



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

MARTA SOFIA MACHADO FERREIRA

***POLIMORFISMO DO GENE PNPLA3: FATOR DE
RISCO PARA O DESENVOLVIMENTO DE DOENÇA
HEPÁTICA ALCOÓLICA (DHA)***

PROJETO DE INVESTIGAÇÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE MEDICINA INTERNA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
RUI MARQUES DOS SANTOS
JOANA CATARINA ALMEIDA ESPÍRITO SANTO**

OUTUBRO/2012

1. Identificação do projeto

Domínio Científico: Ciências da Vida e da Saúde

Área Científica Principal: Biologia Experimental

Área Científica Secundária: Genética ou Genómica

Acrónimo: SNPDHA

Título do projeto (em português)

Polimorfismo do gene PNPLA3: Fator de risco para o desenvolvimento de Doença Hepática Alcoólica (DHA)

Título do projeto (em inglês)

PNPLA3 polymorphism: risk factor for the development of alcoholic liver disease (ALD)

Financiamento solicitado: 117 020 €

Palavras-chave: Doença Hepática Alcoólica; PNPLA3; SNP rs738409.

Keyword: Alcoholic liver disease; PNPLA3; SNP rs738409-

Data de início do projeto: 01-01-2014

Duração do projeto em meses: 24 meses

2. Instituições envolvidas

Instituição Proponente

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Rua Larga

3004-504 Coimbra

A Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra (FMUC) é a escola médica mais antiga do país, com 1700 estudantes e 150 docentes.

Esta considera o ensino, a investigação científica e o desenvolvimento tecnológico como elementos fundamentais da sua atividade, tendo como objetivo primordial a formação graduada e pós-graduada nas áreas da saúde e das ciências biomédicas.

É um centro de excelência internacionalmente reconhecido para a investigação em ciências da saúde, levando uma série de programas de investigação internacionais, envolvendo mais de 40 universidades e centros de investigação.

A FMUC promove a cooperação inter-institucional pública e privada, nacional e internacional, como condição fundamental de progresso e excelência, com o objetivo de realizar cursos de licenciatura, mestrado e doutoramento, projetos de investigação e outras atividades de interesse comum.

Dispõe de um conjunto de recursos de ensino, investigação científica, apoio e desenvolvimento tecnológico e de prestação de serviços à comunidade, incluindo estruturas de investigação e de desenvolvimento que compreendem centros de investigação multidisciplinares. Adicionalmente, dispõe de plataformas tecnológicas, que incluem

citometria de fluxo, microscopia eletrónica e confocal e sequenciação de DNA, para apoio a atividades especializadas de investigação, ensino e prestação de serviços à comunidade.

Instituições Participantes

Hospitais da Universidade de Coimbra (Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE)

Praceta Prof. Mota Pinto

3000-075 Coimbra

Instituto da Droga e da Toxicodependência-Unidade de Alcoologia de Coimbra (UAC)

Quinta da Conraria

3040-714 Castelo Viegas – Coimbra

Instituto de Genética Médica da FMUC

Azinhaga de Santa Comba, Celas

3000-548 Coimbra

Laboratório de Bioestatística e Informática Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Azinhaga de Santa Comba, Celas

3000-548 Coimbra

Unidade de Investigação

Serviço de Medicina Interna dos Hospitais da Universidade de Coimbra (Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE)

Praceta Prof. Mota Pinto

3000-075 Coimbra

3. Componente Científica

3.1. Sumário

3.1.a) Em português

A DHA constitui uma das principais causas de doença hepática crónica, sendo responsável por elevadas taxas de morbidade e mortalidade, na população mundial [1].

Portugal ocupa o 8º lugar do ranking mundial no consumo de bebidas alcoólicas [2]. Cerca de 1 milhão de portugueses é considerado bebedor excessivo e 500 mil são considerados doentes alcoólicos crónicos [3]. No entanto, nem todos os consumidores excessivos desenvolvem DHA e apenas 10-15% daqueles que a desenvolvem atingem os estádios mais graves de doença hepática [4].

O desenvolvimento de DHA depende de diversos fatores: dose, duração e horário diário da ingestão alcoólica, tipo de bebida, género, genética, etnia, estado nutricional, fatores imunológicos e patologias concomitantes [5]. Dos referidos, os fatores genéticos apresentam-se como responsáveis por cerca de 50% da suscetibilidade individual para o desenvolvimento da DHA [6].

Recentemente foi identificado um SNP (single-nucleotide polymorphism) do gene adiponutrin/patatin-like phospholipase-3 (PNPLA3), responsável pela mutação em rs738409 C>G, mutação associada ao desenvolvimento de DHA [7-9].

O presente estudo objetiva:

- 1- Estudar a prevalência do SNP rs738409 do gene PNPLA3 numa população de bebedores excessivos portugueses;
- 2- Verificar a relação entre a prevalência de doentes alcoólicos com DHA e a frequência do polimorfismo em questão.

3- Verificar a associação entre a frequência do SNP rs738409 do gene PNPLA3 e prevalência de estádios mais avançados de DHA.

Com este projeto de investigação os autores propõem um estudo inovador em Portugal, avaliando a prevalência do SNP rs738409 do gene PNPLA3 na população com maior risco de DHA em Portugal: alcoólicos crónicos e bebedores excessivos.

Este projeto de investigação conta com a colaboração dos Serviços de Medicina Interna e de Gastrenterologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra (Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE) (HUC-CHUC), da Unidade de Alcoologia de Coimbra (UAC), do Instituto de Genética Médica da FMUC e do Laboratório de Bioestatística e Informática Médica da FMUC. Envolve a utilização de dados de saúde pessoais e a recolha de amostras biológicas, sendo garantido anonimato e confidencialidade dos dados, de acordo com os princípios éticos e deontológicos.

Serão definidos grupos homogéneos de doentes alcoólicos com DHA, que irão constituir o "grupo casos" e de indivíduos alcoólicos sem DHA, que irão constituir o "grupo controlo". Os indivíduos que constituem o "grupo casos", serão divididos em 2 subgrupos: doentes com lesão hepática alcoólica pré-cirrose e doentes com cirrose hepática alcoólica.

A recolha dos dados clínicos será feita através de entrevista, questionário CAGE e consulta do processo clínico de cada doente para obtenção de dados laboratoriais e imagiológicos. A análise genética para identificação do SNP rs738409 do gene PNPLA3 será feita através do método de PCR-RFLP com a enzima de restrição *BtsCI* (New England BioLabs®) [10].

Com a realização deste projeto de investigação pretende-se alargar o conhecimento sobre a relação do SNP rs738409, polimorfismo do gene PNPLA3, e o desenvolvimento da DHA. O estabelecimento de uma associação entre estas duas entidades permitirá uma

abordagem diagnóstica e terapêutica mais otimizada e dirigida, através da identificação de ferramentas de diagnóstico precoce e de novos alvos terapêuticos.

3.1.b) Em inglês

The ALD is a major cause of chronic liver disease and is responsible for high rates of morbidity and mortality in the population [1].

Portugal occupies the 8th place in the world ranking of alcohol consumption [2]. Approximately 1 million of Portuguese are heavy drinkers and 500 thousand are considered chronic alcoholics [3]. However, not all heavy drinkers develop ALD and only 10-15% reach the most severe stages of liver disease [4].

The development of ALD depends on several factors: dose, duration and timing of daily alcohol intake, beverage type, gender, genetics, ethnicity, nutritional status, immunological factors and concomitant pathologies [5]. Of these, the genetics factor is responsible for about 50% of the individual susceptibility to the development of ALD [6].

Recently was identified a SNP (single-nucleotide polymorphism) in adiponutrin/patatin-like phospholipase-3 gene (PNPLA3), responsible for the mutation in rs738409 C>G, a mutation associated to the development of ALD [7-9].

The objectives of this research project are:

- 1 - Study the prevalence of SNP rs738409 from PNPLA3 gene in a Portuguese heavy drinkers population.
- 2 - Check the relationship between the prevalence of alcoholic patients with ALD and the frequency of this polymorphism in question.
- 3 - Check the relationship between the frequency of SNP rs738409 from PNPLA3 gene and the prevalence of advanced stages of ALD.

With this research project the authors propose a pioneering study in Portugal, assessing the prevalence of SNP rs738409 from PNPLA3 gene in the population that has a higher risk of developing ALD in Portugal, heavy drinkers and alcoholics.

This research project will count with the collaboration of the Internal Medicine and the Gastroenterology Services, of Hospitais da Universidade de Coimbra (Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE) (HUC-CHUC), Unidade de Alcoologia de Coimbra (UAC), the Institute of Medical Genetics and the Laboratory of Biostatistics and Informatics Medical of FMUC and all the work will have supervision of FMUC. This research project involves the use of personal health information and the collection of biological samples, being guaranteed anonymity and confidentiality of data in accordance with the ethical and deontological principles.

Will be defined homogenous groups of patients with alcoholic ALD which will constitute the "cases group" and alcoholic individuals without ALD, which will constitute the "control group". The individuals that constitute the "group case" will be divided into 2 subgroups: patients with alcoholic liver injury pre-cirrhosis and patients with alcoholic liver cirrhosis.

The collection of clinical data will be made by interview, CAGE questionnaire and consultation of clinical processes of each patient to obtain laboratory and imaging data. The genetic analysis to identify the SNP rs738409 from PNPLA3 gene will be made using the PCR-RFLP method with the *BtsCI* restriction enzyme (New England BioLabs ®) [10].

With the execution of this research project it is intended to amplify the knowledge about the relationship of the SNP rs738409, a PNPLA3 gene polymorphism, and the development of ALD. Getting relate these two entities will be possible a more targeted action for a clear diagnosis and treatment, with identification of new therapeutic targets and selection

of proper therapy, and a action on prevention, through the development of susceptibility testing and adopting measures preventive.

3.2. Descrição Técnica

3.2.1. Revisão da Literatura

De acordo com o relatório “World Drink Trends 2005”, o consumo *per capita* de álcool em Portugal é um dos mais elevados do mundo, ocupando o 8º lugar do ranking mundial no consumo de bebidas alcoólicas [2]. Cerca de 1 milhão de portugueses são bebedores excessivos e 500 mil são considerados doentes alcoólicos crónicos [3].

A DHA decorre do consumo nocivo de bebidas alcoólicas, sendo mundialmente responsável por elevadas taxas de morbilidade e mortalidade. A DHA é a principal causa de morte na população adulta [1], sendo responsável por mais de 80% dos casos de cirrose hepática no mundo ocidental [11].

Existe uma forte relação entre o consumo de álcool e a prevalência de cirrose, havendo aumento do risco de desenvolver cirrose de 14% e 8%, para os homens e mulheres, respetivamente, por cada aumento de 1 litro de álcool no consumo *per capita* [12].

O mecanismo pelo qual o etanol é capaz de induzir o aparecimento de lesão hepática é complexo, resultando da combinação de diversos fatores: genéticos, ambientais e comportamentais. Estes fatores, em combinação com a agressão direta decorrente da metabolização do etanol a nível hepático, promovem um estado inflamatório, stress oxidativo, peroxidação lipídica, alterações imunológicas, alterações das membranas biológicas e do citosqueleto, formação de complexos tóxicos e de endotoxinas [13,14]. A alteração do microambiente hepático induz alterações hepatocitárias, promovendo o desenvolvimento de uma sequência de alterações histológicas: Esteatose Hepática, a Hepatite Alcoólica e a Cirrose [15,16]. Esta evolução histopatológica natural está associada ao desenvolvimento de fibrose, constituindo a Hepatite Alcoólica um fator acelerador deste o processo [15].

A esteatose hepática corresponde ao primeiro estágio da DHA, observada em 60-100% dos bebedores excessivos [4], caracteriza-se pela acumulação de lípidos ao nível dos hepatócitos perivenulares [17].

A hepatite alcoólica está presente em 10-35% dos consumidores excessivos, desenvolvendo-se em doentes com esteatose hepática, ocorrendo infiltração do fígado por células inflamatórias e consequentemente, lesão hepatocelular [4,17].

Esteatose hepática e hepatite alcoólica promovem o desenvolvimento de cirrose hepática, usualmente micronodular [17], presente em 10-15% dos consumidores excessivos de álcool [4].

Deste modo, nem todos os consumidores excessivos desenvolvem DHA e, aqueles que o fazem, podem apresentar diferentes graus de lesão hepática. Segundo um estudo recentemente publicado, para um mesmo consumo de álcool, alguns doentes apenas desenvolvem esteatose macrovesicular, enquanto outros desenvolvem fibrose e cirrose [18].

São vários os fatores promotores do desenvolvimento de DHA: a dose, a duração e o horário diário da ingestão alcoólica, o tipo de bebida, o género, a genética, a etnia, o estado nutricional, os fatores imunológicos e as patologias concomitantes como a infeção pelo HBV e HCV [5]. A importância dos fatores genéticos tem vindo a ser demonstrada por vários estudos familiares em que gémeos monozigóticos apresentam maior prevalência de cirrose alcoólica do que gémeos dizigóticos [19], sendo responsável por cerca de 50% da suscetibilidade individual para a DHA [6].

Recentemente foi identificado um *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) no gene *adiponutrin/patatin-like phospholipase-3* (PNPLA3), gene localizado no cromossoma 22q13.3, que leva à mutação em rs738409 C>G, a qual promove a substituição da isoleucina pela metionina, no codão 148 (I148M). Este gene é responsável por codificar a adiponutrina, uma proteína pertencente à família das fosfolipases *patatina-like*. Esta proteína tem atividade

de acetil-hidrolase, de lipase, atuando sobre os triglicerídeos e de acetil-glicerol transacetilase, estando envolvida na mobilização de energia e no armazenamento dos lípidos [20]. É expressa nos hepatócitos e adipócitos, sendo que no ser humano a sua expressão predomina no tecido hepático [21].

Este polimorfismo é responsável pela diminuição da atividade lipolítica da enzima, levando à diminuição da hidrólise de triglicerídeos nos hepatócitos, levando à acumulação de gordura no fígado, propiciando assim o desenvolvimento de Doença Hepática [22].

São vários os estudos recentemente publicados que realçam a importância deste polimorfismo na etiopatogenia da DHA [7-9,23-25], um dos quais demonstra que esta mutação é comum nos hispânicos, população onde a prevalência de DHA é elevada [7]. No entanto, ainda há muito por descobrir no que se refere à suscetibilidade genética individual para a DHA.

O diagnóstico da DHA resulta da combinação de vários dados recolhidos: história do consumo de álcool, manifestações físicas e alterações laboratoriais, indicadores de doença hepática e/ou de alcoolismo. Relativamente aos exames imagiológicos o seu contributo para diagnóstico de DHA é limitado, tendo como utilidade a deteção das complicações da DHA como a ascite, o carcinoma hepatocelular ou a trombose da veia porta [26].

A biópsia hepática continua a ser o exame-chave para o diagnóstico de DHA, permitindo a deteção de alterações histopatológicas características dos vários estádios de DHA: Esteatose Hepática, Hepatite Alcoólica e Cirrose Alcoólica e da existência de fibrose. Esta deve ser realizada quando há dúvidas no diagnóstico etiológico, na decisão terapêutica ou relativamente ao prognóstico.

De forma a prevenir o avançar da DHA e evitar as suas complicações, é fundamental o diagnóstico correto e precoce desta patologia, nomeadamente na identificação dos indivíduos

mais suscetíveis a desenvolver DHA, através de marcadores de suscetibilidade como é o caso do SNP rs738409.

3.2.2. Plano e Métodos

Os objetivos deste estudo são:

1- Estudar a prevalência do SNP rs738409 do gene PNPLA3, numa população de bebedores excessivos portugueses.

2- Verificar a relação entre a prevalência de doentes alcoólicos com DHA e a frequência do polimorfismo em questão.

3- Verificar a associação entre a frequência do SNP rs738409 do gene PNPLA3 e prevalência de estádios mais avançados de DHA.

Portugal apresenta elevados níveis de consumo de álcool, ocupando o 8º lugar do ranking mundial no consumo de bebidas alcoólicas [2], pelo que a DHA assume destaque epidemiológico.

Com este projeto de investigação os autores propõem um estudo inovador em Portugal, avaliando a prevalência do SNP rs738409 do gene PNPLA3 na população com maior risco de desenvolver DHA em Portugal, alcoólicos crónicos e bebedores excessivos, e identificando aqueles com maior suscetibilidade genética para a DHA.

A metodologia utilizada é baseada na análise PCR-RFLP [10], uma metodologia bastante mais simples do que as anteriormente usadas [7-9], direcionada para a identificação deste polimorfismo, assumindo-se como técnica facilmente reprodutível.

Conseguindo relacionar este polimorfismo que nos propomos estudar com o desenvolvimento de DHA será possível a identificação de um marcador de suscetibilidade de DHA, possibilitando uma atuação mais direcionada para um diagnóstico precoce e

terapêutica correta. Irá permitir a adoção de protocolos de seguimento mais "agressivos" para os doentes portadores da mutação e atuação ao nível da prevenção.

Para este estudo conta-se com a colaboração dos Serviços de Medicina Interna e de Gastrenterologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (HUC-CHUC), da Unidade de Alcoologia de Coimbra (UAC), do Instituto de Genética Médica da FMUC e do Laboratório de Bioestatística e Informática Médica da FMUC. Todo o trabalho terá a supervisão da FMUC.

Este projeto de investigação é um estudo do tipo caso-controlo (prospetivo), multicêntrico.

Numa primeira fase, pretende-se definir grupos homogéneos de doentes alcoólicos com DHA, que irão constituir o "grupo casos" e de indivíduos alcoólicos sem DHA, que irão constituir o "grupo controlo".

A população alvo deste estudo será constituída pelos doentes alcoólicos com DHA internados nos Serviços de Medicina Interna e de Gastrenterologia dos HUC-CHUC. Para a composição do "grupo controlo" a população alvo será constituída pelos doentes internados na UAC.

Quanto à técnica de amostragem, esta será de conveniência, uma vez que a amostra é apenas constituída por doentes internados nos serviços supra referidos que aceitem participar no estudo.

A dimensão da amostra foi calculada de acordo com a seguinte fórmula [27]:

$$n = \frac{z^2 \times p(1-p)}{m^2}$$

n = Dimensão da amostra necessária

z = "Valor crítico" associado ao nível de confiança de 95% (valor padrão de 1,96)

p = Prevalência estimada do genótipo associado à DHA, na população em estudo

m = Margem de erro de 5% (valor padrão de 0,05)

Como referência para a população portuguesa, será usada a frequência do alelo G, o alelo que se pensa estar associado ao aumento do risco de desenvolvimento de DHA, na população caucasiana europeia com DHA. Esta frequência é de 35,2% [9], sendo o valor de p igual a 0,352.

A dimensão da amostra necessária será de 351 indivíduos. Para maior segurança, será adicionado 10% ao valor n , de forma a compensar perdas no número total da amostra (drop-outs, missing data, etc). Assim, a dimensão da amostra será de 386 doentes alcoólicos com DHA. O número de indivíduos que farão parte do grupo "controlo" será igualmente de 386.

A dimensão da amostra dependerá do número de doentes internados nos Serviços de Medicina Interna e de Gastrenterologia dos HUC-CHUC e na UAC, no intervalo decorrido entre 1 de Janeiro de 2013 e 31 de Agosto de 2015. Para o cálculo da amostra fez-se um levantamento do número de doentes internados com diagnóstico de DHA em 2011, nos Serviços de Medicina Interna e de Gastrenterologia dos HUC-CHUC (349 doentes) e o número de internamentos, de doentes que iniciaram acompanhamento e de doentes já em seguimento na UAC em 2011: 522, 571 e 2612, respetivamente, não havendo variações significativas anuais desde 2007. Desta forma, garante-se que em 2 anos e 8 meses a dimensão da amostra necessária será atingida.

Para a recolha de dados para este estudo, serão utilizadas medidas subjetivas (entrevista e questionário) e medidas objetivas (consulta de dados laboratoriais, imagiológicos e análise genética).

Este projeto de investigação envolverá a utilização de dados de saúde pessoais e a recolha de amostras biológicas (sangue periférico) sendo apenas iniciado após obtenção dos pareceres favoráveis das comissões de ética da FMUC e dos HUC-CHUC. Todos os doentes assinarão o consentimento informado.

A primeira fase do estudo objetiva a definição de grupos homogêneos de doentes alcoólicos crônicos com DHA e de doentes alcoólicos sem DHA. Para a concretização deste objetivo, serão realizadas 3 tarefas.

Tarefa 1: Seleção da amostra com definição dos grupos de doentes alcoólicos que participarão no estudo, através da realização de entrevista e do questionário CAGE a indivíduos internados nos Serviços de Medicina Interna e de Gastrenterologia dos HUC e a indivíduos que estejam a ser tratados na UAC.

Os doentes alcoólicos serão identificados através do questionário CAGE (acrónimo de Cut, Annoyed; Guilty, Eye opener), realizado através de entrevista direta que inclui a recolha de alguns dados pessoais e história mais detalhada dos hábitos alcoólicos.

Aquando desta entrevista e da aplicação do questionário CAGE será obtido o consentimento informado (**Anexo 1**) de cada doente.

Tarefa 2: Identificação de doentes alcoólicos com DHA que constituirão o "grupo casos" e, dentro deste grupo, classificação em 2 subgrupos: doentes com lesão hepática alcoólica pré-cirrose e doentes com cirrose hepática alcoólica estabelecida. Será realizada consulta do processo clínico de cada doente para recolha de dados laboratoriais e imagiológicos, indicativos de doença hepática.

Será realizada a todos os doentes internados nos Serviços de Medicina Interna e de Gastrenterologia dos HUC-CHUC que foram sujeitos a entrevista e cuja aplicação do questionário CAGE revelou resultado positivo.

Doentes com doença hepática que apresentem outras causas identificadas (por exemplo: hemocromatose, infeção pelo HBV e/ou HCV, hepatite tóxica, deficiência em α 1-antitripsina) serão excluídos do estudo.

Tarefa 3: Definição do grupo controlo. Da mesma forma que se fará o diagnóstico de DHA para identificar o "grupo casos" será necessário garantir que os indivíduos que constituem o "grupo controlo" não apresentem DHA.

Serão efetuados doseamentos laboratoriais (transaminases) aos indivíduos tratados na UAC que foram sujeitos a entrevista e cuja aplicação do questionário CAGE revelou resultado positivo.

Partindo destes grupos homogéneos será testada a hipótese de que a prevalência da mutação rs738409, polimorfismo do gene PNPLA3, é superior no grupo de doentes com DHA e, dentro deste, ainda maior no subgrupo de doentes com cirrose hepática alcoólica estabelecida. Será então possível demonstrar o maior risco de desenvolvimento de DHA nos pacientes que apresentem este polimorfismo.

Tarefa 4: Análise genética das amostras de DNA de cada interveniente no estudo, para pesquisa do polimorfismo do gene PNPLA3, SNP rs738409.

Para maior comodidade para o doente e facilidade logística as amostras de sangue periférico, da qual será extraído o DNA genómico necessário para o estudo genético, serão recolhidas aquando da entrevista e armazenadas em local e condições apropriadas.

Todas as amostras serão anónimas, sendo apenas referenciadas com um código ao qual apenas os médicos de cada paciente terão acesso.

O estudo genético será feito recorrendo ao método de PCR-RFLP com a enzima de restrição *BtsCI* (New England BioLabs®) para a análise do polimorfismo do gene PNPLA3, o SNP rs738409 [10]. Este estudo será efetuado no Instituto de Genética Médica da FMUC.

Nesta tarefa, será ainda feita a análise genética de 150 amostras de sangue periférico de doentes alcoólicos com DHA e 150 amostras de indivíduos alcoólicos sem DHA, obtidas anteriormente ao início do projeto de investigação e cujos resultados serão somados aos resultados obtidos no decorrer do projeto.

Tarefa 5: Tratamento estatístico. Após a obtenção dos dados relativos aos indivíduos pertencentes ao "grupo casos" e ao "grupo controlo" será feito o respetivo tratamento estatístico.

Dada a elevada prevalência de doentes com DHA no nosso país torna-se importante a identificação de indivíduos com maior predisposição para o seu desenvolvimento.

Com a realização deste projeto de investigação pretende-se alargar o conhecimento sobre a relação do SNP rs738409, polimorfismo do gene PNPLA3, e o desenvolvimento de DHA. Propõe-se a contribuição para a elaboração de testes de suscetibilidade, para identificação de indivíduos com maior risco em desenvolver DHA. A identificação destes indivíduos permitirá uma maior motivação para a adoção de um estilo de vida mais saudável e adaptação de protocolos de seguimento, com maior vigilância destes indivíduos.

Por outro lado, sendo um SNP funcional, condicionando a diminuição da atividade lipolítica da enzima adiponutrina, este projeto contribuirá para que novos estudos possam surgir no campo da identificação de novos tratamentos e da prevenção da DHA.

3.2.3. Tarefas

Tarefa 1 (T1)

Designação da tarefa: Realização de entrevista e aplicação do questionário CAGE a todos os indivíduos participantes no estudo.

Data de início: 1/1/2014

Duração da tarefa: 18 meses

Pessoa*mês: 18

Descrição da tarefa e resultados esperados

O objetivo principal da realização desta tarefa é a identificação de indivíduos alcoólicos e a recolha de alguns dados pessoais, hábitos e antecedentes patológicos.

Esta tarefa será realizada na UAC e nos HUC-CHUC, nos Serviços de Medicina Interna e de Gastrenterologia, pelo investigador principal deste projeto.

Esta tarefa será dividida em 2 fases.

Fase 1: Obtenção do consentimento informado (**Anexo 1**) dos doentes para a participação no projeto de investigação em questão.

Fase 2: Realização de uma entrevista (**Anexo 2**). Esta será dividida em 4 secções:

1 - Identificação do entrevistado

2 - Antecedentes pessoais

3 - Questionário CAGE. Trata-se de um questionário validado para deteção de doentes alcoólicos [28]. CAGE é o acrónimo de *Cut, Annoyed, Guilty, Eye opener* e é obtido pela realização de 4 perguntas: "Alguma vez sentiu que deveria diminuir a quantidade de bebida?", "As pessoas aborrecem-no porque criticam o seu modo de beber?", "Sente-se culpado pela maneira como bebe?", "Costuma beber de manhã para diminuir o nervosismo ou a ressaca?". Cada item tem como possibilidade de resposta "sim" ou "não". A aplicação do questionário será feita pela sua leitura por parte do entrevistador ao doente. Considera-se o CAGE positivo se houver duas ou mais respostas positivas, identificando-se o doente como alcoólico.

4 - História detalhada dos hábitos alcoólicos. Inclui: idade de início do consumo de álcool, tipo de bebidas, quantidade de álcool ingerido por dia (gramas/dia), a duração do consumo etílico e a estimativa do consumo total de álcool ao longo da vida (gramas), através da seguinte fórmula [29]:

$$T = \frac{V \times 0,79}{D}$$

T = consumo total de álcool ao longo da vida

V = Volume de álcool ao longo do tempo total de exposição (em mL)

D = Número total de dias

Estas perguntas só serão feitas após a aplicação do questionário CAGE para evitar falsos negativos deste [30].

Da aplicação do questionário CAGE pretendem-se obter 2 grupos: os indivíduos alcoólicos, com pelo menos duas respostas positivas; e os indivíduos não alcoólicos. Apenas os doentes com CAGE positivo serão incluídos no estudo.

Para a realização desta tarefa será necessário um entrevistador (que será o investigador principal deste projeto) e a colaboração dos doentes internados nos Serviços de Medicina Interna e de Gastrenterologia dos HUC-CHUC e na UAC.

Membros da equipa de investigação que participam na tarefa

Investigador Principal: Marta Ferreira

Tarefa 2 (T2)

Designação da tarefa: Diagnóstico de DHA em doentes alcoólicos - Constituição do "grupo casos" e seus subgrupos.

Data de início: 1/1/2014

Duração da tarefa: 18 meses

Pessoa*mês: 18

Descrição da tarefa e resultados esperados

Os objetivos desta tarefa são identificar os indivíduos alcoólicos com DHA ("casos"), que irão fazer parte da nossa amostra e agrupá-los, de acordo com o espectro da DHA, em 2 subgrupos: doentes com lesão hepática alcoólica pré-cirrose e doentes com cirrose hepática alcoólica.

Esta identificação resultará da combinação de vários dados recolhidos imagiológicos e laboratoriais, através da consulta do processo clínico do doente.

Esta tarefa será realizada a todos os indivíduos internados nos Serviços de Medicina Interna e de Gastrenterologia dos HUC-CHUC que foram sujeitos a entrevista e cuja aplicação do questionário CAGE revelou resultado positivo.

Para a concretização dos objetivos referidos, esta tarefa será dividida em 2 fases.

Fase 1: Identificação dos indivíduos alcoólicos com DHA, através da avaliação da existência de lesão hepática.

Esta avaliação resultará da obtenção de dados laboratoriais indicadores de lesão hepática. Os valores utilizados serão os das enzimas aminotransferases (AST e ALT). Estes serão obtidos através da consulta do processo clínico de cada paciente. Os valores cut-off considerados serão os utilizados no Serviço de Análises Clínicas deste hospital.

Os resultados possíveis são a identificação de indivíduos com doseamentos anormais e indivíduos com doseamentos dentro dos valores considerados normais. Apenas os indivíduos com doseamentos anormais continuarão no estudo e serão identificados como portadores de doença hepática.

Como o objetivo desta tarefa é a identificação de doentes alcoólicos com DHA será necessário descartar outras causas de doença hepática (hemocromatose, infeção pelo HBV e/ou HCV, hepatite tóxica, deficiência em α 1-antitripsina...). Esta informação será igualmente obtida a partir da consulta do processo clínico de cada doente. Caso não haja registos relativos

à presença ou ausência destas patologias será necessário fazer a pesquisa do HBsAg, HBcAg, HBcAc, dos anticorpos anti-HCV, dos níveis de ferritina, da saturação de transferrina e de α 1-antitripsina, após a recolha de amostra de sangue periférico. As amostras serão enviadas para o Serviço de Análises Clínicas dos HUC-CHUC e os doseamentos serão efetuados seguindo os protocolos desta instituição.

A presença de doença hepática de etiologia não alcoólica concomitante servirá como fator de exclusão para o restante estudo.

Fase 2: Distribuição do grupo de doentes alcoólicos com DHA em 2 subgrupos: doentes com lesão hepática alcoólica pré-cirrose e doentes com cirrose hepática alcoólica.

Para tal, serão recolhidos os dados resultantes de estudos imagiológicos (Ecografia Abdominal, Tomografia Computorizada Abdominal e Ressonância Magnética) realizados pelo doente e presentes no processo clínico do doente. Caso não haja registos, será solicitada uma Ecografia Abdominal, ao Serviço de Imagiologia dos HUC-CHUC.

A informação a recolher será referente a achados sugestivos de cirrose hepática e das suas complicações, como alterações da superfície hepática, ascite, esplenomegália e hipertensão portal.

Caso esteja descrito algum destes achados, o doente passará a pertencer ao subgrupo doentes com cirrose hepática alcoólica estabelecida. Caso não esteja descrito nenhum destes achados o doente passará a pertencer ao subgrupo doentes com lesão hepática alcoólica pré-cirrose.

Para a realização desta tarefa será necessário um investigador (o investigador principal deste projeto) e a possibilidade de consulta dos processos clínicos dos doentes internados nos Serviços de Medicina Interna e de Gastrenterologia dos HUC-CHUC.

Membros da equipa de investigação que participam na tarefa

Investigador principal: Marta Ferreira

Tarefa 3 (T3)

Designação da tarefa: Identificação de indivíduos alcoólicos sem DHA -
Constituição do "grupo controlo".

Data de início: 1/1/2014

Duração da tarefa: 18 meses

Pessoa*mês: 18

Descrição da tarefa e resultados esperados

O objetivo desta tarefa é a identificação de indivíduos alcoólicos sem DHA, ou seja, os que farão parte do "grupo controlo".

Será realizada a todos os indivíduos tratados na UAC que foram sujeitos a entrevista e cuja aplicação do questionário CAGE revelou resultado positivo.

A identificação de indivíduos alcoólicos sem DHA seguirá os mesmos moldes da tarefa anterior. Para tal, serão consultados os processos dos doentes para recolha dos dados laboratoriais referentes às enzimas hepáticas ALT e AST, após algum período de abstinência alcoólica, cerca de 2-3 semanas ou, caso não haja registo, serão efetuados esses doseamentos. Serão tomados como referência os valores cut-off utilizados na UAC.

Os resultados possíveis de se obter são: a identificação de indivíduos com doseamentos anormais e indivíduos com doseamentos dentro dos valores considerados

normais. Neste caso, só os doentes sem alterações hepáticas, ou seja, com doseamentos normais, serão incluídos no estudo.

Esta tarefa será realizada por um investigador (o investigador principal deste projeto).

Membros da equipa de investigação que participam na tarefa

Investigador principal: Marta Ferreira

Tarefa 4 (T4)

Designação da tarefa: Pesquisa do polimorfismo do gene PNPLA3, SNP rs738409.

Data de início: 1/1/2014

Duração da tarefa: 20 meses

Pessoa*mês: 20

Descrição da tarefa e resultados esperados

O objetivo principal desta tarefa é a identificação dos portadores do SNP rs738409, polimorfismo do gene PNPLA3.

Para tal será necessário a obtenção de amostras de sangue periférico.

Serão colhidos aproximadamente 5 mL de sangue periférico, num tubo EDTA, a todos os indivíduos cujo questionário CAGE foi positivo e tenham as condicionantes para figurar no grupo de doentes alcoólicos com DHA ("casos") ou no grupo de doentes alcoólicos sem DHA ("controlos").

A colheita das amostras será efetuada aquando da aplicação do questionário CAGE, para maior comodidade do doente e facilidade logística. Estas amostras serão transportadas em recipiente apropriado e armazenadas a -20°C.

Todas as amostras serão anónimas e referenciadas com um código. Apenas os médicos de cada paciente terão acesso a esse código.

Para o estudo genético será necessário proceder à extração do DNA genómico das amostras de sangue periférico. Após o descongelamento da amostra, o DNA genómico será extraído usando o QIAamp® DNA Blood Kits - mini Kit (250), seguindo o protocolo do fabricante.

A determinação do polimorfismo em estudo será efetuada através de análise PCR-RFLP com a enzima de restrição *BtsCI* (New England BioLabs®) [10], descrito por Dutta, et al., usando o termociclador Bio-Rad MyCycler™, seguindo as recomendações do fabricante.

Para garantir a qualidade da análise por PCR-RFLP, serão incluídas amostras de controlo negativo e positivo internas. Para a obtenção do controlo positivo serão previamente genotipadas amostras de DNA genómico, através de sequenciação automática, usando o equipamento Applied Biosystems® ABI 3130, de acordo com as recomendações do fabricante, de forma obter DNA com os génotipos do PNPLA3 em estudo. O controlo positivo será essencial para a otimização da análise do polimorfismo por PCR-RFLP, nomeadamente para a determinação da quantidade de enzima de restrição *BtsCI* necessária para a digestão completa da amostra de DNA genómico e para avaliação de todo o processo de análise genética.

Para a recolha dos dados referentes à sequenciação automática será utilizado o equipamento *ABI 3130 Genetic Analyzer* (Applied Biosystems, Foster City, CA) e para análise e interpretação dos resultados o *Sequencing Analysis Software v 5.2* (Applied Biosystems).

Todo este processo será realizado no Instituto de Genética Médica, pertencente à FMUC.

Esta tarefa será realizada pelo investigador principal do projeto.

Na data que se pretende iniciar o projeto de investigação prevê-se já se ter 150 amostras de sangue periférico de doentes alcoólicos com DHA e 150 amostras de indivíduos alcoólicos sem DHA, que serão analisadas nos primeiros 3 meses do projeto. Estes primeiros dados obtidos serão adicionados aos restantes dados recolhidos ao longo do projeto, de forma a aumentar o número da amostra e, consequentemente, dando maior validade estatística ao projeto de investigação.

A restante análise genética será efetuada aquando da obtenção de cada 50 amostras de sangue periférico.

No final desta tarefa será possível obter a caracterização genética relativamente ao SNP analisado, de todas as amostras.

Esta tarefa será totalmente realizada pelo investigador principal do projeto.

Membros da equipa de investigação que participam na tarefa

Investigador principal: Marta Ferreira

Tarefa 5 (T5)

Designação da tarefa: Tratamento estatístico

Data de início: 1/04/2014

Duração da tarefa: 9 meses

Pessoa*mês: 9

Descrição da tarefa e resultados esperados

O objetivo principal desta tarefa vai de encontro aos objetivos deste projeto de investigação, ou seja, visa estudar a prevalência do SNP rs738409 do gene PNPLA3, numa população de bebedores excessivos portugueses, verificar a relação entre a prevalência de doentes alcoólicos com DHA e a frequência do polimorfismo em questão e verificar a relação entre a frequência do SNP rs738409 e a prevalência de estadios mais avançados de DHA.

A principal análise estatística a realizar envolve:

Determinar se a população em estudo segue o equilíbrio Hardy-Weinberg. Será realizado o teste de Hardy-Weinberg recorrendo ao software *Genepop versão 4.0.10*.

Estudo da prevalência do SPN rs738409 do gene PNPLA3. Será efetuada uma proporção simples e será feito o cálculo do "*odds ratio*", de acordo com o esquema seguinte:

		DHA	
		+	-
rs738409 SNP	+	a	b
	-	c	d

Tabela 1: Tabela de dupla-entrada. Esquema de distribuição dos indivíduos a estudar, classificados segundo a presença de DHA e do SNP rs738409, do gene PNPLA3.

Prevalência:

$$\left(\frac{a}{a+b}\right) / \left(\frac{c}{c+d}\right)$$

Odds ratio:

$$\left(\frac{a}{b}\right) / \left(\frac{c}{d}\right) = (a * d) / (c * b)$$

Verificar a relação entre a prevalência de doentes alcoólicos com DHA e a frequência SNP rs738409 e verificar a relação entre a frequência do SNP e a prevalência de estadios mais

avançados de DHA. Serão efetuados o teste qui-quadrado ou o teste exato de Fisher, consoante os dados obtidos.

O tratamento estatístico será efetuado recorrendo ao *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versão 20.0 para o windows.

Esta tarefa será realizada pelo investigador principal do projeto, com apoio do Laboratório de Bioestatística e Informática Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

Membros da equipa de investigação que participam na tarefa

Investigador principal: Marta Ferreira

3.2.4. Calendarização e Gestão do Projeto

3.2.4.a) Descrição da Estrutura de Gestão

Este Projeto de Investigação será realizado pela Investigadora Principal Marta Ferreira sob orientação e supervisão do Professor Doutor Rui Marques dos Santos e da Dra. Joana Catarina Almeida Espírito Santo.

Terá início no dia 1 de Janeiro de 2014 e terminará a 31 de Dezembro de 2015.

Será um projeto em que a maioria das tarefas decorrerão em paralelo e todas serão desempenhadas pela Investigadora Principal do projeto, que despenderá 100% de tempo de alocação.

As **Tarefa 1, 2 e 3** terão início a 1 de Janeiro de 2014 e terminarão a 31 de Junho de 2015, decorrendo entre os meses 1 e 18 do projeto.

A **Tarefa 1** será realizada nos Serviços de Medicina Interna e de Gastrenterologia dos HUC-CHUC e na UAC, a **Tarefa 2** apenas nos Serviços de Medicina Interna e de Gastrenterologia dos HUC-CHUC e a **Tarefa 3** apenas na UAC.

A **Tarefa 4** terá igualmente início no primeiro mês do projeto e estender-se-á até ao mês 20, até 31 de Agosto de 2015.

Nos primeiros 3 meses será feita a análise genética de 300 amostras de DNA recolhidas antes do início do projeto. Estes primeiros dados obtidos serão adicionados aos restantes dados recolhidos ao longo do projeto.

Com os dados resultantes da análise destas amostras, após tratamento estatístico entre os meses 3 e 5, espera fazer-se uma **comunicação** num encontro científico nacional, em meados do ano de 2014.

A restante análise genética, das amostras colhidas ao longo do projeto, será realizada aquando da obtenção de cada 50 amostras de sangue periférico, sendo feita em paralelo com as restantes tarefas.

No mês 9 espera ter-se 60% das amostras de DNA, que se preveem obter, analisadas. Os dados obtidos até então, serão tratados estatisticamente e reportados no **relatório de progresso** a entregar à FCT no final do primeiro ano de projeto. Estes dados serão igualmente utilizados para fazer duas **comunicações**, uma num encontro científico nacional e outra num encontro internacional, ambos a decorrer em 2015.

Como já foi referido, no mês 20 do projeto terminará a **tarefa 4**, ou seja, terá sido feita toda a análise genética.

Nos restantes meses, até ao final do projeto de investigação, será feita a análise estatística de todos os dados obtidos - **Tarefa 5** e serão elaborados o **relatório final** a entregar à FCT no final do ano de 2015 e um **artigo** a publicar numa revista internacional da especialidade.

3.2.4.b) Lista de Milestones

Milestone M1

Designação: Doentes com DHA apresentam maior prevalência do SPN rs738409

Data: Mês 24

Descrição: Com a elaboração deste projeto concluir-se-á que a prevalência do SNP rs738409, polimorfismo do gene PNPLA3, será superior no grupo de doentes alcoólicos com DHA, relativamente ao grupo de indivíduos alcoólicos sem DHA.

Milestone M2

Designação: A prevalência do SNP rs738409 é superior nos cirróticos

Data: Mês 24

Descrição: Dentro do grupo de doentes alcoólicos com DHA, o subgrupo de doentes com cirrose hepática terá maior prevalência do SNP rs738409, polimorfismo do gene PNPLA3, comparativamente ao subgrupo de doentes com lesão hepática pré-cirrose.

3.2.4.c) Cronograma

Em **Anexo 3**.

3.3. Referências Bibliográficas

Referência Ano Publicação

- [1] 2010 Cortez-Pinto H, Gouveia M, dos Santos Pinheiro L, Costa J, Borges M, Vaz Carneiro A. The burden of disease and the cost of illness attributable to alcohol drinking-results of a national study. Alcohol Clin Exp Res 2010;34:1442–9

- [2] 2005 World Drink Trends 2005, WARC Ltd, ISBN: 1-84116-170-5
- [3] 2006 Lino T, Alcoolismo da causa à doença [trabalho de licenciatura]. Universidade Autónoma de Lisboa, 2006
- [4] 2010 NICE guidelines; clinical guideline 100 - alcohol use disorders: diagnosis and clinical management of alcohol-related physical complications. RCP, 2010.
- [5] 2010 O'Shea RS, Dasarathy S, McCullough AJ. Alcoholic liver disease. *Am J Gastroenterol* 2010;105:14-32
- [6] 1996 Reed T, Page WF, Viken RJ, Christian JC. Genetic predisposition to organ-specific endpoints of alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 1996 Dec; 20(9):1528-33.
- [7] 2010 Tian C, Stokowski RP, Kershenovich D, Ballinger DG, Hinds DA. Variant in PNPLA3 is associated with alcoholic liver disease. *Nat Genet* 2010;42:21–23.
- [8] 2011 Stickel F, Buch S, Lau K, zu Schwabedissen HM, Berg T, Ridinger M, et al. Genetic variation in the PNPLA3 gene is associated with alcoholic liver injury in Caucasians. *Hepatology* 2011;53:86–95.
- [9] 2011 Trepó E, Gustot T, Degré D, Lemmers A, Verset L, Demetter P et al. Common polymorphism in the PNPLA3/adiponutrin gene confers higher risk of cirrhosis and liver damage in alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2011; 55:906-912
- [10] 2011 Dutta A K. A New PCR-RFLP Method for Diagnosing PNPLA3 rs738409 Polymorphism. *WebmedCentral GENETICS* 2011;2(11):WMC002401
- [11] 1993 Saunders JB, Latt N. Epidemiology of alcoholic liver disease, *Baillière's Clinical Gastroenterology* 1993; 7(3): 555–79
- [12] 1997 Corrao G , Ferrari P , Zambon A, Torchio P. Are the recent trends in liver cirrhosis mortality affected by the changes in alcohol consumption? Analysis of latency period in European countries . *J Stud Alcohol* 1997; 58:486 – 94 .
- [13] 1994 Lieber CS . Susceptibility to alcohol-related liver injury. *Alcohol Alcohol Suppl* 1994;2:315–26
- [14] 2001 Tsukamoto H, Lu SC. Current concepts in the pathogenesis of alcoholic liver injury. *FASEB J* 2001;15:1335–49
- [15] 1995 Santos, R. Fibrose Hepática Alcoólica – contribuição para o estudo do papel TGF-β. [tese de doutoramento] Coimbra, 1995

- [16] **1986** MacSween RN, Burt AD. Histologic spectrum of alcoholic liver disease. *Semin LiverDis* 1986; 6:221-32
- [17] **1994** Hall PD. Pathological spectrum of alcoholic liver disease. *Alcohol Alcohol Suppl* 1994; 2:303–13 .
- [18] **2011** Bataller R, Rombouts K, Altamirano J, Marra F. Fibrosis in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2011; 25:231–44
- [19] **2001** Monzoni A, Masutti F, Saccoccio G, Bellentani S, Tiribelli C, Giacca M. Genetic determinants of ethanol-induced liver damage. *Mol Med* 2001; 7:255-62
- [20] **2010** Huang Y, He S, Li JZ, Seo Y-K, Osbornec TF, Cohenb JC, et al. A feed-forward loop amplifies nutritional regulational of PNPLA3, *PNAS* 2010; 107:7892-7
- [21] **2006** Wilson PA, Gardner SD, Lambie NM, Commans SA, Crowther DJ. Characterization of the human patatin-like phospholipase family. *J Lipid Res* 2006 Sep; 47:1940-9
- [22] **2010** He S, McPhaul C, Li JZ, Garuti R, Kinch L, Grishin NV, et al. A sequence variation (I148M) in PNPLA3 associated with nonalcoholic fatty liver disease disrupts triglyceride hydrolysis. *J Biol Chem* 2010;285:6706-15.
- [23] **2010** Valenti L, Al-Serri A, Daly AK, Galmozzi E, Rametta R, Dongiovanni P, et al. Homozygosity for Patatin-Like Phospholipase-3/Adiponutrin I148M Polymorphism Influences Liver Fibrosis in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease, *Hepatology*, vol. 51, n° 4, 2010
- [24] **2001** Nischalke HD, Berger C, Luda C, Berg T, Müller T, Grünhage F, et al. The PNPLA3 rs738409 148M/M genotype is a risk factor for liver cancer in alcoholic cirrhosis but shows no or weak association in hepatitis C cirrhosis. *PLoS ONE* 2001 Nov; 6(11):e27087. doi:10.1371/journal.pone.0027087
- [25] **2012** Stickel FHJ. Genetic determinants of alcoholic liver disease. *Gut* 2012; 61(1):150-9.
- [26] **2008** Goldberg E, Chopra D. Diagnostic approach to the patient with cirrhosis. *UpToDate* 2009.
- [27] **2003** Eng, J., 2003. Sample Size Estimation: How Many Individuals Should Be Studied? *Radiology* 227, 309–313.
- [28] **1974** Mayfield D, McLeod G, Hall P. The CAGE questionnaire: validation of a new alcoholism screening instrument. *AM J*

Psychiatry 1974; 131(10): 1121-3

- [29] **2000** WHO, 2000. International Guide for Monitoring Alcohol Consumption and Related Harm. World Health Organization, Geneva.
- [30] **2004** Etter J-F. Asking about quantity and frequency of alcohol consumption before asking de CAGE questions produces lower rating on the CAGE test. Drug and Alcohol Dependence 2004; 74:211-4

3.4. Publicações Anteriores

Referência	Ano	Publicação
------------	-----	------------

- | | | |
|------|------|---|
| [15] | 1995 | Santos, R. Fibrose Hepática Alcoólica – contribuição para o estudo do papel TGF- β . [tese de doutoramento] Coimbra, 1995 |
|------|------|---|

4. Equipa de investigação

4.1 Lista de membros

Nome	Função	Grau
Marta Sofia Machado Ferreira	Investigador Principal	Mestre
Rui Marques dos Santos	Investigador	Doutor
Joana Catarina Almeida Espírito Santo	Investigador	Mestre

Total: 3

5. Outros projetos

5.1. Projetos financiados

Não existem projetos anteriormente financiados do grupo de investigação.

5.2. Candidaturas similares

Não existem candidaturas similares do grupo de investigação.

6. Indicadores previstos

Indicadores de realização previstos para o projeto

Descrição	2014	2015	Total
A - Publicações			
Livros	0	0	0
Artigos em revistas internacionais	0	1	1
Artigos em revistas nacionais	0	0	0
B - Comunicações			
Comunicações em encontros científicos internacionais	0	1	1
Comunicações em encontros científicos nacionais	1	1	2
C - Relatórios	1	1	2
D - Organização de seminários e conferências	0	0	0
E - Formação avançada			
Teses de Doutoramento	0	0	0
Teses de Mestrado	0	0	0
Outras	0	0	0
F - Modelos	0	0	0
G - Aplicações computacionais	0	0	0
H - Instalações piloto	0	0	0
I - Protótipos laboratoriais	0	0	0
J - Patentes	0	0	0
L - Outros	0	0	0

Ações de divulgação da atividade científica

Não serão realizadas ações de divulgação da atividade científica.

7. Orçamento

Instituição Proponente

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Descrição	2014	2015	Total
Recursos Humanos	11 760	11 760	23 520
Missões	500	1 500	1500
Consultores	0	0	0
Aquisição de bens e serviços	60000	18000	78 000
Registo de patentes	0	0	0
Adaptação de edifícios e instalações	0	0	0
Gastos gerais	10 000	3 500	13 500
TOTAL DESPESAS CORRENTES	82 260	34 760	117 020
Equipamento	0	0	0
TOTAL	82 260	34 760	117 020

Instituições Participantes

Não haverá gastos quantificáveis das instituições participantes. Qualquer gasto que seja necessário efetuar será incluído nos "Gastos gerais" referenciados no orçamento da Instituição Proponente (FMUC) e, conseqüentemente, no Orçamento Global.

Orçamento Global (€)

Descrição	2014	2015	Total
Recursos Humanos	11 760	11 760	23 520
Missões	500	1 500	1000
Consultores	0	0	0
Aquisição de bens e serviços	60000	18000	78 000
Registo de patentes	0	0	0
Adaptação de edifícios e instalações	0	0	0
Gastos gerais	10 000	3 500	13 500
TOTAL DESPESAS CORRENTES	82 260	34 760	117 020
Equipamento	0	0	0

TOTAL	82 260	34 760	117 020
Plano de financiamento (€)			

Descrição	2014	2015	Total
Financiamento solicitado à FCT	82 260	34 760	117 020
Financiamento próprio	0	0	0
Outro financiamento público	0	0	0
Outro financiamento privado	0	0	0
TOTAL DO PROJETO	82 260	34 760	117 020

8. Justificação do orçamento

8.1. Justificação dos recursos humanos

Para a realização deste projeto de investigação será necessário uma bolsa de investigação (mestre), de valor pré-estabelecido pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) de 980 € mensais, aplicada ao Investigador Principal Marta Ferreira. Esta bolsa terá a duração do projeto de investigação, 24 meses, perfazendo um valor total de 23 520 €.

8.2. Justificação de missões

O orçamento despendido relativamente a missões refere-se a despesas decorrentes da deslocação a encontros científicos da área da Hepatologia. Em 2014 prevê-se um encontro nacional e em 2015 outro encontro nacional e um internacional, para apresentação de comunicações. Estas despesas englobarão as despesas da inscrição, viagem e alojamento.

8.3. Justificação de consultores

Não está prevista qualquer tipo de consultadoria.

8.4. Justificação de aquisição de bens e serviços

As despesas referentes a este tópico englobam as despesas com aquisição de reagentes para análise do SNP rs738409 e de consumíveis para colheita de amostras de sangue periférico e de laboratório.

8.5. Justificação do Equipamento

8.5.1. Equipamento já disponível para a execução do projeto

- Termociclador, Bio-Rad®, MyCycler, ----
- Sequenciador automático, Applied Biosystems®, ABI 3130, ----

8.5.2. Discriminação do equipamento a adquirir

Não será necessária a aquisição de equipamento.

8.6. Justificação de registo de patentes

Não será efetuado registo de patentes.

8.7. Justificação de adaptação de edifícios e instalações

Não será necessária a adaptação de edifícios e instalações.

9. Ficheiros Anexos

Nome:

Anexo 1: Consentimento Informado

Anexo 2: Entrevista

Anexo 3: Cronograma

10. Possíveis conflitos de interesse

Os investigadores declaram não haver qualquer conflito de interesse para a realização deste projeto de investigação.

Ficheiros Anexos

Anexo 1: Consentimento Informado

CONSENTIMENTO INFORMADO. LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO EM INVESTIGAÇÃO

Texto de Informação ao doente

A Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra (FMUC) encontra-se a desenvolver um projeto de investigação com o tema: “Polimorfismo do gene PNPLA3: Fator de risco para o desenvolvimento de Doença Hepática Alcoólica (DHA)”.

Este projeto tem como objetivos principais o estudo da relação entre a prevalência de doentes alcoólicos com DHA e a frequência do SNP rs738409, polimorfismo do gene PNPLA3 e a avaliação da sua prevalência na população portuguesa.

Para a concretização dos nossos objetivos, pretendemos recolher alguns dados pessoais através do preenchimento de um inquérito e a colheita de amostras de sangue periférico, para doseamentos laboratoriais e estudo genético.

A privacidade e completa confidencialidade da informação obtida serão asseguradas.

Pretendemos contribuir para um melhor conhecimento sobre este tema sendo a sua colaboração fundamental.

Este estudo não lhe trará nenhuma despesa ou risco.

A sua participação neste estudo é voluntária e pode retirar-se a qualquer altura ou recusar participar, sem que tal facto tenha consequências para si.

No caso de desejar saber o resultado desta investigação poderá inteirar-se através do contacto dos responsáveis pelo projeto.

Se tiver alguma dúvida poderá esclarecê-la com os responsáveis pelo projeto.

Obrigada pela sua atenção e disponibilidade.

Identificação do/a Investigador/a:

Nome:

Profissão:

Local de trabalho:

Contacto telefónico:

Endereço eletrónico:

Termo de Consentimento informado

Eu, _____
(preencha com o seu nome completo), declaro ter lido e compreendido este documento.

Desta forma, aceito participar neste estudo e permito a utilização dos dados que de forma voluntária forneço, confiando em que apenas serão utilizados para esta investigação e nas garantias de confidencialidade e anonimato que me são dadas pelo/a investigador/a.

Nome:

Assinatura:

Data:

**ESTE DOCUMENTO É COMPOSTO DE 2 PÁGINA/S E FEITO EM DUPLICADO:
UMA VIA PARA O/A INVESTIGADOR/A, OUTRA PARA A PESSOA QUE CONSENTE**

Anexo 2: Entrevista

ENTREVISTA

Secção I - Identificação

1.1. Nome:

1.2. Género: M F

1.3. Idade:

1.4. Raça:

Secção II - Dados Pessoais

2.1. Altura (m):

2.2. Peso (Kg):

2.3. IMC ($[\text{Peso (Kg)} / \text{Altura (m)}]^2$):

2.4. Antecedentes Patológicos

2.4.1. Patologia Cardíaca - Sim Não

Qual(ais)? _____

2.4.2. Patologia Endócrina - Sim Não

Qual(ais)? _____

2.4.3. Patologia Gastrointestinal - Sim Não

Qual(ais)? _____

2.4.4. Patologia Infecto-contagiosa - Sim Não

Qual(ais)? _____

2.4.5. Patologia Musculosquelética - Sim Não

Qual(ais)? _____

2.4.6. Patologia Nervosa - Sim Não

Qual(ais)? _____

2.4.7. Patologia Respiratória - Sim Não

Qual(ais)? _____

2.4.8. Patologia Génito-urinária - Sim Não

Qual(ais)? _____

2.5. Medicação

2.5.1. Recente _____

2.5.2. Habitual _____

Secção III - Questionário CAGE

3.1. Alguma vez sentiu que deveria diminuir a quantidade de bebida?

Sim Não

3.2. As pessoas aborrecem-no porque criticam o seu modo de beber?

Sim Não

3.3. Sente-se culpado pela maneira como bebe?

Sim Não

3.4. Costuma beber de manhã para diminuir o nervosismo ou a ressaca?

Sim Não

Secção IV - Hábitos Étlicos

4.1. Com que frequência consome álcool? _____

4.2. Qual a quantidade que consome por dia? _____

4.3. Que tipo(s) de bebida(s) consome? _____

4.4. Há quanto tempo consome bebidas alcoólicas? _____

4.5. Consumo total de álcool ao longo da vida? _____

$$T = \frac{V \times 0,79}{D}$$

T = consumo total de álcool ao longo da vida

V = Volume de álcool ao longo do tempo total de exposição (em mL)

D = Número total de dias

SMI-HUC: Serviço de Medicina Interna dos Hospitais da Universidade de Coimbra (Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE)

SG-HUC: Serviço de Gastroenterologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra (Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE)

UAC: Instituto da Droga e da Toxicoddependência-Unidade de Alcoologia de Coimbra

IGM-FMUC: Instituto de Genética Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

LBIM-FMUC: Laboratório de Bioestatística e Informática Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

M1: Doentes com DHA apresentam maior prevalência do SPN rs738409

M2: A prevalência do SNP rs738409 é superior nos cirróticos

Anexo 4: Normas de candidatura à FCT e Formulário de candidatura

(Adaptado de: <http://www.fct.pt/apoios/projectos/concursos/instrucoes>)

O formulário de candidatura tem 10 secções:

- 1. Identificação do projeto**
- 2. Instituições envolvidas**
- 3. Componente científica**
- 4. Equipa de investigação**
- 5. Projetos financiados**
- 6. Indicadores previstos**
- 7. Orçamento**
- 8. Justificação do orçamento**
- 9. Anexos**
- 10. Conflitos de Interesse**

1. Identificação do projeto

Informação sobre o título e área científica (principal e secundária) do projeto, palavras chave, data de início do projeto e sua duração. O financiamento solicitado é calculado automaticamente a partir do preenchimento dos quadros do orçamento.

2. Instituições participantes

As instituições estão classificadas em:

- Instituição Proponente
- Instituições Participantes
- Unidade de Investigação Principal

- Unidades de Investigação Adicionais
- Instituição de Acolhimento

As instituições participantes são inseridas uma a uma dentro do respetivo quadro. Se a instituição pretendida não se encontrar na lista deverá preencher o formulário disponibilizado para o efeito e seguir as instruções. A designação de Unidade de Investigação está reservada de acordo com critérios da FCT incluindo nomeadamente as que são objeto de financiamento plurianual.

3. Componente Científica

A Componente Científica da candidatura organiza-se da seguinte forma:

3.1. Sumário (em português e inglês)

3.2. Descrição Técnica

3.2.1. Revisão da Literatura

3.2.2. Plano de Investigação e Métodos

3.2.3. Tarefas

3.2.4 .Calendarização e Gestão do Trabalho

3.3. Referências Bibliográficas (máx. 30 referências)

3.4. Publicações Anteriores (máx. 5 referências)

3.5. Ressubmissão de Candidatura

4. Equipa de Investigação

O quadro da equipa de investigação divide-se em 2 secções:

4.1. Lista de elementos da equipa

Nesta lista cada investigador deverá fornecer a sua chave de associação para ser adicionado como membro da equipa. Após efetuada esta operação, é apresentada para escolha a percentagem de participação no projeto.

4.2. Lista de outros elementos a contratar durante a execução do projeto

Estes elementos são automaticamente adicionados à equipa através do quadro justificação dos recursos humanos, indicando o nº de pessoas e o tipo de vínculo.

5. Outros projetos

5.1. Projetos financiados

Os projetos financiados do mesmo IR podem ser adicionados de duas formas conforme se trate de um financiamento da FCT ou de outra entidade. No caso de se tratar de um financiamento atribuído pela FCT deverá ser fornecida a referência do projeto o que aciona a importação automática de dados referentes ao projeto, alguns dos quais passíveis de correção ou de completação. Para projetos financiados por outras instituições, é necessário preencher a referência e, seguidamente, todos os elementos do projeto.

5.2. Candidaturas similares

É obrigatório referir qualquer outra candidatura similar à corrente que possa vir a configurar, se ambas forem aceites, uma situação irregular. A interface é análoga à usada para indicar projetos financiados.

5.3. Projetos a Associar à Linha de Investigação de Excelência

Tipicamente os projetos de IC&DT em linhas de investigação de excelência devem agrupar pelo menos três projetos de investigação com financiamento obtido em concursos competitivos nos últimos 5 anos.

Os projetos financiados do mesmo IR ou de outros membros da equipa de investigação podem ser adicionados de duas formas conforme se trate de um financiamento da FCT ou de outra entidade.

No caso de se tratar de um financiamento atribuído pela FCT deverá ser fornecida a referência do projeto o que aciona a importação automática de dados referentes ao projeto, alguns dos quais passíveis de correção ou de completação.

Para projetos financiados por outras instituições, é necessário preencher a referência e, seguidamente, todos os elementos do projeto.

6. Indicadores previstos

7. Orçamento

É obrigatório preencher um quadro de orçamento para a Instituição Proponente e para cada uma das Instituições Participantes. O total dos valores inscritos representa o financiamento solicitado. Adicionalmente, e quando aplicável, deve ser preenchido o quadro Plano de Financiamento. As rubricas orçamentais podem incluir (dependendo do estabelecido no edital do concurso):

Recursos humanos: Os recursos humanos propostos nesta rubrica aparecerão automaticamente na secção de Equipa de investigação.

Missões: O total desta rubrica deve corresponder ao total que é apresentado no quadro *Orçamento Global* na secção Orçamento.

Consultores: O total desta rubrica deve corresponder ao total que é apresentado no quadro *Orçamento Global* na secção Orçamento. Dada a importância dos Consultores para a avaliação da execução do projeto e da equipa, as indicações de nome e instituição devem ser não ambíguas de maneira a possibilitar a sua fácil identificação pelo painel de avaliação. Recomenda-se a existência na Internet de um pequeno currículo público atualizado e facilmente localizável.

Aquisição bens e serviços: O total desta rubrica deve corresponder ao total que é apresentado no quadro *Orçamento Global* na secção Orçamento.

Registo de patentes: O total desta rubrica deve corresponder ao total que é apresentado no quadro *Orçamento Global* na secção Orçamento.

Adaptação de edifícios e instalações: As adaptações de edifícios e instalações imprescindíveis à realização do projeto, nomeadamente por razões ambientais ou de segurança.

Equipamento: O total desta rubrica deve corresponder ao total que é apresentado no quadro *Orçamento Global* na secção Orçamento.

Despesas Gerais

8. Justificação do orçamento

A justificação do orçamento deverá ser inscrita por rubrica. O total de cada uma das rubricas deverá ser igual ao indicado no quadro *Orçamento Global*. Não existe transferência automática de verbas entre os dois quadros.

9. Ficheiros Anexos

Esta secção destina-se à inserção de documentos que contendo informação não transmissível nos campos de texto: fórmulas, esquemas, diagramas, gráficos ou imagens.

10. Conflitos de Interesse

Esta secção destina-se a identificar os avaliadores que constituam um claro conflito de interesse na avaliação do projeto.

Limites de número de caracteres dos vários campos do formulário:

(Adaptado de: <http://www.fct.pt/apoios/projectos/concursos/faq>)

Campo	Limite
1. Identificação do projeto - Título PT	255
1. Identificação do projeto - Título EN	255
3.1. Sumário PT	5000
3.1. Sumário EN	5000
3.2.1. Revisão da Literatura	6000
3.2.2. Plano de Investigação e Métodos	10000
3.2.3. Tarefas - Descrição e resultados esperados	4000
3.2.4.a. Descrição da Estrutura de Gestão	3000
3.2.4.b. Descrição de <i>Milestone</i>	300
5. Projetos financiados – Resultados	5000
6. Indicadores previstos - Ações de divulgação da atividade científica	3000
8.1. Justificação dos Recursos Humanos	600
8.2. Justificação de Missões	600
8.3. Justificação de Consultores	600
8.4. Justificação de Aquisições de Bens e Serviços	600
8.5. Justificação de patentes	600
8.6.2. Discriminação do equipamento a adquirir - Justificação	600
8.7. Justificação adaptação edifícios	600

Formulário de candidatura
(https://concursos.fct.mctes.pt/projectos/form_consulta_2012.pdf)

FCT Fundação para a Ciência e a Tecnologia

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E ENSINO SUPERIOR



Concursos de Projectos de I&D

Calls for R&D Projects

- ▶ **Voltar à descrição do projecto**
Back to project description
- ▶ **Imprimir esta página**
Print this page

Visão global da candidatura

Application overview

Ocultar todas as secções desta candidatura
Hide all sections for this application



Referência do projeto

Project reference

PXXX/XXX-XXX/0000/2012

1. Identificação do projeto

1. Project description



Domínio Científico

Scientific Domain

Área científica principal

Main Area

Área científica Secundária

Secondary area

(Vazio)

(Void)

Acrónimo

Acronym

(Vazio)

(Void)

Título do projeto (em português)

Project title (in portuguese)

Título do projeto (em inglês)

Project title (in english)

Financiamento solicitado

Requested funding

(Vazio)

(Void)

Palavra-chave 1

(Vazio)

(Void)

Keyword 1

(Vazio)

(Void)

Palavra-chave 2

(Vazio)

(Void)

Keyword 2

(Vazio)

(Void)

Palavra-chave 3

Keyword 3

(Vazio) (Void)	(Vazio) (Void)
Palavra-chave 4	Keyword 4
(Vazio) (Void)	(Vazio) (Void)
Data de início do projeto Starting date	Duração do projeto em meses Duration in months
00-00-0000	
2. Instituições envolvidas	
2. Institutions and their roles	
Instituição Proponente Principal Contractor	
(Vazio) (Void)	
Instituição Participante Participating Institution	
(Vazio) (Void)	
Unidade de Investigação Research Unit	
(Vazio) (Void)	
Unidade de Investigação Adicional Additional Research Unit	
(Vazio) (Void)	
Instituição de Acolhimento Host Institution	
(Vazio) (Void)	
3. Componente Científica	
3. Scientific Component	
3.1. Sumário 3.1 Abstract	
3.1.a Em português 3.1.a In Portuguese	
(Vazio) (Void)	
3.1.b Em inglês 3.1.b In English	
(Vazio) (Void)	
3.1.c Para publicação - Em português 3.1.c For publication - In Portuguese	
3.1.d Para publicação - Em inglês 3.1.d For publication - In English	
3.2. Descrição Técnica 3.2 Technical Description	
3.2.1. Revisão da Literatura 3.2.1. Literature Review	
(Vazio) (Void)	
3.2.2. Plano e Métodos 3.2.2. Plan and Methods	
(Vazio) (Void)	

Título do projeto (em português)

Project title (in portuguese)

Título do projeto (em inglês)

Project title (in english)

Instituição Proponente

Principal Contractor

Investigador(a) Responsável

Principal Investigator

Resposta aos Comentários do Painel

Response to Panel Comments

Alterações

Changes

4. Equipa de investigação

4. Research team

4.1 Lista de membros

4.1. Members list

Nome	Função	Grau	%	CV nuclear	CV
Name	Role	Degree		Core CV	
X				✓	

(O curriculum vitae de cada membro da equipa está disponível clicando no nome correspondente)

(Curriculum vitae for each research team member is available by clicking on the corresponding name)

Total: 1

5. Outros projetos

5. Other projects

5.1. Projetos financiados

5.1. Funded projects

(Vazio)

(Void)

5.2. Candidaturas similares

5.2. Similar applications

(Vazio)

(Void)

6. Indicadores previstos

6. Expected indicators

Indicadores de realização previstos para o projeto

Expected output indicators

Descrição	2012	2013	2014	2015	2016	Total
Description						
A - Publicações						
Publications						
Livros	0	0	0	0	0	0
Books						
Artigos em revistas internacionais	0	0	0	0	0	0
Papers in international journals						
Artigos em revistas nacionais	0	0	0	0	0	0
Papers in national journals						
B - Comunicações						
Communications						
Comunicações em encontros científicos internacionais	0	0	0	0	0	0
Communications in international meetings						
Comunicações em encontros científicos nacionais	0	0	0	0	0	0
Communications in national meetings						

4/8

C - Relatórios	0	0	0	0	0	0
Reports						
D - Organização de seminários e conferências	0	0	0	0	0	0
Organization of seminars and conferences						
E - Formação avançada						
Advanced training						
Teses de Doutoramento	0	0	0	0	0	0
PhD theses						
Teses de Mestrado	0	0	0	0	0	0
Master theses						
Outras	0	0	0	0	0	0
Others						
F - Modelos	0	0	0	0	0	0
Models						
G - Aplicações computacionais	0	0	0	0	0	0
Software						
H - Instalações piloto	0	0	0	0	0	0
Pilot plants						
I - Protótipos laboratoriais	0	0	0	0	0	0
Prototypes						
J - Patentes	0	0	0	0	0	0
Patents						
L - Outros						
Other	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0

Acções de divulgação da actividade científica
Scientific activity spreading actions

(Vazio)
(Void)

7. Orçamento
7. Budget

-

Instituição Proponente
Principal Contractor

(Não se encontra registada a Instituição Proponente para este projeto)
(The Principal Contractor is missing for this project)

Instituições Participantes
Participating Institutions

(Não se encontram registadas Instituições Participantes para este projeto)
(No Participating Institution has been registered for this project)

Orçamento Global
Global budget

Descrição	2012	2013	2014	2015	2016	Total
Recursos Humanos	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Human resources						
Missões	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Missions						
Consultores	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Consultants						
Aquisição de bens e serviços	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Service procurement and acquisitions						
Registo de patentes	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Patent registration						
Adaptação de edifícios e instalações	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Adaptation of buildings and facilities						
Gastos gerais	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Overheads						
TOTAL DESPESAS CORRENTES	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
TOTAL CURRENT EXPENSES						
Equipamento	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Equipment						

5/8

Total	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Plano de financiamento Finance plan						
Descrição Description	2012	2013	2014	2015	2016	Total
Financiamento solicitado à FCT Requested funding	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Financiamento próprio Own funding	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Outro financiamento público Other public-sector funding	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Outro financiamento privado Other private funding	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Total do Projecto Total of the project	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8. Justificação do orçamento						-
8. Budget rationale						
8.1. Justificação dos recursos humanos 8.1. Human resources rationale						
(Vazio) {Void}						
8.2. Justificação de missões 8.2. Missions rationale						
(Vazio) {Void}						
8.3. Justificação de consultores 8.3. Consultants rationale						
(Vazio) {Void}						
8.4. Justificação de aquisição de bens e serviços 8.4. Service procurement and acquisitions						
(Vazio) {Void}						
8.6. Justificação do Equipamento 8.6. Equipment rationale						
8.6.1. Equipamento já disponível para a execução do projecto 8.6.1 Available equipment						
(Vazio) {Void}						
8.6.2. Discriminação do equipamento a adquirir 8.6.2. New equipment requested						
(Vazio) {Void}						
8.7. Justificação de registo de patentes 8.7. Patent registration						
(Vazio) {Void}						
8.8. Justificação de adaptação de edifícios e instalações 8.8. Adaptation of buildings and facilities						
(Vazio) {Void}						
9. Ficheiros Anexos						-
9. Attachments						
Nome Name						Tamanho Size
t						
10. Possíveis conflitos de interesse						-
10. Possible Conflicts of Interest						
Lista						

List

Nome
Name

Email
Email

t

Instituição
Institution

t

CV

http://

Motivo
Reason

t

17-02-2012 17:11:25



Financiado por fundos estruturais da UE e fundos nacionais do MCTES



Ponto 5 do formulário de candidatura para “Projetos de IC&DT em Linhas de Investigação de Excelência” / Section 5 of the application form for the “SR&TD Projects in Research Lines of Excellence”:

5. Outros projetos -
5. Other projects

5.1. Projetos financiados
5.1. Funded projects

{Vazio}
{/Vazio}

5.2. Candidaturas similares
5.2. Similar applications

{Vazio}
{/Vazio}

5.3. Projectos associados às Linhas de Investigação de Excelência
5.3. Projects in Research Lines of Excellence

{Vazio}
{/Vazio}