,027), associada à dor crônica, do que em participantes do sexo masculino com a dor aguda. Constatou-se que, no grupo dos 35 a 50 anos, houve associação com a dor lombar subaguda, e nos indivíduos com mais de 50 anos de idade esteve associada à dor lombar crônica (valor-p = 0,002); porém, não foi possível comprovar significância da idade com a dor lombar. Esse fato remete a prováveis processos degenerativos que ocorrem com o avançar da idade, levando ao desgaste das estruturas osteomusculares. A maior escolaridade apresentou associação significativa com a dor lombar (valor-p = 0,003), enquanto que a relação com o tipo de dor não foi identificada. O diagnóstico de transtornos psiquiátricos esteve associado à maior prevalência de dor lombar crônica (valor-p = 0,030).

Tabela 3: Variáveis sociodemográficas, estilo de vida e prevalência de dor lombar e o respectivo valor-p pelo Teste Qui-Quadrado de Pearson.

Variável	Com dor lombar	Sem dor lombar	Valor-p
Sexo			0,027
Masculino	18 (52,90)	16 (47,10)*	
Feminino	50 (76,90)*	15 (23,10)	
Faixa etária			0,470
Menos de 35	8 (80,00)	2 (20,00)	
Entre 35 e 50	31 (72,10)	12 (27,90)	
Mais de 50	29 (63,00)	17 (37,00)	
Raça			0,283
Branca	43 (65,20)	23 (34,80)	
Não branca	25 (78,10)*	7 (21,90)	
Escolaridade			0,003
Menos de 12 anos	22 (51,20)	21 (48,80)*	
12 anos ou mais	45 (81,80)*	10 (18,20)	
Faixa de IMC			0,613
Menos de 25	20 (74,10)	7 (25,90)	
Entre 25 e 30	30 (69,80)	13 (30,20)	
Mais de 30	18 (62,10)	11 (37,90)	
Exercício físico			0,389
Não	40 (65,60)	21 (34,40)	
Sim	28 (73,70)	10 (26,30)	

Fonte: autoria própria (2020).

Nota: * casos de associação significativa com dor lombar.

No que se refere às variáveis ocupacionais, representadas na Tabela 4, observou-se que possuir menos de 10 anos de serviço esteve associado à

dor lombar subaguda. Ademais, possuir entre 10 e 20 anos de trabalho esteve associado à dor crônica (valor-p = 0,001).

Tabela 4: Prevalência de dor lombar nos trabalhadores do SPR conforme as variáveis ocupacionais função, duplo emprego e tempo de serviço no HCPA (2019) e o respectivo valor-p pelo teste Qui-Quadrado de Pearson.

Variável	Com dor lombar	Sem dor lombar	Valor-p
Duplo emprego			1,000
Sim	4 (66,70)	2 (33,30)	
Não	64 (68,80)	29 (31,20)	
Tempo de serviço			0,469
Menos de 10 anos	24 (72,70)	9 (27,30)	
Entre 10 e 20 anos	26 (72,20)	10 (27,80)	
Mais de 20 anos	18 (60,00)	12 (40,00)	
Função			0,009a
Costureira	10 (100,00)*	0,00	
Prof. de lavanderia	44 (73,30)	16 (26,70)	
Prof. de rouparia/camareira	9 (47,40)	10 (52,60)	
Chefia/supervisor/analista	5 (50,00)	5 (50,00)*	

Fonte: autoria própria (2020).

Nota: (a) para esta variável foi utilizado o Teste Exato de Fisher.

* casos de associação significativa com dor lombar.

Os achados segundo a Regressão de Poisson com variâncias robustas, no modelo multivariado

reduzido (somente variáveis significativas) está apresentado na Tabela 5.

Tabela 5: Regressão de Poisson com variâncias robustas – modelo multivariado reduzido (somente variáveis significativas).

Variáveis	N	Razão de prevalência	IC 95%	Valor-p
Função (n = 99)				
Lavanderia	60	1,557	(0,835; 2,903)	0,163
Costureira	10	2,000	(1,080; 3,703)	0,027
Camareira/rouparia	19	1,043	(1,026; 1,585)	0,911
Chefia/analista/supervisor	10	1,000		
Escolaridade (n = 98)				
Mais de 12 anos	55	1,568	(1,162; 2,115)	0,003
Menos de 12 anos	43	1,000		

Fonte: autoria própria (2020).

Quanto à função exercida, pôde-se constatar associação significativa com a dor lombar (valor $p = 0,009$) o exercício de atividade no setor costura, que apresentou maior risco de ter dor lombar crônica. Por outro lado, ser trabalhador do setor administrativo (chefes, analistas e supervisores) esteve associado à prevalência de dor aguda.

DISCUSSÃO

Os trabalhadores do Serviço de Processamento de Roupas do HCPA apresentaram elevada prevalência de dor lombar. A literatura apresenta estudos que trazem, na sua maioria, relatos desse sintoma nessa classe de profissionais, porém poucos versam sobre prevalência e fatores de risco.

A maior parte dos estudos sobre prevalência de dor lombar em profissionais de saúde traz dados relativos a prevalências de dor lombar em enfermeiros, auxiliares de enfermagem e médicos.

Um estudo realizado com médicos que trabalham em um hospital das forças armadas em Tabuk, Arábia Saudita, revelou uma prevalência de dor lombar de 70,5% nos últimos 12 meses⁷. Ribeiro, Meneguci e García-Meneguci⁸ realizaram um estudo de prevalência e fatores associados à dor lombar em profissionais de enfermagem do Hospital Regional Antônio Dias e encontraram uma prevalência de 71,6%.

Monteiro e Alexandre⁹ realizaram um estudo sobre a capacidade laboral e a dor lombar que envolveu trabalhadores de uma instituição pública de saúde. Observaram, através da investigação, que a dor lombar foi relatada por 45,3% dos trabalhadores de lavanderia e por 38,9% dos auxiliares de enfermagem. Tais dados refletem uma prevalência considerável nos profissionais de saúde, que merecem especial atenção.

Nesta investigação, as mulheres representam 65,7% da amostra, demonstrando que, atualmente,

a lavagem de roupas continua sendo fonte de renda para elas, que, para além do emprego formal, muitas vezes realizam trabalhos domésticos com adoção de posturas que podem contribuir para a sobrecarga adicional da região lombar. A literatura mostra que os trabalhadores de lavanderia hospitalar geralmente possuem baixa escolaridade, em contradição com os achados do presente estudo.

Abreu e Ribeiro¹⁰ citam que há uma relação entre a diminuição do nível de escolaridade e a dor lombar crônica, pois indivíduos com baixo nível de escolaridade geralmente exercem profissões menos especializadas, que exigem poucas qualificações e que têm maiores exigências em termos físicos. Silva, Fassa e Valle¹¹ afirmam que a dor lombar crônica aumenta linearmente conforme diminui a escolaridade estes dados também contrastam com os dados da presente pesquisa.

Nesta pesquisa, observou-se que a maior parte da amostra não pratica exercício físico, o que pode estar associado ao esforço físico empreendido no exercício da atividade laboral. Contudo, a realização de exercícios físicos é vantajosa, visto que seus benefícios abrangem a composição corporal, a aptidão cardiorrespiratória e musculoesquelética, proporcionando melhorias em relação à saúde e à qualidade de vida¹². Todas as costureiras do serviço relataram ter dor lombar. Embora existam poucos estudos sobre dor lombar em costureiras, a literatura evidencia prevalência significativa de casos de dor lombar nesse grupo. Silva, Mello e Liberalino¹³, por exemplo, realizaram um estudo sobre a prevalência de lombalgia ocupacional em costureiras da cidade de Toritama e observaram a prevalência da lombalgia em 55,4% da população estudada. No estudo de Mayworm, Pereira e Silva¹⁴, sobre prevalência de lombalgia em costureiras de moda íntima em Nova Friburgo com uma amostra de 200 costureiras

61% tinham dor lombar, das quais 53% tinham idades compreendidas entre 32 e 45 anos. A autora relaciona a dor lombar com o sexo feminino, postura sentada, dupla jornada e a factores psicossociais.

Oliveira, Dal Berto e Macedo¹⁵ estudaram a prevalência de lombalgia em costureiras e correlação com qualidade de vida e incapacidade, no qual entre 26 costureiras participantes do estudo 19 (73,07%) apresentavam dor lombar.

Estes dados refletem que a dor lombar é um problema importante e de grande prevalência em profissionais de costura.

Quanto ao tempo de serviço, embora não tenha se revelado estatisticamente associado à dor lombar neste estudo, pode-se observar funcionários com menos de um ano de serviço acometidos pela dor. Tal situação pode estar relacionada ao fato de não terem muita experiência na função e não terem o domínio das boas posturas a adotar no trabalho que exercem.

Em relação aos dados obtidos, chama a atenção o fato de a maior parte dos funcionários ter um longo tempo de serviço, o que pode estar relacionado à estabilidade no emprego ou ao nível elevado de escolaridade da maioria dos participantes. Pode-se pensar que, com o passar do tempo, os profissionais melhoram sua condição financeira e social individual, tendo a oportunidade de continuar os estudos. Outro fator que pode justificar o número maior de trabalhadores com um nível elevado de escolaridade é a oferta de benefícios concedidos pela instituição, que constituem atrativo tanto para ingressar quanto para permanecer no mesmo emprego. Por fim, destaca-se que o duplo emprego não esteve

associado à dor lombar. Essa falta de associação também foi encontrada no estudo de Monteiro e Alexandre⁹, no qual tampouco houve diferenças na prevalência da doença entre os funcionários que possuíam outro emprego, independentemente do tempo de trabalho semanal.

CONCLUSÃO

Os trabalhadores do Serviço de Processamento de Roupas Hospitalar apresentaram elevada prevalência de dor lombar. Essa prevalência foi ainda maior em trabalhadores do setor de costura, onde todos relataram sintomas principalmente de dor crônica.

O elevado percentual de afastamento pela Previdência Social (12,1%) indica que a dor lombar apresenta importante impacto na capacidade laborativa dessa população.

Este estudo possibilitou observar que trabalhadores de outros setores que compõem serviços de lavanderias hospitalares, como o setor de costura, não podem ser negligenciados e devem ser estudados.

Por fim, os resultados obtidos neste estudo reforçam a importância da adoção de estratégias de prevenção e de mitigação da dor lombar por parte dos empregadores, compreendendo o uso de meios, máquinas, equipamentos de trabalho adequados e melhoria contínua das condições do ambiente laboral e dos processos de trabalho em lavanderias hospitalares.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Joaquim AF. Abordagem inicial do paciente com lombalgia aguda. *Rev Assoc Med Bras*. 2016;62(2):188-91.
2. Van Tulder M, Becker A, Bekkering T, Breen A, Real MTG, Hutchinson A, et al. Chapter 3: European guidelines for the management of acute nonspecific low back pain in primary care. *Eur Spine J*. 2006;15(2):S169-91.
3. Marras WS. Occupational low back disorder causation and control. *Ergonomics*. 2000;43(7):880-902.
4. Alnaami I, Awadalla NJ, Alkhairy M, Alburidy S, Alqarni A, Algarni A, et al. Prevalence and factors associated with low back pain among health care workers in southwestern Saudi Arabia. *BMC Musculoskelet Disord*. 2019;20(1):56.
5. Ministério da Saúde (BR), Secretaria Nacional de Ações Básicas de Saúde, Divisão Nacional de Organização de Serviços de Saúde. *Manual de lavanderia hospitalar*. Brasília: Centro de Documentação do Ministério da Saúde; 1986.
6. Fernandes DMM, Fernandes SB; Ferrazza CAC. Gestão para a segurança e a qualidade de vida no trabalho em uma lavanderia hospitalar. *Rev Adm Saude*. 2013;15(61):141-50.
7. Al-Ruwaili B, Khalil T. Prevalence and associated factors of low back pain among physicians working at King Salman Armed Forces Hospital, Tabuk, Saudi Arabia. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019;7(17):2807-13.
8. Ribeiro CR, Meneguci J, García-Meneguci CA. Prevalência de lombalgia e fatores associados em profissionais de enfermagem. *REFACS*. 2019;7(2):158-66.
9. Monteiro MS, Alexandre NMC. Work ability and low back pain among workers from a public health institution. *Rev Gaucha Enferm*. 2009;30(2):297-302.
10. Abreu ATJB, Ribeiro CAB. Prevalência de lombalgia em trabalhadores submetidos ao programa de Reabilitação Profissional do Instituto Nacional do Seguro Social (INSS), São Luís, MA. *Acta Fisiatrica*. 2010;17(4):148-52.

11. Silva MC, Fassa AG, Valle NCJ. Dor lombar crônica em uma população adulta do Sul do Brasil: prevalência e fatores associados. *Cad Saude Publica*. 2004; 20(2):377-85.
12. Marchand EAA, Siqueira HCH. Aptidão física e a atividade profissional: suas inter-relações com a dor em trabalhadores de uma lavanderia hospitalar e suas repercussões no cuidado. *VITTALLE*. 2006;18(1):57-68.
13. Silva AP, Mello SMB, Liberalino EST. Prevalência da lombalgia ocupacional em costureiras da cidade de Toritama/PE. *Fisioter Bras*. 2018;19(2):156-61.
14. Mayworm SH, Pereira JS, Silva MAG. Prevalência de lombalgia em costureiras de moda íntima em Nova Friburgo-RJ. *Fisioter Bras*. 2008;9(3):205-9.
15. Oliveira MC, Dal Berto V, Macedo CSG. Prevalência de lombalgia em costureiras e correlação com a qualidade de vida e incapacidade. *Arq Cien Saude Unipar*. 2004;8(2):111-5.

Recebido: 22 set, 2020

Aceito: 19 maio, 2021

PRIMARY MALIGNANT NEOPLASMS OF THE CECAL APPENDIX: UNUSUAL FINDINGS IN ACUTE APPENDICITIS

Julia Carolina Barbosa Garcia¹, Fernanda Marcante Carlotto²,
Nathalia Beck Corrêa², Marcos Dal Vesco Neto³, Josiane Borges
Stolfo⁴, Lucas Duda Schmitz⁵, Juarez Antonio Dal Vesco^{2,5},
Jorge Roberto Marcante Carlotto^{1,2,5}

ABSTRACT

Clin Biomed Res. 2021;41(3):232-236

1 Universidade Federal da Fronteira
Sul. Passo Fundo, RS, Brasil.

2 Universidade de Passo Fundo. Passo
Fundo, RS, Brasil.

3 Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
Porto Alegre, RS, Brasil.

4 Instituto de Patologia de Passo
Fundo. Passo Fundo, RS, Brasil.

5 Hospital de Clínicas de Passo Fundo.
Passo Fundo, RS, Brasil.

Corresponding author:

Fernanda Marcante Carlotto
fncarlotto@gmail.com
Universidade de Passo Fundo
Rua Fagundes dos Reis, 466, apto 403
99010-070, Passo Fundo, RS, Brasil.

Introduction: To evaluate the prevalence of appendix neoplasia correlating with patient profile, histological types and frequency.

Methods: Data collection was performed in the Pathology Department of a General Hospital, with the objective of identifying patients diagnosed with malignant cecal appendix tumors by histopathologic study of specimens from acute appendicitis.

Results: The prevalence of malignant primary epithelial neoplasia of the appendix was 1%. Fifty percent of the cases were neuroendocrine tumors, 35% were mucinous, and 15% were adenocarcinomas. The mean age at diagnosis was 41.3 (SD, 20.4) years (range 16-81), with a women/men ratio of 3:1.

Discussion: Appendiceal neoplasms are rare and should be suspected mainly in women over 40 years of age with suggestive symptoms of acute appendicitis. The size, location, extent, margins and presence of mucin are essential findings for the treatment of these patients.

Keywords: *Appendix; Appendiceal neoplasms; Appendectomy; Surgical Pathology; Pseudomyxoma*

INTRODUCTION

Appendectomy is the most commonly performed surgical procedure, due to an estimated lifetime risk of acute appendicitis of 7%¹. Appendicitis is secondary to obstruction of the lumen of the cecal appendix, resulting in mucosal ischemia and bacterial invasion. The most common etiology is obstruction by fecalith², however other events can result in or resemble acute appendicitis³, such as malignant tumors, and therefore a histopathologic study is relevant and mandatory.

The cecal appendix removed from patients with suspected acute appendicitis may appear macroscopically normal, but the histopathological analysis can demonstrate severe underlying diseases that may affect treatment and patient outcome⁴. Unusual diseases were suspected only in 4.7 % of the macroscopic analyses performed by surgeons and pathologists in a study by Alemayehu et al.² including 3,602 patients.

Malignant neoplasms are confirmed by pathologic analysis in less than 3% of all appendectomies due to acute appendicitis⁵. This condition is incidentally recognized during abdominal surgery or by pathologic examination of the resected specimens⁵. Cancer of the appendix can cause appendicitis and organ rupture, which is commonly the first sign of the disease. The incidence of malignancies in the appendix is about 0.12 in 1,000,000 per year⁶. Recently, some studies showed an increased incidence of malignant appendiceal tumors, ranging from 5.9% to 12%⁷, probably due to prior imaging detection⁸.

The incidence of malignant neoplasms in the cecal appendix is higher (10%-29%) in patients whose presentation is a mass described as inflammation or abscess⁷. If a suspected mass is found in the appendix, an intraoperative frozen section should be required, if available⁹.

Primary appendix tumors are divided into 3 major groups: epithelial tumors, mesenchymal tumors, and lymphomas¹⁰. Primary epithelial tumors are subclassified into mucinous tumors, neuroendocrine tumors (NETs), and mixed glandular and endocrine tumors¹¹. Adenocarcinomas are in the category of mucinous tumors but are often considered separately due to characteristics that differ from mucinous neoplasms, both related to further disease course and treatment. Since the histologic types of such tumors predict biologic behavior and a tendency towards specific patterns of dissemination, this classification should be histologically determined⁸.

NETs are seen in 0.3%-0.9% of appendectomy specimens¹²; mucinous neoplasms of the appendix are present in 0.2%-0.3%¹³, and adenocarcinomas in 0.1%-0.22% of all cases of appendicitis¹².

Size, location, extension, and invasion of mesoappendix are important factors in assessing disease recurrence and patient survival rates⁷. The management of such tumors is still controversial and might be related to watchful waiting⁸, appendectomy only^{8,10}, or even right hemicolectomy^{3,13}, with or without adjuvant chemotherapy^{7,13}. Additional procedures such as hysterectomy and bilateral adnexectomy should be considered in selected cases⁸.

This study aimed to evaluate the prevalence of cases of appendix neoplasms in a selected medical department during a pre-established period. Furthermore, we aimed to assess the profile of the patient with acute appendicitis and diagnosis of appendix neoplasm, collecting data on age, sex, ethnicity, identifying histologic types and anatomopathological characteristics, and relating them with pre- and postoperative data.

METHODS

This was a cross-sectional study based on the information available in the database of the Pathology Institute of Passo Fundo, state of Rio Grande do Sul. Anatomopathological specimens removed during appendectomies performed at the local Surgical Department of the Hospital de Clínicas de Passo Fundo between 2007 and 2017 were included in this case series. Considering all appendices removed, cases of appendectomy due to trauma and gynecologic surgeries and fragments removed with colorectal tumors were excluded from the analysis. Reports containing descriptions of metastases, invasive implants, and organ involvement by direct extension

of tumors to other sites were also excluded from the sample. Of the 1,845 cases, 20 had a diagnosis of neoplasia. Data collection included information on sex, age and ethnicity, histologic findings of the tumor as described in the anatomopathological report (histologic type, grade, length and diameter of the lesion in the major axis, location, tumor extent according to the classification of the American College of Pathology, free margins and presence of peritoneal mucin (extra-appendicular) and pre- and postoperative data of patients (concerns at admission, preoperatively suspicion of neoplasia, surgical procedure performed at first attempt, and need for follow-up). The data were recorded in a previously coded file, double checked in Epidata, version 3.1, and analyzed by Pearson's Chi-square test, using PSPP, version 3. The prevalence of malignant epithelial neoplasia was calculated by dividing the number of cases found by the total of appendectomies.

RESULTS

In the present study, the prevalence of primary malignant epithelial neoplasia of the cecal appendix incidentally diagnosed after surgical procedure for acute appendicitis was 1%. NETs were seen in 0.5% of patients who underwent appendectomy, mucinous neoplasms of the cecal appendix were present in 0.4% of the specimens, and adenocarcinomas occurred in 0.16% of the appendectomies.

The mean age at diagnosis of malignant epithelial appendix tumor was 41.3 (SD, 20.4) years (range 16-81), with a prevalence of women over men at a ratio of 3 to 1. In the study sample, 94% of patients were white. At admission, 85% of the patients presented signs and symptoms of acute abdomen or acute appendicitis. All patients underwent surgery. In the sample studied, 62.5% were submitted to laparoscopic surgery while 37.5% of the cases underwent open surgery. After anatomopathologic exam of the specimens, 3 cases were not submitted to any further surgical procedure, 2 with low-grade appendiceal mucinous neoplasia (LAMN) and 1 with low-grade neuroendocrine tumor (carcinoid tumor), since those cases were considered cured and discharged from follow-up. The remaining patients were referred to a Coloproctology Department or a Clinical Oncology Department, either for surgical reintervention or follow-up, respectively.

Half of the sample studied was composed of individuals with NETs. In these patients, the mean age at diagnosis was 25.5 (SD, 6.8) years (range 16-37). The women/men ratio was 4:1. All cases, according to immunohistochemical staining, were well differentiated and of low-degree (carcinoid tumor). All of them were located at the apex of the organ. The mean size 10 mm (SD, 3.7 mm), ranging from

4 to 17 mm on the largest axis). Fifty-six per cent of them were smaller than 10 mm and 44% were 1 to 2 cm ($p = 0.06$). In this sample, 33% of tumors invaded the mucosa muscle layer, in 1 case there was serosa invasion, and in the remaining 44% of cases, invasion reached the mesoappendix. None of the cases had residual tumors.

Of the 3 cases of adenocarcinoma present in the sample, the mean age at diagnosis was 58.66 (SD, 16.93) years, (range 40-81). All cases occurred in women. Only one histologic report referred to the site of the lesion in the apex. In 2 reports that had the measure of the lesion, sizes were 1.8 cm and 3.5 cm, in both cases the tumor

invaded the appendix muscle wall. In all 3 cases, margins were considered free of residual tumor invasion after appendectomy.

Considering the cases of mucinous neoplasia, the mean age at diagnosis was 56.57 (SD, 14.98) years (range 26-72). The women/men ratio was 4:3 (Table 1). There was only 1 case of high-grade appendiceal mucinous neoplasia (HAMN), where extra-appendicular mucin was found in the anatomopathologic analysis of the specimen. This case recurred with metastasis to the ovaries. The other 6 cases were HAMN. Of these, only 1 was positive for the presence of extra-appendicular mucin and later developed pseudomyxoma peritonei (PMP).

Table 1: Characteristics of patients with malignant cecal appendix neoplasm in a general hospital, Passo Fundo, RS, 2007-2017 (n = 20).

Variables	Neuroendocrine tumor (NET) (n = 10)	Mucinous neoplasm (n = 7)	Adenocarcinoma (n = 3)	p
Age at diagnosis (years)				0.38
Rate (SD)	25.5 (6.8)	56.6 (15)	58.7 (16.9)	
Reach	16-37	26-72	40-81	
Sex (%)				0.31
Men	20	42.9	0	
Women	80	57.1	100	

SD: standard deviation.

DISCUSSION

In the present study, the prevalence of malignant epithelial neoplasms incidentally diagnosed in the specimens removed due to acute appendicitis was 1.1%. Another Brazilian study with a similar purpose found a value of 0.8% of cases of malignant cecal appendiceal neoplasms incidentally found in the appendectomies performed between 1994 and 1997 in a regional hospital¹⁴.

NETs accounted for 50% of the cases of neoplasms in the sample studied, 35% of the tumors were mucinous neoplasms and 15% were diagnosed as adenocarcinomas. There was no diagnosis of mixed adenoneuroendocrine tumor. In an analysis of 24,697 patients submitted to appendectomy, of which 171 cases were neoplasms¹⁵, 53% were carcinoid tumors (NET well differentiated and low grade), 35% were mucinous lesions, 9% were diagnosed as primary adenocarcinoma, and the remaining sample was composed of non-epithelial tumors. Another study³ found a prevalence of 87% of well-differentiated and low-grade neuroendocrine tumors, corroborating the higher prevalence of NETs in the remaining sample.

The mean $\pm$ SD age (range) of patients with malignant epithelial appendiceal neoplasms in a study of 1621 patients in a health service with similar population was 49.1 (SD, 16.7) years (21-74) and the ratio between women and men was 7:4⁵.

In this study, the mean $\pm$ SD age was 41.35 (SD, 20.43) years (range 16-81), with 75% of the sample being women and 25% men (women/men ratio of 3:1). However, there are studies showing a slight prevalence of men (59%) over women, although the sample profile was comparable, including age ranging from 19 to 84 years¹.

Malignant cecal appendiceal neoplasms are more prevalent in whites than in other ethnicities^{7,13}. In the present study, 94.4% of the sample (n = 18) was white and only 1 individual was from a different ethnicity. In the studied sample, 85% were admitted to the service due to concerns compatible with acute abdomen or acute appendicitis, where appendicitis as the initial manifestation ranged from 30%⁸ to 50%⁷ of cases incidentally diagnosed in appendectomy specimens, in line with the literature, with values varying according to the histologic type and location. When the tumor was located at the base of the organ, the patient could have signs and symptoms identical to appendicitis as a result of lumen occlusion by the tumor mass⁹. In the study under analysis, all tumors evaluated for location (n = 7) had lesions at the apex of the cecal appendix.

In a study that evaluated the prevalence of NETs in appendectomies¹⁶, 41% of the patients underwent laparoscopic appendectomy while 59% had their appendix removed by open approach. In the present study, 62.5% were submitted to laparoscopic

appendectomy, while 37.5% of cases underwent conventional open surgery.

In another study that evaluated the incidental findings in specimens removed due to acute appendicitis, 61.5% of the patients had their lesions completely resected in the first surgery⁴, with no need for surgical reoperation or further treatment. Therefore, in the analysis of this study, discharge rates after regular appendectomy were around 20%, and the remaining patients underwent some type of follow-up, either referred to a clinical oncologist or submitted to the new surgical resection. Nevertheless, all analyzed samples had negative (free) margins.

In the present study, all NETs were low grade and well differentiated (carcinoid tumor) according to an immunohistochemical study. The mean $\pm$ SD size of the lesion in the largest diameter was 1.02 cm (SD, 0.37) (range 0.4-1.7 cm) and 44.% deeply invaded the mesoappendix. The prevalence was higher in women, who represented 80% of the sample and the mean age at the time of diagnosis was 25.55 (SD, 6.81) years (range 16-37) years. Similar values were described in the study of Charfi et al.¹⁵, in which the mean tumor size was 1.2 cm with values ranging from 0.1 to 3.5 cm. Some reports presented smaller sizes: means of approximately 0.5 cm with values ranging from 0.1 to 2.0 cm^{6,16}. On the other hand, in the study by Emre et al.³, only 18% of the tumors invaded the periappendicular fat tissue.

Moreover, in the context of this study, patients diagnosed with mucinous and adenocarcinoma were older. Those with mucinous had a mean age of 56.7 (SD, 14.9) and patients with adenocarcinoma, 58.6 (SD, 16.9) years. There was a higher prevalence

of women, 57% for mucinous neoplasms and all cases of adenocarcinoma. McCusker et al.⁶, studied 1698 cases of malignant neoplasia of the cecal appendix reported to the United States Surveillance, Epidemiology and Final Results Program (SEER) and found a mean age of 60 years at diagnosis of NET for mucosal neoplasms and 62, for adenocarcinoma. The women-to-men ratio was 2.6 in NETs, in mucous neoplasms the ratio was 1.1, and 60% were men in case of adenocarcinomas. Other authors found a higher prevalence of women in mucinous neoplasms^{11,17} and, according to the World Health Organization¹², men are more commonly affected than women by adenocarcinomas.

Nutu et al.¹⁷ observed an increased risk of ovarian mucinous tumor in patients diagnosed with mucinous neoplasia and the presence of extraperitoneal pseudomyxoma in 22% of the sample. In this study 33% of the mucinous neoplasms presented extra-appendicular mucin, 1 patient had recurrence of the disease in the ovary and another developed pseudomyxoma peritonei – since several cases with this disease result from mucinous neoplasia^{18,19}.

CONCLUSION

Although the clinical findings are consistent with the literature due to a similarity of secondary data, the small sample size, and the study design, none of the results were statistically significant. In addition, the various forms of classification, often confusing, contribute to the small sample size of subgroups and an underestimated risk of having an appendiceal tumor diagnosed from appendicitis cases.

REFERENCES

1. Ma KW, Chia NH, Yeung HW, Cheung MT. If not appendicitis, then what else can it be? A retrospective review of 1492 appendectomies. *Hong Kong Med J*. 2010;16(1):12-7.
2. Alemayehu H, Snyder CL, St Peter SD, Ostlie DJ. Incidence and outcomes of unexpected pathology findings after appendectomy. *J Pediatr Surg*. 2014;49(9):1390-3.
3. Emre A, Akbulut S, Bozdog Z, Yilmaz M, Kanlioz M, Emre R, et al. Routine histopathologic examination of appendectomy specimens: retrospective analysis of 1255 patients. *Int Surg*. 2013;98(4):354-62.
4. Jones AE, Phillips AW, Jarvis JR, Sargen K. The value of routine histopathological examination of appendectomy specimens. *BMC Surg*. 2017;7:17.
5. Yilmaz M, Akbulut S, Kutluturk K, Sahin N, Arabaci E, Ara C, et al. Unusual histopathological findings in appendectomy specimens from patients with suspected acute appendicitis. *World J Gastroenterol*. 2013;19(25):4015-22.
6. McCusker ME, Coté TR, Clegg LX, Sobin LH. Primary malignant neoplasms of the appendix: a population-based study from the surveillance, epidemiology and end-results program, 1973-1998. *Cancer*. 2002;94(12):3307-12.
7. Teixeira FJR Jr, Couto Netto SD, Akaishi EH, Utiyama EM, Menegozzo CAM, Rocha MC. Acute appendicitis, inflammatory appendiceal mass and the risk of a hidden malignant tumor: a systematic review of the literature. *World J Emerg Surg*. 2017;12:12.
8. Leonards LM, Pahwa A, Patel MK, Petersen J, Nguyen MJ, Jude CM. Neoplasms of the appendix: Pictorial review with clinical and pathologic correlation. *Radiographics*. 2017;37(4):1059-83.
9. Ruoff C, Hanna L, Zhi W, Shahzad G, Gotlieb V, Saif MW. Cancers of the appendix: review of the literatures. *ISRN Oncol*. 2011;2011:728579.

10. Tirumani SH, Fraser-Hill M, Auer R, Shabana W, Walsh C, Lee F, et al. Mucinous neoplasms of the appendix: a current comprehensive clinicopathologic and imaging review. *Cancer Imaging*. 2013;13(1):14-25.
11. Gündoğar Ö, Kimiloğlu E, Komut N, Cin M, Bektaş S, Gönüllü D, İlgün AS, et al. Evaluation of appendiceal mucinous neoplasms with a new classification system and literature review. *Turk J Gastroenterol*. 2018;29(5):532-42.
12. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND, editores. *WHO Classification of Tumours of the Digestive System*. 4th ed. Lyon: IARC Press; 2010. (World Health Organization Classification of Tumours; vol. 3).
13. Shaib WL, Assi R, Shamseddine A, Alese OB, Staley C 3rd, Memis B, et al. Appendiceal mucinous neoplasms: diagnosis and management. *Oncologist*. 2017;22(9):1107-16.
14. Mércio AAP, Weindorfer M, Weber AL, Mano AC. [Primary malignant tumours of the appendix]. *Medicina (Ribeirao Preto)*. 1999;32:193-8. Portuguese.
15. Charfi S, Sellami A, Affes A, Yaïch K, Mzali R, Boudawara TS. Histopathological findings in appendectomy specimens: a study of 24,697 cases. *Int J Colorectal Dis*. 2014;29(8):1009-12.
16. Amr B, Froghi F, Edmond M, Haq K, Thengungal Kochupapy RT. Management and outcomes of appendicular neuroendocrine tumours: Retrospective review with 5-year follow-up. *Eur J Surg Oncol*. 2015;41(9):1243-6.
17. Nutu OA, Marcacuzco AA 5th, Manrique Municio A, Justo Alonso I, Calvo Pulido J, García-Conde M, et al. Mucinous appendiceal neoplasms: Incidence, diagnosis and surgical treatment. *Cir Esp*. 2017;95(6):321-7.
18. Valasek MA, Pai RK. An update on the diagnosis, grading, and staging of appendiceal mucinous neoplasms. *Adv Anat Pathol*. 2018;25(1):38-60.
19. Carr NJ. Updates in Appendix Pathology: The Precarious Cutting Edge. *Surg Pathol Clin*. 2020;13(3):469-84.

Received: Dec 20, 2020

Accepted: May 19, 2021

PREVALENCE OF FETAL AND NEONATAL MORTALITY DUE TO CONGENITAL ANOMALIES IN THE STATE OF MARANHÃO, BRAZIL, FROM 2001–2016

Luzivan Costa Reis¹, Wesley Luciano Kaizer², Lavínia Schüler-Faccini^{1,3}

Abstract

Introduction: The infant mortality rate (IMR) is an important health indicator directly associated with living conditions, prenatal care coverage, social development conditions, and parental education, among others. Worldwide, the infant mortality rate was 29/1000 live births in 2017. Therefore, this study aimed to evaluate the fetal and infant mortality rates due to congenital anomalies (CA) in Maranhão from 2001 to 2016.

Methods: Data were obtained from the SINASC, and SIM databases. We used simple linear regression, Poisson distribution, and ANOVA (Bonferroni's post hoc test). We analyzed the public data (2001–2016) of 1934858 births and determined the fetal, neonatal, perinatal, and post-neonatal mortality rates associated with CA by mesoregions.

Results: The IMR in Maranhão was 17.01/1000 live births (95%CI, 13.30-20.72) and CA was the cause of death in 13.3% of these deaths. Mortality due to CA (per 1000 live births) was 0.76 (95%CI, 0.74–0.85) for fetal mortality rate and 2.27 (95%CI, 1.45-3.10) for infant mortality rate. Geographic and temporal variations were observed with a slight increase in recent years for deaths attributable to CA, and in the northern part of Maranhão.

Conclusions: Mortality rates due to CA in Maranhão increased over the period 2001–2016 possibly as a result of improved maternal-infant health conditions eliminating other causes of death. Therefore, efforts to improve early diagnosis and better treatment of congenital anomalies should be considered to reduce its impact on child mortality.

Keywords: *Congenital abnormalities; Infant mortality; Live birth; Perinatal mortality*

Clin Biomed Res. 2021;41(3):1-244

1 Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Programa de Pós-Graduação em Informática, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Instituto Nacional de Genética Médica (INAGEMP), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

Corresponding author:

Luzivan Costa Reis
luzivanreis@gmail.com
Department of Genetics,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)
Av. Bento Gonçalves, 95000
91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

INTRODUCTION

The occurrence and severity of congenital anomalies (CAs) are determined by numerous genetic and environmental factors, often leading to serious disabilities or even death¹. The worldwide infant mortality rate (IMR), or the number of deaths of children under 1 year of age, is an important health indicator directly associated with living conditions, prenatal care coverage, social development conditions, parental education, among others, as well as an indicator of the quality of public health²⁻⁴. Globally, the IMR decreased from 65 deaths per 1000 live births in 1990 to 29 deaths per 1000 live births in 2018³. A study by Victora et al.⁴ showed that, in Brazil, infant mortality decreased from 47 deaths per 1000 live births in 1990 to 27/1000 live births in 2000, and 19/1000 live births in 2007. Ten years later, in 2017, this rate was 12/1000 live births⁵. Comparatively, in the European Region, IMR was only 9/1000 live births⁶. While this decline in Brazil in recent decades is reassuring, there are many regional differences. In 1990 the IMR in the Northeast region of Brazil was 2.6/1000 live births times higher than that in the South, and in 2007 it remained 2.2/1000 live births times higher⁴.

The proportion of CAs associated with infant mortality is also an important health and social indicator^{4,7}. In high-income countries, CAs are now the

leading cause of infant mortality. In most Latin American countries as well as in Brazil, CAs are already the second cause of infant mortality due to improved maternal and child care⁷⁻⁹. In a study with data from the European Surveillance of Congenital Anomalies (EUROCAT), for the period 2005–2009, the IMR due to CA was 1.1/1000 live births in 11 European countries¹⁰. In Brazil, deaths due to CAs were 2.48/1000 live births in 1996 and 2.74/1000 live births in 2008, and the proportion of IMR due to CA was 9.94% in 1996 and 18.22% in 2008¹¹.

Maranhão is one of the poorest states in Brazil with a Human Development Index (HDI) of 0.687 in 2017¹², and there is a shortage of studies on the impact of CA in IMRs in the Northeast region of the country^{13,14}. Therefore, this study aimed to evaluate fetal and infant mortality rates due to CA in Maranhão from 2001 to 2016.

METHODS

This is a population-based ecological time-series analysis of fetal and infant deaths associated to congenital anomalies in the state of Maranhão from 2001 to 2016. Maranhão is located in the Northeast region of Brazil and has a geographical area of 329642170 km² and a population of 7075181 inhabitants¹⁵. The HDI was 0.639 in 2010 and 0.687 in 2017, and the monthly per capita household income in 2018 was US\$ 144 dollars¹². It has 217 municipalities in 5 geographic regions (Center, East, North, West, and South).

Data were obtained using the electronic database of the Department of Informatics of the Brazilian public unified health system (DATASUS)¹⁶. Information on stillbirths and infant deaths were available in the Mortality Information System (SIM—*Sistema de Informação sobre Mortalidade*, in Portuguese) and data on live births were available in the Live Birth Information System (SINASC—*Sistema de Informação sobre Nascidos Vivos*, in Portuguese). All data are public and can be accessed on the DATASUS website¹⁶. We extracted the yearly absolute number of live births, stillbirths and infant deaths, as well as the number of deaths of children under 1 year old with CAs in the period 2001–2016.

CAs are classified according to the 10th revision of the International Classification of Diseases (ICD-10th), grouped into the following categories: Q00–Q01 Anencephaly and Encephalocele; Q02 Microcephaly; Q04–Q07 Other CA of the nervous system; Q10–Q18 CA of the eye, ear, face and neck; Q20–Q28 CA of the circulatory system; Q30–Q34 CA of the respiratory tract; Q35–Q37 Cleft lip and cleft palate; Q38–Q45 Other CA of the digestive tract CA; Q50–Q56 Congenital malformations of genital organs; Q60–Q64 Congenital urinary tract abnormalities; Q65–Q79 CA

and congenital deformities of the musculoskeletal system; Q80–Q89 Other congenital anomalies; Q90–Down syndrome; Q91–Edwards syndrome and Patau syndrome; Q92–Q99 Chromosomal anomalies not elsewhere classified¹⁶.

We calculated the following indicators: (1) infant mortality rate (IMR: number of deaths of children under 1 year of age/total live births); (2) CA mortality rate (number of deaths due to congenital anomalies/number of births); (3) proportion of infant deaths attributable to CA (congenital anomaly mortality rate/IMR); (4) fetal CA rate (number of fetal deaths by CA/total number of stillbirths); (5) early neonatal CA mortality rate (number of deaths by CA from zero to the 6th day of age/number of live births); (6) perinatal CA mortality rate (fetal + early neonatal deaths/total births); (7) late neonatal CA mortality rate (number of deaths due to CA from the 7th to the 27th day of age/number of live births); and (8) post-neonatal CA mortality rate (number of deaths by CA from the 28th to the 364th day of age/number of live births).

Simple linear regression was used to detect annual temporal trends of fetal and infant mortality rates. Rates were the dependent variables (Y) and years the independent variables (X). The centralized variable (X–2008/2009), corresponding to the second semester of 2008 and the first semester of 2009, was selected to avoid autocorrelation between the equation terms. The equation formula was $Y = \beta_0 + \beta_1 (X - 2008/2009)$, where Y = mortality rate, β_0 = average rate for the period; β_1 = annual average rate and X = year. The fit of the model was by the determination coefficient (R^2)—that measures the proportion of variation of the dependent variables¹¹. The ANOVA test was used to compare infant mortality rate (IMR), fetal mortality rate (FMR) percentage and IMR by CA from 2001 to 2016. Bonferroni's post hoc test was applied to analyze specific pairs of samples for stochastic dominance.

The data were organized in Microsoft Excel® 2016 spreadsheets, and spatial and temporal statistical analyses were performed using R studio, version 3.6.0. The confidence intervals of mortality rates were calculated using the Poisson distribution¹⁷, using Epi Info™, version 7.2.3¹⁸, and significance was set at $p < 0.05$.

This investigation does not contain any human or animal studies. The data included here refer to human births identified in the DATASUS system. All human individuals had anonymous records on the website. The Brazilian legislation (Resolution 466/12 of the Brazilian National Health Council) does not require Research Ethics Committee approval for data obtained from freely accessible public databases, such as DATASUS.

RESULTS

From 2001 to 2016, there were 1934858 live births in Maranhão and 25640 stillbirths, and the mean IMR was 2.23/1000 live births. Mortality rates due to CA (per 1000 live births) were: fetal mortality rate of

0.76 (95% confidence interval [CI], 0.74–0.85), early neonatal mortality rate of 1.06 (95%CI, 1.03–1.20), perinatal mortality rate of 1.82 (95%CI, 1.22–1.84), late neonatal mortality rate of 0.33 (95%CI, 0.29–0.73), and post-neonatal mortality rate of 0.87 (95%CI, 0.86–10.2) (Table 1).

Table 1: Fetal, early neonatal, perinatal, late neonatal and post-neonatal mortality rates due to congenital anomalies, in the period 2001–2016 in the state of Maranhão, Brazil (Livebirths = 1934858; Stillbirths = 25640).

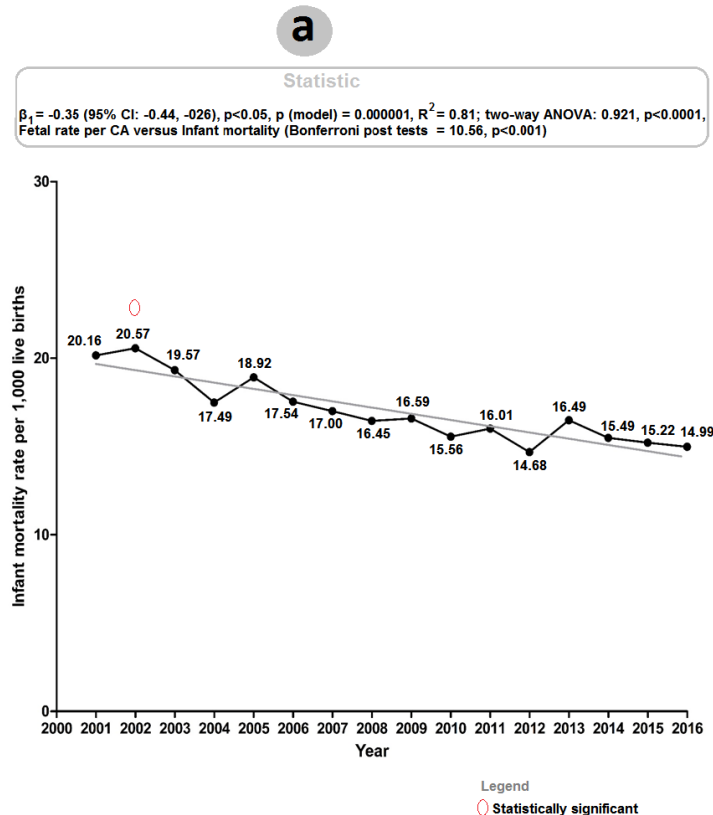
Mortality	Total deaths (N)	CA deaths (N %)	IMR-CA	(95%CI)
Fetal	25640	1462 (5.7%)	0.76	(0.74–0.85)
Early neonatal (0 to 6 days)	17251	2057 (11.9%)	1.06	(1.03–1.20)
Perinatal (fetal + early neonatal)	27391	3519	1.82	(1.22–1.84)
Late neonatal (7 to 27 days)	4126	642 (15.5%)	0.33	(0.29–0.73)
Post-neonatal (28 to 364 days)	11535	1684 (14.6%)	0.87	(0.86–1.02)
Infant (0 to 364 days)	32912	4383 (13.3%)	2.27	(1.45–3.10)
Infant Mortality Rate	17.01 (95%CI, 13.30–20.72)			

Note: CA deaths = Number of deaths with congenital anomalies and % of deaths due to CA;

IMR-CA = Infant Mortality Rate by Congenital Anomalies (per 1000 live births); CI = Confidence Interval.

The overall IMR in Maranhão decreased from 20.16/1000 live births in 2001 to 14.99/1000 live births in 2016, with a mean annual reduction of 0.35 (95% CI, -0.44–0.26, $p < 0.000001$). In contrast, there was an increase in the FMR due to CA in the state during the same period, with a mean annual

increase of 0.01 (95% CI, 0.002–0.017, $p < 0.00933$), as shown in Figure 1a and b. When comparing the FMR due to CA and the general IMR, (ANOVA = 0.921, Bonferroni = 10.66, $p < 0.0001$), there are higher rates in 2002 (general IMR) and 2015 (fetal mortality by CA) (Figure 1a).



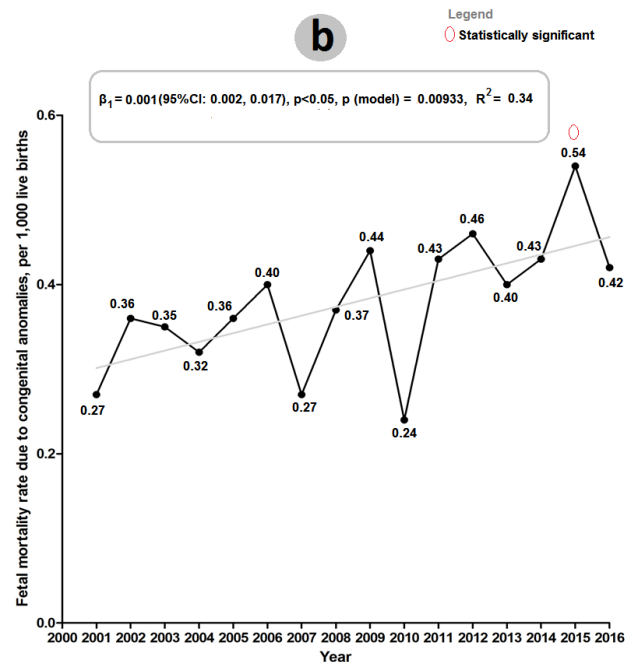
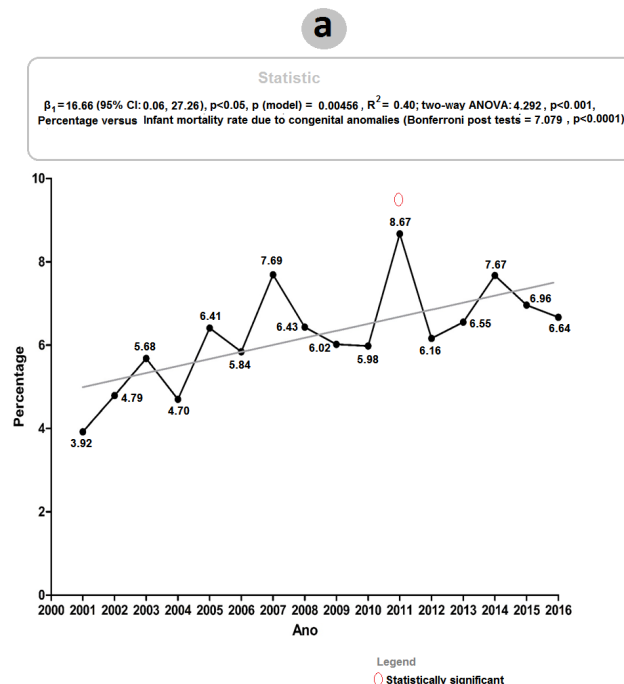


Figure 1: A: Time trend general infant mortality rate; B: Fetal mortality rate due to congenital anomalies, in the period 2001–2016, in the state of Maranhão, Brazil.

There was an increase in infant mortality due to CA from 1.58/1000 live births (2001) to 2.63/1000 live births (2016), with a mean annual increase of 0.07/1000 live births (95% CI, 0.04–0.10, $p < 0.00025$) (Figure 2a). The proportion of infant deaths due to CA increased from 3.92% in 2001 to 6.64% in 2016,

with a mean annual increase of 19.66% (95%CI, 6.06%–27.26%, $p < 0.00456$), as shown in Figure 2b. When comparing the percentage of deaths due to CA and overall IMR by CA, it was found to be statistically significant (ANOVA = 4.292, Bonferroni = 0.079 with higher rates in 2011, $p < 0.0001$) (Figure 2a).



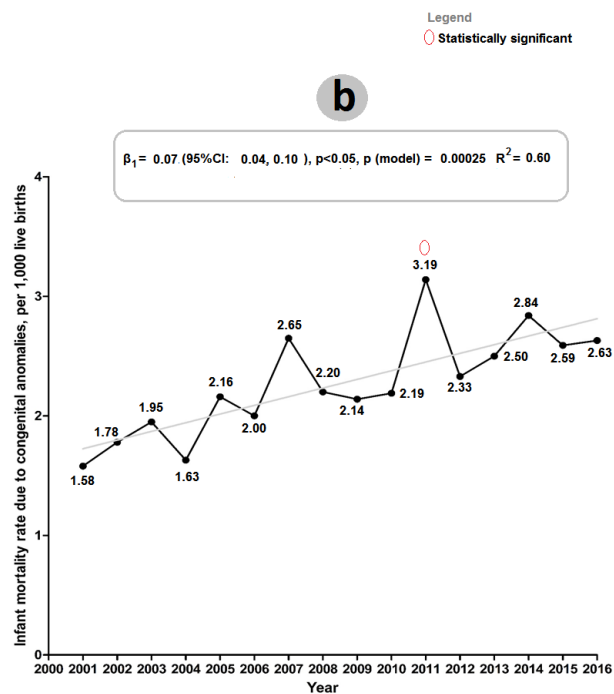


Figure 2: A: Time series of the percentage of deaths due to congenital anomalies; B: Infant mortality rate due to congenital anomalies, in the period 2001–2016, in the state of Maranhão, Brazil.

The spatial distribution of IMR due to CA showed differences across geographic regions: lower (0.88/1000

live births) in the West and higher (1.88/1000 live births) in the North (Figure 3).

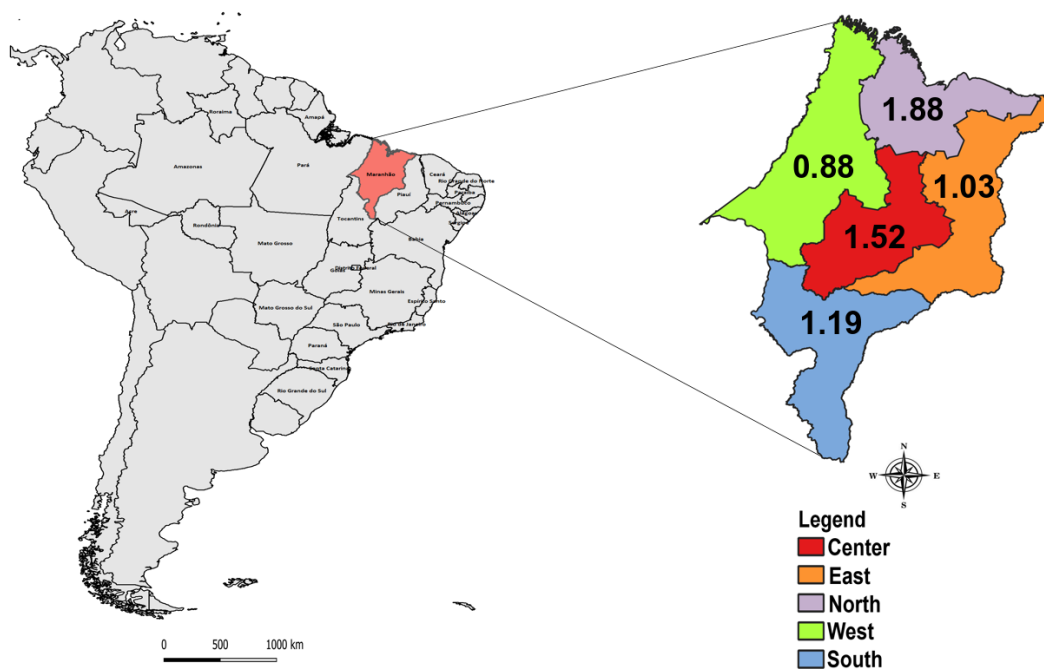


Figure 3: Distribution of infant mortality rates by congenital anomalies in the mesoregions of Maranhão, from 2001–2016.

IMRs by type of CA were analyzed (Table 2), and the highest IMRs were due to congenital heart defects (0.94/1000 live births; 95%CI, 0.48–0.95).

Table 2: Infant mortality rate associated to congenital anomalies in children under 1 year according ICD-10th categories, from 2001–2016, in the state of Maranhão, Brazil.

Congenital anomalies types (ICD-10th)	N	IMR-CA (95%CI)
Q00–Q01 Anencephaly and Encephalocele	328	0.17 (0.15–0.17)
Q02–Microcephaly	31	0.02 (0.00–0.03)
Q03–Congenital Hydrocephalus	184	0.10 (0.09–0.11)
Q04–Q07 Other nervous system CA	279	0.14 (0.12–0.15)
Q10–Q18 CA Eye, Ear, Face and Neck	01	0.00 (0.00–0.00)
Q20–Q28 Congenital circulatory system abnormalities	1827	0.94 (0.48–0.95)
Q30–Q34 Congenital respiratory tract abnormalities	181	0.09 (0.07–0.09)
Q35–Q37 Cleft lip and palate	22	0.01 (0.00–0.02)
Q38–Q45 Other congenital anomalies of digestive tract	321	0.17 (0.15–0.17)
Q50–Q56 Congenital anomalies of genital organs	03	0.00 (0.00–0.00)
Q60–Q64 Congenital urinary tract abnormalities	66	0.03 (0.02–0.04)
Q65–Q79 CA of the musculoskeletal system	350	0.18 (0.17–0.25)
Q80–Q89 Other congenital malformations	672	0.35 (0.26–0.47)
Q90–Down syndrome	74	0.04 (0.03–0.06)
Q91–Edwards syndrome and Patau syndrome	32	0.02 (0.00–0.03)
Q92–Q99 Chromosomal anomalies, not elsewhere classified	12	0.01 (0.00–0.02)

Note: ICD-10th = International Classification of Diseases; N = Number of deaths in children under 1 year; IMR-CA = Infant Mortality Rate by Congenital Anomalies (per 1000 live births).

DISCUSSION

This study described the spatial and temporal IMR due to CA in the state of Maranhão. Despite the steady decline in IMR in Brazil as a whole, there are different levels of decline in rates across the country and among the population groups within Brazilian states. A reduction from 24.47/1000 live births to 15.03/1000 live births in IMR was observed in an ecological study from 1996 to 2008 conducted in Brazil¹¹. Comparatively, in our study in Maranhão, in 2001, overall IMR was 20.16/1000 live births,

and in 2006, 14.99/1000 live births. Another study identified the largest declines in overall IMR in the Southeast and South regions of the country⁴.

Mortality due to CA was already the first among the causes of death in almost all Brazilian states throughout the second decade of the 21st century¹⁹. In the present study, we observed that the IMR from CAs in the state of Maranhão increased in the period 2001–2016, which can be attributed to 3 situations: (1) improved infant mortality records; (2) national and local health policies aimed at reducing infant mortality²⁰; and (3) the outbreak of Zika Virus associated congenital microcephaly, which occurred mainly in the Northeast of Brazil²¹. In addition to mortality related to brain damage secondary to prenatal Zika infection, the outbreak likely caused more reporting and surveillance in both births and the number of deaths from CA and others causes. Between 2000 and 2015, an annual average of 164 cases of microcephaly were registered²¹, and 71% (n = 1142 cases) of live births were to mothers in the Northeast. The incidence of microcephaly in Maranhão was 8.23/10000 live births²¹.

According to the United Nations Inter-agency Group for Child Mortality Estimation (UNIGME), infant mortality rates dropped from 46/1000 live births to 16/1000 live births between 1990 and 2015 in Latin America and the Caribbean, consequently the proportion of infant deaths secondary to CA is expected to have increased²², as observed in our study. Like our results, Bronberg et al. observed an increase in the IMR due to CA in Maranhão, between the 2001–2005 and 2006–2010 periods⁷.

In the city of Recife, in the northeastern state of Pernambuco, a study in 2004 and 2005 found that the perinatal mortality rate due to CA was 59.4/1000 live births with higher rates for perinatal and early neonatal mortality²³. Arruda et al., also in Pernambuco, found higher mortality rates due to CAs in the perinatal and early neonatal periods from 1993 to 2003²⁰. Another study conducted in Brazil in 2011–2012 observed the highest neonatal mortality rates from CAs in the South and Southeast of the country²⁴.

The different mortality rates for CAs in the spatial distribution of regions in Maranhão can be explained by the socioeconomic conditions. From a national perspective, Maranhão has one of the lowest HDIs in Brazil and ranks first in the lowest per capita household income in the Northeast Region²⁵. Historically, Brazil presents significant socioeconomic inequalities in relation to income distribution. In this sense, the regions of Maranhão are not very different from the national reality. Accordingly, the lowest infant mortality rates due to CAs are evident in the west, east, and south (mainly) of Maranhão, probably because these areas concentrate more economic activities, mostly by migrants from the South and Southeast of Brazil²⁶.

In South America, a study of five Argentinian regions from 2002 to 2006 observed an association between mortality rates due to CAs and socioeconomic and demographic characteristics, which are factors that indicate a country's regional development²⁷.

In another study in Maranhão, Cacau et al. detected that 10.5% of the primary causes of mortality were due to CAs¹⁴. In addition, a further study observed that prematurity, regional inequalities, inadequate maternal care during pregnancy, infectious diseases (e.g., congenital syphilis, congenital rubella, and cytomegalovirus), labor complications, and alcohol use during pregnancy are factors that increase infant mortality rates²⁸⁻³¹. In this perspective, high infant mortality rates reflect the poor health conditions of the population²⁸. Mazzu-Nascimento et al. reported the following data in Brazil: fetal deaths (annual mean of 1530), infant hospitalizations (annual mean of 82452), deaths of hospitalized infants (annual mean of 2175), and the mean cost of hospitalizations by CAs (annual cost of \$ 7758) between 2008 and 2014³¹.

Recently, Reis et al. concluded that estimates of the incidence of infant mortality rate due to CAs and of rates of CA at birth using time and spatial series can help the specialized team to identify local causes, appropriate conditions for interventions, as well as the cost-benefits of the interventions³⁰. In this sense, IMR due to CA and the rates for live births with CAs impact quality of life and increase the costs of specialized care for those affected and their families³¹.

In another study in the Northeast, weaknesses were identified in the operation of the SIM—it signaled for possible changes in the work process at the local level (e.g. more partnerships with other sources of information)³². However, Figueiroa et al. already observed an increase in over 90% of the SIM coverage^{32,33}. For this reason, the information in the

studies by Figueroa et al.^{32,33}, partially explains the results observed in Figures 1 and 2 of this study.

In other Brazilian studies, malformations of the nervous system had the highest proportions in causes of general IMR^{20,23}. A study in Colombia reported that circulatory system (cardiac) CAs had the highest proportions (32.0%) in infant deaths, followed by nervous system CAs (15.8%) and chromosomal abnormalities³⁴. These differences might be explained by the fact that cardiac anomalies might be more variable reported due to difficulties in its diagnosis at birth.

Limitations of this study

The main limitation found in our retrospective study was that this research was based on public data from DATASUS, SINASC, and SIM databases. For this reason, the IMRs due to CA may be underestimated due to underreporting. Moreover, CAs were present only in groups at DATASUS, so it was not possible to study individualized ICD-10th codes. Outside the limitations, the research had some strengths, e.g., we obtained a significant number of cases, in addition to investigating mortality over a long series of time.

CONCLUSION

In conclusion, mortality rates due to CAs in Maranhão increased over the period 2001–2016 possibly as a result of improved maternal-infant health conditions eliminating other causes of death. Therefore, efforts to improve early diagnosis and better treatment of congenital anomalies should be considered to reduce its impact on child mortality.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interests.

REFERENCES

1. Moorthie S, Blencowe H, Darlison MW, Lawn JE, Mastroiacovo P, Morris JK, et al. An overview of concepts and approaches used in estimating the burden of congenital disorders globally. *J Community Genet*. 2018;9:347-62.
2. Secretaria de Vigilância Sanitária (BR), Departamento de Análise da Situação de Saúde. Saúde Brasil 2004: uma análise da situação de saúde [Internet]. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2004 [cited 2019 Sep 5]. Available at: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude_brasil_2014_analise_situacao.pdf
3. World Health Organization. The Global Health Observatory [Internet]. Geneva: WHO; 2021 [cited 2021 Feb 4]. Available at: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/indicator-groups/indicator-group-details/GHO/infant-mortality>
4. Victora CG, Aquino EM, Leal MC, Monteiro CA, Barros FC, Szwarcwald CL. Maternal and child health in Brazil: progress and challenges. *Lancet*. 2011;377(9780):1863-76.
5. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades e Estados. Mortalidade Infantil. 2020 [Internet]. Rio de Janeiro: IBGE; 2020. [cited 2020 Dec 15]. Available at: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados.html?view=municipio>
6. World Health Organization. Global Health Observatory Data: Infant mortality: Situation and trends [Internet]. Geneva: WHO; 2020 [cited 2020 Dec 18]. Available at: https://www.who.int/gho/child_health/mortality/neonatal_infant_text/en/
7. Bronberg R, Schuler-Faccini L, Virginia R, Alfaro E, Dipierri J. Spatial and temporal analysis of infant mortality from congenital malformations in Brazil (1996–2010). *J Community Genet*. 2014;5(3):269-82.
8. Passos-Bueno MR, Bertola D, Horovitz DDG, de Faria Ferraz VE, Brito LA. Genetics and genomics in Brazil: a promising future. *Mol Genet Genomic Med*. 2014;2(4):280-91.

9. Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise de Situação de Saúde. Mortalidade infantil no Brasil: tendências, componentes e causas de morte no período de 2000 a 2010. In: Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise de Situação de Saúde. Saúde Brasil 2011: uma análise da situação de saúde e a vigilância da saúde da mulher [Internet]. Brasília: MS; 2012 [cited 2020 Dec 20]. p. 163-82. Available at: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude_brasil_2011.pdf.
10. Boyle B, Addor MC, Arriola L, Barisic I, Bianchi F, Csáky-Szunyogh M, et al. Estimating Global Burden of Disease due to congenital anomaly: an analysis of European data. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*. 2018;103(1):F22-8.
11. Siedersberger-Neto P, Zhang L, Nicoletti D, Barth FM. Infant mortality by congenital malformations in Brazil, 1996-2008. *Rev AMRIGS*. 2012;56(2):129-32.
12. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Panorama das cidades do Brasil [Internet]. Brasília: IBGE; 2018 [cited 2018 Sep 28]. Available at: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ma/panorama>
13. Rodrigues LS, Lima RHS, Costa LC, Batista RFL. Characteristics of children born with congenital malformations in São Luís, Maranhão, Brazil, 2002–2011. *Epidemiol Serv Saude*. 2014;23(2):295-304.
14. Cacao MP, Rodrigues LS, Rêgo AS, Costa LC, da Silva RNV, Sousa ACV, et al. Mortalidade em crianças menores de 10 anos no Maranhão. *Rev Pesq Saude*. 2015;16(3):166-9.
15. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Populacional 2010. Rio de Janeiro: IBGE; 2010 [cited 2019 Sep 28]. Available in: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao.html>
16. Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (BR). Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos [Internet]. Brasília: DATASUS; 2019 [cited 2019 Sep 10]. Available at: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0205&id=6936>
17. Bégaud B, Martin K, Abouelfath A, Tubert-Bitter P, Moore N, Moride Y. Any easy-to-use method for approximate Poisson confidence limits. *Eur J Epidemiol*. 2005;20:213-6.
18. Centers for Disease Control and Prevention (USA). World Birth Defects Day [Internet]. Washington, DC: CDC; 2019 [cited 2019 Feb 27]. Available at: <https://www.cdc.gov/ncbddd/birthdefects/features/birth-defects-day.html>
19. França EB, Lansky S, Rego MAS, Malta DC, França JS, Teixeira R, et al. Leading causes of child mortality in Brazil, in 1990 and 2015: estimates from the Global Burden of Disease study. *Rev Bras Epidemiol*. 2017;20(Suppl 1):46-60.
20. Arruda TAM, Amorim MMR, Souza ASR. Mortality caused by congenital anomalies in Pernambuco, Brazil from 1993 to 2003. *Rev Assoc Med Bras*. 2008;54(2):122-6.
21. Marinho F, Araújo VEM, Porto DL, Ferreira HL, Coelho MRS, Lecca RCR, et al. Microcefalia no Brasil: prevalência e caracterização dos casos a partir do Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos (SINASC), 2000-2015. *Epidemiol Serv Saude*. 2016;25(4):701-12.
22. United Nations Inter-Agency Group for Child Mortality Estimation. Levels & Trends in Child Mortality: report 2015 [Internet]. New York: UNICEF; 2015 [cited 2019 Sep 22]. Available at: <http://www.unicef.org/publications/files/ChildMortalityReport2015Web8Sept15.pdf>
23. Amorim MR, Vilela PC, Santos ARVD, Lima ALMV, Melo EFP, Menezes-Filho PFB, et al. Impacto das malformações congênitas na mortalidade perinatal e neonatal em uma maternidade-escola do Recife. *Rev Bras Saude Mater Infant*. 2006;6(Suppl. 1):s19-s25.
24. Lansky S, Friche AAL, Silva AAM, Campos D, Bittencourt SDA, Carvalho ML, et al. Pesquisa Nascer no Brasil: perfil da mortalidade neonatal e avaliação da assistência à gestante e ao recém-nascido. *Cad Saude Publica*. 2014;30(Suppl. 1):S192-207.
25. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Mapeamento de Unidades Territoriais: área territorial oficial [Internet]. Rio de Janeiro: IBGE; 2019 [cited 2019 Jul 22]. Available at: <http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/areaterritorial/resolucao.shtm>
26. Bueno M. Os desafios do Maranhão: Prosperidade no Cerrado. *Rev Agroneg FGV*. 2001;(1):1-8.
27. Bronberg R, Redomero Gutiérrez E, Alonso M, Dipierri J. Infant mortality due to congenital malformations and socioeconomic status: the case of Argentina. *Rev Panam Salud Publica*. 2012;31(6):469-75.
28. Martins PCR, Pontes ERJC. Mortalidade infantil por causas evitáveis em municípios de fronteira e não fronteira. *Cad Saude Colet*. 2020;28(2):201-10.
29. Teixeira JJMB, Santos DR, Rocha MSFM, Silva SCR. Aspectos étnicos da mortalidade infantil: uma contribuição para a vigilância de óbitos na população indígena e não indígena no Pará. *Para Res Med J*. 2019;3(2):e14.
30. Reis LC, Kaizer WL, Boquett JA. Geographic distribution of live births and infant mortality from congenital anomalies in Brazil, 2012–2017. *J Community Genet*. 2021;12:377-86.
31. Mazzu-Nascimento T, Melo DG, Morbioli GG, Carrilho E, Vianna FSL, Silva AA, Schuler-Faccini L. Teratogens: a public health issue: a Brazilian overview. *Genet Mol Biol*. 2017;40(2):387–97.
32. Figueiroa BQ, Vanderlei LCM, Frias PG, Carvalho PI, Szwarcwald CL. Análise da cobertura do Sistema de Informações sobre Mortalidade em Olinda, Pernambuco, Brasil. *Cad Saude Publica*. 2013;29(3):475-84.
33. Figueiroa BQ, Frias PG, Vanderlei LCM, Vidal SA, Carvalho CCB, Barreto IC, et al. Avaliação da implantação do Sistema de Informações sobre Mortalidade no estado de Pernambuco em 2012. *Epidemiol Serv Saude*. 2019;28(1):e2018384.
34. Roncancio CP, Misnaza SP, Peña IC, Prieto FE, Cannon MJ, Valencia D. Trends and characteristics of fetal and neonatal mortality due to congenital anomalies, Colombia 1999-2008. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2017;31(13):1748-55.

Received: Feb 04, 2021

Accepted: Jul 07, 2021

DOPAMINA E COMPORTAMENTO ALIMENTAR: POLIMORFISMOS EM RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS E FENÓTIPOS RELACIONADOS À OBESIDADE

DOPAMINE AND EATING BEHAVIOR: DOPAMINERGIC RECEPTOR POLYMORPHISMS AND OBESITY- RELATED PHENOTYPES

Gabriela Kaufmann¹, Fabiane Dresch², Stephanie Cristine Hepp
Rehfeldt², Júlia Pasqualini Genro¹, Verônica Contini²

RESUMO

Dentre os sistemas neurais responsáveis pela ingestão dos alimentos, destaca-se a via dopaminérgica mesolímbica que, através da liberação de dopamina nos núcleos de *accumbens*, desperta prazer e motivação para recompensas químicas e naturais. Esta via de recompensa age através dos receptores dopaminérgicos transmembranares, que variam de DRD1 a DRD5. Desta forma, considerando os efeitos prazerosos despertados pela ingestão alimentar, é plausível que variações genéticas em genes do sistema dopaminérgico possam ter um papel na arquitetura genética da obesidade. Este estudo tem como objetivo realizar uma revisão narrativa da literatura sobre a influência de variantes genéticas nos receptores dopaminérgicos em fenótipos relacionados com a obesidade. Em conjunto, os principais achados desta revisão indicaram que os genes codificadores dos receptores DRD2 e DRD4 possam ser os mais relevantes no contexto da obesidade e fenótipos relacionados. No entanto, a obesidade é uma doença complexa e multifatorial e novos estudos são ainda necessários para uma melhor compreensão do impacto da dopamina nos desfechos relacionado à obesidade. É importante também destacar que esses efeitos podem ser específicos para subgrupos de pacientes e que outros fatores, além das variantes genéticas, devem ser considerados.

Palavras-chave: *Obesidade; Polimorfismo; Comportamento alimentar; Receptores dopaminérgicos*

ABSTRACT

Among the neural systems responsible for food ingestion, the mesolimbic dopaminergic pathway stands out by eliciting pleasure and motivation for chemical and natural rewards through the release of dopamine in the nucleus accumbens. This reward pathway is regulated by transmembrane dopaminergic receptors, which range from DRD1 to DRD5. Thus, considering the pleasurable effects aroused by food intake, it is plausible that genetic variations in genes of the dopaminergic system may have a role in the genetic architecture of obesity. This study aims to conduct a narrative review of the literature on the influence of genetic variants of dopaminergic receptors on obesity-related phenotypes. Taken together, the main findings of this review indicated that the genes encoding the DRD2 and DRD4 receptors may be the most relevant in the context of obesity and related phenotypes. However, obesity is a complex and multifactorial disease and new studies are still being conducted to better understand the impact of dopamine on obesity-related outcomes. It is also important to note that these effects can be specific to subgroups of patients and that other factors, in addition to genetic variants, must be considered.

Keywords: *Obesity; Polymorphism; Feeding behavior; Dopaminergic receptors*

Clin Biomed Res. 2021;41(3):245-253

1 Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia, Universidade Federal de
Ciências da Saúde de Porto Alegre.
Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia, Universidade do Vale do
Taquari (Univates). Lajeado, RS, Brasil.

Autor correspondente:

Verônica Contini
veronica.contini@univates.br
Universidade do Vale do
Taquari (Univates)
Rua Avelino Talini, 171
95914-014, Lajeado, RS, Brasil.

INTRODUÇÃO

A prevalência da obesidade vem aumentando ao longo dos últimos anos e estimativas apontam que, até 2030, 38% da população adulta do mundo esteja acima do peso e outros 20% sejam obesos, o que resulta em um grande impacto socioeconômico, visto que esta patologia é considerada um potente fator para o desenvolvimento de várias doenças, principalmente doenças cardiovasculares, diabetes e câncer¹.

Do ponto de vista etiológico, a obesidade é caracterizada como uma doença multifatorial e, clinicamente, é definida como um valor de índice de massa corporal (IMC) acima de 30 kg/m². Esta condição é impulsionada por um aumento exagerado do consumo de alimentos hipercalóricos, combinado com hábitos sedentários, o que acarreta um desequilíbrio energético, desencadeando um acúmulo exagerado de lipídeos no interior de adipócitos².

Devido a sua etiologia complexa, tem sido observada uma variabilidade significativa na susceptibilidade à obesidade entre os indivíduos expostos aos mesmos fatores ambientais. Esta observação sugere que as diferenças genéticas possuem um papel significativo na variação individual observada no peso corporal e, desta forma, as primeiras estratégias para investigar o papel da genética na obesidade consistiram em estudos genéticos clássicos, com famílias, gêmeos e adotados. Os estudos com gêmeos estimam que a herdabilidade deste fenótipo varie entre 40% e 70%³. Posteriormente, diversas abordagens foram utilizadas objetivando a identificação dos genes envolvidos, dentre elas, estudos de genes candidatos, estudos de ligação e estudos de varredura genômica (GWAS).

Diversas varreduras genômicas já identificaram mais de 300 *loci* relacionados com a obesidade. Além disso, concluíram que determinados polimorfismos em genes expressos no hipotálamo possuem relação direta com a regulação da massa corporal, o que não é surpreendente, uma vez que a ingestão de alimentos e o gasto energético são fortemente controlados pelo sistema nervoso central (SNC)⁴⁻⁶.

Os modelos que explicam o controle do SNC sobre a ingestão alimentar propõem dois mecanismos: a) mecanismos homeostáticos e b) mecanismos hedônicos. O sistema homeostático consiste na regulação da homeostasia energética por meio de uma complexa interação entre reguladores hormonais periféricos, como a leptina, grelina e insulina, por exemplo, e neuropeptídeos anorexígenos⁷. Esse sistema atua, principalmente, no núcleo arqueado, estimulando ou inibindo o apetite, de forma a manter um balanço energético adequado e assegurando que a quantidade consumida em uma única refeição não exceda o que o corpo pode suportar com segurança⁸. Por outro lado, o sistema hedônico pode ser entendido

como um sistema de recompensa cerebral que medeia as recompensas naturais e não naturais. Consiste em mecanismos moleculares e celulares envolvendo diversos mensageiros químicos como a serotonina, o ácido γ -aminobutírico, o glutamato, a acetilcolina, entre outros, que atuam em conjunto para estimular a liberação de dopamina (DA) no núcleo accumbens (NAc) e, conseqüentemente, desencadear uma sensação de prazer^{9,10}.

Por meio de ligação da DA com seus respectivos receptores, os impulsos naturais – como a alimentação e a reprodução – ou não naturais – como drogas, jogos de azar ou comportamentos de risco – são responsáveis por desencadear uma forte resposta hedônica (sensação de satisfação e prazer) que, em certos indivíduos, pode sobrepor os estímulos homeostáticos e desencadear fenótipos psicossomáticos característicos, como a obesidade¹¹. Sendo assim, esta relação da DA com a saciedade, mediada pelo prazer, pode ter um papel importante na arquitetura genética da obesidade e, conseqüentemente, no comportamento alimentar e na suscetibilidade individual ao ganho de peso. Desta forma, diante do contexto exposto acima, o objetivo do presente trabalho é revisar os achados da literatura sobre a influência de variantes genéticas nos receptores dopaminérgicos em fenótipos relacionados com a obesidade.

DOPAMINA E O SISTEMA DE RECOMPENSA

A DA é a catecolamina predominante no cérebro e é sintetizada por neurônios mesencefálicos na substância nigra (SN) e na área tegmental ventral. A principal via dopaminérgica, chamada de mesolímbica, impulsiona comportamentos gratificantes, como a alimentação, ao ativarem o sistema de recompensa cerebral. A cascata da recompensa cerebral, desencadeada pela alimentação, depende da efetiva interrelação da via dopaminérgica com as vias serotoninérgica, endorfinérgica e GABAérgica^{12,13}.

O SNC dispõe de mecanismos intrínsecos que mantêm esse sistema equilibrado, evitando que o sistema de recompensa se sobreponha aos sinais homeostáticos e, assim, promova o aumento de peso¹⁴. Geralmente drogas, como o álcool, os psicoestimulantes, e opiáceos, e comportamentos de risco, como comer excessivamente ou a prática constante de jogos de azar, desencadeiam uma liberação de DA na região mesolímbica e, por meio de comportamentos compensatórios, suprem a hipofunção dopaminérgica, levando a uma rápida sensação de bem-estar e tornando-se potentes reforçadores de prazer^{15,16}.

A recompensa alimentar pode ser dividida em 3 componentes principais: a) motivação de incentivo (*wanting*), a qual refere-se a processos que facilitam a antecipação de recompensa ou de aproximação

a comportamentos em direção às metas biologicamente relevantes, incluindo avaliação de recompensa, vontade realizar esforços para obter recompensas, previsão de recompensa e recompensa baseada em tomada de decisão; b) componente hedônica (*liking*), que, nesse caso, é o próprio comportamento alimentar e todos os processos relacionados e; c) aprendizagem (*learning*), que permite fazer associações e previsões a partir de experiências prévias e orientar comportamentos futuros. É importante notar que esses fenômenos podem ser aplicados tanto a recompensas naturais, como alimentos, quanto a reforços artificiais, como drogas. Nesse sentido, verificou-se que indivíduos com excesso de peso têm um aumento do *wanting* e da ingestão energética na ausência de fome e, também, uma diminuição do *liking* após as refeições. Isso sugere que indivíduos obesos possuem uma dificuldade na obtenção de recompensa, o que os leva a uma procura excessiva pela recompensa alimentar^{17,18}.

Estudos de neuroimagem sugerem que indivíduos obesos apresentam uma disponibilidade de receptores da DA inferior à de indivíduos eutróficos, bem como uma menor ativação da DA na região estriada, em resposta à ingestão de alimentos de elevada palatibilidade^{19,20}. Um estudo, realizado a partir de imagens obtidas por tomografiapor emissão de pósitrons (PET), demonstrou que indivíduos obesos possuem alterações nos receptores dopaminérgicos que levam à hiperfagia e, conseqüentemente, à obesidade²¹. Já um estudo com imagens obtidas por ressonância funcional magnética demonstrou que indivíduos obesos apresentam maior ativação dopaminérgica em resposta a imagens de alimentos, comparativamente a controles eutróficos²². Estes dados sugerem que na obesidade há uma dificuldade na obtenção da recompensa, através da ingestão, e uma maior sensibilidade aos estímulos de alimentos. De fato, outro estudo, que avaliou mulheres que aumentaram de peso em um período de seis meses, demonstrou uma redução na resposta dopaminérgica, em resposta à ingestão de alimentos de elevada palatibilidade, nessas mulheres, em comparação com mulheres com um peso mais estável²³.

Existem ainda evidências de que a ingestão de alimentos de elevada palatibilidade leva a uma atenuação na sinalização da DA. Em animais, como ratos e primatas, a ingestão frequente de alimentos ricos em açúcar e em gordura parece levar a uma diminuição de receptores dopaminérgicos pós-sinápticos, e diminuição da sua sensibilidade bem como da sensibilidade à recompensa, além de promover neuroplasticidade, alterações epigenéticas, perturbações no desenvolvimento do metabolismo dopaminérgico estriatal e maior dificuldade em controlar a ingestão de alimentos energeticamente densos, além de outras mudanças no padrão de interação social intraespecífica^{24,25}.

Entretanto, os indivíduos apresentam uma ampla variação em relação a comportamentos compulsivos, ansiosos ou aditivos. Nesse sentido, visto que os mecanismos envolvendo a sinalização dopaminérgica são mediados pelos receptores de dopamina e, estes, codificados por genes específicos, polimorfismos nestes genes podem perturbar os eventos neuroquímicos de sinalização neuronal da DA. A partir disso, Blum et al.²⁶ propuseram que alguns indivíduos apresentam características genéticas específicas que predispõem a uma hipofunção dopaminérgica na região mesolímbica e caracterizaram esse fenômeno como síndrome de deficiência de recompensa (RDS).

A RDS refere-se a uma insuficiência de sentimentos habituais de satisfação, causados por uma disfunção na cascata de recompensa cerebral, envolvendo principalmente neurotransmissores dopaminérgicos e opióides. Blum et al.²⁷ ligaram esta disfunção a um padrão genético específico e, a partir de um estudo desenvolvido com 55 indivíduos de duas famílias distintas, em 2011, sugeriu-se que polimorfismos em genes que codificam receptores dopaminérgicos desempenham um papel fundamental no desenvolvimento da RDS. Ou seja, a RDS pode ser entendida como o ponto de ligação entre o comportamento impulsivo de busca pela recompensa e as características genéticas e epigenéticas responsáveis pelas alterações no sistema dopaminérgico.

RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS

Amplamente distribuídos pelo SNC, os receptores de DA (DARs) pertencem ao grupo de receptores acoplados à proteína G. Em mamíferos, existem cinco subtipos de DARs, divididos em duas famílias de acordo com a sua estrutura e resposta biológica. Na família de receptores D1-like incluem-se os DARs D1 e D5, enquanto os DARs da família D2-like consistem no D2, D3 e D4^{28,29}.

Os DARs D1-like são acoplados positivamente a adenil-ciclase e induzem a acumulação de monofosfato de adenosina cíclica (AMPc) intracelular e a ativação da proteínaquinase A (PKA). Esta família de receptores é amplamente expressa no cérebro, sendo que a maior parte se encontra no núcleo estriado, putâmen, NAc e SN. Além disso, desempenham um papel importante na atividade motora, sistemas de recompensa, aprendizado e memória³⁰.

Por outro lado, os DARs D2-like estão negativamente acoplados à adenil-ciclase e, como resultado, reduzem a acumulação de AMPc intracelular e, conseqüentemente, de PKA. Ou seja, a ativação desta família de receptores leva tanto à inibição da atividade da adenil-ciclase como, também, à inibição da PKA. Esses receptores são principalmente expressos na região estriada, pallidum, NAc, amígdala,

córtex cerebral, hipocampo e na glândula pituitária e desempenham um papel importante na RDS e, portanto, no comportamento alimentar^{28,31}.

GENE DRD1

O receptor de DA tipo D1 (DRD1) é codificado pelo gene DRD1, expresso principalmente no núcleo caudado, NAc e tubérculo olfatório no SNC. Localizado no cromossomo 5, o gene possui pouco mais de 4000 pares de base (pb) e produz apenas um transcrito, a partir de dois éxons. O produto obtido por meio da transcrição possui 446 resíduos de aminoácidos, pesando aproximadamente 49293 kDa³².

Apesar dos diversos polimorfismos já descritos no gene, dois polimorfismos de base única (SNP) (rs4532 e rs686) têm sido mais extensivamente investigados, sendo descritas associações com fenótipos de adição, como a dependência de álcool, nicotina e opioides³³, com fenótipos psiquiátricos, como a esquizofrenia³⁴, e com pior resposta ao tratamento farmacológico com antipsicóticos³⁵. O rs4532 está localizado a -48 pb na região 5' não traduzida (UTR) do segundo éxon e refere-se a uma troca de adenina (A) por guanina (G)³⁶. Já o rs686 descreve uma troca de A por G na região 3' UTR, que desencadeia uma interferência na expressão do gene. Com relação ao rs686, Huang e Li demonstraram que a presença do alelo G diminui a expressão do gene, devido a interferência de um microRNA (miRNA). Ainda, uma vez que o miR-504 está localizado no cromossomo X, os autores sugerem que esse miRNA possa influenciar de maneira distinta o comportamento impulsivo entre os sexos³⁷. De fato, alguns estudos têm demonstrado que a presença dos alelos de risco dos polimorfismos rs4532 e rs686 pode levar os indivíduos a adotarem comportamentos impulsivos e à RDS, sendo que a presença do haplótipo de risco G-G implica em manifestações mais exacerbadas³⁸.

Apenas um estudo investigou a associação do polimorfismo rs4532 com a obesidade, em uma amostra de 245 indivíduos norte-americanos, destes 111 com IMC ≥ 30 kg/cm². Os resultados, no entanto, não evidenciaram efeitos significativos do polimorfismo³⁶. Apesar deste achado negativo, alguns autores sugerem uma associação entre o gene codificador deste receptor com a motivação para realização de exercícios físicos, tanto em modelos animais quanto humanos, sugerindo um possível efeito no comportamento sedentário³⁹.

GENES DRD2 E ANKK1

O receptor D2 é codificado pelo gene de mesmo nome, DRD2, Localizado no cromossomo 11. É constituído por mais de 6000 pb e pode produzir

dez transcritos diferentes. Embora algumas fontes mencionem a existência de três isoformas³¹, os receptores D2 são amplamente expressos no cérebro humano sob duas principais isoformas: D2 longo (D2L), em terminais pós-sinápticos, e D2 curto (D2S), em terminais pré-sinápticos. As duas isoformas, D2L e D2S, são resultado de um *splicing* alternativo no éxon 6 do gene, sendo que o D2L difere do D2S pela presença de 29 aminoácidos adicionais no interior do terceiro *loop* intracelular. Ao final do processo de transcrição do D2L, os sete éxons codificantes originam uma proteína com 443 resíduos de aminoácidos e, portanto, esta foi classificada como a sequência canônica. Este *splicing* alternativo resulta em diferenças na afinidade dos receptores com a proteína G37⁴⁰.

O gene DRD2 apresenta uma variedade de SNPs, e o polimorfismo mais investigado, e associado a comportamentos patológicos, é rs1800497, localizado na região 3'UTR. No entanto, embora este polimorfismo esteve originalmente associado ao gene DRD2, verificou-se posteriormente que ele se localiza no éxon 8 do gene *ankyrin repeat and kinase domain containing 1* (ANKK1), adjacente ao gene DRD2⁴¹. Os alelos deste polimorfismo são designados por A2 (citosina) e A1 (timina), sendo que a substituição da citosina (C) pela timina (T), na região 32806 pb, resulta na troca de um glutamato por uma lisina (713Glu/Lys), o que afeta a especificidade da ligação da proteína ao substrato. Diversos estudos genéticos já associaram o polimorfismo rs1800497 com fenótipos de adição em opióides, antidepressivos, estimulantes, alucinógenos e outras substâncias, como álcool e tabaco⁴¹.

Noble et al., em 1994, relataram a primeira associação entre o alelo A1 do polimorfismo rs1800497 com a obesidade, e com a preferência por carboidratos, em uma amostra de 73 indivíduos obesos⁴². Ainda, outro estudo realizado por Obregón et al.⁴³, com 258 crianças, revelou que a presença do alelo A1 estava relacionado com o desenvolvimento de um comportamento alimentar compulsivo, associado à ingestão de alimentos calóricos e ao comer hedônico. Estes estudos, portanto, sugerem que as variações genéticas que estão associadas a sinalização de DA podem influenciar a ingestão de alimentos ricos em gordura saturada e, desta forma, a obesidade. Corroborando essa hipótese, outro estudo, realizado com 394 adultos, também relacionou o polimorfismo rs1800497 com a preferência, ingestão e desejo por alimentos palatáveis⁴⁴.

Em relação ao gene DRD2 propriamente dito, o rs6277 vem sendo constantemente associado a comportamentos compulsivos⁴⁵, uma vez que o alelo de risco C está associado a menor disponibilidade de receptores DRD2 tanto nas regiões estriadas quando nas extra-estriais e em distúrbios psiquiátricos⁴⁶.

Partindo desse pressuposto, Davis et al. detectaram uma associação deste polimorfismo com comportamento alimentar anormal, caracterizado pelo aumento da ingestão de alimentos palatáveis, em um estudo com 230 indivíduos obesos com transtorno de compulsão alimentar⁴⁷. Mais recentemente, Kvaløy et al.⁴⁸ identificaram efeitos semelhantes em um grande estudo longitudinal, envolvendo 3999 participantes que compunham a amostra do estudo HUNT2, realizado entre 1995 e 1997 e/ou HUNT3, desenvolvido de 2006 a 2008. A partir dos dados obtidos pela coorte HUNT, realizada na Noruega, os autores identificaram uma associação entre a presença do alelo de risco T do rs6277 e um aumento de peso ao longo dos anos nos indivíduos pesquisados.

A fim de confirmar a importância do receptor DRD2 na obesidade, Dang et al.⁴⁹ selecionaram 130 indivíduos saudáveis, com idades entre 18 e 81 anos e, utilizando PET e radioisótopos com alta afinidade por receptores D2/D3, demonstraram uma correlação inversa entre a disponibilidade destes receptores, principalmente no mesencéfalo e nas regiões estriadas ventral e dorsal (putâmen), e o IMC, em indivíduos com mais de 30 anos. Já em indivíduos com menos de 30 anos, a disponibilidade de receptores não foi significativamente associada ao IMC.

Blum et al.⁵⁰ desenvolveram e validaram um novo modelo animal para avaliar os efeitos do DRD2, utilizando a biotecnologia do sistema *loxP-CRE rescue*. Dessa forma, ratos *knockdown* heterozigotos e homozigotos expressavam apenas 55% e 3%, respectivamente, do mRNA total encontrado, desencadeando assim, o fenótipo de interesse: redução na quantidade de mRNA do gene DRD2 e não sua completa ausência. Como resultado, os autores demonstraram que, ao contrário do que ocorre na RDS, os animais aumentam de peso devido a inatividade física e não a uma alimentação com padrão compulsivo.

Diante destes achados, os autores sugerem que a influência do DRD2 no IMC não ocorre de forma casual e depende, em grande parte, da idade do indivíduo, o que poderia influenciar os achados de associação entre polimorfismos no gene DRD2 e a obesidade, evidenciando a complexidade do fenótipo.

GENE DRD3

O receptor D3 é produzido a partir do gene DRD3, localizado na posição 3q13.31, sendo expresso quase que unicamente no NAc. O polimorfismo mais estudado no gene, o rs6280, é um SNP no qual uma adenina (A) é substituída por uma guanina (G), o que resulta em uma substituição de uma glicina por uma serina na posição 9 (*ser9gly*), na parte N-terminal da parte extracelular do receptor. Com essa substituição, a proteína não é capaz de se inserir de forma correta na membrana e, assim, indivíduos

heterozigotos para o alelo *gly* possuem receptores com uma maior afinidade pela DA^{51,52}.

Estudos relacionando o gene DRD3 a alterações no peso corporal encontram associação significativa, principalmente quando os pacientes sofrem de algum outro transtorno psiquiátrico e/ou estão em tratamento farmacológico. De fato, estudos de farmacogenética têm associado a presença do alelo de risco *gly* do rs6280 a um maior aumento de peso e a presença de distúrbios metabólicos induzidos por antipsicóticos^{52,53}.

Contrastando com a vasta literatura acerca desse tema em fenótipos psiquiátricos, não há estudos associando o polimorfismo rs6280 no gene DRD3 a um aumento do IMC ou obesidade na população geral. Entretanto, o estudo de McQuade et al.⁵⁴, com ratos knockout para o gene (DRD3^{-/-}), demonstrou que esses animais apresentaram um aumento de peso e de percentual de gordura corporal, e que tais alterações antropométricas modificaram também os níveis de insulina e leptina plasmáticas. Apesar do estudo envolver apenas animais e não haver dados que comprovem o efeito em seres humanos, Yazdi et al.⁵⁵ sugerem que sejam realizados outros estudos em modelos animais, com metodologias mais refinadas, com o intuito de melhor compreender as funções e participação deste gene na obesidade.

GENE DRD4

O gene DRD4, localizado no cromossomo 11, codifica o receptor D4 de DA, o qual é altamente expresso no córtex pré-frontal e em outras regiões do cérebro envolvidas nos circuitos de recompensa, que medeiam as propriedades de reforço de alimentos, tais como o hipocampo, a amígdala e hipotálamo⁵⁶. Esse gene codifica um receptor com sete domínios transmembranares, que responde à DA endógena e inibe o segundo mensageiro adenil-ciclase.

Um dos polimorfismos mais investigados no gene DRD4 está localizado no éxon 3, o qual se caracteriza pela presença de um número variável de repetições em tandem (VNTR), no qual uma sequência de 48 pb (16 aminoácidos) pode estar repetida de duas à onze vezes, sendo que duas (2R), quatro (4R) ou sete repetições (7R) representam os alelos mais comuns. Na literatura, os indivíduos podem ser ainda agrupados como portadores da variação *short* ou portadores da variação *long*, sendo que a categoria de *short* é definida como seis ou menos repetições e *long* com sete ou mais repetições⁵⁷.

Estudos sugerem que indivíduos portadores de pelo menos um alelo 7R possuem menor quantidade e afinidade dos receptores dopaminérgicos e, conseqüentemente, transmitem sinais intracelulares mais fracos, em comparação com outros alelos. Além disso, esta variante tem sido associada a menor

formação de AMPc, em comparação com seis repetições ou menos⁵⁸. Ainda, o alelo 7R tem sido associado a uma pior resposta a drogas estimulantes da DA, como álcool, cocaína, e outros estimulantes, e menor liberação de DA nas regiões do caudado e ventral do NAc⁵⁹.

De maneira semelhante ao reforço obtido por meio de drogas, a alimentação gera grandes impulsos de reforço e alguns estudos já associaram polimorfismos no gene DRD4 com fenótipos relacionados à obesidade⁶⁰. Além destes achados, Silveira et al.⁵⁹ e Fontana et al.⁶¹ realizaram estudos com crianças e constataram que portadores do alelo 7R possuem maior tendência ao consumo de alimentos palatáveis em relação à alimentos integrais.

GENE DRD5

Localizado na posição 4p16.1, o gene DRD5 é responsável pela síntese de um subtipo de receptores D1-like. Ao ser transcrito em regiões límbicas, o gene origina um mRNA formado por apenas um éxon, entretanto, devido à grande homologia estrutural e funcional com o receptor D1, a proteína sintetizada a partir do gene DRD5 é preferencialmente denominada DRD1B, possuindo 477 resíduos de aminoácidos⁶².

O polimorfismo mais investigado no gene DRD5 é um VNTR que consiste na repetição de um dinucleotídeo (CT), localizado a 18,5 kb *upstream* do gene, o qual tem sido associado com a transcrição do gene⁶². Os possíveis alelos variam de duas a 13 repetições, sendo que o alelo de 9 repetições (9R), com 148 pb, parece aumentar o risco para o Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade (TDAH), ao passo que o alelo com 136 pb parece conferir um efeito protetor⁶³. Interessantemente, alguns autores defendem que exista uma ligação entre o TDAH e a obesidade e que o TDAH seja, na verdade, um subtipo da RDS, o que explicaria sintomas como impulsividade, por exemplo⁶⁴.

No que diz respeito a fenótipos relacionados à obesidade, Carr et al.³⁶ avaliaram a possível associação entre o VNTR descrito acima, o reforço alimentar e alterações no IMC. Para tanto, investigaram a ausência ou presença do alelo 9R em 245 indivíduos, destes 111 obesos. No entanto, apesar do alelo 9R ser o mais comum na amostra investigada (41%), não foram encontradas associações entre o polimorfismo e o comportamento alimentar e/ou IMC.

DISCUSSÃO

Nosso estudo revisou os principais artigos que avaliaram polimorfismos nos genes codificadores dos receptores de dopamina em fenótipos relacionados à obesidade. A dopamina desempenha um papel

fundamental no equilíbrio energético ao integrar sinais metabólicos com circuitos que suportam funções cognitivas, perceptuais e apetitivas que orientam a alimentação. Ainda, foi estabelecido que a dieta e a obesidade alteram a sinalização de DA, levando à alimentação compulsiva e a comprometimentos neurocognitivo²⁶.

Ressalta-se que a grande maioria das variantes genéticas investigadas são as mesmas já associadas com transtornos mentais, especialmente os relacionados a comportamentos aditivos e compulsivos, o que reforça a importância do SNC no controle do peso. No entanto, embora as substâncias psicoativas e os alimentos compartilhem a característica de exercerem um efeito de reforço, ao aumentar abruptamente a liberação de DA na região mesolímbica³⁰, Cornelis et al.⁶⁵ defendem que possam existir mecanismos distintos para o desenvolvimento da compulsão alimentar ou drogadição, que permanecem desconhecidos. Portanto, os loci envolvidos com o comportamento patológico alimentar podem ser diferentes dos loci envolvidos nos transtornos por uso de substâncias.

Os achados mais relevantes desta revisão estão relacionados com o receptor DRD2, porém, sabe-se que receptores DRD2 e DRD4 podem formar heterodímeros complexos, de acordo com a presença de determinadas variantes genéticas⁶⁶, o que reforça a importância da investigação conjunta de polimorfismos nos genes DRD2 e DRD4. Além disso, a complexidade do fenótipo é também evidenciada pelo estudo de Dang et al.⁴⁹, que demonstraram que a possível influência dos receptores de DA sobre o IMC pode depender, em grande parte, da idade do indivíduo, visto que, ao longo dos anos, a quantidade de receptores pode ser reduzida gradativamente, ao passo que há um aumento no IMC. Estudos como esse contradizem a hipótese de hipofunção dopaminérgica e sistema de recompensa e sugerem um novo mecanismo, onde as alterações metabólicas decorrentes da obesidade seriam responsáveis pela alteração na função dopaminérgica. Seguindo essa linha de raciocínio, Beeler et al.⁶⁷ acrescenta que a obesidade associada com níveis reduzidos de receptores D2 poderia ser desencadeada pela redução da atividade física, e não por um padrão compulsivo de alimentação, conforme também defendido por Blum et al.⁵⁰. Por fim, outra questão que ainda deve ser destacada em relação à funcionalidade da sinalização dopaminérgica é a presença de polimorfismos em outros genes. Gluskin e Mickey, em uma meta-análise, identificaram 19 variantes em 11 genes distintos que poderiam exercer influência sobre a capacidade de ligação da DA com seu receptor DRD2, em estudos *in vivo* e que, devido a esse fenômeno, a disponibilidade de receptores DRD2 pode variar entre 20 e 60% dentre os indivíduos⁴⁵.

CONCLUSÃO

A obesidade é claramente uma doença complexa e multifatorial, portanto, é aceitável a existência de achados com resultados conflitantes. Apesar das evidências apresentadas, novos estudos são ainda necessários para uma melhor compreensão do impacto da DA nos desfechos relacionado à obesidade. Por fim, é importante também destacar que esses

efeitos podem ser específicos para subgrupos de pacientes e que outros fatores, além das variantes genéticas, devem ser considerados.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FUVATES, ao CNPq e à CAPES (código 001), pela concessão de bolsas de estudo.

REFERÊNCIAS

- Kelly T, Yang W, Chen CS, Reynolds K, He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32(9):1431-7.
- Bays H. Central obesity as a clinical marker of adiposopathy; increased visceral adiposity as a surrogate marker for global fat dysfunction. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2014;21(5):345-51.
- Bray MS, Loos RJ, McCaffery JM, Ling C, Franks PW, Weinstock GM, et al. NIH working group report-using genomic information to guide weight management: From universal to precision treatment. *Obesity (Silver Spring)*. 2016;24(1):14-22.
- Shungin D, Winkler TW, Croteau-Chonka DC, Ferreira T, Locke AE, Mägi R, et al. New genetic loci link adipose and insulin biology to body fat distribution. *Nature*. 2015;518(7538):187-96.
- Sun X, Luquet S, Small DM. DRD2: Bridging the Genome and Ingestive Behavior. *Trends Cogn Sci*. 2017;21(5):372-84.
- Min J, Chiu DT, Wang Y. Variation in the heritability of body mass index based on diverse twin studies: a systematic review. *Obes Rev*. 2013;14(11):871-82.
- Tabe-Bordbar S, Anastasio TJ. Computational Analysis of the Hypothalamic Control of Food Intake. *Front Comput Neurosci*. 2016;10:27.
- Çakir I, Perello M, Lansari O, Messier NJ, Vaslet CA, Nillni EA. Hypothalamic Sirt1 regulates food intake in a rodent model system. *PLoS One*. 2009;4(12):e8322.
- Frank S, Veit R, Sauer H, Enck P, Friederich HC, Unholzer T, et al. Dopamine Depletion Reduces Food-Related Reward Activity Independent of BMI. *Neuropsychopharmacology*. 2016;41(6):1551-9.
- Westerink BH, Kwint HF, deVries JB. The pharmacology of mesolimbic dopamine neurons: a dual-probe microdialysis study in the ventral tegmental area and nucleus accumbens of the rat brain. *J Neurosci*. 1996;16(8):2605-11.
- Schwartz MW, Woods SC, Porte D Jr, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature*. 2000;404(6778):661-71.
- Bello NT, Hajnal A. Dopamine and binge eating behaviors. *Pharmacol Biochem Behav*. 2010;97(1):25-33.
- Kishi T, Elmquist JK. Body weight is regulated by the brain: a link between feeding and emotion. *Mol Psychiatry*. 2005;10(2):132-46.
- Kim HF, Hikosaka O. Parallel basal ganglia circuits for voluntary and automatic behaviour to reach rewards. *Brain*. 2015;138(7):1776-800.
- Leyton M, Vezina P. Dopamine ups and downs in vulnerability to addictions: A neurodevelopmental model. *Trends Pharmacol Sci*. 2014;35(6):268-76.
- Covey DP, Roitman MF, Garris PA. Illicit dopamine transients: Reconciling actions of abused drugs. *Trends Neurosci*. 2014;37(4):200-10.
- Ramachandrapa S, Farooqi IS. Genetic approaches to understanding human obesity. *J Clin Invest*. 2011;121(6):2080-6.
- Blum K, Simpatico T, Badgaiyan RD, Demetrovics Z, Frattantonio J, Agan G, et al. Coupling Neurogenetics (GARSTM) and a Nutrigenomic Based Dopaminergic Agonist to Treat Reward Deficiency Syndrome (RDS): Targeting Polymorphic Reward Genes for Carbohydrate Addiction Algorithms. *J Reward Defic Syndr*. 2015;1(2):75-80.
- Frank GKW. Advances from neuroimaging studies in eating disorders. *CNS Spectr*. 2015;20(4):391-400.
- Stice E, Figlewicz DP, Gosnell BA, Levine AS, Pratt WE. The contribution of brain reward circuits to the obesity epidemic. *Neurosci Biobehav Rev*. 2013;37(9):2047-58.
- Guo J, Simmons WK, Herscovitch P, Martin A, Hall KD. Striatal dopamine D2-like receptor correlation patterns with human obesity and opportunistic eating behavior. *Mol Psychiatry*. 2014;19(10):1078-84.
- Stice E, Spoor S, Bohon C, Veldhuizen MG, Small DM. Relation of reward from food intake and anticipated food intake to obesity: A functional magnetic resonance imaging study. *J Abnorm Psychol*. 2008;117(4):924-35.
- Stice E, Yokum S, Blum K, Bohon C. Weight gain is associated with reduced striatal response to palatable food. *J Neurosci*. 2010;30(39):131059.
- Vucetic Z, Carlin JL, Totoki K, Reyes TM. Epigenetic dysregulation of the dopamine system in diet-induced obesity. *J Neurochem*. 2012;120(6):891-8.
- Marco A, Schroeder M, Weller A. Feeding and reward: Ontogenetic changes in an animal model of obesity. *Neuropharmacology*. 2012;62(8):2447-54.
- Blum K, Thanos PK, Gold MS. Dopamine and glucose, obesity and reward deficiency syndrome. *Front Psychol*. 2014;5:919.
- Blum K, Chen AL, Oscar-Berman M, Chen TJ, Lubar J, White N, et al. Generational association studies

- of dopaminergic genes in reward deficiency syndrome (RDS) subjects: selecting appropriate phenotypes for reward dependence behaviors. *Int J Environ Res Public Health*. 2011;8(12):4425-59.
28. Vallone D, Picetti R, Borrelli E. Structure and function of dopamine receptors. *Neurosci Biobehav Rev*. 2000;24(1):125-32.
 29. Sidhu A, Niznik HB. Coupling of dopamine receptor subtypes to multiple and diverse G proteins. *Int J Dev Neurosci*. 2000;18(7):669-77.
 30. Volkow ND, Morales M. The Brain on Drugs: From Reward to Addiction. *Cell*. 2015;162(4):712-25.
 31. Johnson PM, Kenny PJ. Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. *Nat Neurosci*. 2010;13(5):635-41.
 32. McLaren W, Gil L, Hunt SE, Riat HS, Ritchie GR, Thormann A, et al. The Ensembl Variant Effect Predictor. *Genome Biol*. 2016;17(1):122.
 33. Peng S, Du J, Jiang H, Fu Y, Chen H, Sun H, et al. The dopamine receptor D1 gene is associated with the length of interval between first heroin use and onset of dependence in Chinese Han heroin addicts. *J Neural Transm (Vienna)*. 2013;120(11):1591-8.
 34. Novak G, LeBlanc M, Zai C, Shaikh S, Renou J, DeLuca V, et al. Association of polymorphisms in the BDNF, DRD1 and DRD3 genes with tobacco smoking in schizophrenia. *Ann Hum Genet*. 2010;74(4):291-8.
 35. Huo R, Wei Z, Xiong Y, Jiang J, Liu Y, Yan Y, et al. Association of dopamine receptor D1 (DRD1) polymorphisms with risperidone treatment response in Chinese schizophrenia patients. *Neurosci Lett*. 2015;584:178-83.
 36. Carr KA, Lin H, Fletcher KD, Sucheston L, Singh PK, Salis RJ, et al. Two functional serotonin polymorphisms moderate the effect of food reinforcement on BMI. *Behav Neurosci*. 2013;127(3):387-99.
 37. Huang W, Li MD. Differential Allelic Expression of Dopamine D1 Receptor Gene (DRD1) Is Modulated by microRNA miR-504. *Biol Psychiatry*. 2009;65(8):702-5.
 38. Blum K, Oscar-Berman M, Demetrovics Z, Barh D, Gold MS. Genetic Addiction Risk Score (GARS): Molecular Neurogenetic Evidence for Predisposition to Reward Deficiency Syndrome (RDS). *Mol Neurobiol*. 2014;50(3):765-96.
 39. Huppertz C, Bartels M, Groen-Blokhuis MM, Dolan CV, de Moor MH, Abdellaoui A, et al. The dopaminergic reward system and leisure time exercise behavior: candidate allele study. *Biomed Res Int*. 2014;2014:591717.
 40. Giros B, Sokoloff P, Martres MP, Riou JF, Emorine LJ, Schwartz JC. Alternative splicing directs the expression of two D2 dopamine receptor isoforms. *Nature*. 1989;342(6252):923-6.
 41. White MJ, Morris CP, Lawford BR, Young RM. Behavioral phenotypes of impulsivity related to the ANKK1 gene are independent of an acute stressor. *Behav Brain Funct*. 2008;4:54.
 42. Noble EP, Noble RE, Ritchie T, Syndulko K, Bohlman MC, Noble LA, et al. D2 dopamine receptor gene and obesity. *Int J Eat Disord*. 1994;15(3):205-17.
 43. Obrégon AM, Valladares M, Goldfield G. Association of the Dopamine D2 Receptor rs1800497 polymorphism and eating behavior in Chilean children. *Nutrition*. 2017;35:139-45.
 44. Lek FY, Ong HH, Say YH. Association of dopamine receptor D2 gene (DRD2) Taq1 polymorphisms with eating behaviors and obesity among Chinese and Indian Malaysian university students. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2018;27(3):707-17.
 45. Gluskin BS, Mickey BJ. Genetic variation and dopamine D2 receptor availability: a systematic review and meta-analysis of human in vivo molecular imaging studies. *Transl Psychiatry*. 2016;6(3):e747.
 46. Hirvonen MM, Laakso A, Nägren K, Rinne JO, Pohjalainen T, Hietala J. C957T polymorphism of dopamine D2 receptor gene affects striatal DRD2 in vivo availability by changing the receptor affinity. *Synapse*. 2009;63(10):907-12.
 47. Davis C, Levitan RD, Yilmaz Z, Kaplan AS, Carter JC, Kennedy JL. Binge eating disorder and the dopamine D2 receptor: genotypes and sub-phenotypes. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012;38(2):328-35.
 48. Kvaløy K, Holmen J, Hveem K, Holmen TL. Genetic effects on longitudinal changes from healthy to adverse weight and metabolic status – The HUNT study. *PLoS One*. 2015;10(10):e0139632.
 49. Dang LC, Samanez-Larkin GR, Castrellon JJ, Perkins SF, Cowan RL, Zald DH. Associations between dopamine D2 receptor availability and BMI depend on age. *Neuroimage*. 2016;138:176-83.
 50. Blum K, Gardner E, Oscar-Berman M, Gold M. “Liking” and “wanting” linked to Reward Deficiency Syndrome (RDS): hypothesizing differential responsivity in brain reward circuitry. *Curr Pharm Des*. 2012;18(1):113-8.
 51. Savitz J, Hodgkinson CA, Martin-Soelch C, Shen PH, Szczepanik J, Nugent A, et al. The functional DRD3 Ser9Gly polymorphism (rs6280) is pleiotropic, affecting reward as well as movement. *PLoS One*. 2013;8(1):e54108.
 52. Chang TT, Chen SL, Chang YH, Chen PS, Chu CH, Chen SH, et al. The DRD3 Ser9Gly polymorphism predicted metabolic change in drug-naïve patients with bipolar II disorder. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(24):e3488.
 53. Pouget JG, Shams TA, Tiwari AK, Müller DJ. Pharmacogenetics and outcome with antipsychotic drugs. *Dialogues Clin Neurosci*. 2014;16(4):555-66.
 54. McQuade JA, Benoit SC, Xu M, Woods SC, Seeley RJ. High-fat diet induced adiposity in mice with targeted disruption of the dopamine-3 receptor gene. *Behav Brain Res*. 2004;151(1-2):313-9.
 55. Yazdi FT, Clee SM, Meyre D. Obesity genetics in mouse and human: back and forth, and back again. *PeerJ*. 2015;3:e856.
 56. McGeary J. The DRD4 exon 3 VNTR polymorphism and addiction-related phenotypes: a review. *Pharmacol Biochem Behav*. 2009;93(3):222-9.
 57. Ariza M, Garolera M, Jurado MA, Garcia-Garcia I, Hernan I, Sánchez-Garre C, et al. Dopamine genes

- (DRD2/ANKK1-TaqA1 and DRD4-7R) and executive function: their interaction with obesity. *PLoS One*. 2012;7(7):e41482.
58. Gehricke JG, Swanson JM, Duong S, Nguyen J, Wigal TL, Fallon J, et al. Increased brain activity to unpleasant stimuli in individuals with the 7R allele of the DRD4 gene. *Psychiatry Res*. 2015;231(1):58-63.
59. Silveira PP, Portella AK, Kennedy JL, Gaudreau H, Davis C, Steiner M, et al. Association between the seven-repeat allele of the dopamine-4 receptor gene (DRD4) and spontaneous food intake in pre-school children. *Appetite*. 2014;73:15-22.
60. Poston WS 2nd, Ericsson M, Linder J, Haddock CK, Hanis CL, Nilsson T, et al. D4 dopamine receptor gene exon III polymorphism and obesity risk. *Eat Weight Disord*. 1998;3(2):71-7.
61. Fontana C, Vitolo MR, Campagnolo PD, Mattevi VS, Genro JP, Almeida S. DRD4 and SLC6A3 gene polymorphisms are associated with food intake and nutritional status in children in early stages of development. *J Nutr Biochem*. 2015;26(12):1607-12.
62. Lowe N, Kirley A, Hawi Z, Sham P, Wickham H, Kratochvil CJ, et al. Joint analysis of the DRD5 marker concludes association with attention-deficit/hyperactivity disorder confined to the predominantly inattentive and combined subtypes. *Am J Hum Genet*. 2004;74(2):348-56.
63. Li D, Sham PC, Owen MJ, He L. Meta-analysis shows significant association between dopamine system genes and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Hum Mol Genet*. 2006;15(14):2276-84.
64. Bazar KA, Yun AJ, Lee PY, Daniel SM, Doux JD. Obesity and ADHD may represent different manifestations of a common environmental oversampling syndrome: A model for revealing mechanistic overlap among cognitive, metabolic, and inflammatory disorders. *Med Hypotheses*. 2006;66(2):263-9.
65. Cornelis M, Flint A, Field AE, Kraft P, Han J, Rimm EB, et al. A genome-wide investigation of food addiction. *Obesity (Silver Spring)*. 2016;24(6):1336-41.
66. Borroto-Escuela DO, Van Craenenbroeck K, Romero-Fernandez W, Guidolin D, Woods AS, Rivera A, et al. Dopamine D2 and D4 receptor heteromerization and its allosteric receptor-receptor interactions. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;404(4):928-34.
67. Beeler JA, Faust RP, Turkson S, Ye H, Zhuang X. Low Dopamine D2 Receptor Increases Vulnerability to Obesity Via Reduced Physical Activity, Not Increased Appetitive Motivation. *Biol Psychiatry*. 2016;79(11):887-97.

Recebido: 29 abr, 2021

Aceito: 7 jun, 2021

TRABALHO EM EQUIPE NA ÁREA DA SAÚDE

TEAMWORK IN HEALTH CARE

Valentina Coutinho Baldoto Gava Chakr^{1,2}

RESUMO

Clin Biomed Res. 2021;41(3):254-258

1 Departamento de Pediatria,
Universidade Federal do Rio Grande
do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Serviço de Pediatria, Hospital de
Clínicas de Porto Alegre. Porto
Alegre, RS, Brasil.

Autor correspondente:

Valentina Coutinho Baldoto
Gava Chakr

vchakr@hcpa.edu.br

Serviço de Pediatria, Hospital de
Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos, 2350,

10º andar, sala 1035

90035-903, Porto Alegre, RS, Brasil.

Médicos, enfermeiros e outros profissionais de saúde passam boa parte do tempo se comunicando e coordenando atividades de cuidado. Apesar disso, o treinamento em habilidades de comunicação interpessoal e de trabalho em equipe tem sido historicamente pouco enfatizado. O principal objetivo do trabalho em equipe é melhorar os desfechos no cuidado ao paciente. A necessidade de trabalhar em equipe vem sendo cada vez mais frequente no cuidado à saúde. Assim, é relevante conhecer os elementos fundamentais para o seu bom funcionamento, assim como os principais fatores com potencial de prejudicá-lo. Neste artigo, os seguintes tópicos serão discutidos: classificação das equipes de cuidado à saúde; princípios determinantes para o sucesso das equipes; e as principais barreiras que podem comprometer seu funcionamento. Existe um reconhecimento crescente sobre a importância do trabalho em equipe (em oposição ao rígido gerenciamento hierárquico) no cuidado ao paciente. A resistência à mudança nos métodos de trabalho imposta pela tradição de décadas deve ser enfrentada por meio de um processo educacional, de forma que este artigo visa a contribuir para essa finalidade.

Palavras-chave: *Equipe de assistência ao paciente; Administração de recursos humanos em hospitais; Avaliação de resultados em cuidado de saúde*

ABSTRACT

Physicians, nurses, and other health care professionals spend a great amount of time communicating and coordinating care activities. Nevertheless, interpersonal communication and teamwork skills have been historically underemphasized in professional training. The ultimate goal of teamwork efforts is to improve patient care outcomes. The need for interdisciplinary teamwork has been increasing in the health care setting. Thus, the main attributes needed in a good interdisciplinary team should be known, as well as the factors that could lead to a poor team performance. In this study, we discuss the definition and classification of teamwork in health care, the fundamental principles for successful teamwork, and the main barriers to effective teamwork. The importance of teamwork has been increasingly recognized in health care. However, decades of tradition have hindered changes in the way health care is provided, and educational processes should be used as an approach to deal with this situation. The present study intends to contribute to this purpose.

Keywords: *Patient care team; Personnel administration, Hospital; outcome assessment, Health care*

Médicos, enfermeiros e outros profissionais de saúde passam boa parte do tempo se comunicando e coordenando atividades de cuidado. Apesar disso, o treinamento em habilidades de comunicação interpessoal e de trabalho em equipe tem sido historicamente pouco enfatizado¹.

A necessidade de trabalhar em equipe vem sendo cada vez mais frequente no cuidado à saúde. Isso pode ser explicado pelo crescente número de pacientes com condições clínicas crônicas e complexas (o que requer, por conseguinte, conhecimentos e habilidades também complexas de cuidado) e pelo aumento da especialização dentre os profissionais de saúde. Assim, a fragmentação do conhecimento não permite que um único profissional consiga dar conta das várias necessidades dos pacientes².

O principal objetivo do trabalho em equipe é melhorar os desfechos no cuidado ao paciente. Contudo, um bom trabalho em equipe também propicia benefícios financeiros, pois os fluxos de trabalho se tornam mais eficientes (o que pode levar, por exemplo, à redução no tempo de internação hospitalar)¹. Além disso, a formação de relações interpessoais positivas dentro da equipe contribui para melhorar o desempenho e o clima no trabalho, o que acaba por influenciar na satisfação profissional³. Outras vantagens trazidas pelo trabalho em equipe são: transferência de conhecimento técnico, compartilhamento de informações, e aperfeiçoamento nas tomadas de decisão, o que, em conjunto, podem reduzir as taxas de erros médicos. Para os pacientes, pode-se perceber redução nos níveis de ansiedade, aumento nos níveis de confiabilidade, melhor entendimento sobre sua condição clínica, maior engajamento no autocuidado (resultando em maior adesão ao tratamento, por exemplo) e melhor capacidade de participar das decisões clínicas. Para isso, é preciso que a comunicação seja clara, oportuna e consistente entre todos os profissionais envolvidos⁴.

As equipes têm o potencial de melhorar o cuidado clínico porque elas agregam, modificam, combinam e aplicam uma grande quantidade e variedade de conhecimento com a finalidade de tomar decisões, resolver problemas, gerar ideias e executar tarefas mais eficientemente do que o trabalho individual. Apesar disso, as equipes podem apresentar falhas na utilização em todo o conjunto de conhecimentos, habilidades e capacidades para desempenhar um bom trabalho. Assim, o trabalho em equipe, quando ocorre de forma inadequada, pode, ao contrário, aumentar a chance de erros e piorar a qualidade do cuidado⁵.

Assim, é relevante conhecer os elementos fundamentais para o bom funcionamento do trabalho em equipe, assim como os principais fatores com potencial de prejudicá-lo.

O trabalho em equipe pode ser definido como um processo no qual dois ou mais indivíduos com habilidades complementares mantêm engajamento para realizar ações da maneira cooperativa e interdependente para atingir um objetivo em comum, que é melhorar a qualidade do cuidado ao paciente⁶. Para que ele seja alcançado, a composição da equipe deve contar com indivíduos de diferentes profissões, experiências, personalidades e outras características individuais que se complementem².

A classificação das equipes de cuidado à saúde pode ser feita da seguinte maneira⁷:

- a. Equipe multiprofissional: Caracteriza-se quando diferentes profissionais (médicos, enfermeiros, fisioterapeutas, fonoaudiologistas, psicólogos, assistentes sociais, farmacêuticos, educador

físico, dentistas etc.) ou médicos de diferentes especialidades trabalham em paralelo para prover cuidado ao paciente. O trabalho de cada um se faz de maneira independente e os canais de comunicação usados para informar aos outros profissionais sobre suas avaliações e condutas costumam ser formais (relatórios, reuniões, laudos)^{7,8}.

- b. Equipe interprofissional: Caracteriza-se quando os profissionais criam um plano conjunto de cuidado e tratamento, com objetivos em comum de forma interdependente, já que tais objetivos não podem ser alcançados sem as habilidades complementares de cada membro, como acontece no centro cirúrgico e em uma equipe de pacientes internados, por exemplo. Os membros da equipe compartilham informações e coordenam suas atividades por meio de um processo de comunicação formal e informal^{7,8}.
- c. Equipe transprofissional: Caracteriza-se pela formação de “equipes de ação”, como ocorre na ocasião da necessidade de ressuscitação cardiopulmonar. Os membros trabalham juntos por um período determinado de tempo e pode existir sobreposição dos limites de atuação de cada profissional (diferentes membros podem ter papéis e responsabilidades em comum)⁷.

Para que o trabalho da equipe seja efetivo, a presença de alguns elementos se mostra fundamental¹:

- a. Liderança: O líder tem a função dirigir e coordenar as atividades dos membros da equipe. Ele facilita a resolução de problemas, compartilha decisões, ajuda na resolução de conflitos e define o papel de cada membro^{1,7}. As habilidades de um líder podem ser aprendidas e moldadas. Ele dever ser: curioso, aberto, paciente, capaz de procurar soluções inovadoras frente a desafios, e capaz de se sentir confortável com ambiguidades e de dividir seu poder com outros quando preciso⁹.
- b. Respeito e conhecimento das funções de cada membro: Uma equipe cujos profissionais conhecem e respeitam suas responsabilidades individuais, colocam seu ego em segundo plano e têm seu trabalho reconhecido aumentam sua chance de sucesso. Ao mesmo tempo em que é preciso que o papel individual a ser desempenhado por cada um seja explícito, os membros devem se sentir confortáveis com alguma sobreposição de funções. Algumas vezes, para alcançar o que é de melhor interesse para o paciente, é necessário que alguns integrantes cumpram papéis que não são tradicionalmente de sua responsabilidade,

sendo flexíveis^{2,7,10}. O grupo deve ter claro conhecimento do objetivo da equipe e das tarefas a serem cumpridas (elaborado colaborativamente entre todos), e como os membros vão atuar e interagir para atingir os objetivos^{1,2,5}.

- c. Flexibilidade: A equipe ajusta suas estratégias de trabalho de acordo com novas informações. Para isso, é importante manter vigilância dos ambientes internos e externos, e estar atento para novas necessidades que venham a surgir por parte dos pacientes^{1,2}.
- d. Conhecimento da situação: É ter consciência do que está acontecendo ao seu redor por meio da monitorização constante dos fatos e acontecimentos com o intuito de manter a compreensão da situação de trabalho e ajustar as ações de acordo com ela¹.
- e. Monitorização mútua de desempenho: Os membros do time supervisionam uns aos outros com o intuito de fornecer *feedback* e identificar falhas para que as correções necessárias sejam feitas¹. Da mesma forma, é importante que a equipe, como grupo, tenha oportunidade de avaliar e refletir sobre sua própria eficiência. Assim, as críticas levantadas devem ser aceitas para que se possa trabalhar em cima delas. Por outro lado, quando a equipe apresenta bons resultados, seu sucesso deve ser celebrado².
- f. Suporte mútuo: Os integrantes da equipe antecipam e respondem às necessidades uns dos outros. Dessa forma, pode-se reconhecer problemas de distribuição da carga de trabalho e melhorar a divisão de responsabilidades, acionando membros que estejam subutilizados¹.
- g. Orientação para a equipe: Priorizam-se os objetivos do time em detrimento de objetivos individuais. Desse modo, aumenta-se o envolvimento com as tarefas, o compartilhamento de informações e a definição conjunta dos objetivos¹. Nem sempre é possível ter um excelente relacionamento com todos os integrantes da equipe. Contudo, a maneira como as diferenças de opinião é tratada é fundamental. Os membros devem relevar estas diferenças pessoais e focar nos objetivos compartilhados em comum. Ao mesmo tempo, a diversidade de pensamentos deve ser vista como um ponto forte para o funcionamento da equipe: ela permite a análise de vários pontos de vista, possibilita inovações e a solução de problemas¹⁰. Deve-se cuidar para que os “falsos consensos” não representem uma prática

corrente, pois quando os membros deixam de omitir sua opinião para que debates não sejam gerados, perde-se a oportunidade de incentivar o pensamento crítico, que favorece o engajamento e o compartilhamento de informações. Por isso é importante que os líderes ou os membros de maior *status* (devido à formação de base, experiência ou idade) perguntem ativamente se os demais profissionais têm algum contraponto ou informação adicional para acrescentar, mostrando, em seguida, consideração pela contribuição feita, sem ignorá-la^{5,11}. No caso de haver a comunicação de algum erro, o líder deve tratar a situação de forma produtiva, respeitosa e não punitiva. Em alguns momentos, conflitos surgirão, pois são inevitáveis. Eles não são necessariamente ruins. Conflitos podem ser uma fonte de aprendizado e inovação. A ausência de conflitos pode inclusive ser um sinal de falta de confiança mútua, pois indica que seus integrantes temem provocar discussões ao se manifestar sobre algum tema. Ou seja, os membros estão mais focados em proteger os relacionamentos individuais do que no propósito da equipe¹².

- h. Comunicação: A comunicação em alça fechada, importante em alguns cenários de prática, consiste em receber uma informação e confirmá-la. Quem comunica deve confirmar o recebimento da informação e checar se foi bem entendida^{1,7}. Contudo, comunicação também deve ser compreendida de maneira ampla. Os integrantes da equipe devem escutar os demais com consideração e atenção, assim como devem se sentir confortáveis em se manifestar quando julgar necessário. O grupo deve ter a capacidade de discutir e resolver dificuldades internamente². Além disso, a comunicação é o veículo para outros determinantes da colaboração, que são o respeito mútuo, a confiança e o compartilhamento de ideias e informações¹³.
- i. Confiança mútua: Os membros sabem que cada um vai executar suas tarefas de acordo com o esperado e têm confiança em suas próprias capacidades de realizar as tarefas necessárias^{1,10,13}.
- j. Características pessoais: Alguns atributos são especialmente valorizados, como ter comprometimento, paciência, responsabilidade, confidencialidade, empatia, conhecimento de seus próprios pontos fortes e fracos, capacidade de tomar decisões, capacidade de compartilhar conhecimentos e habilidades, e ser organizado, aberto a novos aprendizados e tolerante^{2,14}.

Em suma, no intuito de promover um trabalho colaborativo, é importante haver boa coordenação (no intuito de estabelecer objetivos em comum em concordância entre todos os membros e acompanhar se eles estão sendo atingidos), cooperação (entendendo e valorizando as contribuições dos integrantes), decisão compartilhada (baseada em negociação, comunicação franca, abertura a novas ideias, confiança, e equilíbrio ponderado na hierarquia de poder), e parceria (alcançada por meio de relacionamentos abertos e respeitosos nos quais todos os membros trabalham em condições de equidade)⁴.

A criação de uma cultura de respeito mútuo significa apoiar um ambiente de trabalho positivo, no qual os membros da equipe provêm cuidado de alta qualidade e se sentem emocionalmente recompensados pelo seu trabalho. Também significa estabelecer um local de trabalho onde o comportamento interpessoal é profissional e colaborativo, com comunicação clara e solidária. Para gerar uma cultura de respeito mútuo, é preciso que sejam evitados: comportamentos não civilizados (rudes, indelicados, mostrando falta de consideração aos outros) e microagressões (Microagressões são discretas agressões verbais, comportamentais e ambientais que expressam desprezo de forma depreciativa e hostil relacionado à raça, gênero e orientação sexual e que ocorrem independentemente de serem intencionais. Elas normalmente são ignoradas por serem vagas e veladas, mas acontecem de forma constante e difusa nas organizações.) Por outro lado, devem-se incentivar: microafirmações (pequenos atos que estimulam inclusão, como escuta ativa e suporte), aceitação das diferenças geracionais e um ambiente de segurança psicológica³.

A segurança psicológica existe quando os profissionais se sentem seguros em se comportar de maneira aberta e transparente, pois sabem que podem confiar uns nos outros, já que reconhecem sua interdependência e diferenças. Assim, eles se sentem confortáveis em falar o que pensam, admitir erros, fazer perguntas, ou procurar por ajuda, pois não vêem isso como um risco de serem rejeitados, punidos ou de se sentirem envergonhados. Tem-se que atentar para que a segurança psicológica seja sentida principalmente por aqueles integrantes com funções ou formação consideradas como de menor *status*^{3-5,9}. Nesse sentido, é importante ter cuidado com o desequilíbrio de poder advindo de condições como gênero e profissão. A colaboração dentro da equipe é otimizada quando as hierarquias são minimizadas^{11,13}.

Num primeiro momento, pode parecer lógico que o desempenho de uma equipe tenha relação com a inteligência individual de cada integrante. Contudo, existem outros fatores que possuem maior influência sobre a performance de um time. Uma delas é a capacidade perceptiva de seus membros, de inferir

sobre o estado mental dos colegas, contribuindo para a inteligência coletiva da equipe. Da mesma maneira, um grupo com integrantes participativos, onde todos contribuem de maneira equilibrada também influencia na inteligência coletiva. Mesmo que aparentemente um dos integrantes não seja a pessoa de maior expertise sobre um tema ou função, é importante que ele seja ouvido, caso acredite ter uma contribuição relevante a fazer⁵.

Reconhecidamente, algumas barreiras podem ameaçar a colaboração da equipe. Diferenças de interesses, expectativas, estilos, e experiência podem gerar conflitos e devem ser gerenciados pelo líder do time. Do mesmo modo, a existência de diferentes graus de autoridade, prestígio, e salário podem gerar problemas. Quanto aos ambientes físico e organizacional, apresentam características desfavoráveis aquelas equipes cujos membros se encontram distantes em relação ao espaço (áreas de trabalho separadas) e ao tempo (agendas diferentes), o que incita a prevalência de comunicação virtual e assíncrona^{4,11}. Portanto, a disponibilidade de tempo para interagir e de espaços físicos para reuniões se torna primordial nesse contexto¹³. Com relação aos determinantes psicológicos, podem-se citar falta de disposição para colaborar (sendo influenciada por coesão do grupo, estabilidade na composição da equipe, experiências prévias e maturidade), de confiança mútua, respeito e comunicação. A linguagem deve ser inclusiva, adaptando-se conforme a formação e a capacidade de entendimento de cada membro^{4,11}.

Outros fatores que influenciam negativamente na eficácia de uma equipe são: suporte institucional inadequado ou ausente, falta de treinamento em trabalho em equipe, falta de orientação para novos membros que são incluídos no grupo, falta de confiança mútua, excesso ou ausência de conflito, falta de objetivos claros, dominância de alguns membros com consequente exclusão de outros, rotatividade excessiva dos membros (se torna mais difícil de conquistar confiança entre os integrantes), dificuldade em se definir conceitos, falta de avaliação dos processos da equipe⁸.

No contexto hospitalar em especial, variações no tamanho e nos membros da equipe e a dispersão geográfica dos profissionais constituem importantes barreiras que limitam o sucesso do trabalho do grupo. Uma das principais consequências dessa dinâmica é a inconsistência da comunicação, com possibilidade de discordância entre os diferentes profissionais sobre o plano de cuidado do paciente. Mesmo quando a comunicação ocorre, existe o risco de que o médico julgue que a informação foi devidamente passada e compreendida, quando, na verdade, isso pode não ser o que de fato ocorreu. Além disso, a existência de hierarquia acentuada entre os profissionais prejudica a colaboração entre os mesmos^{1,9}.

Toda equipe passa por momentos de adversidade, que podem ser exemplificados pelo atendimento de um caso complexo e desafiador, ou por falta de recursos humanos. Em situações de adversidade, existe uma tendência em se tentar achar um culpado e em se questionar o sistema ou o líder. É nessas horas que a colaboração se torna ainda mais essencial e que a integridade da equipe se revela. Desafios requerem que cada integrante mantenha seu comprometimento com o principal objetivo, que é o melhor cuidado ao paciente¹⁰.

Existe um reconhecimento crescente sobre a importância do trabalho em equipe (em oposição ao rígido gerenciamento hierárquico) no cuidado ao paciente. A resistência à mudança nos métodos de trabalho imposta pela tradição de décadas⁶ deve ser

enfrentada por meio do processo educacional ainda na graduação. Infelizmente, o currículo da maioria das Faculdades de Medicina não conta com instruções quanto a conhecimentos específicos, habilidades e atitudes necessários para o trabalho em equipe¹⁵. Contudo, evidências mostram que a implementação de educação interprofissional cedo nos cursos de graduação influencia positivamente a percepção dos estudantes sobre o trabalho em equipe. Portanto, deve-se encorajar a incorporação desse aspecto da formação no ensino para estimular o trabalho colaborativo no futuro^{10,13}.

Conflitos de interesse

A autora não possui conflitos de interesse.

Referências

- O'Leary KJ, Sehgal NL, Terrell G, Williams MV. Interdisciplinary teamwork in hospitals: a review and practical recommendations for improvement. *J Hosp Med*. 2012;7:48-54.
- Nancarrow SA, Booth A, Ariss S, Smith T, Enderby P, Roots A. Ten principles of good interdisciplinary team work. *Hum Resour Health*. 2013;11:19.
- Duma N, Maingi S, Tap WD, Weekes CD, Thomas CR Jr. Establishing a mutually respectful environment in the workplace: a toolbox for performance excellence. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2019;39:e219-26.
- Morley L, Cashell A. Collaboration in Health Care. *J Med Imaging Radiat Sci*. 2017;48(2):207-16.
- Mayo AT, Woolley AW. Teamwork in health care: maximizing collective intelligence via inclusive collaboration and open communication. *AMA J Ethics*. 2016;18:933-40.
- Horwitz SK, Horwitz IB, Barshes NR. Addressing dysfunctional relations among healthcare teams: improving team cooperation through applied organizational theories. *Adv Health Care Manag*. 2011;10:173-97.
- Olupeliyawa A. Collaboration in healthcare: implications and educational strategies for postgraduate medical education. *J Postgrad Inst Med*. 2020;6(2):e1011-5.
- Ellingson L. Communication, collaboration, and teamwork among health care professionals. *Commun Res Trends*. 2002;1:1-21.
- Uhlig PN, Doll J, Brandon K, Goodman C, Medado-Ramirez J, Barnes MA, et al. Interprofessional practice and education in clinical learning environments: frontlines perspective. *Acad Med*. 2018;93(10):1441-4.
- Bosch B, Mansell H. Interprofessional collaboration in health care: lessons to be learned from competitive sports. *Can Pharm J (Ott)*. 2015;148(4):176-9.
- Ezziane Z, Maruthappu M, Gawn L, Thompson EA, Athanasiou T, Warren OJ. Building effective clinical teams in healthcare. *J Health Organ Manag*. 2012;26(4-5):428-36.
- Eichbaum Q. Collaboration and teamwork in the health professions: rethinking the role of conflict. *Acad Med*. 2018;93(4):574-80.
- San Martín-Rodríguez L, Beaulieu MD, D'Amour D, Ferrada-Videla M. The determinants of successful collaboration: a review of theoretical and empirical studies. *J Interprof Care*. 2005;19(supl. 1):132-47.
- Rosen MA, Diaz-Granados D, Dietz AS, Benishek LE, Thompson D, Pronovost PJ, et al. Teamwork in healthcare: key discoveries enabling safer, high-quality care. *Am Psychol*. 2018;73(4):433-50.
- Banerjee A, Slagle JM, Mercaldo ND, Booker R, Miller A, France DJ, et al. A simulation-based curriculum to introduce key teamwork principles to entering medical students. *BMC Med Educ*. 2016;16(1):295.

Recebido: 10 Fev, 2021

Aceito: 07 Jun, 2021

CASE REPORT: BUSCHKE-LÖWENSTEIN TUMOR IN A NON-IMMUNOSUPPRESSED PATIENT

Beatriz Lima Araújo¹, Maria Eduarda dos Santos Tavares de Lira¹,
Leandro Costa Gonçalves de Oliveira², Jacinto da Costa Silva Neto³,
Arnaldo Rodrigues Patrício¹, Isnaia Firminia de Souza Almeida¹,
Sydney Correia Leão¹, Pedro Pereira Tenório¹

ABSTRACT

The present work aims to report a case of Buschke-Löwenstein tumor (BLT), which is a mass of genital warts that usually affects immunosuppressed people. The reported case was diagnosed in a young patient with no known immunosuppression. Several tests were performed to confirm the diagnostic hypothesis, including immunohistochemistry, histological, molecular and imaging analysis. The results obtained were confirmatory in all analyses, except in the molecular one. Because BLT is a rare condition, there is still great literary heterogeneity regarding the ideal treatment, but some options can be considered, such as excision and radiotherapy.

Keywords: *Buschke-Löwenstein tumor; HPV; Immune system*

Clin Biomed Res. 2021;41(3):1-261

1 Universidade Federal do Vale do São Francisco. Paulo Afonso, BA, Brasil.

2 Instituto de Patologia do Vale. Petrolina, PE, Brasil.

3 Universidade Federal de Pernambuco. Recife, PE, Brasil.

Corresponding author:

Pedro Pereira Tenório
pedrotenorio28@gmail.com
Rua Félix Benzota de Carvalho,
16, apt. 101
48603-430, Paulo Afonso, BA, Brasil.

INTRODUCTION

The Buschke-Löwenstein tumor (BLT) is a rare entity characterized by large genital warts, which can invade adjacent dermal structures and form fistulas and abscesses, in addition to presenting metastatic potential¹. BLT is considered a type of giant condyloma acuminatum and was first described in 1925 by German dermatologists Abraham Buschke and L. W. Löwenstein². It is a sexually transmitted infection mostly associated with low-risk human papillomavirus (HPV) types 6 and 11. More than 150 strains of HPV have been identified, but their risk of causing serious illness is different. Thus, HPV strains are classified into high-risk HPV and low-risk HPV³. The highest rate of HPV infection is seen in adults aged 18 to 28 years⁴, associated with immunosuppression, poor hygiene, infection with the human immunodeficiency virus (HIV), and anal sex⁵. This report exhibits an unusual case of an HIV-negative man who developed BLT.

CASE PRESENTATION

A 18-year-old black man with male sexual partners sought the Dermatology Service complaining of a voluminous lesion in the perianal region over the last 11 months. Initially, he also complained of proctalgia and minor local hemorrhage, which became more intense in the last 2 months. He denied any incontinence, and also denied diabetes mellitus. The results for HIV and other sexually transmitted infections tests were negative. Proctological examination revealed a verrucous and infiltrative lesion measuring 13 cm in its longest axis and exteriorized by the anal canal (Figure 1-A) which was biopsied. The patient was referred to the surgery service to remove the tumor with preservation of the anal sphincter. During the clinical visit, four specimens of the lesion were collected for later histopathological and molecular investigation.

Macroscopic analysis and histological

The macroscopic analysis showed that the specimens (Figure 1-B) consisted of four irregular fragments. They were brown, firm-elastic and measured together 2.1 cm × 1.8 cm × 0.6 cm. When cut, the specimens had a white inner surface and papillomatous conformational outline.

Histological sections from the lesion were subjected to hematoxylin-eosin (HE) staining (Figures 1-C and D). For immunohistochemical analysis, the biotin free method was used and then conjugated with horseradish peroxidase (HRP). Mouse monoclonal antibodies against the p16INK4a protein, dilution 1:100 (Zeta Corporation; Clone G175-405) were used. For negative controls, we used known negative cervical samples, without using the primary antibody. For positive control, we also used a cervical sample known as positive for p16INK4a. A qualitative analysis of reactivity was performed by immunohistochemistry, considering the intensity and location. The results were described as negative when in the absence of reactivity and positive when reactivity was present in more than 10% of the field. The reaction was qualified by the detection of the protein in the nucleus and in the nuclear membrane (Figures 1-E and F).

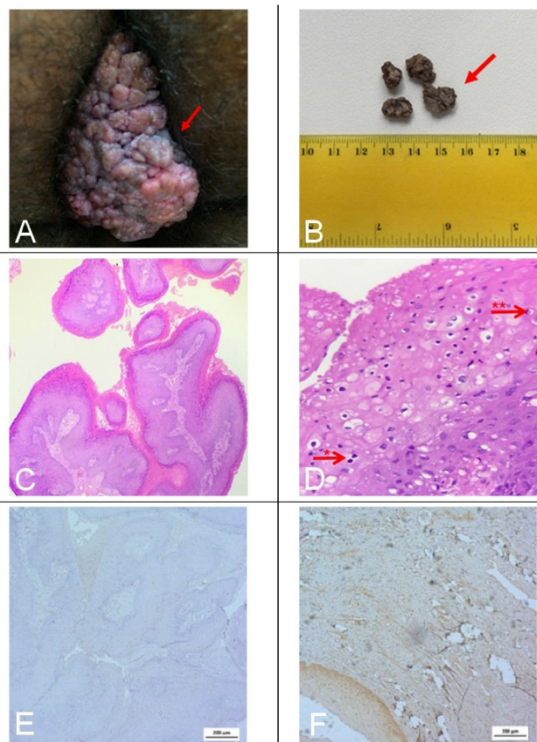


Figure 1: A: Gross view of the Buschke-Löwenstein tumor. Note the huge vegetating lesion in the perianal region; B: Specimens removed from the lesion for macroscopic analysis. For the histopathological analysis, hematoxylin and

eosin (HE) staining were used (Figure 1-C e 1-D); C and D: Histopathologic examination of biopsies of the perianal lesion. The cuts showed an acanthotic, papillomatous architecture, hyperkeratosis, parakeratosis (3A). Intracytoplasmatic vacuolizations with hyperchromatic and irregular nuclei, binucleations, diskeratosis, and coarse keratohyalin granules (3B) were noted. The histological analysis was compatible with condyloma acuminatum. *: coilocytic alteration; **: diskeratosis. HE staining at 100x; E and F: Immunohistochemical study of p16INK4a expression. Pictures representing the absence of expression (E) and diffuse nuclear epithelial expression (F).

Molecular analysis

For the detection of HPV DNA, polymerase chain reaction (PCR) was used with the set of consensus and degenerate MY09/11 primers. MY09/11 primers were used in the present study, since they amplify a highly preserved 450PB partial sequence of the L1 gene of 47 papillomaviruses. The analysis of the samples was negative for DNA-HPV according to Table 1.

Table 1: Primers used in the detection of HPV.

		Size (BP)	
Primer	Sequence of oligonucleotides (5'-3')	Oligo	Fragment
MY09	CGTCCMARRGGAWACTGATC	20	445
MY11	GCMCAGGGWCATAAATGG	20	
GP05	TTTGTACTGTGGTAGATAC	20	
FOLDING METHOD		20	
GP06	GAAAAATAAACTGTAAATCA	20	170

Image analysis by magnetic resonance imaging (MRI)

MRI evidenced a perianal tumor lesion with exophytic, expansive formation, with no signs of invasion of adjacent structures or of inflammatory impairment of the fatty tissue that borders the lesion, as well as without compromising the penile components. The patient was referred to the surgery service to remove the tumor with preservation of the anal sphincter.

DISCUSSION

BLT is a rare and sexually transmissible disease associated with HPV infection⁶. Its clinical manifestations include pain, bleeding, pruritus, and appearance of fistulas⁷. Such manifestations are present in this case, since the patient complained of rectal pain and bleeding. The most frequently affected site is the penis in men and the vulva in women, with perineal involvement being less common for both

genders⁸. The risk factor for developing BLT is immunosuppression caused by diabetes mellitus, HIV infection, chemotherapy, use of corticosteroids, herpes simplex virus infection, pregnancy, long-term alcohol and tobacco misuse, in addition to poor local hygiene¹. Although non-immunosuppressed patients with verrucas resistant to treatment were identified in the literature⁴, immunosuppression leads to a higher growth of condyloma and increases the risk of malignant transformation by benefiting from the oncogenesis mechanisms caused by HPV infection⁹. In this case, the fact that the patient were not immunosuppressed, even after exhaustive investigation, is to be noticed.

It is important to point out that there is a vaccination available against the HPV virus, which is recommended to be taken before the initiation of sexual life. Taking the vaccination at the correct time could avoid BLT, as well as others serious conditions such as cervix cancer in women¹⁰.

It is not known whether BLT, simple condyloma acuminatum, and squamous cell carcinoma of the

anus are a spectrum of evolution or separate entities. This controversy is based on the pattern of malignant growth, despite with benign histological features: a well-differentiated hyperplastic epithelium with minimal atypia. Hyperkeratosis and parakeratosis with prominent granular layer can also be observed⁶. The same characteristics were evidenced by the histopathologic analysis of the case reported in this study, corroborating the diagnosis. The giant condyloma acuminatum behaves as an intermediary, with its slow growth, and a malignancy potential of 30 to 56% of the cases.

The patient was referred for tumor removal with preservation of the anal sphincter through surgical excision. The cure rate for this condition is 61%, and surgical excision can be used to treat recurrences successfully.

Conflicts of Interests

The authors declare no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Santos L, Borges N, Nunes S, Ramos J, Almeida C, Paixão I. Buschke-Löwenstein tumor: a case in a patient with human immunodeficiency virus and human papilloma virus co-infection. *GE Port J Gastroenterol*. 2012;19(4):199-203.
2. Hernández MC, Salamanca-Mora S, Cruz-Garnica A. Buschke-Löwenstein tumour: case presentation and review of the literature. *Rev Colomb Obstet Ginecol*. 2016;67(1):61-8.
3. Corneanu LM, Stănculescu D, Corneanu C. HPV and cervical squamous intraepithelial lesions: clinicopathological study. *Rom J Morphol Embryol*. 2011;52(1):89-94.
4. Cubie HA. Diseases associated with human papillomavirus infection. *Virology*. 2013;445(1-2):21-34.
5. Niazy F, Rostami K, Motabar AR. Giant condyloma acuminatum of vulva frustrating treatment challenge. *World J Plast Surg*. 2015;4(2):159-62.
6. Nordsiek M, Ross C, Metro M. Successful surgical management of giant condyloma acuminatum (Buschke Lowenstein tumor) in the urethra of a female patient: a case report. *Curr Urol*. 2015;8:49-52.
7. Chu GY, Chang TC, Chang CH. Buschke-Löwenstein tumor (giant condyloma acuminatum) successfully treated by topical photodynamic therapy: a case report. *Dermatol Sinic*. 2013;31:94-7.
8. Spinu D, Rădulescu A, Bratu O, Checheriță IA, Ranetti AE, Mischianu D. Giant condyloma acuminatum: Buschke-Löwenstein disease: a literature review. *Chirurgia (Bucur)*. 2014;109(4):445-50.
9. Indinnimeo M, Impagnatiello A, D'Ettore G, Bernardi G, Moschella CM, Gozzo P, et al. Buschke-Löwenstein tumor with squamous cell carcinoma treated with chemo-radiation therapy and local surgical excision: report of three cases. *World J Surg Oncol*. 2013;11:231.
10. Cheng L, Wang Y, Du J. Human papillomavirus vaccines: an updated review. *Vaccines*. 2020;8(3):391.

Received: Dec 28, 2020

Accepted: June 7, 2021

PANCREATIC COLLISION TUMOR: MUCINOUS CYSTADENOMA AND CLEAR CELL RENAL CELL CARCINOMA METASTASIS

Ivan Morzoletto Pedrollo¹, Natália Henz Concatto¹, Simone Márcia dos Santos Machado², Alessandro Bersch Osvaldt^{3,4,5}, Caroline Lorenzoni Almeida Ghezzi^{1,6}

ABSTRACT

Clin Biomed Res. 2021;41(3):262-263

1 Radiology Service, Hospital Moinhos de Vento. Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Pathology Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Digestive Surgery Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS, Brasil.

4 Hospital Moinhos de Vento Pancreas Group. Porto Alegre, RS, Brasil.

5 Medical School, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

6 Radiology Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS, Brasil.

Corresponding author:

Ivan Morzoletto Pedrollo
ivanped@gmail.com
Hospital Moinhos de Vento
Rua Ramiro Barcelos, 910, Bloco D
90035-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

We present a clinical, radiological, surgical, and pathological correlation case of a 49-year-old woman with a prior nephrectomy due to a clear cell renal cell carcinoma, who was then diagnosed with a multilocular cystic lesion in the pancreatic tail after a routine ultrasound. Computed tomography and magnetic resonance cholangiopancreatography showed a multilocular cystic lesion with a hypervascular wall nodule in the pancreas. The patient underwent a distal pancreatectomy and had a final diagnosis of pancreatic mucinous cystadenoma with an associated component of clear cell renal cell carcinoma (collision tumor of the pancreas).

Keywords: *Collision tumor; Pancreas; Metastasis; Clear cell renal cell carcinoma; Mucinous cystadenoma*

A 49-year-old woman with a prior left nephrectomy due to a clear cell renal cell carcinoma (RCC) was diagnosed with a cystic lesion in the pancreatic tail on abdominal ultrasound in the second year of follow-up (Figure 1A). The findings were confirmed with a contrast-enhanced computed tomography (Figure 1B) and a magnetic resonance image (MRI) (Figure 2A) with cholangiopancreatography (MRCP) (Figure 2B). Both studies demonstrated a multilocular macrocystic lesion, without communication with the main pancreatic duct, with a hypervascular peripheral solid nodule, suggesting a neoplastic tissue with high cellularity. A distal pancreatectomy was performed. The final pathological diagnosis demonstrated a pancreatic collision tumor composed of mucinous cystadenoma and RCC metastasis (Figure 3).

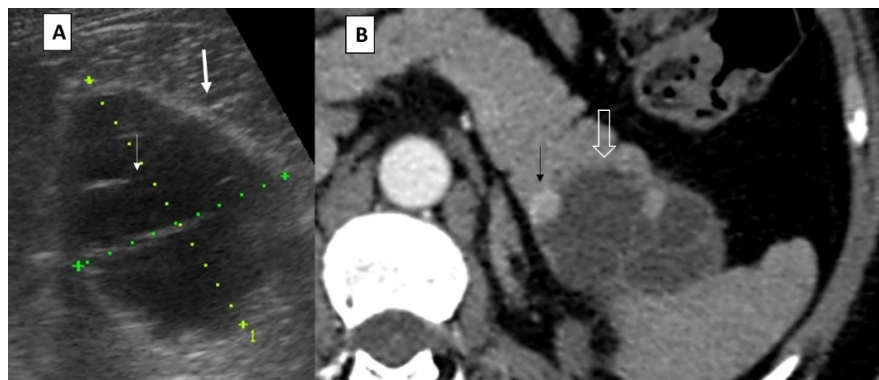


Figure 1: A: Abdominal ultrasound showing a predominantly anechoic cystic lesion in the tail of the pancreas, containing septations (thin arrow) and thick walls (thick arrow); B: Contrast-enhanced computed tomography showing a multiseptated cystic lesion in the pancreatic tail (empty arrow), with a peripheral solid component (black arrow).

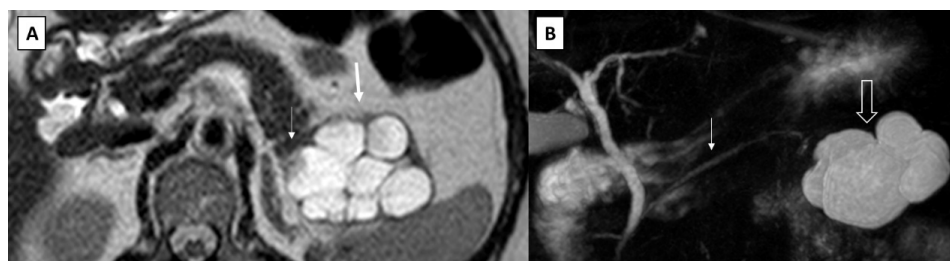


Figure 2: A: Axial T2-weighted magnetic resonance image showing a multiloculated macrocystic lesion (thick arrow), predominantly hyperintense on T2, with a solid component with intermediate T2 signal (thin arrow); B: Magnetic resonance cholangiopancreatography showing a normal caliber of main pancreatic duct (thin arrow), with no evidence of communication with the cystic lesion (empty arrow).

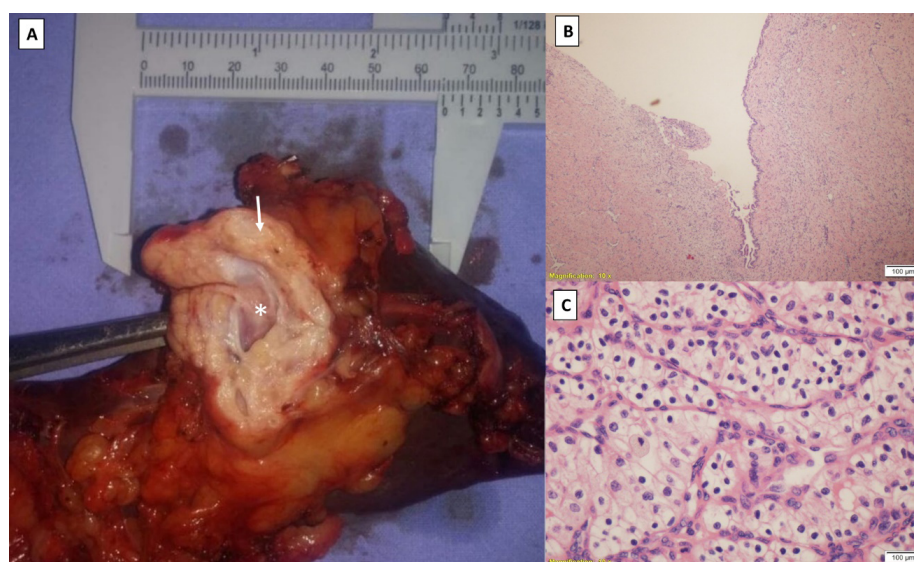


Figure 3: A: Gross specimen: incised pancreas consisting of an empty and multiloculated cavity (*), with smooth inner lining and fibrous walls (arrow); B: Pancreatic monolayer mucous lining cyst (hematoxylin/eosin staining); C: Clear cell renal cell carcinoma found on tissue dissection on the periphery of the lesion (hematoxylin/eosin staining).

Differential diagnosis included mucinous cystadenoma/cystadenocarcinoma, cystic neuroendocrine tumor, pseudopapillary solid tumor, and metastasis. Only 2% to 5% of all malignancies cause metastasis to the pancreas¹. RCC is more likely to metastasize to the pancreas and can manifest as a solitary or as multiple masses². A collision tumor consists of at

least two types of tumors in the same anatomical site³. We did not find any report in the literature of a pancreatic collision tumor with such characteristics.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Stauffer JA, Asbun HJ. Rare tumors and lesions of the pancreas. *Surg Clin North Am.* 2018;98(1):169-88.
2. Cheng SKH, Chuah KL. Metastatic renal cell carcinoma to the pancreas: a review. *Arch Pathol Lab Med.* 2016;140(6):598-602.
3. Wang Y, Gandhi S, Basu A, Ijeli A, Kovarik P, Sekosan M, et al. Pancreatic collision tumor of ductal adenocarcinoma and neuroendocrine tumor. *ACG Case Rep J.* 2018;5:e39.

Received: Oct 6, 2020

Accepted: Mar 15, 2021

ADRENOCORTICAL CARCINOMA IN A PEDIATRIC PATIENT WITH LI-FRAUMENI-LIKE SYNDROME: AN ENDEMIC CONDITION IN SOUTHERN BRAZIL

Mariana Mendes Knabben¹, Renan Reis Caldas¹, Jéssica Onofre de Brito Lima², Aline Spader Casagrande^{1,3}, Caroline Lorenzoni Almeida Ghezzi^{1,3}

CASE PRESENTATION

Clin Biomed Res. 2021;41(3):264-266

1 Serviço de Radiologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Serviço de Patologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Serviço de Radiologia, Hospital Moinhos de Vento. Porto Alegre, RS, Brasil.

Corresponding author:

Mariana Mendes Knabben
mknabben@hcpa.edu.br
Serviço de Radiologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Rua Ramiro Barcelos, 2350
90035-007, Porto Alegre, RS, Brasil.

A 12-year-old patient with a known germline *TP53*-R337H mutation and family history of early adrenocortical carcinoma (ACC) was admitted to the hospital with abdominal pain and distention. Physical examination revealed cushingoid facies, high blood pressure, and high pulse rate. Laboratory tests showed high serum cortisol and suppressed plasma adrenocorticotrophic hormone.

Abdominal ultrasound and computed tomography (CT) revealed a heterogeneous mass in the right adrenal gland measuring 13.5 × 10.4 × 9.4 cm and containing calcifications (Figures 1 and 2). The tumor extended via an intrahepatic segment of the inferior vena cava directly into the right atrium (Figure 2).

Histological analysis of the adrenal mass demonstrated a tissue with high mitotic rate, atypical mitotic figures, necrosis, and diffuse proliferation of large polygonal and eosinophilic neoplastic cells, related to ACC (Figure 3). The patient deteriorated despite chemotherapy and died in a few months.

DISCUSSION

Adrenocortical malignancies are very rare, with a peak incidence in patients between 40 and 50 years old. These lesions are even rarer in children, among which they are typically associated with two genetic syndromes: Beckwith-Wiedemann syndrome and Li-Fraumeni syndrome (LFS)¹.

In southern Brazil, the incidence of ACC in children is 2.9-4.2 cases per million children per year, while the global incidence is approximately 0.2-0.3 cases per million per year. This difference is related to a specific germline *TP53* mutation (R337H), a low penetrance mutation that shows distinct phenotypes in different families and has been reported to be associated with ACC in children and with other forms of cancer in the LFS spectrum. The estimated prevalence of this mutation in the southern Brazil's population is 1:300 individuals, while in Europe and North America it is 1:2,000-1:5,000 people².

The LFS spectrum is related to a mutation in the *TP53* tumor suppressor gene that shows an autosomal dominant inheritance pattern. It is associated with the diagnosis of various neoplasms at young age, such as ACC, breast cancer, central nervous system tumors, osteosarcomas, and soft-tissue sarcomas¹. A study conducted in southern Brazil showed that 25% of pediatric patients with tumors related to the LFS spectrum fulfill clinical criteria for these syndromes¹.

Genetic tests have become more advanced and available, which has led to higher diagnosis rates of genetic syndromes that increase the predisposition to neoplasms. Imaging tests such as abdominal ultrasound, whole-body and brain magnetic resonance imaging can be useful for screening and for early diagnosis, with an impact on treatment and prognosis, and also for avoiding radiation exposure related to CT. We recommend guidelines useful for diagnosis and follow-up of patients with LFS, such as the ones written by the European Reference Network (ERN) on Genetic Tumor Risk Syndromes (GENTURIS)³ and by the American Association for Cancer Research (AACR) modified Toronto protocol⁴. In conclusion, we highlight that every child with ACC, especially in the endemic area of Brazil, should be investigated for LFS, in order to receive proper genetic counseling for themselves and for their families.

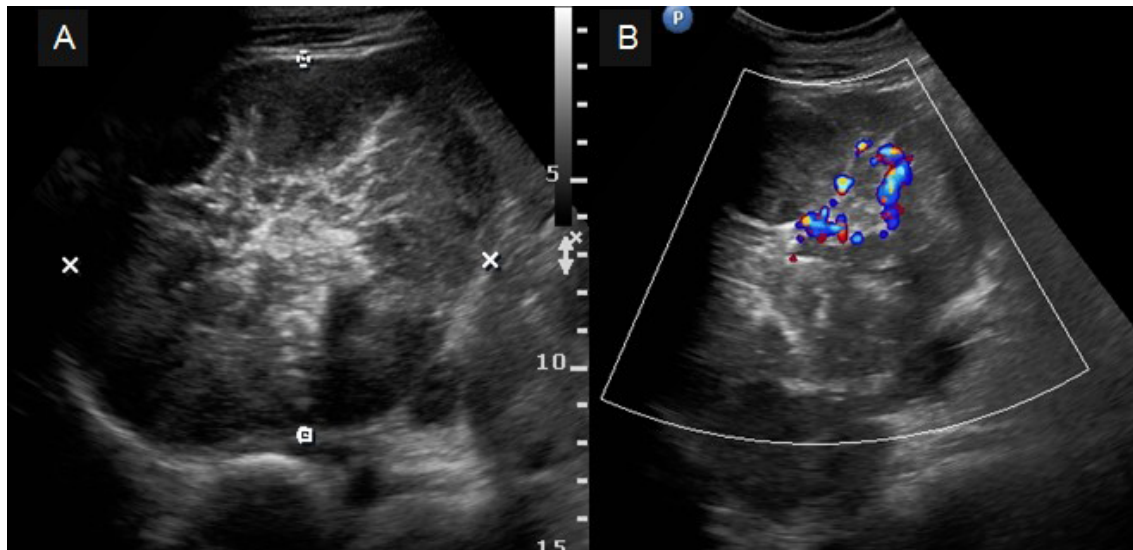


Figure 1: Abdominal ultrasound. A: Heterogeneous right adrenal mass with hyperechoic contents and calcifications; B: Color Doppler analysis shows central blood flow in the lesion.

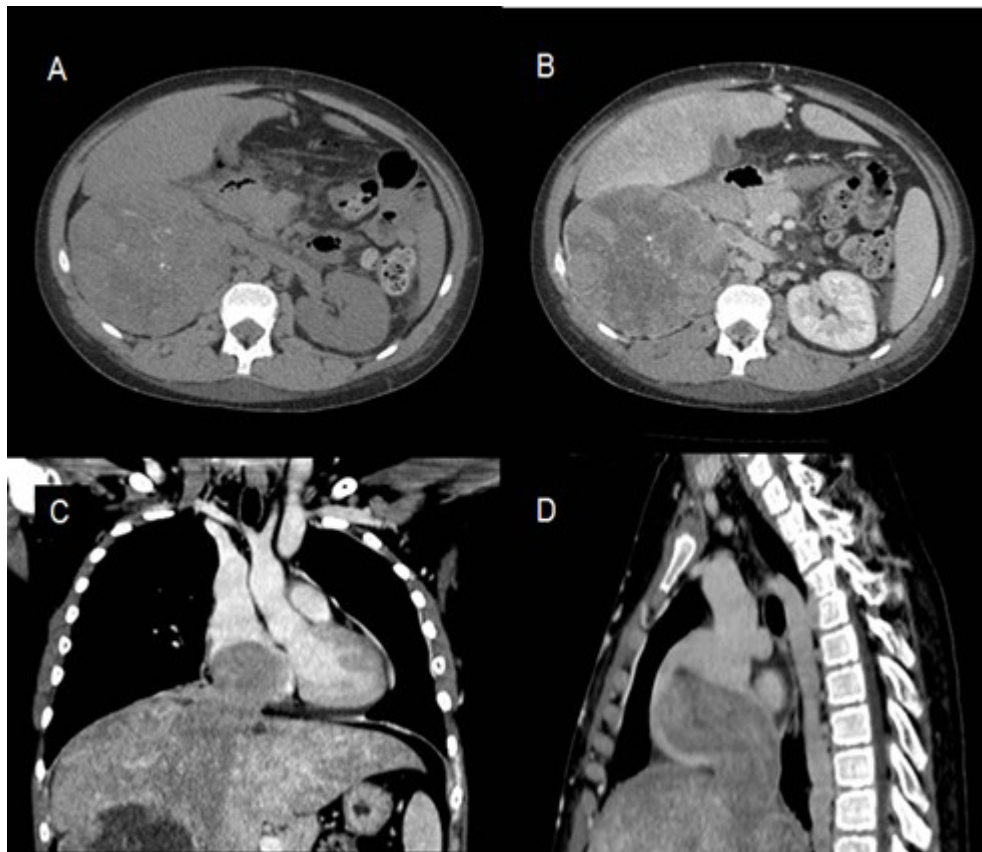


Figure 2: Abdominal computed tomography (CT). A: Axial unenhanced CT shows a large right adrenal mass with internal calcification; B: Axial portal venous phase CT shows regions of non-enhancing tissue consistent with necrosis and tumor extending into the inferior vena cava; C: Coronal CT; D: sagittal CT show the tumor extending into the intrahepatic segment of inferior vena cava and right atrium.

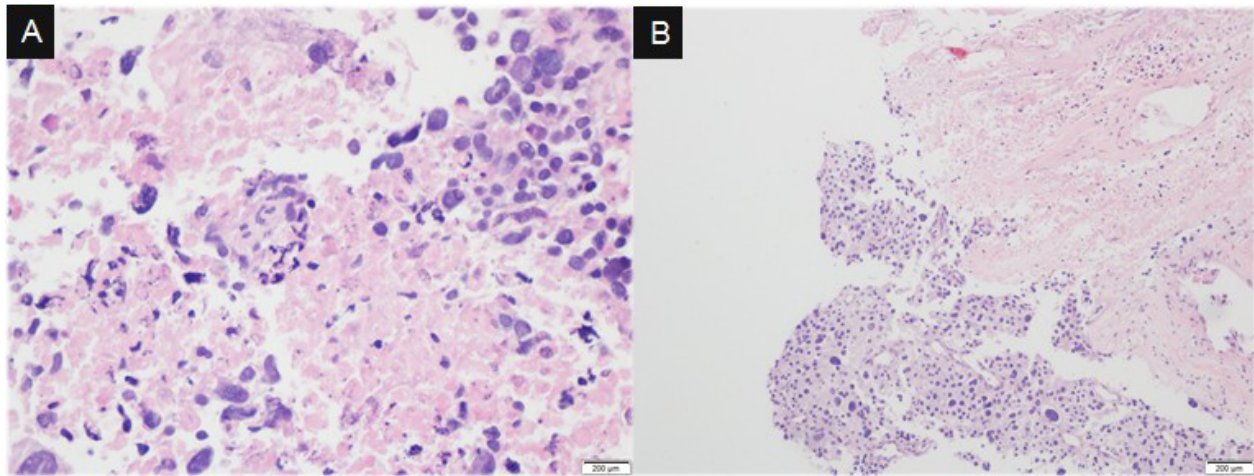


Figure 3: (A) and (B) Hematoxylin and eosin stain (H&E) stain. The tumor cells have a high mitotic rate, atypical mitotic figures, necrosis, and a diffuse proliferation of large polygonal and eosinophilic neoplastic cells, related to adrenocortical carcinoma.

References

1. Lalli E, Figueiredo BC. Pediatric adrenocortical tumors: what they can tell us on adrenal development and comparison with adult adrenal tumors. *Front Endocrinol.* 2015;6:23.
2. Custódio G, Komechen H, Figueiredo FRO, Fachin ND, Pianovski MAD, Figueiredo BC. Molecular epidemiology of adrenocortical tumors in southern Brazil. *Mol Cell Endocrinol.* 2012;351(1):44-51.
3. Frebourg T, Lagercrantz SB, Oliveira C, Magenheimer R, Evans DG; European Reference Network GENTURIS. Guidelines for the Li-Fraumeni and heritable TP53-related cancer syndromes. *Eur J Hum Genet.* 2020;28(10):1379-86.
4. Kratz CP, Achatz MI, Brugières L, Frebourg T, Garber JE, Greer MLC, et al. Cancer screening recommendations for individuals with Li-Fraumeni syndrome. *Clin Cancer Res.* 2017;23(11):e38-45.

Received: Sep 5, 2020

Accepted: May 11, 2021

PSS HEALTH: COMO CALCULAR TAMANHO DE AMOSTRA PARA ESTIMAR MÉDIA, PROPORÇÃO E CORRELAÇÃO

PSS HEALTH: HOW TO CALCULATE A SAMPLE SIZE TO ESTIMATE MEANS, PROPORTIONS, AND CORRELATIONS

Stela Maris de Jezus Castro^{1,2}, Aline Castello Branco Mancuso¹, Suzi Alves Camey^{1,2}, Vanessa Bielefeldt Leotti^{1,2}, Vânia Naomi Hirakata¹, Rogério Boff Borges¹

RESUMO

A ferramenta PSS Health (*Power and Sample Size for Health Researchers*) foi desenvolvida com o propósito de facilitar o cálculo do tamanho amostral e do poder de testes de hipóteses para diferentes objetivos de estudo, usando interface amigável e terminologia comum à área da saúde. Este é o primeiro de uma série de artigos que pretendem orientar o usuário na utilização da ferramenta PSS Health para o planejamento de uma pesquisa. Neste artigo, se ensina como utilizar o PSS Health quando o objetivo principal do estudo é estimar uma média, estimar uma proporção (prevalência ou incidência) ou estimar uma correlação. São disponibilizados vídeos demonstrando o uso da ferramenta em cada um dos contextos citados.

Palavras-chave: *Tamanho de amostra; Estimação de parâmetros; R; Shiny*

ABSTRACT

The PSS Health (*Power and Sample Size for Health Researchers*) tool was developed with the purpose of facilitating the calculation of sample size and power of hypothesis tests for different study objectives, based on a user-friendly interface and common health care terminology. This is the first in a series of articles intending to guide the user in how to use the PSS Health tool for planning a research project. This article teaches how to use PSS Health when the main objective of the study is to estimate means, proportions (prevalence or incidence), or correlations. Videos showing how to use the tool in each of the mentioned contexts are available.

Keywords: *Sample size, Parameter estimation, R, Shiny*

Clin Biomed Res. 2021;41(3):267-274

1 Unidade de Bioestatística, Grupo de Pesquisa e Pós-graduação (GPPG), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Departamento de Estatística, Instituto de Matemática e Estatística (IME), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

Autor correspondente:

Stela Maris de Jezus Castro
bioestatistica@hcpa.edu.br
Unidade de Bioestatística, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)
Rua Ramiro Barcelos, 2350
90035-007, Porto Alegre, RS, Brasil.

INTRODUÇÃO

A ferramenta PSS Health (*Power and Sample Size for Health Researchers*), para cálculo do tamanho amostral e do poder de testes de hipóteses, foi apresentada à comunidade no artigo intitulado “Power and Sample Size for Health Researchers: uma ferramenta para cálculo de tamanho amostral e poder do teste voltado a pesquisadores da área da saúde”, de Borges et al.¹, e pode ser utilizada diretamente pelo computador através do software livre R², com o pacote PSS.Health³, ou on-line no site da Unidade de Bioestatística (<https://sites.google.com/hcpa.edu.br/bioestatistica>) ou diretamente no endereço https://hcpa-unidade-bioestatistica.shinyapps.io/PSS_Health.

A criação desta ferramenta tem como principal motivação facilitar o cálculo de tamanho de amostra e poder de diversos projetos de pesquisa, através do uso de diferentes técnicas estatísticas. Na área da saúde, a maior parte dos estudos utiliza uma amostra representativa da população de interesse e os resultados encontrados na amostra são inferidos para a população. Esta etapa do estudo pode ser chamada de inferência estatística, a qual pode ser dividida

em duas grandes áreas: estimação de parâmetros e testes de hipóteses sobre estes parâmetros.

Este artigo pretende orientar o usuário na utilização da ferramenta PSS Health para o planejamento de uma pesquisa quando o objetivo principal do estudo é estimar parâmetros estatísticos. Os parâmetros elencados aqui são: a média, a proporção (que também pode ser chamada de risco, prevalência ou incidência) e o coeficiente de correlação. Diferenças básicas no cálculo de tamanho de amostra entre estimação e testes de hipóteses podem ser vistas na resposta para a pergunta “Tamanho de amostra para teste de hipóteses e/ou para intervalo de confiança?” em Borges et al.⁴.

ESTIMAÇÃO DE PARÂMETROS

Em estatística, um parâmetro é a medida usada para descrever uma característica ou quantidade numérica populacional para uma variável de interesse, isto é, só poderia ser obtida se fosse avaliada em todos os elementos da população em estudo (o que caracteriza um censo). Se a variável de interesse for do tipo quantitativa, o parâmetro poderia ser a média da mesma (por exemplo, a média da idade em que ocorreu o diagnóstico de uma determinada doença) ou, se a variável for do tipo categórica, o parâmetro poderia ser a proporção de ocorrência da categoria de interesse da mesma (por exemplo, prevalência de fumantes, cujas categorias são “FUMANTE” e “NÃO FUMANTE”). Já o estimador do parâmetro populacional, também denominado *estatística*, é a descrição da mesma característica, porém determinada em uma amostra da população de interesse⁵. Por exemplo, a estimativa da média de idade de uma população é a média da idade observada em uma amostra.

A estimação de parâmetros pode ser realizada em duas formas: a estimação pontual e a estimação por intervalo de confiança. A estimativa por intervalo é útil em função da necessidade de se obter uma precisão da estimativa pontual para o parâmetro de interesse. Quando utilizada apenas a estimativa pontual, não há informação alguma sobre o quão próxima (ou distante) esta estimativa pode estar do verdadeiro valor do parâmetro estudado.

Assim, para o cálculo de tamanho de amostra em estudos onde o objetivo é a estimação de parâmetros, em geral o pesquisador precisará definir: o nível de confiança desejado para o intervalo de confiança (frequentemente 95%); a margem de erro desejada, frequentemente informada como amplitude do intervalo de confiança ou semi-amplitude (metade da largura total do intervalo de confiança); e uma medida prévia da variável de interesse. Uma medida prévia da variável de interesse como, por exemplo, a estimativa da variabilidade ou da proporção desejada, pode ser

obtida em estudos anteriores onde esta variável foi mensurada (de preferência na mesma população alvo) ou de amostras piloto⁶.

USO DO PSS HEALTH PARA CALCULAR O TAMANHO DE AMOSTRA

Tamanho de amostra para estimar uma média

Suponha um estudo no qual o objetivo seja conhecer a pressão arterial sistólica média de crianças com excesso de peso no primeiro ano de vida em acompanhamento em um determinado hospital. Para tanto, será selecionada uma amostra aleatória simples de crianças em atendimento neste hospital durante o período de 2 anos e o pesquisador precisa saber quantas devem ser selecionadas para fazer parte da amostra, ou seja, o pesquisador precisa saber o tamanho da amostra (exemplo adaptado de Vieira et al.⁷).

As informações requeridas para o cálculo do tamanho de amostra para este estudo são:

1. Nível de confiança desejado para o intervalo de confiança;
2. Margem de erro desejada para o intervalo de confiança (semi-amplitude absoluta do intervalo de confiança);
3. Desvio padrão esperado para a variável pressão sistólica (desfecho) na população de crianças com excesso de peso em seu primeiro ano de vida.

Para calcular o tamanho da amostra para estimar uma média no site do PSS Health, deve-se clicar na aba “MÉDIAS” e em seguida na opção “UMA AMOSTRA” (Figura 1).

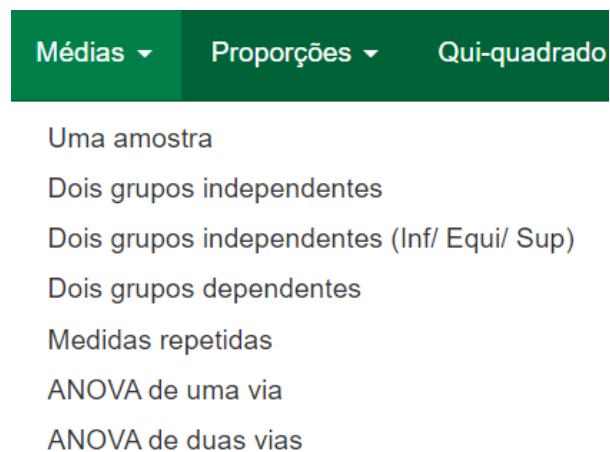


Figura 1: Aba do PSS Health para cálculo de tamanho de amostra e poder para o parâmetro média.

Ao selecionar “UMAAMOSTRA” aparecerão três abas com as opções de cálculo de tamanho de amostra para estimar uma média, para testar uma média e uma aba com a opção para cálculo de poder. Clicando na aba “ESTIMAR” as caixas com as informações requeridas para o cálculo de tamanho de amostra para estimar uma média irão aparecer (Figura 2). Observe que, além das informações elencadas anteriormente (itens 1, 2 e 3), é necessário informar a opção do processo de amostragem aleatória. Dentre os demais campos apresentados, também é possível descrever o nome do desfecho e a unidade de medida deste desfecho para edição do parágrafo a ser sugerido pelo programa (Figura 3). Por fim, há uma caixa para incluir no cálculo um percentual de perdas ou recusas, caso seja de interesse. Em caso de dúvida sobre as informações requeridas em cada campo, pode-se clicar na interrogação apresentada ao lado do mesmo e obter uma ajuda quanto à sua definição e como preencher. A Figura 2 mostra as informações para o exemplo: o processo de amostragem aleatória simples, desfecho definido como Pressão Arterial Sistólica (medido em mmHg), precisão do intervalo de confiança definida como uma margem de erro igual a 2 mmHg, desvio padrão do desfecho na população alvo do estudo igual a 9.58 mmHg (obtido em Vieira et al.⁷), nível de confiança desejado para o intervalo igual a 95%, e uma margem de segurança para possíveis perdas ou recusas entre as unidades amostrais igual a 10%.

Preenchidos os campos solicitados, ao lado direito da janela, em destaque na parte superior, será apresentado o tamanho de amostra calculado (Figura 3), conforme as definições estabelecidas na Figura 2. Para o exemplo, são necessárias 91 crianças com excesso de peso no primeiro ano de vida para estimar a pressão sistólica média com 95% de confiança e margem de erro de 2 mmHg. Logo abaixo é apresentada uma sugestão de texto para a descrição do cálculo realizado, sendo ainda necessário substituir o termo “Fulano (1900)” pela referência da informação sobre o desvio padrão utilizado no cálculo do tamanho da amostra. Neste exemplo, esta informação foi retirada de Vieira et al.⁷.

A última frase do texto sugerido se refere ao tamanho de amostra que considera os 10% de perdas ou recusas que possam ocorrer durante a coleta (neste exemplo, o tamanho da amostra aumenta de 91 para 102 crianças). Ainda na Figura 3, há uma sugestão de como citar a ferramenta PSS Health e a descrição do pacote e comando do software R utilizado no cálculo.

Estimar Testar Poder

Processo de amostragem aleatória

Aleatória simples

Descreva o nome do desfecho

Pressão Arterial Sistólica

Descreva a unidade de medida de Pressão Arterial Sistólica

mmHg

Margem de erro/ semi-amplitude absoluta (em mmHg)

2

Desvio padrão esperado de Pressão Arterial Sistólica (em mmHg)

9,58

Nível de confiança (%)

95

Perdas/ Recusa (%)

10

Figura 2: Aba do PSS Health contendo os campos já preenchidos para o cálculo de tamanho de amostra para estimar a pressão arterial sistólica média de acordo com o exemplo.

Tamanho amostral calculado: 91

Sugestão de texto:

O cálculo do tamanho de amostra foi realizado por meio da ferramenta PSS Health versão on-line (citação abaixo). Para estimar a média do **Pressão Arterial Sistólica** com uma margem de erro de **2 mmHG**, com um nível de confiança de **95%**, e um desvio padrão esperado de **9.58 mmHG** como referido em Fulano (1900), chegou-se ao tamanho de amostra de **91** sujeitos. Acrescentando **10%** para possíveis perdas e recusas o tamanho de amostra deverá ser **102**.

Sugestões de citação:

Vancouver: PSS Health: Power and Sample Size for Health Researchers [Internet]. [cited 1 de fevereiro de 2021]. Available from: https://hcpa-unidade-bioestatistica.shinyapps.io/PSS_Health

ABNT: PSS Health: Power and Sample Size for Health Researchers. [s. l.], [s. d.]. Disponível em: https://hcpa-unidade-bioestatistica.shinyapps.io/PSS_Health. Acesso em: 1 Fev. 2021.

BibTex: @misc{PSSHealth,
title = {PSS Health},
shorttitle = {PSS Health},
url = (https://hcpa-unidade-bioestatistica.shinyapps.io/PSS_Health),
urldate = {2021-02-11}
}

Comando R utilizado:

```
presize::prec_mean(mu = 0, sd = 9.58, conf.width = 2*2, conf.level = 95/100)
```

* Sempre procure um profissional de estatística para orientações no planejamento do estudo.

Figura 3: Resultado do cálculo de tamanho de amostra obtido a partir dos campos preenchidos na Figura 2.

Outra utilidade oferecida pelo PSS Health na opção de cálculo amostral é a possibilidade de construir cenários de tamanhos de amostra. Os cenários podem ser visualizados através de um gráfico (Figura 4) e através de uma tabela (Figura 5), sendo permitido o download dos dois. No exemplo, pode-se variar a precisão (margem de erro) para diferentes valores de desvio padrão. É importante lembrar que a margem de erro é diretamente proporcional ao erro-padrão que, por sua vez, é diretamente proporcional ao desvio-padrão da variável. Ou seja, quanto maior o desvio-padrão, maior será a margem de erro. Como pode ser visualizado nas Figuras 4 e 5, ao aumentar a margem de erro reduzimos o tamanho da amostra.

Ocasionalmente, o desvio padrão da variável de interesse não pode ser obtido na literatura (ou de uma amostra piloto), mas se pode encontrar outras estatísticas, tais como erro padrão, intervalo de confiança, valor de t ou valor de p. Nesta situação, o PSS Health, na aba 'Outras ferramentas', permite que se faça a conversão destas medidas em uma medida de desvio padrão. Caso as medidas descritivas disponíveis na literatura sejam o mínimo, o primeiro quartil, a mediana, o terceiro quartil, o máximo e o tamanho da amostra (n), formas de obtenção de estimativas do desvio padrão a partir de um subconjunto destas medidas (por exemplo, mínimo, mediana, máximo e n) podem ser encontradas em Wan et al.⁸.

Construção de cenários

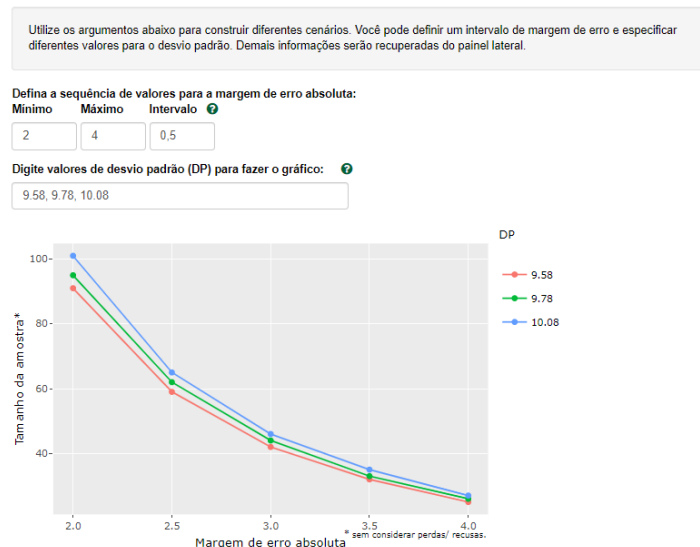


Figura 4: Representação gráfica da construção de cenários.

Download tabela

Margem de erro	Desvio padrão	Nível de confiança (%)	Tamanho da amostra	% de perdas/recusas	n + perdas/recusas
2	9.58	95	91	10	102
2.5	9.58	95	59	10	66
3	9.58	95	42	10	47
3.5	9.58	95	32	10	36
4	9.58	95	25	10	28
2	9.78	95	95	10	106
2.5	9.78	95	62	10	69
3	9.78	95	44	10	49
3.5	9.78	95	33	10	37
4	9.78	95	26	10	29

Showing 1 to 10 of 15 entries

Previous 1 2 Next

Figura 5: Tabela com os resultados da construção de cenários.

O exemplo de como utilizar o PSS Health para calcular o tamanho de amostra para estimar uma média também pode ser visualizado no vídeo “PSS para Estimar uma Média”⁹.

Observa-se, ainda, que no exemplo em questão foi utilizada a opção de amostragem aleatória simples. No entanto, o PSS Health também possibilita o cálculo do tamanho de amostra para estimar uma média para os delineamentos amostrais conhecidos como “Conglomerados em um único estágio” e “Estratificada proporcional ao tamanho”. Em ambos delineamentos são requeridas outras informações para o cálculo do tamanho de amostra, além daquelas necessárias no caso da amostragem aleatória simples (informações sobre estes delineamentos amostrais podem ser obtidas em Bolfarine e Bussab¹⁰).

Vale lembrar que selecionar uma amostra aleatória simples implica em basicamente sortear os participantes a partir de uma listagem. Entretanto há situações nas quais o pesquisador não possui essa listagem e opta pela chamada amostra por conveniência onde, por exemplo, o pesquisador seleciona para sua amostra uma sequência de pacientes que chegam em um ambulatório buscando atendimento. A amostra por conveniência é um método não probabilístico e, portanto, nenhum dos conceitos aqui descritos podem ser aplicados. Isso significa que não faz sentido falar em margem de erro ou confiança de um intervalo para esse tipo de amostra, pois são conceitos baseados na hipótese de que todos os pacientes tiveram a mesma probabilidade de serem escolhidos para a amostra. Uma maneira de contornar a falta de uma listagem, mas chegar próximo de garantir que

todos os pacientes tenham a mesma probabilidade de serem escolhidos é, por exemplo, fazer uma grade com os horários de atendimento e sortear em quais os horários ocorrerão as entrevistas. Outra possibilidade é, para cada dia da semana, sortear o horário do primeiro entrevistado e a partir deste fazer saltos de tempo para as próximas entrevistas.

Tamanho de amostra para estimar uma proporção

Suponha um estudo no qual o objetivo seja conhecer a prevalência (proporção) de perda da acuidade auditiva em idosos com risco de vulnerabilidade clínico-funcional, mensurada através do teste do Sussurro. Para tanto, será selecionada uma amostra aleatória simples destes idosos e o pesquisador precisa saber quantos devem ser selecionados para fazer parte da amostra (exemplo adaptado de Freitas e Soares¹¹).

As informações requeridas para o cálculo do tamanho de amostra para este estudo são:

1. Nível de confiança desejado para o intervalo;
2. A amplitude do intervalo de confiança em pontos percentuais, ou seja, a margem de erro desejada para o intervalo de confiança multiplicada por dois;
3. A prevalência (proporção) esperada de ocorrência da perda de acuidade auditiva em idosos com risco de vulnerabilidade clínico-funcional, mensurada através do teste do Sussurro.

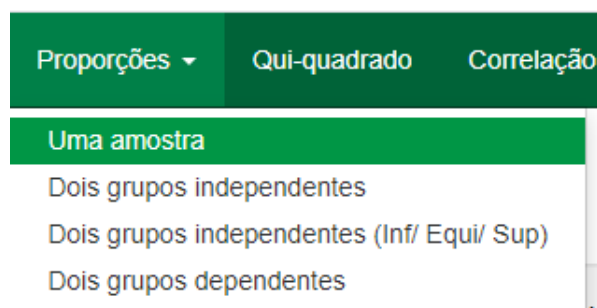


Figura 6: Aba do PSS Health para cálculo de tamanho de amostra e poder para o parâmetro proporção.

Para calcular o tamanho de amostra para estimar uma prevalência no PSS Health, deve-se clicar na aba “PROPORÇÕES” e em seguida na opção “UMA AMOSTRA” (Figura 6). Aparecerão, então, as abas com as opções de cálculo de tamanho de amostra para estimar ou testar uma proporção e uma aba com a opção para cálculo de poder. Clicando na aba “ESTIMAR”, as caixas com as informações requeridas para o cálculo de tamanho de amostra para estimar uma proporção irão aparecer. As informações requeridas para o cálculo de tamanho de amostra para o exemplo são: nome do desfecho (Perda de Acuidade Auditiva), a amplitude do intervalo de confiança igual a 10%, percentual esperado de perda de acuidade auditiva em idosos com risco de vulnerabilidade clínico-funcional igual a 40,5% (obtido em Freitas e Soares¹¹), nível de confiança desejado para o intervalo igual a 95%, e uma margem de segurança para possíveis perdas ou recusas entre as unidades amostrais igual a 10%. Deve-se, ainda, selecionar o método para calcular o intervalo de confiança, o PSS Health oferece quatro diferentes métodos: Wilson, Agresti-Coull, exact e Wald¹². Detalhes sobre o uso destes métodos podem ser obtidos na documentação do pacote presize¹³.

No exemplo, manteremos o método de Wilson. O vídeo “PSS para Estimar uma Proporção”¹⁴ mostra como calcular o tamanho da amostra para este exemplo utilizando o PSS Health.

Em situações onde o percentual de ocorrência da categoria de interesse esperado não pode ser obtido na literatura, sugere-se utilizar o valor de 50%, pois, para este percentual, a variabilidade é máxima para o estimador da proporção. Ou seja, garante-se assim, o maior tamanho da amostra necessário para a estimativa (mantendo o nível de confiança e a amplitude do intervalo fixos).

Tamanho de amostra para estimar um coeficiente de correlação

Suponha um estudo no qual o objetivo seja conhecer a correlação entre um indicador de adiposidade corporal (IMC) e o escore de consumo de padrão alimentar tradicional em crianças de 4 a 7 anos. Para tanto, será selecionada uma amostra aleatória simples destas crianças e o pesquisador precisa saber quantas devem ser selecionadas para fazer parte da amostra (exemplo adaptado de Vieira¹⁵).

As informações requeridas para o cálculo do tamanho de amostra para este estudo são:

1. Nível de confiança desejado para o intervalo;
2. Definição de qual o coeficiente de correlação desejado (Pearson, Spearman ou Kendall);
3. O coeficiente de correlação esperado (ou o mínimo considerado clinicamente relevante pelo pesquisador);
4. A amplitude do intervalo de confiança (margem de erro desejada para o intervalo de confiança multiplicada por dois).

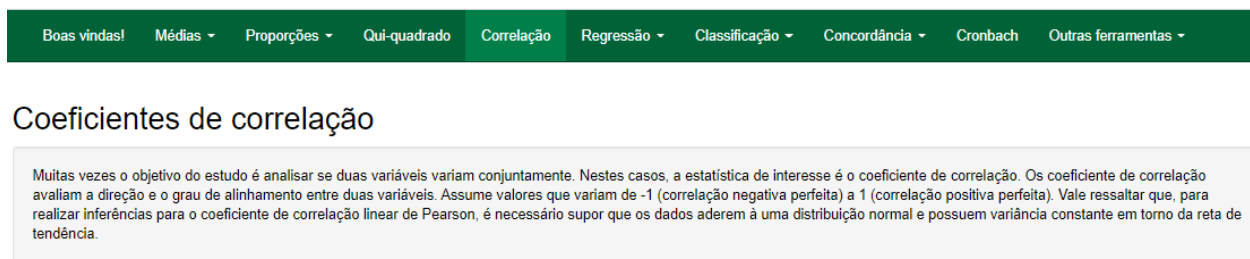


Figura 7: Aba do PSS Health para cálculo de tamanho de amostra para se estimar uma proporção.

Para calcular o tamanho de amostra para estimar um coeficiente de correlação no PSS Health, deve-se clicar na aba “CORRELAÇÃO” (Figura 7), onde aparecerão as abas com as opções de cálculo de tamanho de amostra para estimar ou testar um coeficiente de correlação, e uma aba com a opção para cálculo de poder, assim como nos exemplos anteriores. Clicando na aba “ESTIMAR”, as caixas com as informações requeridas para o cálculo de tamanho de amostra para estimar um coeficiente de correlação irão aparecer. Primeiramente, o pesquisador deve definir qual o coeficiente de correlação desejado, pois o PSS Health permite calcular o tamanho de amostra para o coeficiente de correlação de Pearson, de Spearman ou Kendall.

Para o exemplo se adotará o coeficiente de Spearman, o mesmo utilizado na referência, e as informações requeridas para o cálculo de tamanho de amostra são: nomes das duas variáveis para as quais se deseja estimar o coeficiente de correlação (escore de consumo alimentar tradicional e índice de massa corporal – IMC), coeficiente de

correlação esperado entre as duas variáveis que é de 0,13 (obtido em Vieira¹⁵), amplitude do intervalo de confiança igual a 0,4, nível de confiança desejado para o intervalo igual a 95% e uma margem de segurança para possíveis perdas ou recusas entre as unidades amostrais igual a 10%. O vídeo “PSS para Estimar uma Correlação”¹⁶ mostra como calcular o tamanho da amostra para este exemplo utilizando o PSS Health.

Nas situações onde se deseja estimar o coeficiente de correlação entre diversas variáveis, por exemplo, entre escore de consumo alimentar tradicional e indicadores de adiposidade corporal (IMC), relação cintura-estatura, percentual de gordura corporal e percentual de gordura central, deve-se utilizar no cálculo do tamanho de amostra o menor coeficiente de correlação esperado entre as variáveis, pois quanto menor o coeficiente, maior será o tamanho da amostra. Deste modo, garante-se o maior tamanho da amostra necessário para estimar todos os coeficientes do estudo (mantendo o nível de confiança e a amplitude do intervalo fixos).

REFERÊNCIAS

- Borges RB, Mancuso ACB, Camey SA, Leotti VB, Hirakata VN, Azambuja GS, et al. Power and Sample Size for Health Researchers: uma ferramenta para cálculo de tamanho amostral e poder do teste voltado a pesquisadores da área da saúde. *Clin Biomed Res* [Internet]. 2020 [citado 21 maio 2021];40(4):247-253. Disponível em: <https://seer.ufrgs.br/hcpa/article/view/109542>
- R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing* [Internet]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2020. Disponível em: <https://www.R-project.org/>.
- Borges RB, Azambuja GS, Mancuso ACB, Leotti VB, Hirakata VN, Camey SA, et al. *PSS. Health: Power and Sample Size for Health Researchers via Shiny* [Internet]. Porto Alegre: Unidade de Bioestatística do Hospital das Clínicas de Porto Alegre; 2020 [citado 5 fev. 2021]. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=PSS.Health>
- Borges RB, Leotti VB, Mancuso ACB, Castro SMJ, Hirakata VN, Camey SA. Equívocos Estatísticos: Perguntas que você sempre quis fazer, mas nunca teve coragem. *Clin Biomed Res* [Internet]. 15 jul. 2020 [citado 6 nov2020];40(1):63-70. Disponível em: <https://seer.ufrgs.br/hcpa/article/view/101299>
- Morettin LG. *Estatística básica: probabilidade e inferência*. São Paulo: Makron; 2010.
- Hulley SB, Browner WS, Cummings SR, Grady D, Newman TB. *Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica* [Internet]. Porto Alegre: Artmed; 2008. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?id=bshuPgAACAAJ>
- Vieira SA, Fonseca PCA, Andreoli CS, Pereira PF, Hermsdorff HHM, Ribeiro AQ, et al. A pressão arterial está associada a indicadores de adiposidade corporal em crianças de quatro a sete anos. *Rev Port Cardiol*. 2018;37(5):425-32.
- Wan X, Wang W, Liu J, Tong T. Estimating the sample mean and standard deviation from the sample size, median, range and/or interquartile range. *BMC Med Res Methodol*. 19 dez 2014;14(1):135.
- PSS para Estimar uma Média.mp4* [Internet]. Porto Alegre: Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Unidade de Bioestatística; [2021?] [citado 23 jul 2021]. Vídeo: 5:30 min. Disponível em: https://drive.google.com/file/d/1MJ71k0WOv9U1MLcvzMLS-DIEZzzvp3WB/view?usp=sharing&usp=embed_facebook
- Bolfarine H, Bussab WO. *Elementos de Amostragem*. São Paulo: Blucher; 2005.
- Freitas FFQ, Soares SM. Índice de vulnerabilidade clínico-funcional e as dimensões da funcionalidade em idosos. *Rev Rene*. 20 maio 2019; 20:e39746.
- Brown LD, Cai TT, DasGupta A. Interval estimation for a binomial proportion. *Statist Sci*. 2001;16(2):101-33.
- Lenz A, Haynes AG, Limacher A, Stalder O. *Presize: Precision Based Sample Size Calculation* [Internet]. [local desconhecido: editora desconhecida]; 2020 [citado 9 mar. 2021]. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=presize>
- PSS para Estimar uma Proporção.mp4* [Internet]. Porto Alegre: Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Unidade de Bioestatística; [2021?] [citado 23 jul 2021]. Vídeo: 2:58 min. Disponível em: <https://drive.google.com/file/d/19>

- Sp4HjcwDwrDwR2Qie3XCk8zuZz20JNs/view?usp=sharing&usp=embed_facebook
15. Vieira SA. *Padrão alimentar, adiposidade corporal e fatores de risco cardiometabólico em crianças de 4 a 7 anos de idade* [tese]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2017 [citado 11 mar 2021]. Disponível em: <https://locus.ufv.br/handle/123456789/10455>
16. 16. *PSS para Estimar Correlação. mp4* [Internet]. Porto Alegre: Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Unidade de Bioestatística; [2021?] [citado 23 jul 2021]. Vídeo: 3:55 min. Disponível em: https://drive.google.com/file/d/1NrLvKZl6WyKwqc-y0mdPMOoq7sqZDNWx/view?usp=sharing&usp=embed_facebook

*Recebido: 25 mar, 2021
Aceito: 5 abr, 2021*