

MESTRADO
CIÊNCIAS FORENSES

Níveis urinários de lítio e taxa de mortalidade por suicídio em Portugal

Carolina Isabel da Silva Gonçalves

M

2023



SEDE ADMINISTRATIVA

FACULDADE DE MEDICINA

FACULDADE DE CIÊNCIAS

FACULDADE DE DIREITO

FACULDADE DE FARMÁCIA

FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

FACULDADE DE PSICOLOGIA E DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR



Agradecimentos

Quero agradecer ao meu orientador, ao Professor Doutor Agostinho Almeida, por toda a ajuda que me deu e confiança que me transmitiu durante este período, e aos meus dois coorientadores, a Professora Doutora Laura Cainé e o Professor Doutor Agostinho Santos, pelo apoio dado.

Um agradecimento também a todas as pessoas que de alguma forma estiveram envolvidas neste projeto e que o tornaram possível, muito especialmente ao Rui Azevedo.

À minha família e amigos por todo o apoio e paciência que tiveram comigo, um obrigada não é suficiente.

Resumo

Existem evidências contraditórias sobre uma possível relação inversa entre a exposição natural ao lítio (Li) e a taxa de suicídio na população em geral. A maioria dos estudos anteriores avaliaram a exposição ao Li apenas através da determinação dos seus teores na água de consumo, assumindo que se correlacionam com o efetivo total aporte deste elemento ao organismo, ou seja, não foi considerado o impacto de outras fontes, o que pode justificar as discrepâncias observadas. O nosso estudo focou-se na avaliação dos níveis urinários de Li, por parecer ser uma abordagem mais fiável para esclarecer esta questão, ao permitir avaliar a real exposição ao Li, independentemente da fonte. Assim, foi conduzido um estudo comparativo entre os níveis de Li na urina, na água de consumo e na água “ambiental” em três regiões de Portugal com diferente risco relativo (RR) de suicídio, de acordo com dados publicados: Área Metropolitana do Porto (AMP; baixo RR), Trás-os-Montes (TM; alto RR) e uma região do centro de Portugal (CTR; RR intermédio). A 311 voluntários saudáveis foi solicitada uma amostra de urina (primeira urina da manhã), uma amostra de água de consumo doméstico e uma amostra de “água ambiental” da região de residência (proveniente de nascente, poço, rio, riacho, lagoa, etc.) a fim de representar o ambiente geológico/geoquímico local. Foi também solicitado o preenchimento de um questionário de frequência alimentar, com vista a identificar outras fontes de Li para o organismo. A determinação do Li nas amostras foi feita por ICP-MS. Os níveis de Li nas águas de abastecimento público foram tipicamente muito baixos (média $\pm$ DP e intervalo): $3,3 \pm 3,5$ (0,7-29,6) $\mu\text{g/L}$ em AMP (n=72); $3,8 \pm 7,7$ (0,1-45,8) $\mu\text{g/L}$ em TM (n=80) e $3,4 \pm 5,5$ (0,2-35,2) $\mu\text{g/L}$ em CTR (n=83), e apenas se observou uma diferença estatisticamente significativa entre a mediana da região AMP e as outras duas ($p < 0,005$). Nas águas “ambientais”, também não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as regiões e inversamente associadas ao RR. Os teores de Li foram de $8,1 \pm 18,8$ (0,7-110,9) $\mu\text{g/L}$ em AMP (n=40); $7,0 \pm 18,0$ (0,2-101,2) em TM (n=31) e $31,4 \pm 121,9$ (0,2-666,0) $\mu\text{g/L}$ em CTR (n=56). Por fim, também não foi encontrada uma relação inversa entre os níveis urinários de Li e o RR de suicídio. Os níveis médios foram de $66,7 \pm 128,1$ (5,9-871,3) $\mu\text{g/L}$ em AMP (n=91); $59,0 \pm 120,6$ (5,4-708,5) $\mu\text{g/L}$ em TM (n=90) e $39,1 \pm 98,0$ (3,4-917,5) $\mu\text{g/L}$ CTR (n=130). Estes resultados demonstram que, para além da água de consumo, outras fontes contribuem significativamente para a ingestão diária de Li e que não existe necessariamente uma correlação entre os níveis de Li na água de consumo e a exposição ao Li (conforme avaliada pelos níveis urinários). Por outro lado, também não foi possível documentar uma significativa associação inversa entre os próprios níveis urinários de Li e um menor RR de suicídio. Assim, o eventual papel “protetor” do Li contra a tendência para o suicídio nos níveis de exposição típicos em Portugal permanece incerto.

Palavras-chave

Lítio; taxa de suicídio; níveis urinários; exposição natural; água de consumo.

Abstract

There is contradictory evidence regarding a possible inverse relationship between natural exposure to lithium (Li) and the suicide rate in the general population. Most previous studies have evaluated exposure to Li only by determining its levels in drinking water, assuming that they correlate with the actual total supply of this element to the organism, i.e., the contribution of other possible sources has not been considered, which may explain the observed discrepancies. Our study focused on the determination of urinary Li levels, as it appears to be a more reliable approach to clarify this issue, as it allows the assessment of actual Li exposure, regardless of the source. In this context, a comparative study was carried out between Li levels in urine, drinking water and “environmental” water in three regions of Portugal with different relative risks (RR) of suicide, according to published data: Porto Metropolitan Area (PMA; low RR), Trás-os-Montes (TM; high RR) and a region in central Portugal (CTR; intermediate RR). Healthy volunteers (n=311) from the three regions were asked to provide a urine sample (first morning urine), a sample of domestic drinking water and a sample of an “environmental water” from the area of residence (from a spring, well, river, stream, pond, etc.), in order to represent the local geological/geochemical environment. Participants were also asked to fill out a food frequency questionnaire, aiming to identify other sources of Li for the body. The determination of Li was performed by ICP-MS. Li levels in drinking water from the public water supply systems were typically very low (mean $\pm$ SD and range): 3.3 ± 3.5 (0.7-29.6) $\mu\text{g/L}$ in PMA (n=72); 3.8 ± 7.7 (0.1-45.8) $\mu\text{g/L}$ in TM (n=80) and 3.4 ± 5.5 (0.2-35.2) $\mu\text{g/L}$ in CTR (n=83), with a statistically significant difference only between the median of the PMA region and the other two ($p < 0.005$). In “environmental” waters, no statistically significant differences were also found between regions ($p > 0.05$) nor an inverse association with RR. Li content was 8.1 ± 18.8 (0.7-110.9) $\mu\text{g/L}$ in PMA (n=40); 7.0 ± 18.0 (0.2-101.2) in TM (n=31) and 31.4 ± 121.9 (0.2-666.0) $\mu\text{g/L}$ in CTR (n=56). Finally, no inverse association was found between urinary Li levels and the RR of suicide ($p > 0.05$). Mean levels were 66.7 ± 128.1 (5.9-871.3) $\mu\text{g/L}$ in PMA (n=91); 59.0 ± 120.6 (5.4-708.5) $\mu\text{g/L}$ in TM (n=90) and 39.1 ± 98.0 (3.4-917.5) $\mu\text{g/L}$ in CTR (n=130). These results show that, in addition to drinking water, other sources contribute significantly to daily Li intake and that there is not necessarily a correlation between Li levels in drinking water and Li exposure (as assessed by urinary levels). On the other hand, it was also not possible to document a significant inverse association between Li urinary levels and a lower RR of suicide. Thus, the possible “protective” role of Li against suicide at exposure levels typical in Portugal remains uncertain.

Keywords

Lithium; suicide rate; urinary levels; natural exposure; drinking water.

Índice geral

1. Introdução	1
1.1 Suicídio	1
1.2 Lítio	2
1.2.1 Lítio na água	3
1.3 Lítio e suicídio	3
2. Materiais e métodos	7
2.1 Regiões e população em estudo	7
2.2 Critérios de inclusão	7
2.3 Recolha de amostras	7
2.3.1 Estudo piloto	7
2.3.2 Estudo principal	8
2.4 Preparação das amostras	8
2.5 Espectrometria de massa com plasma de acoplamento indutivo (ICP-MS) ..	11
Introdução da amostra	11
Fonte de plasma (ICP)	12
Interface	13
Sistema de lentes iónicas	15
Espectrómetro de massa (MS) – quadrupolo	15
Detetor	16
2.6 Controlo de qualidade	17
2.7 Análise estatística	17
3. Resultados e discussão	18
3.1 Estudo piloto	18
3.1.1 Níveis de Li na água	18
3.1.2 Níveis de Li na urina	19
3.2 Estudo principal	20
3.2.1 Dados do questionário	20
3.2.2 Níveis de Lítio	25
3.2.2.1 Água de abastecimento público	25
3.2.2.2 Água ambiental	28
3.2.2.3 Urina	31
3.2.3 Níveis de lítio na urina e bebida às refeições	34
3.2.4 Níveis de lítio na urina e consumo de café e tabaco	34
3.2.5 Níveis de lítio na urina e consumo de crustáceos/moluscos, leguminosas e cereais	36
4. Conclusão	38
5. Referências bibliográficas	40
6. Anexos	43

6.1. Anexo I – Kit de colheita de amostras	43
6.2. Anexo II - Folheto Informativo	44
6.3. Anexo III- Questionário	45
6.4. Anexo IV- Declaração de consentimento informado.....	46

Índice de figuras

Figura 1 - Clusters espaço-temporais de taxa de mortalidade por suicídio. Retirado de [6].....	6
Figura 2 - Equipamento de ICP-MS: marca Thermo Scientific, modelo iCAP™ [40].....	10
Figura 3 - Amostrador automático ("autosampler").....	12
Figura 4 - Nebulizador (seta azul) e câmara de nebulização (seta vermelha).	12
Figura 5 - Tocha.....	12
Figura 6 - Temperatura no plasma do tipo ICP [38].....	13
Figura 7 - Mecanismo de ionização dos analitos no plasma: transformação da matéria presente no aerossol em iões monovalentes positivos [38].	13
Figura 8 - A interface entre o plasma e espectrómetro de massa mostrando os cones e o sistema de lentes iónicas [38].....	14
Figura 9 - Sample cone" e "skimmer cone".Cone de amostragem, mostrando o orifício por onde os iões extraídos do plasma passam para o espectrómetro de massa.....	14
Figura 10 - Difusão do feixe de iões devido à diminuição de pressão dos eletrões, resultando num feixe de iões com carga positiva [38].....	15
Figura 11 - Analisador de espectrómetro de massa do tipo quadrupolo [38].....	16
Figura 12 - Detetor de iões [40].....	16
Figura 13 - Caracterização sociodemográfica dos participantes: grupo etário.....	21
Figura 14 - Caracterização sociodemográfica dos participantes: sexo.	21
Figura 15 - Caracterização das amostras de água de consumo.....	24
Figura 16 - Caracterização das amostras de água "ambiental".	25
Figura 17 - DotPlot dos teores de lítio nas águas de abastecimento público das três regiões. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. AMP – Área Metropolitana do Porto; TM – Trás-os-Montes; CTR – região Centro.	26
Figura 18 - BoxPlot dos teores de lítio nas águas de abastecimento público das três regiões. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. AMP – Área Metropolitana do Porto; TM – Trás-os-Montes; CTR – região Centro.	27
Figura 19 - DotPlot dos teores de lítio nas águas "ambientais" das três regiões. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. AMP – Área Metropolitana do Porto; TM – Trás-os-Montes; CTR – região Centro.	29
Figura 20 - BoxPlot dos teores de lítio nas águas "ambientais" das três regiões. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. AMP – Área Metropolitana do Porto; TM – Trás-os-Montes; CTR – região Centro.	30

Figura 21 - DotPlot dos teores de lítio nas amostras de urina das três regiões. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. AMP – Área Metropolitana do Porto; TM – Trás-os-Montes; CTR – região Centro.	31
Figura 22 - BoxPlot dos teores de Li nas amostras de urina das três regiões. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. AMP – Área Metropolitana do Porto; TM – Trás-os-Montes; CTR – região Centro.	32
Figura 23 - Regressão linear entre os níveis de Li nas urinas e os níveis de Li nas águas de consumo.	33
Figura 24 - DotPlot dos teores de lítio na urina em função do consumo de café. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização.	35
Figura 25 - DotPlot dos teores de lítio na urina em função do consumo de tabaco. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização.	35
Figura 26 - DotPlot dos teores de lítio na urina em função da frequência do consumo de crustáceos (ou moluscos). Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. MR – Muito Raramente; R - Raramente; F - Frequentemente; MF - Muito Frequentemente.	36
Figura 27 - DotPlot dos teores de lítio na urina em função da frequência do consumo de leguminosas. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. MR – Muito Raramente; R - Raramente; F - Frequentemente; MF - Muito Frequentemente.	37
Figura 28 - DotPlot dos teores de lítio na urina em função da frequência do consumo de cereais. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. MR – Muito Raramente; R - Raramente; F - Frequentemente; MF - Muito Frequentemente.	37

Índice de tabelas

Tabela 1 - Estatísticas descritivas dos teores de Li na água das regiões Área Metropolitana do Porto (AMP) e Trás-os-Montes (TM)*.....	18
Tabela 2 - Estatísticas descritivas dos teores de Li na urina de indivíduos residentes nas regiões Área Metropolitana do Porto (AMP) e Trás-os-Montes (TM).....	19
Tabela 3 - Estatísticas descritivas dos teores de Li na urina de indivíduos residentes na Área Metropolitana do Porto (AMP), agrupados em 3 sub-regiões.	20
Tabela 4 - Bebida habitual às refeições nas três regiões.	22
Tabela 5 - Consumo de café nas três regiões.	22
Tabela 6 - Consumo de tabaco nas três regiões.....	22
Tabela 7 - Frequência de consumo alimentar de crustáceos ou moluscos nas três regiões.....	23
Tabela 8 - Frequência de consumo alimentar de leguminosas nas três regiões.	23
Tabela 9 - Frequência de consumo alimentar de cereais nas três regiões.	23
Tabela 10 - Estatísticas descritivas dos teores de Li nas águas de abastecimento público das três regiões.	26
Tabela 11 - Estatísticas descritivas dos teores de Li nas águas “ambientais” das três regiões.....	29
Tabela 12 - Estatísticas descritivas dos teores de Li nas urinas das três regiões.....	32

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

AC – Corrente Alternada (do inglês, *Alternating Current*)
AMP – Área Metropolitana do Porto
AP – Abastecimento Público
CDC – Centers for Disease Control and Prevention (EUA)
CTR – Centro
DC – Corrente Direta (do inglês, *Direct Current*)
EM – Multiplicador de Iões (do inglês, *Electron Multiplier*)
F – Frequentemente
PP – Polipropileno
HDPE – Polietileno de Alta Densidade (do inglês, *High Density Poly Ethylene*)
ICP-MS – Espectrometria de massa com plasma de acoplamento indutivo (do inglês, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*)
MF – Muito Frequentemente
MR – Muito Raramente
MS – Espectrómetro de Massa (do inglês, *Mass Spectrometer*)
OMS – Organização Mundial de Saúde
PE – Periferia da cidade de Ermesinde
PP – Periferia da cidade de Penafiel
Ps – Sul do Porto
R – Raramente
RF – Radiofrequência
RR – Risco Relativo
TM – Trás-os-Montes

1. Introdução

1.1 Suicídio

O suicídio constitui um importante problema de saúde pública, estimando-se que seja a causa de morte de mais de 700.000 pessoas por ano em todo o mundo. Sendo que, por cada suicídio consumado, se estima que ocorram mais de 20 tentativas [1]. Em 2019 o suicídio foi considerado a quarta principal causa de morte entre indivíduos na faixa etária dos 15 aos 29 anos de idade (14^o a nível mundial), com um valor médio da taxa de suicídio no sexo masculino (2,52 por 100 mil habitantes) muito superior ao do sexo feminino (1,2 por 100 mil habitantes) [1,2,3]. No entanto, o sexo feminino é o que apresenta taxas mais elevadas de tentativa de suicídio ou autolesões não fatais [3,4].

A propensão para o suicídio é considerada um fenómeno complexo, não dependente apenas de condições individuais, mas sim de múltiplos fatores, desde fatores biológicos e psicológicos, a fatores económicos, ambientais e sociais [1]. Habitualmente, o suicídio está associado a doenças do foro mental, como a depressão ou a bipolaridade, a circunstâncias da vida de extremo stress (problemas financeiros, desemprego, etc.), ou a situações de violência ou abuso. Do mesmo modo, a sua taxa de incidência tende a ser superior em grupos de minorias, sejam elas étnicas, sociais, religiosas, etc. [5,6]. Devido à grande diversidade destes fatores, a taxa de suicídio varia consideravelmente de país para país. Em 2019, os valores por 100 mil habitantes, chegaram a atingir valores tão altos quanto 28,6 na Coreia do Sul, 25,1 na Rússia e 23,5 na África do Sul; ou de apenas 1,6 na Jordânia, 2,1 na Venezuela e Honduras e 2,2 nas Filipinas [7]. Estes são dados oficiais, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), no entanto, podem não refletir rigorosamente a realidade, existindo diferenças em relação aos dados reais, por exemplo, devido a diferentes políticas de notificação de casos.

Em Portugal Continental, num estudo realizado com os dados sobre a mortalidade por suicídio no período entre 1980 e 2015, registaram-se 31.131 óbitos, correspondendo a uma taxa média anual de 8,8 suicídios por 100 mil habitantes [6]. Verificou-se ainda que, de 2006 a 2015, a taxa de suicídio apresentou uma tendência evolutiva crescente. Além disso, os períodos de aumento desta taxa parecem coincidir com os períodos de crise económica e financeira, o que evidencia, como referido anteriormente, o forte impacto dos fatores de natureza socioeconómica, como fatores de risco para comportamento suicida. Segundo estatísticas mais recentes da OMS, a taxa de suicídio em Portugal foi de 11,5 por 100 mil habitantes em 2019 [2].

Em suma, embora existam várias estratégias e medidas eficazes para prevenir o risco de suicídio, quer seja de carácter individual (antidepressivos, estabilizadores de humor, etc.), quer sejam direcionadas para a população em geral (iniciativas de prevenção do suicídio), as elevadas taxas de suicídio que ainda se verificam, evidenciam a necessidade de continuar a investir nesta área, podendo melhorar a abordagem dos

fatores de risco mais comuns, nomeadamente a depressão, e implementando programas de prevenção / intervenção nas comunidades [1,8].

1.2 Lítio

O lítio (Li) é um metal alcalino relativamente raro, descoberto em 1817 por Johan August [9]. A eficácia do Li (geralmente administrado sob a forma de carbonato) para fins terapêuticos tornou-se evidente a partir de 1949 no tratamento da mania. Desde então, que a sua administração oral se tem mostrado muito eficaz como estabilizador de humor, tendo-se tornado amplamente utilizado como fármaco no tratamento e prevenção de diversas doenças psiquiátricas, especialmente a doença bipolar [10,11]. Atualmente, são numerosos os estudos observacionais que mostram a eficácia do Li na redução do risco de suicídio em pacientes com doenças psiquiátricas [12,13,14]. Numa revisão sistemática recente, onde foram analisados 18 estudos prospetivos e 10 estudos retrospectivos, ficou demonstrado que na maioria dos casos, em doses terapêuticas, o Li mostrou-se eficaz na diminuição da taxa de suicídio em doentes com perturbações de humor e que um tratamento de longa duração traz mais efeitos benéficos do que tratamentos de curta duração [14].

A dose terapêutica diária geralmente varia entre 400 mg e 1200 mg de carbonato de Li (400 mg de carbonato de Li corresponde a 75,1 mg de Li, ou seja, 10,8 mmoles), sendo que o objetivo é colocar os níveis plasmáticos de Li no intervalo de 0,5 a 1,0 mmol/L, sem nunca ultrapassar 1,5 mmol/L, devido a risco de toxicidade [15,16].

Relativamente ao mecanismo de ação, este ainda não é completamente conhecido. No entanto, por ter propriedades semelhantes às do sódio (Na), o Li poderá atuar como um seu substituto nas funções de transporte e na geração de potenciais de ação. Além disso, também parece ter uma função na neuroproliferação e na neuroprotecção [11,17].

Na natureza, por ser muito reativo, o Li é encontrado sempre sob a forma de diversos minerais (nas rochas), encontrando-se distribuído de forma não uniforme [9,11]. Daí, o Li é transferido para as águas e para o solo, de onde é absorvido pelas plantas, entrando assim na cadeia alimentar [11]. Contudo, devido à já destacada distribuição não uniforme na Natureza, os alimentos podem apresentar níveis de Li muito variáveis consoante a região [11,18]. Alguns dos alimentos com maiores concentrações de Li são os leguminosas/grãos (70 µg/kg), crustáceos e moluscos (70 µg/kg), água de consumo (70 µg/kg), café (40 µg/kg) e massa (40 µg/kg) [19]. Estima-se que a sua ingestão diária, resultante da exposição natural ao Li, seja entre 7,16 – 29,15 µg/dia [20]. Na população francesa, um estudo realizado em 2011 estimou que a sua ingestão diária seja cerca de 48 µg/dia [19]. Note-se que esta dose é muitíssimo inferior, na ordem de milhares de vezes, à utilizada na terapêutica, pelo que não se deve cair na tentação de procurar extrapolar os efeitos (positivos e negativos) das doses

terapêuticas (mg/dia) para as doses que resultam da exposição natural ao Li (µg/dia). No organismo humano, a quantidade total de Li é cerca de 7 mg [21].

Uma vez ingerido, o Li é absorvido no intestino através dos canais de Na e distribuído de forma homogênea na água corporal, podendo os seus níveis serem quantificados no plasma sanguíneo, saliva ou urina. A excreção é feita sobretudo pelos rins [18,22].

1.2.1 Lítio na água

Com uma concentração média de 170 µg/L [23] o Li é o décimo quarto elemento mais abundante na água do mar. Nas águas superficiais (ribeiras, rios, lagos) os seus níveis são significativamente mais baixos, situando-se habitualmente entre 1 e 10 µg/L [23]. Já em águas subterrâneas (lençóis de água), os níveis de Li podem atingir os 500 µg/L, estando descritas algumas “águas minerais” com níveis de 100 mg/L [18]. Ainda assim, seria necessário beber entre 2-3 litros destas águas extremamente mineralizadas para se atingir as doses que os indivíduos em tratamento com carbonato de Li para a doença bipolar ingerem.

Segundo o Atlas Geoquímico Europeu [23], no âmbito do qual foram analisadas 807 amostras de águas correntes (superficiais), os níveis de Li encontrados variaram entre <0,1 e 356 µg/L, com uma média de 2,1 µg/L. As concentrações mais baixas foram observadas em países do norte da Europa (Noruega, Suécia, Finlândia, Irlanda e Escócia) e região ocidental da península balcânica (Eslovénia, Croácia Ocidental e norte da Albânia). As concentrações mais elevadas foram encontradas no sudeste da Inglaterra, sul e leste da Espanha, Alemanha, Hungria, Eslováquia e centro e sul da Itália [23]. Também estão publicados dados para outros países europeus como a Áustria [24] e Grécia [25]. Existem também muitos estudos sobre aos níveis de Li nas águas dos EUA. Num deles foi reportada uma concentração média de 8,1 µg/L em água de poços de abastecimento público e 6 µg/L em água de poços de abastecimento doméstico [26]. No Texas, o intervalo de concentrações em águas de consumo público foi de 2,8 µg/L a 219 µg/L [27]. No Japão obtiveram-se concentrações mais baixas, variáveis entre “não detetável” e 12,9 µg/L [28].

Em Portugal, no estudo de Neves *et al.* [21], o teor de Li nas águas de abastecimento público apresentou uma mediana de 4 µg/L e de 16 µg/L nas águas engarrafadas. As águas engarrafadas foram ainda divididas entre águas de nascente (teores de Li entre 2 e 44 µg/L) e águas minerais (< 1 e 2210 µg/L).

1.3 Lítio e suicídio

Embora não seja considerado um elemento fisiologicamente essencial, a um elevado aporte dietético de Li têm vindo a ser associados efeitos benéficos, nomeadamente a diminuição da taxa de suicídio [29], o que ficou bem evidenciado em diversas revisões

sistemáticas com meta-análise dos dados obtidos em numerosos estudos ecológicos em que foi estudada a relação entre os níveis de Li na água de consumo e a taxa de mortalidade por suicídio na população em geral [14,17,30,31,32].

Ainda que tratando-se de aportes diários muito inferiores (centenas ou milhares de vezes inferiores, como já foi referido) às doses utilizadas na prática clínica para profilaxia e tratamento da perturbação bipolar e da depressão major recorrente, em que se recorre a doses diárias de 400 a 1200 mg de Li [33], muitos estudos demonstraram a existência de uma relação inversa entre as duas variáveis, ou seja, nas regiões onde os níveis de Li na água de consumo são superiores, a taxa de suicídio tende a ser menor [27,34,35]. No entanto, também existem estudos, incluindo em Portugal, onde tal relação inversa não foi observada. Em Portugal, num estudo conduzido entre 2011 e 2016, foram analisadas as taxas de mortalidade por suicídio e os níveis de Li na água de consumo em 54 municípios. A concentração média de Li na água de consumo foi de 10,9 µg/L (com um desvio padrão de 27,2 µg/L) [36] e não se observou qualquer relação estatisticamente significativa com a taxa de mortalidade por suicídio.

Diversos fatores podem justificar esta discordância. Entre eles está o facto de parecer que o efeito “protetor” do Li apenas se faz sentir para concentrações na água de consumo acima de 30 µg/L. Esta observação foi feita por Knudsen *et al.* [37] num estudo coorte de *follow-up* de 22 anos (1991 a 2012) realizado na Dinamarca, envolvendo 3,7 milhões de pessoas e no qual foram analisados os níveis de Li em 151 sistemas públicos de abastecimento de água (em 19 deles, os dados foram recolhidos entre outubro de 2009 e junho de 2010; nos restantes 139, os dados foram obtidos entre abril e junho de 2013). Durante o período considerado, 0,38% da população em estudo (14.151/3.740.113 indivíduos) cometeu suicídio e a média dos níveis de Li nas águas foi de 11,6 µg/L. Outra explicação para as discrepâncias entre estes estudos ditos “ecológicos” pode estar associada com uma sua importante limitação, que é a de assumirem que o teor de Li na água de consumo se correlaciona com o efetivo aporte deste elemento ao organismo, não atendendo ao contributo de outras fontes. Ora, principalmente quando a concentração de Li na água de consumo é baixa, outras fontes poderão assumir uma maior importância relativa [32,36,38].

Além disso, estes estudos pressupõem que a população consome essencialmente água e alimentos da própria região, admitindo-se que, num local com elevados teores de Li nas águas, isso refletirá uma riqueza geológica em Li, e consequentemente elevados teores deste elemento nos solos e alimentos da região, o que leva a uma grande ingestão de Li por parte dos habitantes. No entanto, hoje em dia é cada vez mais provável que a população não consuma água e alimentos com origem na sua área de residência. Logo, a correlação entre o teor de Li na água de consumo e a real ingestão deste elemento pela população pode falhar, uma vez que a água de consumo proveniente da rede de abastecimento público, pode ter origem numa região bem afastada daquela onde se reside, ou seja, podemos residir numa região geologicamente rica em Li, mas consumirmos água com baixos níveis desse elemento, e vice-versa. Mais

ainda, atualmente, grande parte dos alimentos que consumimos são adquiridos em supermercados, onde existem alimentos provenientes de diferentes regiões do país, e mesmo importados, o que torna irrelevante residir numa região rica ou pobre em Li em termos do real aporte deste elemento ao organismo. É por essa razão que se torna fundamental medir os níveis de Li na “água de consumo” (a água usada para beber e/ou cozinhar os alimentos), de forma a avaliar a ingestão de Li por essa via, mas também nas “águas naturais” da região (superficiais e subterrâneas), a qual fornece informações sobre o ambiente geológico local quanto aos níveis de Li.

A limitação acima referida, isto é, a possibilidade da água de consumo não ser um bom indicador do aporte de Li ao organismo foi destacada por Prazeres (2019) [38], tendo sido sugerida a realização de estudos de biomonitorização humana, com a determinação dos níveis de Li em amostras biológicas [11]. Nesta perspetiva, atendendo a que o Li é essencialmente eliminado na urina, uma das alternativas para avaliar a quantidade de Li efetivamente ingerida diariamente poderá ser através da determinação dos seus níveis urinários.

Loureiro *et al.* (2018), utilizando os dados referentes ao período 1980-2015 do Instituto Nacional de Estatística (INE), elaboraram um mapa de “*clusters* espaço-temporais” da taxa de mortalidade por suicídio em Portugal Continental. Neste mapa, observam-se *clusters* (de municípios) com grandes diferenças nas taxas de suicídio. Temos assim, por exemplo, um *cluster* na região de Trás-os-Montes (*cluster* E, no trabalho original) com um risco relativo (RR) de 1,67, o terceiro mais elevado a nível nacional, um *cluster* (H) na região centro com um RR intermédio (0,58), e um *cluster* (F), grosso modo correspondendo à região da Área Metropolitana do Porto, com um RR de 0,28, correspondendo à região com menor RR de suicídio em Portugal [6] (Figura 1).

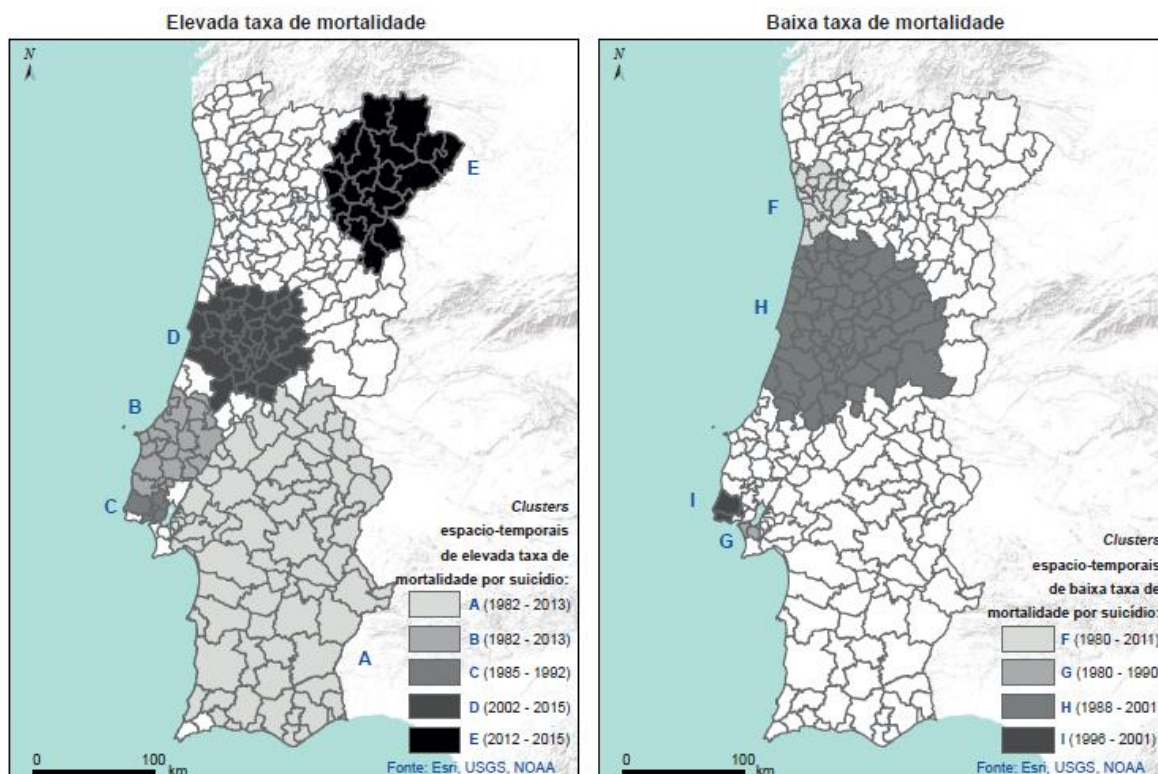


Figura 1 - Clusters espaço-temporais de taxa de mortalidade por suicídio. Retirado de [6].

Neste contexto, o trabalho por nós realizado visou avaliar se em Portugal se observa alguma relação inversa entre a taxa de suicídio e a ingestão de Li, avaliada através da determinação dos seus níveis urinários na população nas três regiões mencionadas acima. Como objetivo secundário, pretendeu-se avaliar se a principal fonte de aporte de Li ao organismo é a água de consumo doméstico ou se outras fontes assumirão maior importância.

2. Materiais e métodos

2.1 Regiões e população em estudo

A nossa investigação foi dividida num estudo piloto e no estudo principal. O estudo piloto foi conduzido em duas regiões de Portugal Continental: a região da Área Metropolitana do Porto (AMP; baixo RR) e a região de Trás-os-Montes (TM; alto RR). Para além das amostras de água, no total envolveu amostras de urina de 182 indivíduos residentes nessas regiões (n=131 na região AMP; n=51 na região TM).

No estudo principal foi incluída uma terceira região, a região Centro (CTR; RR intermédio). Para além das amostras de água, envolveu amostras de urina de 311 indivíduos residente nessas regiões (n=91 na região AMP; n=90 na região TM; n=130 na região CTR).

Os dados sobre a mortalidade por suicídio em Portugal Continental foram retirados do estudo de Loureiro *et al.* [6], publicado em 2018 e conduzido sobre dados obtidos entre 1980 e 2015.

2.2 Critérios de inclusão

No estudo piloto, como critérios de inclusão apenas se exigiu que as amostras de urina fossem de indivíduos que residissem numa das áreas em estudo. No estudo principal, além do local de residência, também se exigiu que fossem indivíduos aparentemente saudáveis, tendo sido excluídos participantes portadores de quaisquer condições médicas conhecidas.

2.3 Recolha de amostras

2.3.1 Estudo piloto

No total foram colhidas 140 amostras de água (n= 77 na região TM; n=63 na região AMP) e 182 amostras de urina (n=51 na região TM e n=131 na região AMP).

As amostras de água foram colhidas para garrafas de plástico (33 cl) totalmente preenchidas, maioritariamente em casas de habitação, restaurantes, cafés, supermercados e postos de abastecimento de combustíveis, representando água potável, para consumo humano. Algumas amostras foram colhidas em fontes, nascentes, pequenas lagoas e riachos, etc., de modo a representarem o ambiente geológico natural da região.

As amostras de urina (primeira urina da manhã) foram colhidas em recipientes de plástico padrão, e eram de indivíduos que recorreram a Laboratórios Clínicos para análises laboratoriais de rotina. Todas as amostras foram sempre conservadas a temperaturas entre 2 °C e 8 °C.

Uma limitação deste estudo reside no facto de ter sido realizado com amostras de indivíduos cujo estado de saúde é desconhecido, por esse motivo foi conduzido o estudo principal com voluntários (aparentemente) saudáveis.

2.3.2 Estudo principal

A cada participante foi entregue um recipiente padrão de plástico para colheita de urina (1ª urina da manhã) e dois tubos de laboratório, também de plástico (15 mL), para a colheita de água, correspondendo o tubo 1 à água que o participante normalmente bebia (“água de consumo”), e o tubo 2 a uma água “ambiental” da região (de fontes, repuxos, rios, lagos, poços, minas, etc.), de modo a representar o ambiente geológico local (Anexo I). O estudo foi explicado a todos os participantes de forma oral e através de um folheto informativo (Anexo II). Todas as amostras foram sempre conservadas a temperaturas entre 2 °C e 8 °C.

As colheitas foram realizadas entre outubro de 2022 e maio de 2023 e no total foram recolhidas 311 amostras de urina, 300 amostras de água de consumo (água 1) e 278 amostras de águas “ambientais” (água 2).

A todos os participantes foi também solicitado o preenchimento de um questionário de forma a recolher informação individual relativamente à idade, sexo e local de residência (código postal), bem como sobre a bebida habitual às refeições, consumo de café e tabaco, frequência do consumo de alimentos conhecidos por terem teores médios de Li mais elevados (moluscos e crustáceos, leguminosas e cereais) e ainda a indicação da origem da água 1 (água de consumo) e da água 2 (água “ambiental”) entregues (Anexo III). Todos os participantes consentiram a sua participação no estudo de forma voluntária e anónima, assinando uma declaração de consentimento informado (Anexo IV).

2.4 Preparação das amostras

Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura (> 18,2 MΩ.cm a 25 °C) obtida com um sistema de purificação de água Sartorius Arium® pro (Gottingen, Alemanha). O ácido nítrico (HNO₃; 67-69% p/p PrimarPlus – Trace Analysis Grade) foi obtido da Fisher Scientific (Loughborough, Reino Unido). O Triton X-100 foi obtido da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). O etanol absoluto anidro foi obtido da Carlo Erba Reagents (Val de Reuil, França).

Todo o material de laboratório (frascos, tubos, balões volumétricos, etc.) era feito de polipropileno ou polietileno de alta densidade (HDPE) e foi sempre devidamente descontaminado por imersão em solução de HNO₃ a 10% v/v durante pelo menos 24 horas, seguido de lavagem abundante com água ultrapura e secagem à temperatura ambiente sob condições livres de poeira.

A determinação de elementos vestigiais foi realizada com um instrumento de espectrometria de massa com plasma de acoplamento indutivo (ICP-MS), da marca (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA EUA), modelo iCAP™ Q (Figura 2), equipado com um nebulizador concêntrico de quartzo TQ+ da Meinhard® (Golden, CO, EUA), uma câmara de nebulização ciclônica de quartzo de alta pureza e uma tocha de quartzo desmontável com um injetor de quartzo de diâmetro interno de 2,5 mm. A interface consistia de dois cones de níquel (cone amostrador e cone *skimmer*). Como gás de nebulização e de formação do plasma foi usado árgon de elevada pureza (99,9997%), fornecido pela Gasin (Matosinhos, Portugal).

Antes da realização das séries analíticas, o instrumento foi ajustado para máxima sensibilidade e estabilidade do sinal e para mínima formação de óxidos e iões de dupla carga. Os principais parâmetros de operação do ICP-MS foram os seguintes: fluxo de gás do nebulizador, 1,08 L/min; fluxo de gás auxiliar, 0,79 L/min; fluxo de gás do plasma, 13,9 L/min; potência do gerador de radiofrequência, 1550 W; tempo de permanência, 10-100 ms.

A análise das amostras de urina foi realizada com base num procedimento publicado pelos *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), dos EUA [39]. As amostras foram diluídas 1:10 com uma solução diluente contendo 2% v/v de HNO₃, 500 µg/L de Au (preparado a partir de *Gold standard for ICP*, 1000 mg/L, Fluka, Steinheim, Alemanha), 1,5% v/v de etanol e 10 µg/L de ⁶Li (preparado a partir de *Internal standard mix 1-SCP-IS7*, 10 mg/L, PlasmaCAL (da SCP Science, Baie D'Urfé, Quebec, Canadá), Ga (preparado a partir de *Galium standard for AAS*, 1000 mg/L, Fluka), Rh (preparado a partir de *Rhodium ICP standard solution*, 1000 mg/L, Fluka) e Ir (preparado a partir de *Iridium standard for ICP*, 1000 mg/L, PlasmaCAL, SCP Science), como padrões internos (IS).

A análise das amostras de água foi realizada de modo semelhante, exceto quanto à solução diluente, que não continha etanol. Para análise de Li, foi uma curva de calibração com 7 pontos (1,0, 5,0, 10, 25, 50, 100 e 200 µg/L) usando soluções padrão preparadas através da diluição adequada de uma solução comercial multi-elementar (*ICP multi-element standard solution XVI*, 100 mg/L, Certipur®, Supelco, Steinheim, Alemanha).

As soluções de calibração assim preparadas foram diluídas 1:10 com o mesmo diluente usado para diluir todas as amostras.

Os isótopos elementares ⁷Li, ⁹Be, ⁵⁵Mn, ⁵⁹Co, ⁶⁰Ni, ⁶⁵Cu, ⁶⁶Zn, ⁷⁵As, ⁸²Se, ⁸⁷Rb, ⁸⁸Sr, ⁹⁸Mo, ¹¹¹Cd, ¹²¹Sb, ¹³³Cs, ¹³⁷Ba, ²⁰²Hg, ²⁰⁵Tl, ²⁰⁶Pb, ²⁰⁷Pb e ²⁰⁸Pb foram medidos para determinação analítica, e os isótopos elementares ⁶Li, ⁷¹Ga, ¹⁰³Rh e ¹⁹³Ir foram monitorados como IS.

Uma solução contendo 5% v/v de HNO₃, 1,5% v/v de etanol, 0,002% v/v de Triton X-100 e 500 µg/L de Au foi usada para lavagem do sistema de introdução de amostras entre cada análise de amostras de urina, de modo a evitar a contaminação entre uma

amostra e a seguinte (*carry-over*). A solução de lavagem utilizada na análise das amostras de água era semelhante, mas sem a presença de etanol.

Após homogeneização completa com um agitador de vortex, as amostras diluídas e as soluções padrão de calibração foram apresentadas ao equipamento de ICP-MS utilizando um amostrador automático CETAC ASX-520 (Teledyne CETAC Technologies, Omaha, NE, EUA).

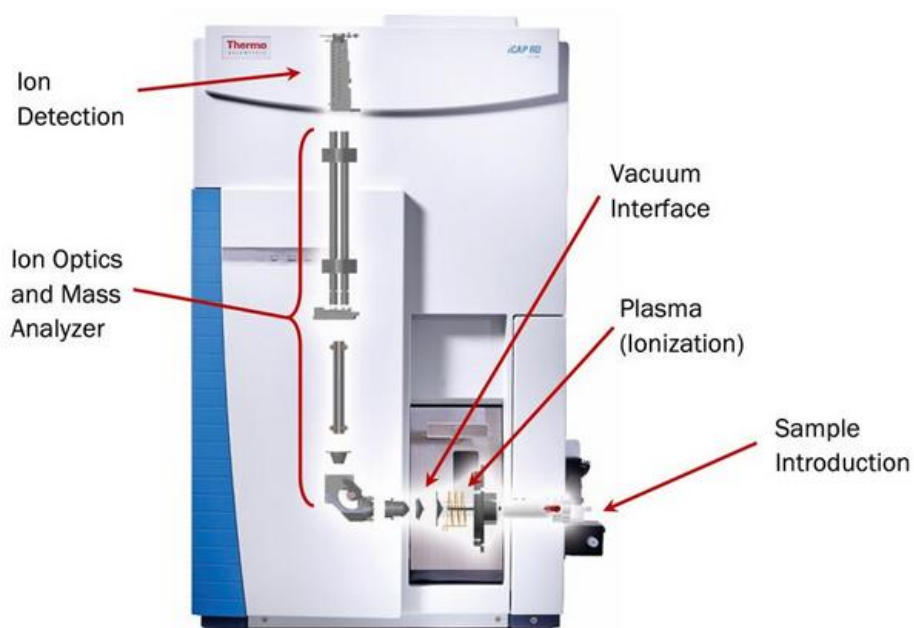


Figura 2 - Equipamento de ICP-MS: marca Thermo Scientific, modelo iCAP™ [40].

2.5 Espectrometria de massa com plasma de acoplamento indutivo (ICP-MS)

A técnica de ICP-MS é uma técnica analítica correntemente muito utilizada para analisar elementos em amostras biológicas. As suas vantagens, como alto rendimento analítico (alta velocidade de análise), capacidade de detecção de múltiplos elementos e baixos limites de detecção, fazem com atualmente seja considerada a melhor técnica para a detecção e quantificação de elementos bioquímica ou toxicologicamente relevantes [41,42,43].

O princípio desta técnica consiste na introdução da amostra (no estado líquido) num nebulizador, onde é convertida num aerossol de pequenas gotículas dispersas no gás árgon. Esse aerossol segue para uma câmara de nebulização, onde as gotículas de maiores dimensões são removidas e apenas as partículas mais finas seguem para a tocha. Na tocha é formado um plasma (por uma ação de uma bobine ligada a um gerador de radiofrequência (RF)), também formado a partir do gás árgon, e que se encontra a elevada temperatura (6.000-10.000 K). As entrarem neste plasma as gotículas de amostra são dessolvatadas, a matéria volatiliza e decompõe-se, originando átomos que depois ionizam (por perda de 1 eletrão). Obtém-se assim uma elevada população de iões elementares monovalentes, de carga +1. Estes iões seguem para o espectrómetro de massa, através de uma interface contendo um sistema de lentes iónicas que os atrai e foca. No espectrómetro de massa os iões são sequencialmente separados de acordo com a sua razão massa/carga. Por fim, a corrente de iões é convertida num sinal elétrico, através de um detetor, sendo que em condições adequadas esse sinal é diretamente proporcional à quantidade de iões do analito no plasma e também à concentração do analito na solução em análise [17,41].

Introdução da amostra

Para facilitar o trabalho, as amostras líquidas podem ser colocadas num amostrador automático (*autosampler*) (Figura 3), o qual, automaticamente, com auxílio de uma bomba peristáltica um braço mecânico capaz de realizar movimentos segundo os eixos X, Y e Z, leva a amostra até ao nebulizador (Figura 4). No nebulizador, devido a um fluxo de gás constante (árgon), a amostra é convertida num aerossol, o qual entra na câmara de nebulização (Figura 4). Na câmara de nebulização, as partículas de maior tamanho são removidas e drenadas, e apenas as gotículas mais pequenas (< 10 µm de diâmetro) entram no plasma (tocha). Assim, apenas 1-2% do volume de amostra aspirado e nebulizado chega realmente ao plasma. Esta separação das gotículas é importante porque o plasma é ineficaz na dissociação de partículas de maiores dimensões [41,42].

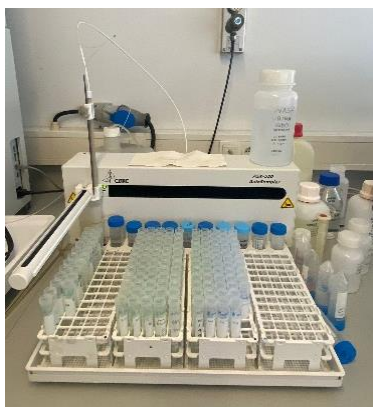


Figura 3 - Amostrador automático ("autosampler").

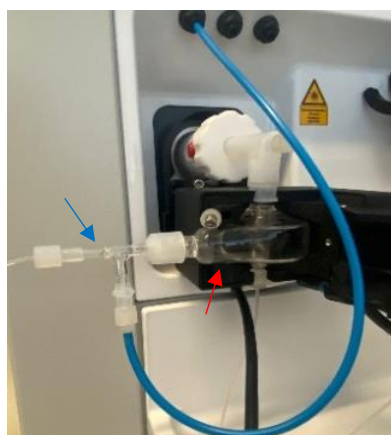


Figura 4 - Nebulizador (seta azul) e câmara de nebulização (seta vermelha).

Fonte de plasma (ICP)

O aerossol de amostra que sai da câmara de nebulização entra na tocha através de um tubo mais interno (injetor). De facto, a tocha tipicamente consiste num conjunto de três tubos concêntricos de quartzo: o tubo injetor (tubo interno), o qual transporta o aerossol de amostra até ao plasma; um tubo intermédio, por onde flui o gás auxiliar (que pode também ser árgon, se não for necessário usar um outro gás adicional); e o tubo mais externo, que onde flui um caudal elevado de gás árgon, que dá forma ao plasma e arrefece a tocha (Figura 5) [42].



Figura 5 - Tocha.

Na extremidade da tocha encontra-se uma bobine ligada a um gerador de radiofrequência (RF). Ao aplicar um sinal de RF à bobine, esta é percorrida por uma corrente alternada (AC), criando um campo magnético variável no tempo. Devido ao fenómeno de indução eletromagnética, este campo magnético acelera partículas carregadas (eletrões, iões Ar^+), que por sua vez colidem com os átomos de árgon (que continuam a chegar à tocha), ionizando-os também. Destas colisões resultam mais iões Ar^+), bem como mais eletrões. O processo repete-se sucessivamente, permitindo obter

um plasma autossustentado. Como a energia é fornecida pela bobine RF (indutor), chama-se a isto um plasma indutivamente acoplado [41,42,44].

No interior do plasma, existem zonas com temperaturas variáveis (Figura 6). É nesse ambiente de elevada temperatura que o aerossol entra, passando depois por processos de dessolvatação, vaporização, atomização e, por fim, ionização, como se encontra explicado na figura 7 [41].

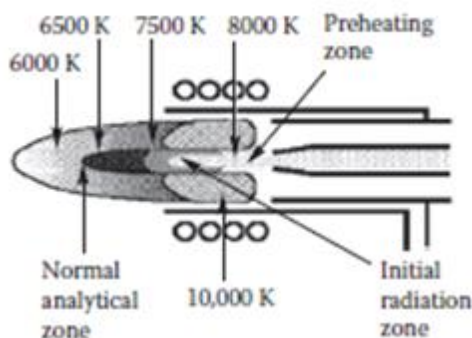


Figura 6 - Temperatura no plasma do tipo ICP [38].

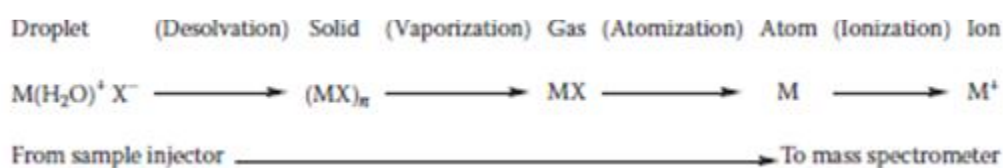


Figura 7 - Mecanismo de ionização dos analitos no plasma: transformação da matéria presente no aerossol em íons monovalentes positivos [38].

Interface

Os íons produzidos no plasma a partir da matéria da amostra entram no espectrómetro de massa através de uma interface (Figura 8), que constitui um dos componentes mais importantes do equipamento, uma vez que é fundamental que os íons sejam transportados para o analisador do espectrómetro de massa com elevada eficiência para se ter elevada sensibilidade [41].

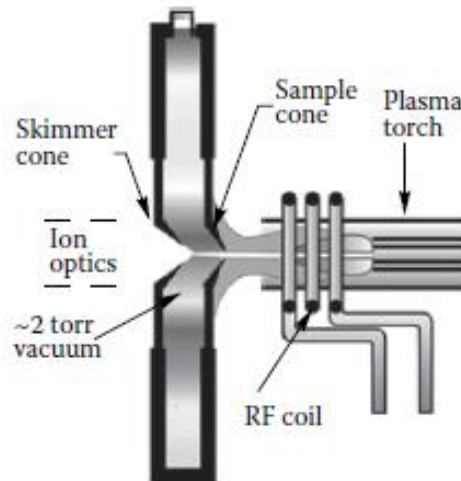


Figura 8 - A interface entre o plasma e espectrômetro de massa mostrando os cones e o sistema de lentes iônicas [38].

A interface tipicamente consiste em dois cones metálicos (níquel, platina) que se encontram entre o plasma (à pressão atmosférica de 760 torr) e a câmara de alto vácuo do espectrômetro de massa (a pressão de 10^{-6} torr). A pressão nesta zona é mantida através de uma bomba de vácuo mecânica, e situa-se entre os 1-2 torr [41].

Ao serem extraídos do plasma, os íons são orientados para o pequeno orifício (0.8-1.2 mm de diâmetro) do primeiro cone ("sample cone") (Figura 9). Devido à grande diferença de pressão, ocorre uma expansão da nuvem de íons que, logo de seguida, são atraídos para o segundo cone ("skimmer cone"), onde atravessam um orifício ainda menor (0.4-0.8 mm de diâmetro) e entram na câmara de alto vácuo, atraídos e direcionados por um sistema de lentes iônicas [41,42]. Devido à alta temperatura do plasma, esta interface tem de ser arrefecida, para não derreter, o que é feito com circulação de água fria [41].

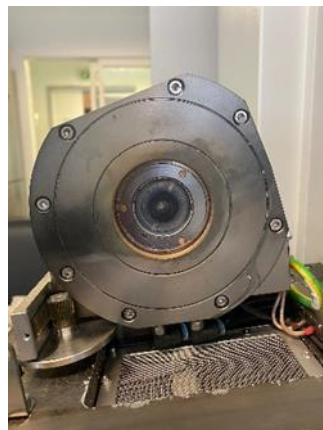


Figura 9 - "Sample cone" e "skimmer cone". Cone de amostragem, mostrando o orifício por onde os íons extraídos do plasma passam para o espectrômetro de massa.

Sistema de lentes iônicas

Situadas entre o cone “skimmer” e o espectrómetro de massa, numa zona em que a pressão já diminuiu para cerca de 10^{-3} – 10^{-4} torr, encontra-se um conjunto de lentes eletrostáticas. Estas lentes têm a função de focar e direcionar o feixe de íons vindo do plasma até ao espectrómetro de massa, garantindo ao mesmo tempo que fótons (luz), neutrões e outras partículas indesejadas não atinjam o detetor. Estas partículas são a causa de ruído de fundo e instabilidade de sinal [41,42]. Com a diminuição da pressão, os eletrões difundem do feixe de íons, resultando um feixe globalmente carregado positivamente (Figura 10) [41].

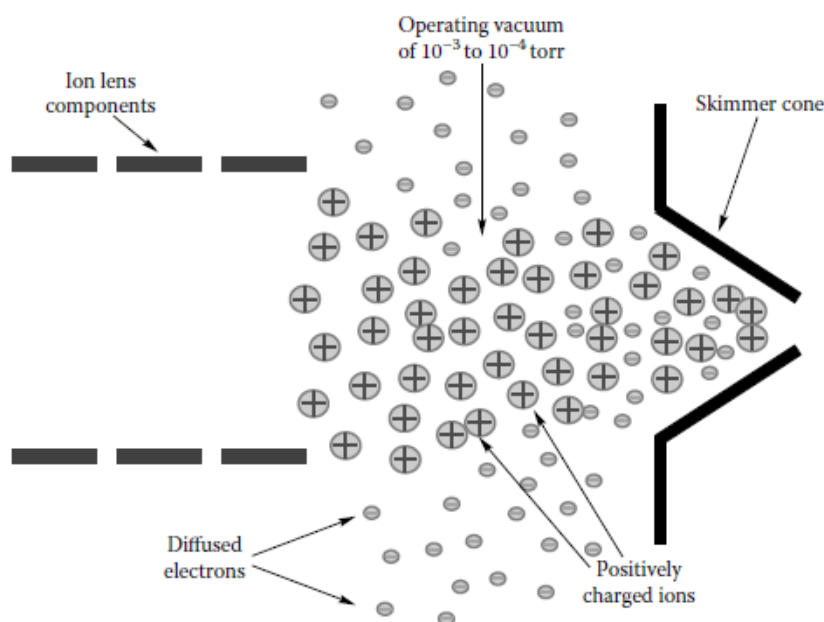


Figura 10 - Difusão do feixe de íons devido à diminuição de pressão dos eletrões, resultando num feixe de íons com carga positiva [38].

Espectrómetro de massa (MS) - quadrupolo

Focado pelo sistema de lentes, o feixe de íons entra no espectrómetro de massa. O espectrómetro de massa tem a função de separar os íons em função da sua razão massa/carga, e rejeitar os íons sem interesse. São vários os tipos de “analísadores” que podem estar presentes nos espectrómetros de massa, sendo o mais utilizado o quadrupolo (Figura 11) [41].

O quadrupolo é assim chamado por ser constituído por quatro barras cilíndricas paralelas, às quais são aplicadas, em extremos opostos, uma corrente alternada de radiofrequência (AC) e uma corrente contínua (DC). Diferentes combinações de AC/DC vão permitir focar o feixe sucessivamente no plano longitudinal e no plano transversal, o que leva a uma trajetória oscilante. Em determinadas condições, apenas os íons com uma específica relação massa/carga vão poder seguir uma trajetória estável nas duas direções, e apenas essa espécie iónica, com essa específica relação m/z consegue

atravessar o quadrupolo. Os restantes iões entram em trajetórias instáveis e são ejetados do quadrupolo, não seguindo para o detetor [45,46]. Esse procedimento é repetido de modo que todos os analitos (diferentes relações massa/carga), possam ser medidos.

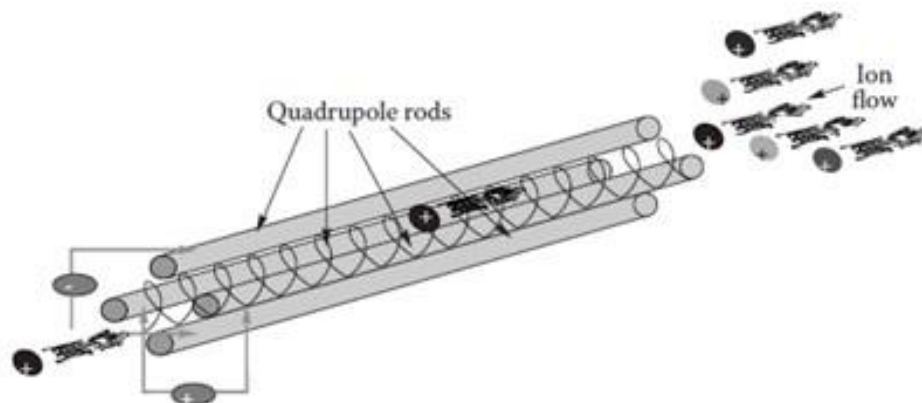


Figura 11 - Analisador de espectrômetro de massa do tipo quadrupolo [38].

Detetor

O detetor é o componente do equipamento que tem por função detetar e quantificar os iões que a ele chegam vindos do quadrupolo. Utilizando um circuito de medição integrado, o detetor converte o “impacto” dos iões em pulsos elétricos (Figura 12). A magnitude da corrente elétrica gerada é diretamente proporcional à intensidade do feixe de iões do analito [41]. O detetor mais utilizado em ICP-MS é o multiplicador de iões (EM). Este é constituído por uma série de dínodos, que são componentes importantes no processo de amplificação de sinal. Quando os iões chegam, vindos do quadrupolo, embatem no primeiro dínodo, levando à libertação de vários eletrões. Os eletrões assim libertados são acelerados e vão atingir outro dínodo, causando a emissão de eletrões secundários, ou seja, ocorre a “multiplicação” de eletrões. Este processo é repetido diversas vezes, originando um sinal eletrónico mensurável, proporcional à concentração do analito [41,42].

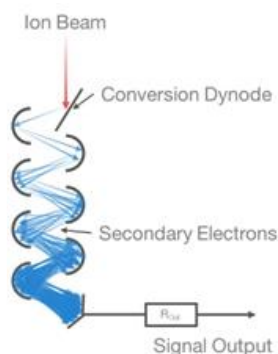


Figura 12 - Detetor de iões [40].

2.6 Controlo de qualidade

As amostras foram analisadas em ordem aleatória para evitar efeitos de sequência (efeito de série). Para garantir a qualidade dos resultados obtidos na análise das amostras de urina e de água, foram analisadas periodicamente (no início, meio e fim de cada série analítica) amostras de controlo de qualidade: Seronorm™ Trace Elements Urine L-1 e L-2 (obtidos da SERO AS, Billingstad, Noruega) e EnviroMAT Drinking Water EP-H (SCP Science), respetivamente.

2.7 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o programa *SPSS (Statistical Package for the Social Sciences)*, versão 29.0, de 2022. Devido à natureza das variáveis em estudo e tamanho da amostra, a condição de distribuição normal não se cumpria (o que foi verificado através do teste de Kolmogorov-Smirnov), pelo que se recorreu a testes não paramétricos: o teste de Mann Whitney para verificar se havia diferenças entre dois grupos independentes e o teste de Kruskal-Wallis para verificar eventuais diferenças entre mais de dois grupos; a relação entre duas variáveis foi avaliada através do coeficiente de correlação de Spearman. Em todos os testes foi adotado o nível de significância estatística de 0,05. As medidas estatísticas calculadas foram: frequência absoluta (n) e frequência relativa (%); medidas de tendência central: média aritmética e mediana; medidas de dispersão: desvio padrão, valor mínimo e valor máximo.

3. Resultados e discussão

3.1 Estudo piloto

O estudo piloto serviu para testar a abordagem experimental que se pretendia seguir no estudo desta temática da eventual relação entre a exposição natural ao Li e taxa de suicídio na população em geral.

Como referido atrás, o estudo consistiu essencialmente na comparação dos teores de Li na água da região da Área Metropolitana do Porto (AMP), uma região de baixo RR de suicídio, e da região de Trás-os-Montes (TM), uma região de elevado RR, bem como dos teores de Li na urina de indivíduos residentes nessas duas regiões.

3.1.1 Níveis de Li na água

Numa análise estatística inicial, não se encontrou uma diferença estatisticamente significativa ($p = 0,2608$; teste t de Student não emparelhado, bilateral) entre os níveis médios de Li nas águas das duas regiões. Após a exclusão de “outliers”, a diferença tornou-se estatisticamente significativa ($p = 0,034$), mas com níveis médios de Li mais baixos na região com a menor RR de suicídio (AMP). O valor mediano, porém, era maior na AMP (Tabela 1).

Tabela 1 - Estatísticas descritivas dos teores de Li na água das regiões Área Metropolitana do Porto (AMP) e Trás-os-Montes (TM)*.

Li ($\mu\text{g/L}$)	AMP ($n=59^*$)	TM ($n=72^*$)
Média	3,4	5,3
Desvio padrão	1,9	6,6
Mediana	3,4	2,5
Mínimo	0,34	0,11
Máximo	9,7	37,0

*Resultados após remoção de “outliers” (4 em AMP e 4 em TM) pelo teste de Iglewicz & Hoaglin para múltiplos outliers (bilateral); critério para “outlier”: Z score modificado = 10.

As concentrações mostraram-se muito mais homogêneas na região AMP (Tabela 3), onde 93,6% (59/63) das amostras apresentaram valores $<10 \mu\text{g/L}$. As quatro exceções (valores excluídos da análise apresentada na Tabela 3) correspondiam a uma amostra de água recolhida numa fonte pública e as outras três a amostras colhidas em postos de abastecimento de combustíveis (água para abastecimento dos radiadores e depósitos dos limpa para-brisas dos veículos automóveis), pelo que, na realidade, poderia ser água proveniente de captações locais e não da rede pública.

Na região TM, as amostras também apresentaram maioritariamente (79%) valores $<10 \mu\text{g/L}$. As maiores concentrações ($> 20 \mu\text{g/L}$) foram encontradas em água de

captações locais (poços artesianos) ou fontes públicas. Uma amostra (TM52) colhida na fonte existente na praça central de uma aldeia apresentou mesmo o valor máximo obtido neste estudo (154 µg/L).

3.1.2 Níveis de Li na urina

Por outro lado, as concentrações urinárias de Li entre os indivíduos das duas regiões apresentaram uma diferença estatisticamente significativa ($p = 0,03786$; teste t de Student não emparelhado, bilateral) (Tabela 2). Além disso, era evidente em ambos os casos uma grande variabilidade inter-individual (elevado desvio padrão), com a existência de um importante número ($11/131 = 8,4\%$ no total) de valores especialmente elevados (“outliers”, de acordo com o teste robusto de Iglewicz & Hoaglin para múltiplos “outliers”) na região AMP.

Tabela 2 - Estatísticas descritivas dos teores de Li na urina de indivíduos residentes nas regiões Área Metropolitana do Porto (AMP) e Trás-os-Montes (TM).

Li (µg/L)	AMP (n=120*)	TM (n=51)
Média	31,6	37,6
Desvio padrão	25,8	30,5
Mediana	20,7	27,5
Percentil 5%	8,7	6,8
Percentil 95%	85,5	111,9

*11 resultados foram excluídos com base no teste de Iglewicz & Hoaglin para múltiplos “outliers” (bilateral). Critério para “outlier”: Z score modificado = 6.

Uma vez que se dispunha de um elevado número de amostras da região AMP ($n = 131$), foi feita uma sub-análise, agrupando-as em 3 sub-regiões: sul da cidade do Porto (Ps), periferia da cidade de Ermesinde (PE) e periferia da cidade de Penafiel (PP). Em todas elas existiam alguns valores significativamente mais elevados, assim distribuídos: 266,2 - 153,4 - 399,5 - 257,6 - 709,2, na sub-região Ps; 172,5 - 142,9 - 175,1, na sub-região PE; 141,1 - 378,7 - 557,1, na sub-região PP. Excluídos esses valores “outliers”, não existiam diferenças estatisticamente entre as três sub-regiões (Tabela 3).

Tabela 3 - Estatísticas descritivas dos teores de Li na urina de indivíduos residentes na Área Metropolitana do Porto (AMP), agrupados em 3 sub-regiões.

Li (µg/L)	Ps (n=25*)	PE (n=29*)	PP (n=66*)
Média	29,2	35,3	30,8
Desvio padrão	24,7	27,8	25,6
Mediana	20,7	24,9	18,8
Percentil 5%	9,0	7,7	10,0
Percentil 95%	75,2	91,7	82,2

*5 resultados em Ps, 3 em PE e 3 em PP foram excluídos com base no teste de Iglewicz & Hoaglin para múltiplos “outliers” (bilateral). Critério para “outlier”: Z score modificado = 6. Ps - sul da cidade do Porto, PE - periferia da cidade de Ermesinde, PP - periferia da cidade de Penafiel.

A significativa variabilidade inter-individual e em especial a ocorrência de níveis urinários de Li particularmente elevados podia corresponder a uma ingestão particularmente elevada de Li. No entanto, como este estudo piloto foi realizado com amostras de urina de indivíduos dos quais se desconhecia o estado de saúde, esses valores elevados (“outliers”) podiam também estar relacionados com alguma condição clínica do indivíduo.

3.2 Estudo principal

Como detalhado atrás, no estudo principal introduziu-se uma terceira região, na zona centro de Portugal (CTR), correspondendo, de acordo com a informação disponível sobre a matéria, a uma região com RR para suicídio intermédio relativamente às regiões AMP e TM. Além disso distinguiram-se claramente as amostras de água de consumo, das amostras de água “ambiental”, indicadoras do ambiente geológico em termos de teores de Li. Adicionalmente foi ainda aplicado um questionário para identificar hábitos alimentares e outros que pudessem explicar os níveis de Li na urina dos participantes. Finalmente, ao contrário do que aconteceu no estudo piloto, as amostras de urina foram obtidas de participantes voluntários aparentemente saudáveis.

3.2.1 Dados do questionário

No total, o estudo englobou 311 indivíduos (AMP: n=91, TM: n=90 e CTR: n=130), porém nem todos os responderam a todas as questões do questionário.

Dos 292 participantes que responderam à questão “**sexo**”, 71% (n=208) eram do sexo feminino e apenas 29% (n=84) eram do sexo masculino. Esta maior percentagem de participantes do sexo feminino verificou-se em todas as regiões (Figura 13).

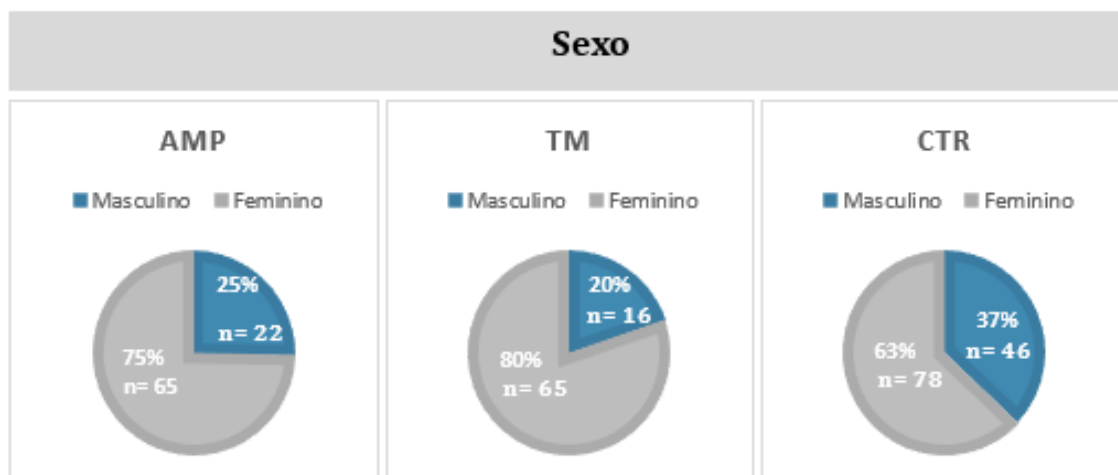


Figura 13 - Caracterização sociodemográfica dos participantes: **grupo etário**.

A **idade** dos participantes variou entre 5 e 95 anos, sendo a média global de $46,5 \pm 16,6$ anos. A distribuição por grupos etários nas três regiões foi de algum modo distinta, especialmente na região AMP, onde houve uma maior predominância do grupo etário de 20-30 anos (Figura 14).

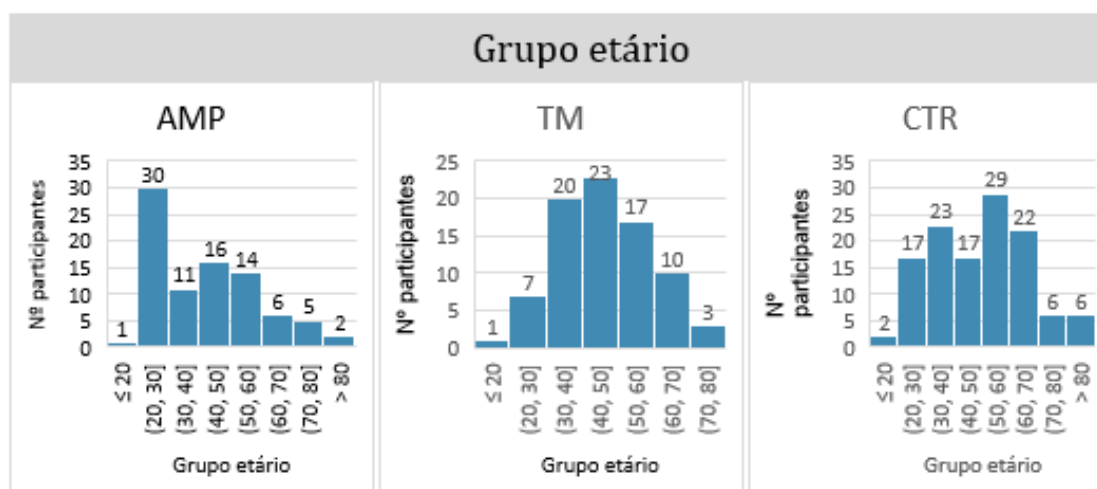


Figura 14 - Caracterização sociodemográfica dos participantes: **sexo**.

A **bebida** mais habitual às refeições nas três regiões foi a água de abastecimento público (44%), seguida da água engarrafada (32%) (Tabela 4). Dos 301 participantes que responderam a esta questão, 20% (n=61) escolheram a opção “outra”, a qual registou respostas como “água de nascente”, “fonte/fontanário público”, “cerveja” e “vinho” (Tabela 4). Na região CTR foi onde se observou um maior número de pessoas a consumir águas de nascente.

Sumos e refrigerantes foram as bebidas identificadas como menos consumidas às refeições, sendo que nas regiões AMP e TM não houve nenhuma resposta na opção “sumos”.

Tabela 4 - Bebida habitual às refeições nas três regiões.

Bebida à refeição	AMP (n=89)	TM (n=86)	CTR (n=126)	Total (n=301)
Água abastecimento público	38 (43%)	38 (44%)	57 (45%)	133 (44%)
Água engarrafada*	32 (36%)	34 (40%)	29 (23%)	95 (32%)
Sumos	0 (0%)	0 (0%)	5 (4%)	5 (2%)
Refrigerantes	1 (1%)	3 (4%)	3 (2%)	7 (2%)
Outra	18 (20%)	11 (13%)	32 (25%)	61 (20%)

* As águas engarrafadas mais consumidas às refeições eram de marca branca (Continente, Aldi, Lidl, Pors, Pingo Doce) e das marcas Luso, Vitalis e Penacova.

Quanto ao consumo de **café** e **tabaco**, observou-se que a maioria dos participantes consumiam café (68%) (Tabela 5), mas apenas 14% (n=41) fumavam tabaco (Tabela 6). O número de cafés por dia variou entre 1 e 6, sendo o valor médio de $2,3 \pm 1,0$, enquanto a quantidade de cigarros variou entre 1 e 20, com um valor médio de $9,1 \pm 5,5$ cigarros/dia.

Tabela 5 - Consumo de café nas três regiões.

	AMP (n=90)	TM (n=86)	CTR (n=125)	Total (n=301)
<i>Sim</i>	69 (77%)	56 (65%)	81 (65%)	206 (68%)
<i>Não</i>	21 (23%)	30 (35%)	44 (35%)	95 (32%)

Tabela 6 - Consumo de tabaco nas três regiões.

	AMP (n=88)	TM (n=81)	CTR (n=122)	Total (n=291)
<i>Sim</i>	17 (19%)	9 (11%)	15 (12%)	41 (14%)
<i>Não</i>	71 (81%)	72 (89%)	107 (88%)	250 (86%)

Em relação às questões sobre a **frequência alimentar**, houve uma prevalência significativa das respostas “muito raramente” e “raramente” no que se refere ao consumo de **crustáceos** ou **moluscos** (Tabela 7), representando, respetivamente, 41% e 46% das respostas. No que diz respeito ao consumo de **leguminosas** (Tabela 8), a resposta mais prevalente foi “frequentemente”, dada por 61% dos participantes. Por fim, representando 69% das respostas, os participantes declararam consumir **cereais** “muito frequentemente” (Tabela 9).

Tabela 7 - Frequência de consumo alimentar de crustáceos ou moluscos nas três regiões.

<i>Frequência</i>	AMP (n=90)	TM (n=86)	CTR (n=125)	Total (n=301)
Muito raramente	38 (42%)	34 (40%)	52 (42%)	124 (41%)
Raramente	41 (46%)	44 (51%)	53 (42%)	138 (46%)
Frequentemente	11 (12%)	8 (9%)	18 (14%)	37 (12%)
Muito frequentemente	0 (0%)	0 (0%)	2 (2%)	2 (1%)

Tabela 8 - Frequência de consumo alimentar de leguminosas nas três regiões.

<i>Frequência</i>	AMP (n=90)	TM (n=86)	CTR (n=125)	Total (n=301)
Muito raramente	4 (4%)	1 (1%)	8 (6%)	13 (4%)
Raramente	12 (13%)	21 (24%)	21 (17%)	54 (18%)
Frequentemente	55 (61%)	50 (58%)	80 (64%)	185 (61%)
Muito frequentemente	19 (21%)	14 (16%)	16 (13%)	49 (16%)

Tabela 9 - Frequência de consumo alimentar de cereais nas três regiões.

<i>Frequência</i>	AMP (n=90)	TM (n=86)	CTR (n=126)	Total (n=302)
Muito raramente	2 (2%)	0 (0%)	2 (2%)	4 (1%)
Raramente	0 (0%)	1 (1%)	4 (3%)	5 (2%)
Frequentemente	12 (13%)	29 (34%)	43 (34%)	84 (28%)
Muito frequentemente	76 (84%)	56 (65%)	77 (61%)	209 (69%)

No que diz respeito à **água de consumo** (água 1, a água usada para beber e cozinhar), no total foram entregues 300 amostras. Globalmente, a grande maioria dos participantes indicou que a água de consumo era **água da rede de abastecimento público** (n=244; 81%), com a percentagem mais elevada (97%) na região TM (Figura 15). Na região AMP, uma percentagem significativa (n=12; 14%) indicou consumir água de **poço/furo/mina**, o que não aconteceu nas outras duas regiões. A zona CTR distinguiu-se das restantes pela elevada percentagem de participantes (29%, n=36) que declararam usar “outro tipo de água” – de **fonte/fontanário público, água de nascente** – como água de consumo (Figura 15), enquanto nas regiões AMP e TM apenas 1% (n=1) indicou essa opção. Dos participantes que entregaram água de abastecimento público como sendo a “água de consumo”, 12% (n=37) indicaram usá-la apenas para cozinhar, sendo que para beber usavam água engarrafada.

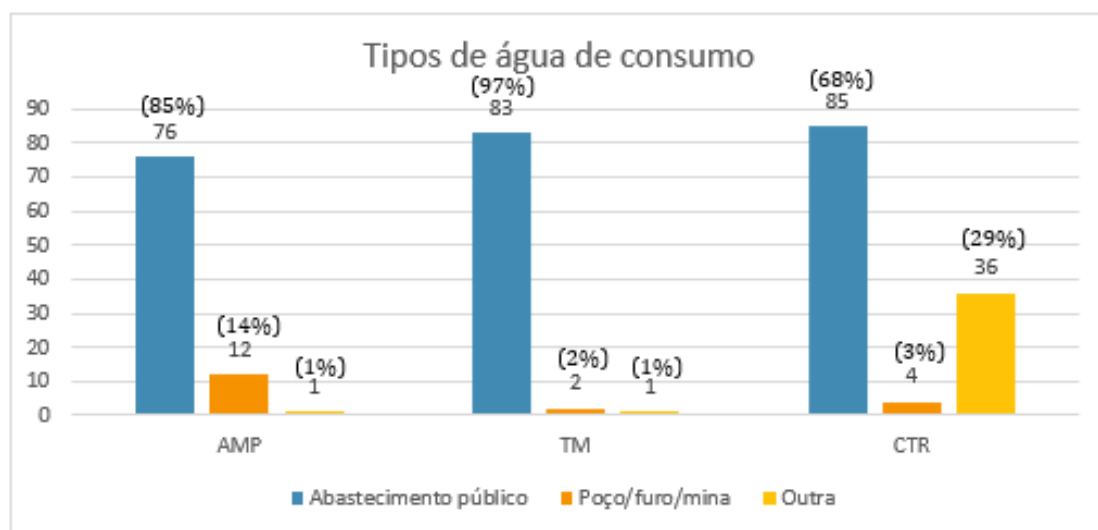


Figura 15 - Caracterização das amostras de água de consumo.

Relativamente às **águas “ambientais” da região** (água 2), no total foram analisadas 278 amostras, das quais 49% (n=135) eram águas de fonte, fontanário ou repuxo, 24% (n=67) eram águas subterrâneas (de poço, furo ou mina) e 10% (n=29) eram águas superficiais (de rio, ribeiro ou lago). As restantes, 17% (n=47), eram águas de outras origens, como águas de nascente, águas termais, etc. A distribuição das amostras por cada tipo de água em cada região encontra-se graficamente indicada na Figura 16.

Deve notar-se que na região CTR, ao contrário do que aconteceu nas outras duas regiões, apenas 38,5% (n=50) das amostras de “água ambiental” foram diretamente entregues pelos participantes. As restantes amostras (n=80) foram colhidas pelos investigadores, de modo a melhorar a caracterização do ambiente geológico da região.

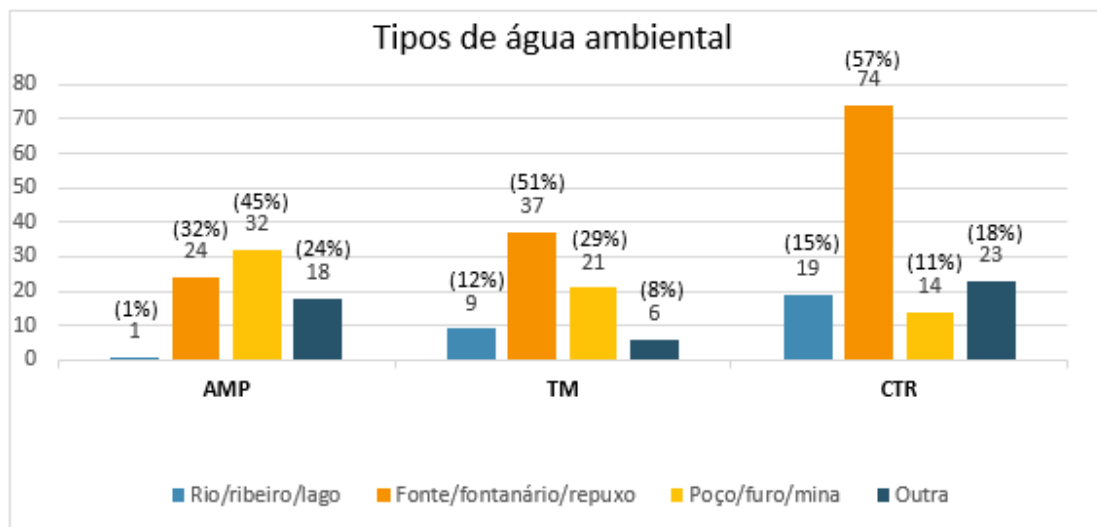


Figura 16 - Caracterização das amostras de água "ambiental".

3.2.2 Níveis de Lítio

3.2.2.1 Água de abastecimento público

Neste estudo foram analisadas, no total, 305 amostras de “**água de consumo**” (água 1). Como descrito atrás, a água da rede de **abastecimento público** era a “água de consumo” para a grande maioria das pessoas (n=235), sendo, portanto, a água a que a grande maioria da população se encontra exposta nas três regiões tanto por via da sua utilização para cozinhar os alimentos como para beber.

No “DotPlot” que constitui a Figura 17 são apresentados todos os teores individuais de Li obtidos na água de abastecimento público das três regiões, apresentados numa escala exponencial, para mais fácil visualização de todos os dados, e onde é possível observar que as regiões TM e CTR apresentaram um maior número de valores “atípicos” (mais elevados). Uma amostra entregue por um participante da região AMP apresentou um valor muito elevado (110,6 µg/L), significativamente discrepante mesmo em relação aos valores mais altos das outras regiões, e foi considerado um valor “outlier”, não tendo sido considerada para efeito da análise estatística dos resultados (até porque podia simplesmente corresponder a uma amostra indevidamente rotulada). Globalmente, 95% (n=223) das amostras apresentaram concentrações inferiores a 10 µg/L (Figura 17).

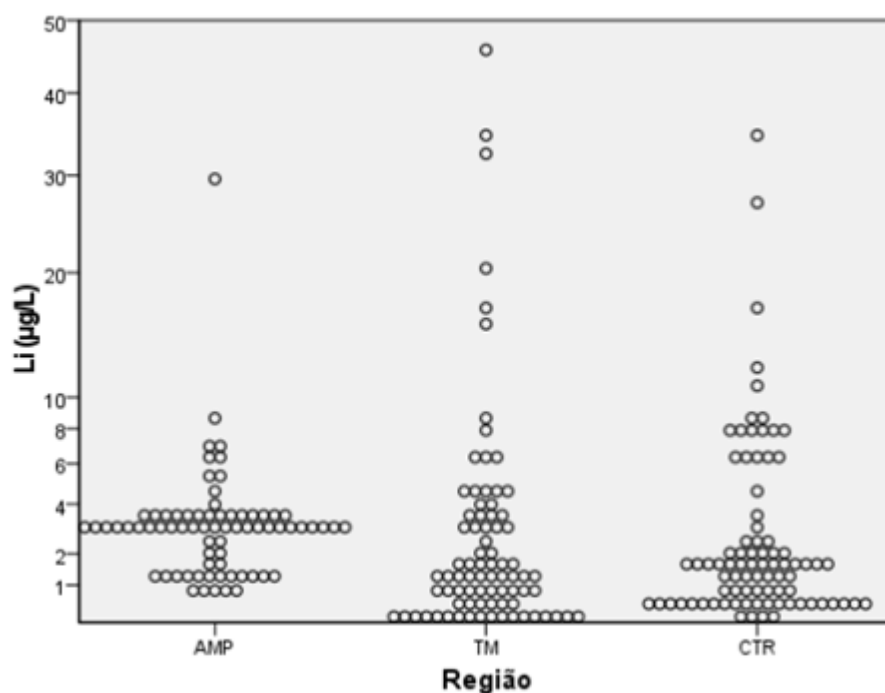


Figura 17 - DotPlot dos **teores de lítio nas águas de abastecimento público** das três regiões. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. AMP - Área Metropolitana do Porto; TM - Trás-os-Montes; CTR - região Centro.

Em termos médios, estas águas de abastecimento público apresentaram níveis muito semelhantes nas três regiões: $3,8 \pm 7,7 \mu\text{g/L}$ na região TM; $3,4 \pm 5,5 \mu\text{g/L}$ na região CTR; $3,3 \pm 3,5 \mu\text{g/L}$ na região AMP (Tabela 10).

Tabela 10 - Estatísticas descritivas dos **teores de Li nas águas de abastecimento público** das três regiões.

Li ($\mu\text{g/L}$)	AMP (n=72) ^a	TM (n=80) ^b	CTR (n=83) ^c	Total (n=235)
Média	3,3	3,8	3,4	3,5
Desvio padrão	3,5	7,7	5,5	5,8
Mediana	3,1	1,3	1,6	1,8
Mínimo	0,7	0,1	0,2	0,1
Máximo	29,6	45,8	35,2	45,8

AMP - Área Metropolitana do Porto, TM - Trás-os-Montes, CTR - região Centro

De acordo com o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, havia uma diferença estatisticamente significativa nos níveis **medianos** de Li entre as regiões AMP e TM e entre as regiões AMP e CTR ($p < 0,005$), mais elevados na região AMP ($3,1 \mu\text{g/L}$), mas não entre as regiões TM e CTR ($1,3 \mu\text{g/L}$ e $1,6 \mu\text{g/L}$, respetivamente; $p > 0,005$) (Tabela

10). Para mais fácil comparação, este resumo dos resultados é apresentado graficamente, num gráfico tipo “BoxPlot”, na Figura 18.

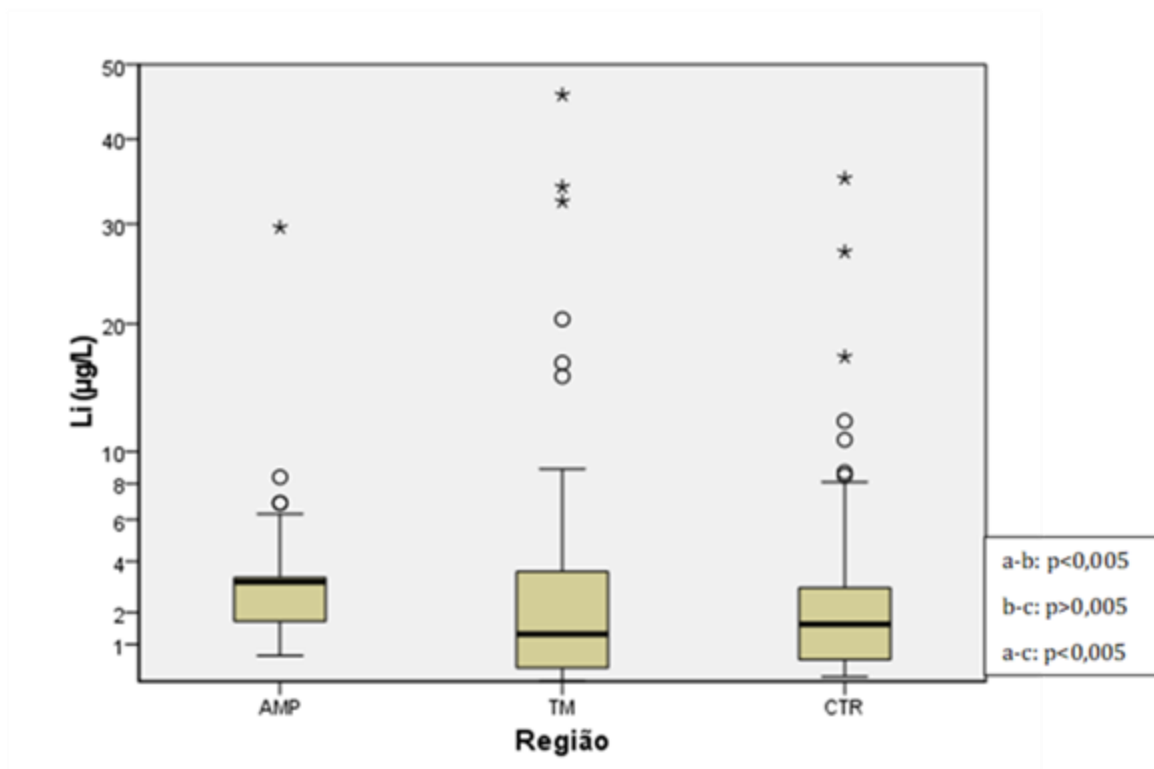


Figura 18 - BoxPlot dos teores de lítio nas águas de abastecimento público das três regiões. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. AMP - Área Metropolitana do Porto; TM - Trás-os-Montes; CTR - região Centro.

Importa notar que, considerando globalmente todas as amostras entregues como sendo “água de consumo”, foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa entre as regiões AMP e TM e entre as regiões TM e CTR ($p < 0,005$), mas não entre as regiões AMP e CTR ($p > 0,005$), o que se devia à presença, entre as águas de consumo, de algumas águas de natureza “ambiental” (minas, furos, poços, etc.) para além da água da rede.

Alguns participantes entregaram como amostra de “água de consumo”, ou seja, da água que costumam beber e utilizar para cozinhar, uma amostra de **água engarrafada** (comercial). Ainda que o número de amostras seja reduzido ($n=13$), existia uma grande diversidade de marcas, pelo que os resultados servem como uma amostragem do panorama nacional. O valor médio de Li nestas águas foi de $7,6 \pm 10,5 \mu\text{g/L}$, com uma variação entre $2,7 \mu\text{g/L}$ e $32,3 \mu\text{g/L}$. Comparando com o teor de Li nas águas de abastecimento público, este valor foi ligeiramente mais elevado, contudo não representa uma diferença significativa na exposição ao Li entre as três regiões.

Como foi destacado na Introdução deste trabalho, os níveis de Li na água de consumo têm vindo a ser relacionados de forma inversa com a taxa de mortalidade por suicídio em muitos estudos [17,30,31,32].

Ainda bem recentemente, na Lituânia, em municípios com uma alta prevalência de perturbações do humor, foi observada essa relação inversa entre elevados níveis de Li na água de consumo e as taxas de suicídio, sugerindo um possível efeito protetor do Li aquando de uma exposição de longa duração [34]. E essa associação inversa tem sido encontrada em muitos outros locais, um pouco por todo o mundo, como sejam estudos conduzidos no Texas, EUA [27], em Oita, no Japão [35] e na Áustria [47].

Os nossos resultados não permitem claramente suportar tal relação (porque não existe se consideramos os valores médios), embora ela exista se atendermos aos valores medianos de cada região (3,1 µg/L na região AMP, de menor risco; 1,6 µg/L na região CTR, de risco intermédio; e 1,3 µg/L na região TM, de maior risco).

Importa referir que também há estudos onde não foi encontrada essa relação inversa entre os níveis de Li na água de consumo e a taxa de suicídio, como seja um estudo em Inglaterra, que registou níveis de Li na água entre <1 – 21 µg/L (n=47) [48], ou um estudo realizado em Miyazaki, Japão, que encontrou níveis de Li entre 0,2 – 12,3 µg/L (n=78) [49].

Knudsen *et al.* [37] demonstrou que o efeito protetor do Li (relação inversa entre concentração na água de consumo e taxa de suicídio) parece só se tornar evidente para teores de Li acima de 30 µg/L. No nosso estudo, apenas 2% (4/235) das amostras de água de abastecimento público apresentaram teores de Li acima dos 30 µg/L.

Como já foi indicado, 81% (n=235) das amostras de “água de consumo” entregues pelos participantes correspondiam a água da rede de abastecimento público. Os nossos resultados mostraram-se mais baixos que os reportados por Neves *et al.* [21] (n=45), que obtiveram uma mediana de 4 µg/L, com uma variação entre <1 e 191 µg/L e com 75% das amostras a apresentarem concentrações inferiores a 10 µg/L. São também mais baixos que os obtidos por Oliveira *et al.* [36], onde o valor médio foi de $10,9 \pm 27,2$ µg/L (n=54). Neste contexto, o nosso estudo constitui-se como um importante contributo, por envolver um número de amostras significativamente mais elevado e cobrir uma significativa percentagem da área total de Portugal Continental.

3.2.2.2 Água ambiental

Neste nosso estudo foram também analisadas 298 águas “ambientais”, designação dada a águas que pudessem ajudar a caracterizar, do ponto de vista da presença de Li no ambiente, as diferentes regiões. Foram consideradas neste grupo todas as águas de poços, furos, minas, rios, ribeiros, lagos, nascentes, etc. Foram excluídas as amostras de água colhidas em fontes, fontanários e bebedouros públicos, uma vez que, tratando-se de água potável, disponível para consumo público, poderiam na realidade ser água da rede de abastecimento público (Figura 19).

Globalmente, os valores de Li variaram entre 0,2 e 666,0 µg/L, sendo que 85% das amostras (n=108) apresentaram níveis inferiores a 10 µg/L. O valor médio mais elevado foi obtido na região CTR ($31,4 \pm 121,9$ µg/L), região onde encontrou também

o valor máximo encontrado (666,0 µg/L), registado numa água termal (Rapoula do Côa). A região TM teve a concentração média mais baixa: $7,0 \pm 18,0$ µg/L (Tabela 11).

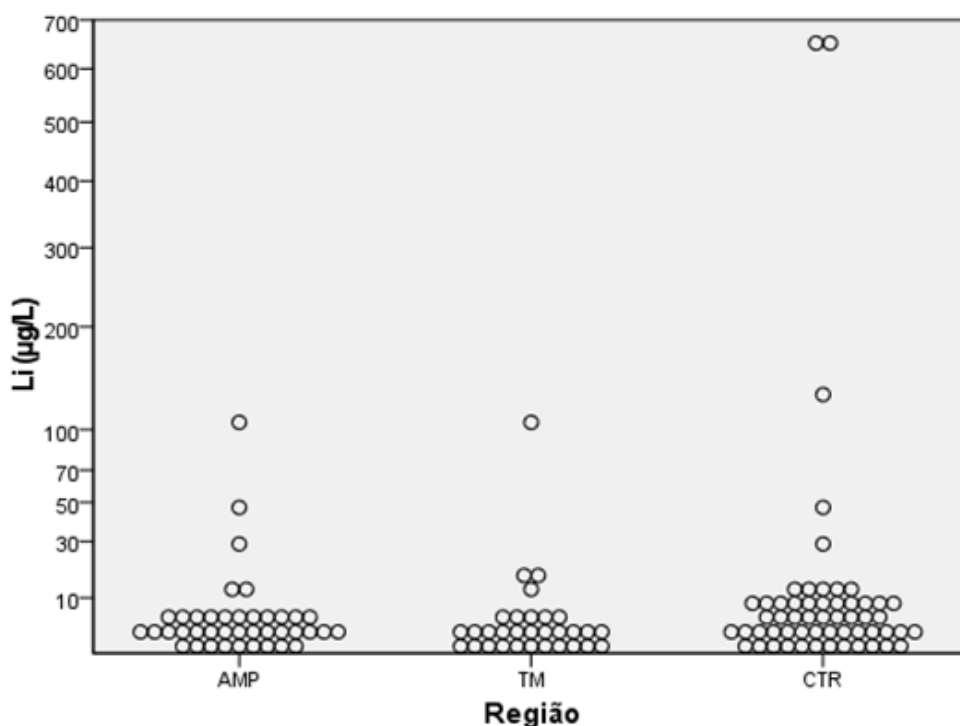


Figura 19 - DotPlot dos teores de lítio nas águas “ambientais” das três regiões. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. AMP - Área Metropolitana do Porto; TM - Trás-os-Montes; CTR - região Centro.

Utilizando o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, os níveis **medianos** de Li nestas águas “ambientais” não mostraram uma diferença estatisticamente significativa entre regiões ($p>0,005$) (Tabela 11 e Figura 20).

Tabela 11 - Estatísticas descritivas dos teores de Li nas águas “ambientais” das três regiões.

Li (µg/L)	AMP ^a (n=40)	TM ^b (n=31)	CTR ^c (n=56)	Total (n=127)
Média	8,1	7,0	31,4	18,1
Desvio padrão	18,8	18,0	121,9	82,5
Mediana	2,8	2,8	4,5	3,2
Mínimo	0,7	0,2	0,2	0,2
Máximo	110,9	101,2	666,0	666,0

AMP - Área Metropolitana do Porto, TM - Trás-os-Montes, CTR - região Centro.

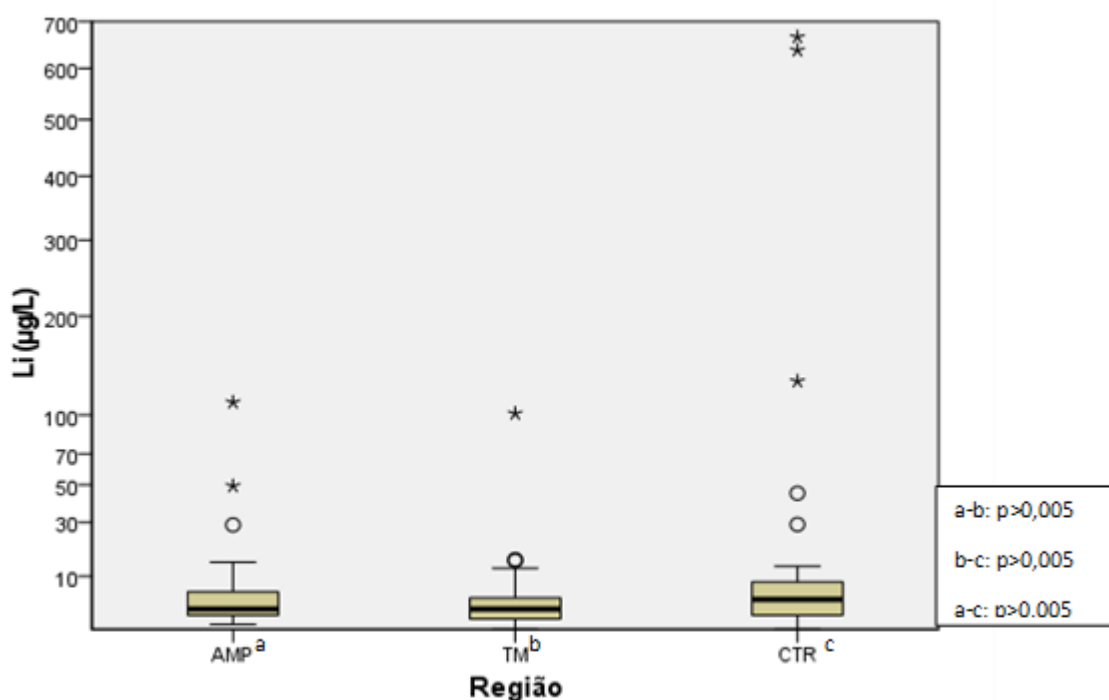


Figura 20 - BoxPlot dos teores de lítio nas águas “ambientais” das três regiões. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. AMP - Área Metropolitana do Porto; TM - Trás-os-Montes; CTR - região Centro.

O *Atlas Geoquímico Europeu* [23] indica para o Li em **águas correntes (águas superficiais)** valores médios de 2,1 µg/L, com um intervalo de valores de <0,005 a 356 µg/L (n=807, em toda a Europa). Para Portugal, o mapa desenvolvido indica valores entre 0,7 - 1,3 µg/L na zona correspondente à região AMP; entre 1,3 - 2,1 µg/L na zona correspondente à região TM; e 1,3 e 3,4 µg/L na zona correspondente à região CTR. Trata-se de valores mais baixos que os obtidos no nosso estudo, mas referem-se exclusivamente a águas superficiais, enquanto o nosso estudo contemplou também a análise de águas subterrâneas (poços, furos, minas, etc.), as quais, de acordo com os dados da ERSAR (Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos) [50], também representam uma importante fonte para obtenção de água destinada ao consumo humano, seja pelas entidades que gerem as redes de abastecimento público, seja sobretudo por particulares.

Esta componente do estudo reveste-se de grande importância porque, como foi discutido anteriormente, os níveis geológicos (ambientais) de Li numa região acabarão de algum modo por se refletir nos teores no solo e nos alimentos dessa região – e, portanto, mais do que a água de consumo (sobretudo se ela for da rede de abastecimento público, em que pode ser proveniente de uma região mais ou menos afastada), os níveis de Li nas águas “ambientais” (superficiais e subterrâneas) podem refletir melhor o efetivo aporte diário de Li à população numa determinada região.

Comparando os níveis médios de Li na água de abastecimento público e nas águas “ambientais”, estas apresentaram teores mais elevados. Na água de abastecimento público o valor mediano mais elevado foi observado na região AMP (3,1 $\mu\text{g/L}$, *versus* 1,3 $\mu\text{g/L}$ e 1,6 $\mu\text{g/L}$, em TM e CTR, respetivamente) (Tabela 10), enquanto nas águas ambientais o valor mediano mais elevado foi observado na região CTR (4,5 $\mu\text{g/L}$ *versus* 2,8 $\mu\text{g/L}$ nas outras duas regiões) (tabela 11).

3.2.2.3 Urina

Este estudo envolveu a análise de um total de 311 amostras de urina (1.^a urina da manhã) fornecidas por indivíduos voluntários aparentemente saudáveis. O conjunto dos resultados encontra-se graficamente apresentado na Figura 21.

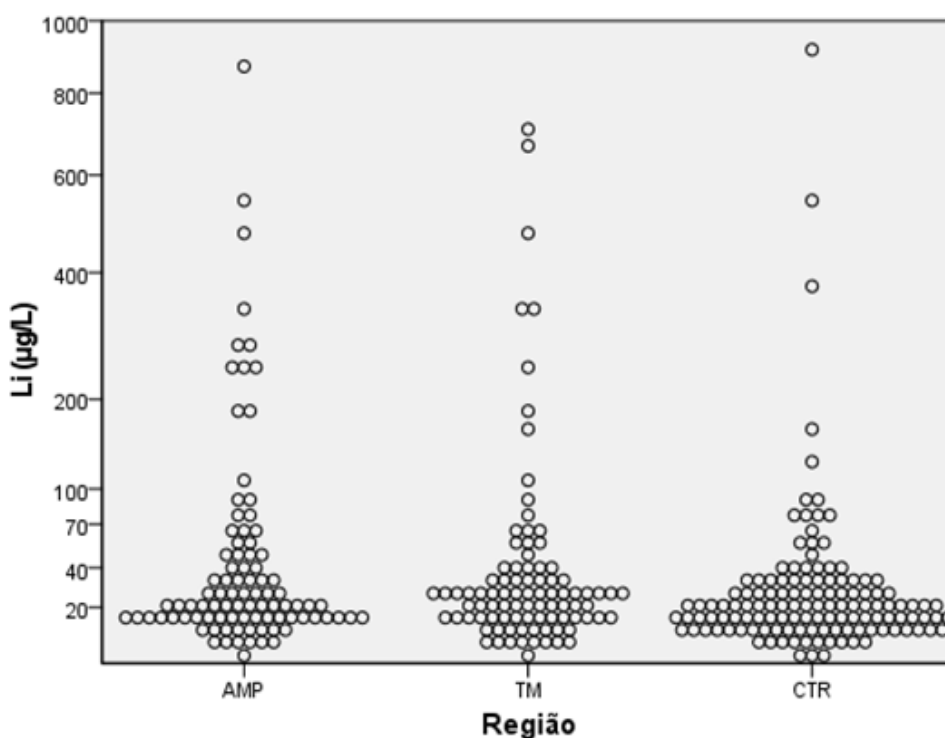


Figura 21 - DotPlot dos teores de lítio nas amostras de urina das três regiões. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. AMP - Área Metropolitana do Porto; TM - Trás-os-Montes; CTR - região Centro.

Com uma importante variabilidade inter-individual (distribuição heterogénea, refletida nos elevados valores de desvio padrão), globalmente, a concentração de Li na urina variou entre 3,4 e 917,5 $\mu\text{g/L}$, com uma média de $53,0 \pm 114,4 \mu\text{g/L}$ (Tabela 12).

Tabela 12 - Estatísticas descritivas dos teores de Li nas urinas das três regiões.

Li (µg/L)	AMP ^a (n=91)	TM ^b (n=90)	CTR ^c (n=130)	Total (n=311)
Média	66,7	59,0	39,1	53,0
Desvio padrão	128,1	120,6	98,0	114,4
Mediana	21,9	24,2	19,0	21,2
Mínimo	5,9	5,4	3,4	3,4
Máximo	871,3	708,5	917,5	917,5

AMP - Área Metropolitana do Porto, TM - Trás-os-Montes, CTR - região Centro.

A região AMP (menor RR de suicídio) apresentou o valor **médio** mais elevado ($66,7 \pm 128,1$ µg/L), mas o valor **mediano** mais elevado (24,2 µg/L) observou-se na região TM (a região de maior RR). Além disso, recorrendo ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, não havia qualquer diferença estatisticamente significativa nos níveis medianos de Li entre das três regiões ($p > 0,005$) (Tabela 12 e Figura 22), o que significa que não se observou uma associação inversa entre os níveis urinários de Li e a taxa de suicídio.

A Figura 22 resume os resultados obtidos quanto aos teores de Li nas amostras de urina das três regiões, evidenciado também a presença de um pequeno conjunto de resultados significativamente elevados relativamente aos restantes.

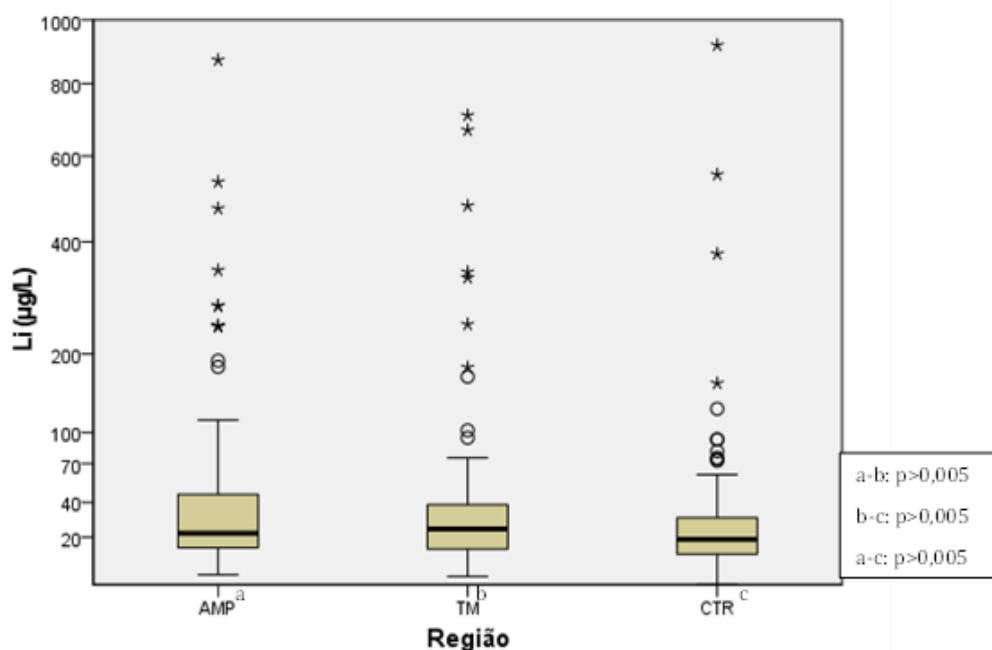


Figura 22 - BoxPlot dos teores de Li nas amostras de urina das três regiões. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. AMP - Área Metropolitana do Porto; TM - Trás-os-Montes; CTR - região Centro.

Atendendo a estes resultados, não existia qualquer correlação entre os níveis de Li na urina e na água de consumo entregue pelos participantes ($p>0,005$; $R^2=0,008$) (Figura 23), o que pode ser entendido como uma indicação de que a água de consumo não representa a principal fonte de aporte de Li ao organismo, sobretudo nestes casos em que se observa uma elevada excreção urinária.

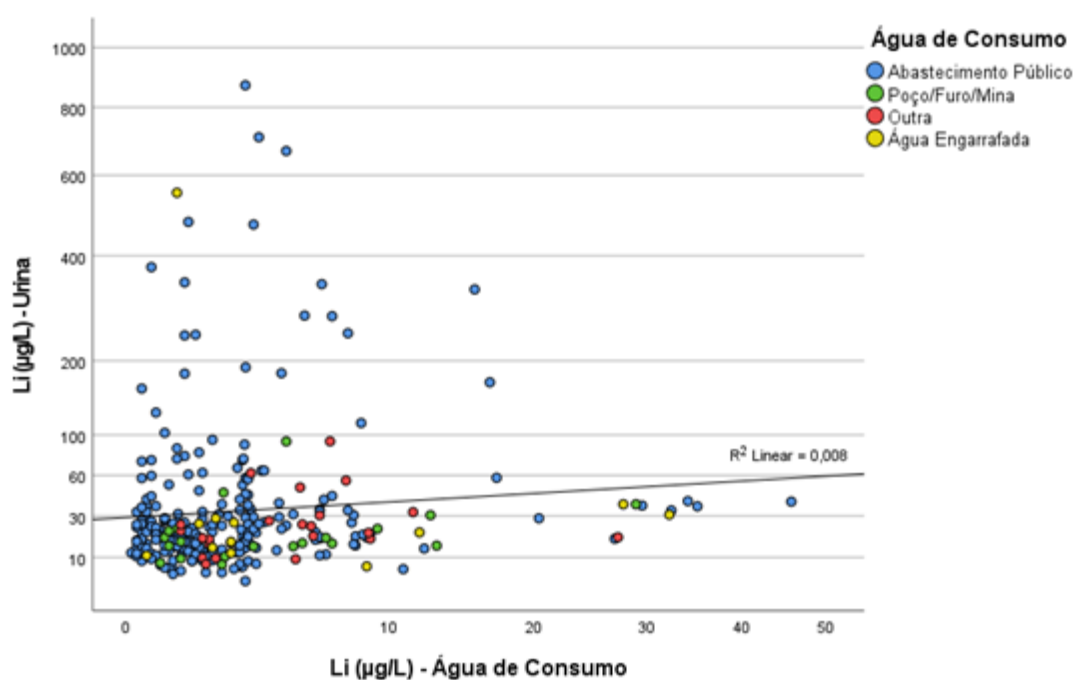


Figura 23 - Regressão linear entre os níveis de Li nas urinas e os níveis de Li nas águas de consumo.

Deve notar-se, porém, que embora a região AMP não fosse a que apresentou o valor mediano mais elevado, era a que tinha o maior valor médio (Tabela 12) e também a que apresentou uma maior percentagem de indivíduos com concentrações urinárias de Li significativamente mais elevadas. Assim, por exemplo, com valores acima de 50 µg/L tínhamos 24% das amostras na região AMP, e apenas 19% na região TM e 12% na região CTR. Se se admitir que o efeito “protetor” do Li só se faz sentir acima de um determinado nível de ingestão, então é possível admitir que na região AMP tínhamos uma maior percentagem de indivíduos protegidos, refletida na maior percentagem de valores elevados, o que poderia justificar o menor RR de suicídio.

Relativamente à diferença entre sexos, utilizando o teste de Mann-Whitney, não foi encontrada qualquer diferença estatisticamente significativa nos níveis de Li urinário em qualquer região (AMP $p=0,691$; TM $p=0,351$; CTR $p=0,067$), embora globalmente se tenham observado teores médios ligeiramente mais elevados nos indivíduos do sexo feminino.

Embora as tentativas de suicídio ou auto-lesões não fatais sejam mais frequentes no sexo feminino, a morte por suicídio é mais prevalente entre o sexo masculino [3,4,51,52]. Estudos realizados no Japão [53] e na Lituânia [54] evidenciaram um maior efeito positivo dos níveis de Li na água de consumo no sexo masculino. No maior estudo epidemiológico nacional no Japão durante 2010 e 2016, foram avaliados os níveis médios de Li de águas de consumo em 808 cidades. Neste estudo foram criados três modelos: o modelo bruto, ou seja, a análise conjunta de todos os resultados obtidos; o modelo com ajustes (modelo 1), onde se atendeu a fatores como a percentagem de pessoas idosas, pessoas que viviam sozinhas, trabalhadores do setor primário, taxa de desemprego, taxa anual de casamentos, temperatura anual e total anual de horas de sol; e ainda um modelo que foi ajustado à proporção média de residentes que permaneceram sempre na mesma cidade ao longo dos anos (modelo 2). O modelo 1 mostrou uma associação inversa dos níveis de Li na água de consumo com a taxa de suicídio global e no sexo masculino [55].

3.2.3 Níveis de lítio na urina e bebida às refeições

No que toca à bebida habitual às refeições, o grau de associação entre as diferentes opções de bebida e os níveis de Li na urina foi muito fraco nas três regiões estudadas (correlação de Spearman; AMP: $p=0,119$; TM= $0,161$; CTR= $0,178$). Ou seja, a bebida consumida às refeições não tem grande impacto nos níveis urinários de Li. A título de curiosidade, diga-se que a concentração urinária de Li mais elevada ($917,5 \mu\text{g/L}$) foi encontrada num indivíduo da região CTR e a água de consumo correspondente, entregue por esse participante, apresentou um teor de Li de apenas $1,30 \mu\text{g/L}$.

3.2.4 Níveis de lítio na urina e consumo de café e tabaco

Relativamente ao consumo de café, em nenhuma das regiões foi observada qualquer diferença estatisticamente significativa nos níveis urinários de Li entre os participantes que habitualmente bebiam café e os que não bebiam (teste não paramétrico Mann-Whitney; AMP: $p=0,521$; TM: $p=0,235$; CTR: $p=0,928$). Globalmente, porém, o valor médio de Li na urina foi mais elevado nos indivíduos que bebiam café ($n=203$; $55,6 \pm 110,3 \mu\text{g/L}$) (Figura 24).

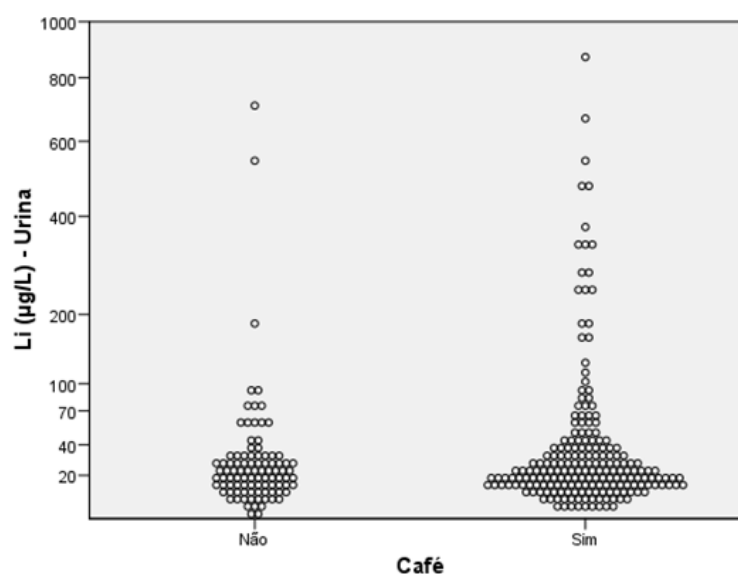


Figura 24 - DotPlot dos teores de lítio na urina em função do **consumo de café**. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização.

Quanto ao consumo de tabaco, também não foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa entre os participantes que fumavam regularmente tabaco e os que não fumavam (teste de Mann-Whitney; AMP: $p=0,723$; TM: $p=0,564$; CTR: $p=0,154$). Globalmente (conjunto de todos os indivíduos), os valores médios eram perfeitamente sobreponíveis: $51,6 \pm 106,1 \mu\text{g/L}$ nos indivíduos que não fumavam ($n=249$) *versus* $50,4 \pm 109,6 \mu\text{g/L}$ nos fumadores ($n=39$) (Figura 25). E também não se observou qualquer associação com o número de cigarros fumados diariamente (correlação de Spearman; AMP: $p= -0,162$; TM: $p= -0,319$; CTR= $-0,146$).

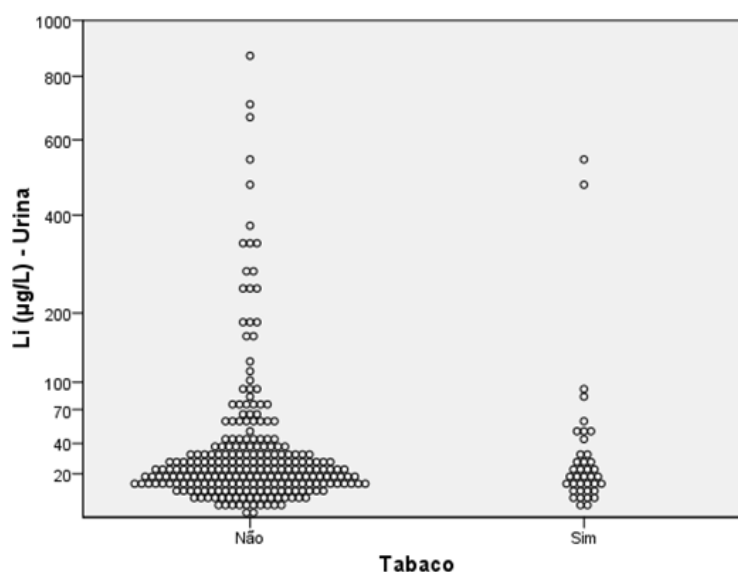


Figura 25 - DotPlot dos teores de lítio na urina em função do **consumo de tabaco**. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização.

3.2.5 Níveis de lítio na urina e consumo de crustáceos/moluscos, leguminosas e cereais

Como mencionado anteriormente, os alimentos com maior teor de Li são os crustáceos e moluscos, cereais, batatas, legumes/vegetais, frutas secas, vinho tinto e queijo fresco. A ingestão diária de Li por via dos alimentos será por isso bastante variável, tendo sido estimada, num estudo em Itália, em cerca de 18 µg/dia [20]. Além dos alimentos, certos materiais de cozinha, principalmente de cerâmica e esmaltados, podem libertar Li [56].

Neste estudo os participantes foram questionados relativamente à frequência do consumo de crustáceos/moluscos, leguminosas e cereais (cf. Questionário anexo). Relativamente ao consumo de crustáceos/moluscos, predominaram naturalmente as frequências “muito raramente” e “raramente”, e, como se pode observar na Figura 26, não é possível inferir sobre um eventual impacto nos níveis urinários de Li (correlação de Spearman).

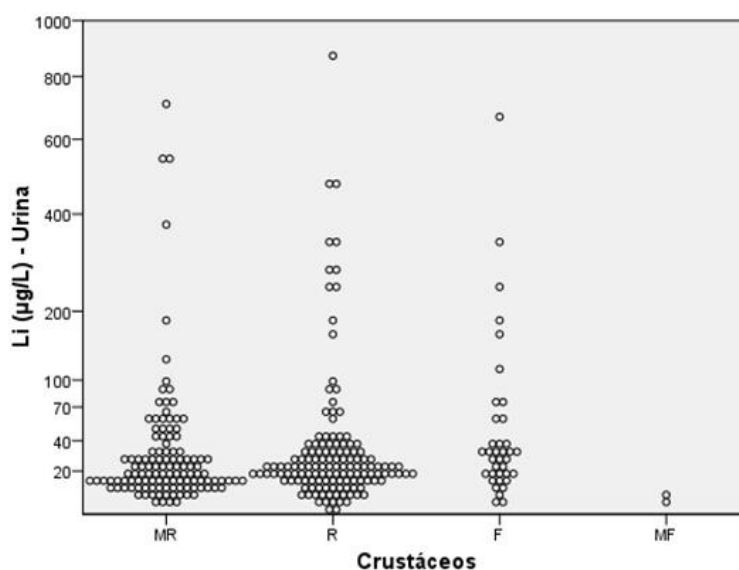


Figura 26 - DotPlot dos teores de lítio na urina em função da frequência do consumo de crustáceos (ou moluscos). Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. MR - Muito Raramente; R - Raramente; F - Frequentemente; MF - Muito Frequentemente.

O consumo de leguminosas foi maioritariamente classificado como frequente. A Figura 27 mostra a distribuição dos níveis urinários de Li de acordo com a frequência desse consumo, não observando diferenças significativas entre os 4 grupos.

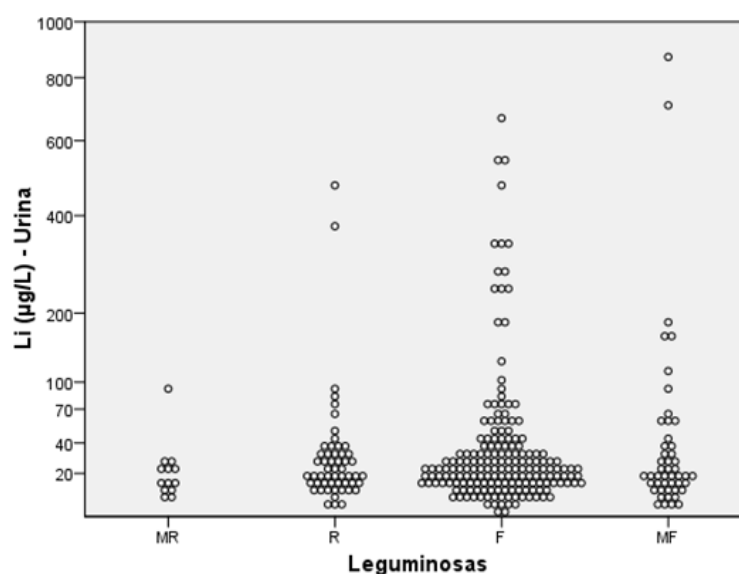


Figura 27 - DotPlot dos teores de lítio na urina em função da frequência do **consumo de leguminosas**. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. MR - Muito Raramente; R - Raramente; F - Frequentemente; MF - Muito Frequentemente.

Relativamente aos cereais, as respostas sobre a frequência de consumo concentraram-se em “muito frequentemente” e “frequentemente”. Os dois grupos mostraram uma distribuição de valores urinários de Li muito semelhantes entre si (Figura 28).

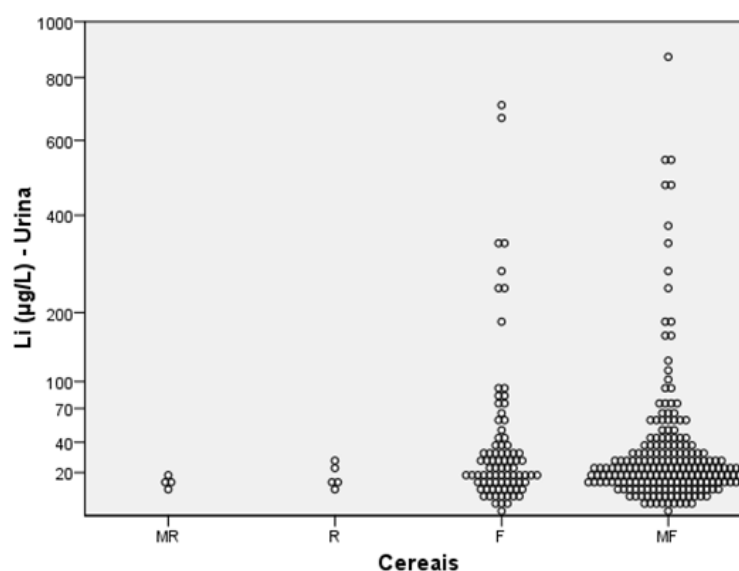


Figura 28 - DotPlot dos teores de lítio na urina em função da frequência do **consumo de cereais**. Nota: valores apresentados em escala exponencial, para mais fácil visualização. MR - Muito Raramente; R - Raramente; F - Frequentemente; MF - Muito Frequentemente.

4. Conclusão

Este é o primeiro estudo a investigar a relação entre os níveis urinários de Li e a taxa de mortalidade por suicídio. Foi avaliado se existia uma associação entre os níveis de Li na urina e o risco relativo (RR) de suicídio em três regiões de Portugal com muito diferentes RR (Trás-os-Montes, risco elevado; região Centro-interior, risco intermédio; região da Área Metropolitana do Porto, risco baixo), de acordo com a informação disponível sobre essa matéria. Paralelamente foi estudado se existia uma associação entre os níveis de Li na água de consumo (maioritariamente água da rede de abastecimento público) ou entre os níveis de Li em águas “ambientais” (superficiais e subterrâneas) da região e a exposição ao Li (avaliada pelos níveis urinários), bem como, naturalmente, uma associação ao RR para suicídio.

Não foi evidenciada uma relação inversa significativa entre os níveis urinários de Li e o RR de suicídio. Contudo, a região com menor RR (AMP) apresentou um valor médio de Li na urina mais elevado e também uma maior percentagem de valores elevados, o que não exclui a possibilidade de o Li poder ter um efeito “protetor” acima de determinados níveis de ingestão.

Globalmente, também não houve nenhuma associação estatisticamente significativa entre os teores de Li na água de abastecimento público ou nas águas “ambientais” (que, aliás, se mostraram maioritariamente muito baixos, apenas alguns $\mu\text{g/L}$) e os níveis de Li na urina, o que indica que a água de consumo não é a principal fonte de Li para o organismo.

O nosso estudo incluiu ainda a aplicação de um questionário de frequência alimentar, mas também não foi possível associar os níveis de Li na urina com a maior ou menor frequência do consumo de três grupos de alimentos conhecidos por serem particularmente ricos em Li: crustáceos/moluscos, leguminosas e cereais. O mesmo se observou relativamente ao consumo de café e de tabaco e à bebida consumida à refeição.

Em conclusão, o efeito protetor da exposição natural ao Li relativamente ao risco de suicídio permanece incerto. A existir, parece que só se observa para níveis de exposição mais elevados que os observados no nosso estudo.

Os nossos resultados vêm mostrar que são necessários mais estudos que relacionem diretamente a concentração de Li no organismo humano (estudos de biomonitorização) com a taxa de mortalidade por suicídio, controlando todos outros fatores relevantes.

Numa outra vertente, futuros estudos devem também focar-se na identificação das fontes de exposição ao Li mais relevantes para a população (fontes alimentares e outras), seja para aumentar o aporte dentro de níveis considerados benéficos, seja para evitar sobre-exposição ao Li, a qual não está isenta de efeitos secundários.

O nosso estudo tem algumas limitações. Uma é que não foi considerado o tempo de residência dos participantes na região (logo, o tempo de exposição àquelas particulares condições). Igualmente, não foi considerada a possibilidade de os participantes poderem trabalhar diariamente numa zona diferente daquela onde residem. Depois, não foram tidos em consideração quaisquer fatores socioeconómicos, culturais, psicológicos ou outros. Finalmente, o risco relativo de suicídio em cada uma das três regiões estudadas é reportado por Loureiro et al. [6], calculado com dados já bastante antigos (1980 a 2015), pelo que a situação atual pode já ser algo diferente.

5. Referências bibliográficas

- [1] World Health Organization (WHO). *Suicide*. (2021). Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/suicide>
- [2] World Health Organization (WHO). *Suicide rates*. (2021). Disponível em: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mental-health/suicide-rates>
- [3] Nock M. K., Borges G., Bromet E. J., Cha C. B., Kessler R. C., et al. Suicide and suicidal behavior. *Epidemiol Rev*, **30**: 133-154, 2008
- [4] Rutz Wolfgang, Rihmer Zoltan. Suicidality in men – practical issues, challenges, solutions. *The Journal of Men's Health & Gender*, **4**: 393-401, 2007
- [5] Sinyor M., Tse R., Pirkis J. Global trends in suicide epidemiology. *Curr Opin Psychiatry*, **30**: 1-6, 2017
- [6] Loureiro A., Almendra R., Costa C., Santana P. Mortalidade por suicídio nos municípios de Portugal Continental: Evolução espaço temporal entre 1980 e 2015. *Acta Med Port*, **31**: 38-44, 2018
- [7] World Population Review. *Suicide rate by country 2022*. (2022). Disponível em: <https://worldpopulationreview.com/country-rankings/suicide-rate-by-country>
- [8] National Institute of Mental Health. *Suicide prevention*. (2021). Disponível em: <https://www.nimh.nih.gov/health/topics/suicide-prevention>
- [9] Royal Society of Chemistry. *Lithium*. (2022). Disponível em: <https://www.rsc.org/periodic-table/element/3/lithium>
- [10] National Health Service (NHS). *Lithium*. (2020). Disponível em: <https://www.nhs.uk/medicines/lithium/>
- [11] Almeida A. O lítio na bioquímica e terapêutica. *Rev Ciência Elem*, **V8(3):036** 2020
- [12] Tondo L., Hennen J., Baldessarini R. J. Lower suicide risk with long-term lithium treatment in major affective illness: a meta-analysis. *Acta Psychiatr Scand*, **104**: 163-172, 2001
- [13] Lewitzka U., Severus E., Bauer R., Ritter P., Müller-Oerlinghausen B., et al. The suicide prevention effect of lithium: more than 20 years of evidence-a narrative review. *Int J Bipolar Disord*, **3**: 32, 2015
- [14] Del Matto L., Muscas M., Murru A., Verdolini N., Anmella G., et al. Lithium and suicide prevention in mood disorders and in the general population: A systematic review. *Neurosci Biobehav Rev*, **116**: 142-153, 2020
- [15] INFARMED. Resumo das características do medicamento - Priadel. 2022
- [16] Datapharm. Priadel 200 mg prolonged-release tablets. 2022
- [17] Leal Inês. (2020) Relação entre a mortalidade por suicídio e a concentração de lítio nas águas de consumo público: revisão sistemática [Artigo de revisão sistemática]: Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.
- [18] Schrauzer G. N. Lithium: occurrence, dietary intakes, nutritional essentiality. *J Am Coll Nutr*, **21**: 14-21, 2002
- [19] ANSES French agency for food environmental and occupational & safety (2011) Second French Total Diet Study (TDS 2). Report 1: Inorganic contaminants, minerals, persistent organic pollutants, mycotoxins and phytoestrogens.
- [20] Filippini Tommaso, Tancredi Stefano, Malagoli Carlotta, Malavolti Marcella, Bargellini Annalisa, et al. Dietary Estimated Intake of Trace Elements: Risk Assessment in an Italian Population. *Exposure and Health*, **12**: 641-655, 2020

- [21] Neves Maria Orquidia, Machete Inês, Marques J. M., Jal da, Couto Frederico. Lítio em águas engarrafadas e de abastecimento público portuguesas *Comunicacoes Geologicas*, **102**: 103-106, 2015
- [22] Shetty S. J., Desai P. B., Patil N. M., Nayak R. B. Relationship between serum lithium, salivary lithium, and urinary lithium in patients on lithium therapy. *Biol Trace Elem Res*, **147**: 59-62, 2012
- [23] Salminen R., Batista M., M Bidovec, Demetriades Alecos, De Vivo Benedetto, et al. FOREGS Geochemical atlas of Europe, part 1: Background information, methodology and maps: Geological Survey of Finland, 2005
- [24] Kapusta N. D., Mossaheb N., Etzersdorfer E., Hlavin G., Thau K., et al. Lithium in drinking water and suicide mortality. *Br J Psychiatry*, **198**: 346-350, 2011
- [25] Giotakos O., Nisianakis P., Tsouvelas G., Giakalou V. V. Lithium in the public water supply and suicide mortality in Greece. *Biol Trace Elem Res*, **156**: 376-379, 2013
- [26] Lindsey B. D., Belitz K., Cravotta C. A., 3rd, Toccalino P. L., Dubrovsky N. M. Lithium in groundwater used for drinking-water supply in the United States. *Sci Total Environ*, **767**: 144691, 2021
- [27] Blüml V., Regier M. D., Hlavin G., Rockett I. R., König F., et al. Lithium in the public water supply and suicide mortality in Texas. *J Psychiatr Res*, **47**: 407-411, 2013
- [28] Sugawara N., Yasui-Furukori N., Ishii N., Iwata N., Terao T. Lithium in tap water and suicide mortality in Japan. *Int J Environ Res Public Health*, **10**: 6044-6048, 2013
- [29] Terao T. Is lithium potentially a trace element? *World J Psychiatry*, **5**: 1-3, 2015
- [30] Eyre-Watt B., Mahendran E., Suetani S., Firth J., Kisely S., et al. The association between lithium in drinking water and neuropsychiatric outcomes: A systematic review and meta-analysis from across 2678 regions containing 113 million people. *Aust N Z J Psychiatry*, **55**: 139-152, 2021
- [31] Vita A., De Peri L., Sacchetti E. Lithium in drinking water and suicide prevention: a review of the evidence. *Int Clin Psychopharmacol*, **30**: 1-5, 2015
- [32] Memon A., Rogers I., Fitzsimmons Smdd, Carter B., Strawbridge R., et al. Association between naturally occurring lithium in drinking water and suicide rates: systematic review and meta-analysis of ecological studies. *Br J Psychiatry*, **217**: 667-678, 2020
- [33] INFARMED. Resumo das características do medicamento - Plenur. 2022
- [34] Liaugaudaitė V., Raskauskienė N., Naginiene R., Mickuviene N., Sher L. Association between lithium levels in drinking water and suicide rates: Role of affective disorders. *J Affect Disord*, **298**: 516-521, 2022
- [35] Ohgami Hirochika, Terao Takeshi, Shiotsuki Ippei, Ishii Nobuyoshi, Iwata Noboru. Lithium levels in drinking water and risk of suicide. *British Journal of Psychiatry*, **194**: 464-465, 2009
- [36] Oliveira P., Zagalo J., Madeira N., Neves O. Lithium in public drinking water and suicide mortality in Portugal: Initial approach. *Acta Med Port*, **32**: 47-52, 2019
- [37] Knudsen N. N., Schullehner J., Hansen B., Jørgensen L. F., Kristiansen S. M., et al. Lithium in drinking water and incidence of suicide: A nationwide individual-level cohort study with 22 years of follow-up. *Int J Environ Res Public Health*, **14**, 2017
- [38] Prazeres F. Lítio na água pública em Portugal. *Acta Med Port*, **32**: 170, 2019
- [39] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Laboratory Procedure Manual: Urine Multi-Element ICP-DRC-MS Method No. 3018.3. CDC, 2012
- [40] ICP-MS Systems and Technologies. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/pt/en/home/industrial/spectroscopy-elemental->

isotope-analysis/spectroscopy-elemental-isotope-analysis-learning-center/trace-elemental-analysis-tea-information/inductively-coupled-plasma-mass-spectrometry-icp-ms-information/icp-ms-systems-technologies.html

- [41] Thomas Robert. Practical Guide to ICP-MS: A Tutorial for Beginners, Third Edition. **3rd ed.**, 2013
- [42] Wilschefski S. C., Baxter M. R. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects. *Clin Biochem Rev*, **40**: 115-133, 2019
- [43] Clases D., Gonzalez de Vega R. Facets of ICP-MS and their potential in the medical sciences-Part 1: fundamentals, stand-alone and hyphenated techniques. *Anal Bioanal Chem*, **414**: 7337-7361, 2022
- [44] Jin Qian Y., Liu Yu G., Zhou Yang, Wu Qi, Zhai Yao J., et al. RF and Microwave Ion Sources Study at Institute of Modern Physics. *Plasma*, **4**: 332-344, 2021
- [45] Bramer Scott Van. An Introduction to Mass Spectrometry, 1998
- [46] center TRACES. Quadrupoles: How do they work? , 2020
- [47] Kapusta Nestor D., Mossaheb Nilufar, Etzersdorfer Elmar, Hlavin Gerald, Thau Kenneth, et al. Lithium in drinking water and suicide mortality. *British Journal of Psychiatry*, **198**: 346-350, 2011
- [48] Kabacs N., Memon A., Obinwa T., Stochl J., Perez J. Lithium in drinking water and suicide rates across the East of England. *Br J Psychiatry*, **198**: 406-407, 2011
- [49] Kozaka N., Takeuchi S., Ishii N., Terao T., Kuroda Y. Association between lithium in tap water and suicide mortality rates in Miyazaki Prefecture. *Environ Health Prev Med*, **25**: 26, 2020
- [50] Resíduos ERSAR Entidade Reguladora dos Serviços de águas e (2022) Relatório Anual dos Serviços de Águas e Resíduos em Portugal (RASARP 2022).
- [51] Bilsker Dan, White J. The silent epidemic of male suicide. *British Columbia Medical Journal*, **53**: 529-534, 2011
- [52] Bilsker Dan, Fogarty Andrea S., Wakefield Matthew A. Critical Issues in Men's Mental Health. *The Canadian Journal of Psychiatry*, **63**: 590-596, 2018
- [53] Ishii N., Terao T., Araki Y., Kohno K., Mizokami Y., et al. Low risk of male suicide and lithium in drinking water. *J Clin Psychiatry*, **76**: 319-326, 2015
- [54] Liaugaudaite V., Mickuviene N., Raskauskiene N., Naginiene R., Sher L. Lithium levels in the public drinking water supply and risk of suicide: A pilot study. *J Trace Elem Med Biol*, **43**: 197-201, 2017
- [55] Kugimiya Tsuyoshi, Ishii Nobuyoshi, Kohno Kentaro, Kanehisa Masayuki, Hatano Koji, et al. Lithium in drinking water and suicide prevention: The largest nationwide epidemiological study from Japan. *Bipolar Disorders*, **23**: 33-40, 2021
- [56] Simoneau C., Beldi, G., Peltzer, M. and Jakubowska, N. (2017) Towards suitable tests for the migration of metals from ceramic and crystal tableware: Work in support of the revision of the Ceramic Directive 84/500/EEC.

6. Anexos

6.1. Anexo I - Kit de colheita de amostras



6.2. Anexo II - Folheto Informativo

Folheto Informativo

Título de estudo:

«NÍVEIS URINÁRIOS DE LÍTIO E TAXA DE MORTALIDADE POR SUICÍDIO EM PORTUGAL»

O suicídio constitui um importante problema de saúde pública, estimando-se que seja a causa de morte de mais de 700.000 pessoas por ano em todo o mundo. Em Portugal, no período de 1980 a 2015 registaram-se mais de 30 mil mortes por suicídio, correspondendo a uma taxa média anual de 8,8 suicídios por 100 mil habitantes. Mas a taxa de mortalidade é muito variável nas diferentes regiões do país.

Alguns estudos mostram que o lítio pode constituir um “fator protetor” contra a tendência para o suicídio, parecendo existir uma relação inversa entre a concentração de lítio na água de consumo e a taxa de suicídio na população em geral. Mas também há estudos onde isso não se tem verificado, pelo que importa continuar a aprofundar os estudos sobre esta questão.

É isso que nos propomos fazer. Sendo que, neste estudo, pretendemos relacionar a taxa de suicídio em diferentes regiões do país com a concentração de lítio na urina das pessoas residentes nessas regiões. Isto porque a concentração de lítio na urina dá uma boa indicação da quantidade de lítio ingerida diariamente por cada pessoa!

É por isso que precisamos da sua colaboração. Precisamos que nos forneça uma amostra de urina (a primeira urina da manhã) para nela fazermos a determinação de lítio (e eventualmente alguns outros metais que os investigadores possam achar relevante determinar também).

Objetivo do estudo: avaliar se existe uma relação entre a ingestão diária de lítio (avaliada pela concentração de lítio na urina) e a taxa de suicídio na população.

Riscos da participação neste estudo: nenhuns. Apenas necessitamos que nos forneça uma amostra de urina (a primeira urina da manhã). Para o efeito ser-lhe-á fornecido o recipiente apropriado.

Benefícios da participação neste estudo: não haverá propriamente nenhum benefício direto para si. No entanto, poderá contribuir para o esclarecimento de um assunto de grande importância para toda a sociedade.

Em nome da equipa responsável pelo estudo, desde já lhe agradecemos a sua colaboração!

Em caso de dúvidas ou para quaisquer esclarecimentos adicionais, pode contactar-nos através do telemóvel 919319263.

Muito obrigado!

6.3. Anexo III- Questionário

QUESTIONÁRIO		
Sexo: _____	Idade: _____	Código postal: _____
Amostra de água (1) é a “água que uso para cozinhar e beber*.”. E corresponde a água:		Amostra de água (2) é uma “água lá da região”. E corresponde a água de:
☐ Da rede de abastecimento público (torneira)		☐ Rio / ribeiro / lago
☐ Poço / furo / mina		☐ Fonte, fontanário, repuxo...
☐ Outra origem. Qual? _____		☐ Poço / furo / mina
☐ *Para beber consumo água engarrafada. (ver abaixo)		☐ Outra origem. Qual? _____
Qual a bebida habitual às refeições?		
☐ Água de abastecimento público (torneira)		
☐ Água engarrafada (supermercado). Qual a marca mais habitual (Luso, Vitalis, ...)? _____		
☐ Sumos (Compal, Bongo, Ceres, ...)		
☐ Refrigerantes (Sumol, Joy, Fanta, Coca-cola, ...)		
☐ Outra. Qual? _____		
Toma habitualmente café?		
☐ Não ☐ Sim. Em média, quantos cafés por dia? _____		
Fuma tabaco?		
☐ Não ☐ Sim. Em média, quantos cigarros por dia? _____		
Consome crustáceos (camarão, lagosta) ou moluscos (mexilhão, caracóis, lulas, polvo)?		
☐ Muito raramente (< 1 vez/mês) ☐ Frequentemente (cerca de 1 vez/semana)		
☐ Raramente (aproximadamente 1 vez/mês) ☐ Muito frequentemente (quase diariamente)		
Consome leguminosas (feijão, grão-de-bico, ervilhas, amendoim...)?		
☐ Muito raramente (< 1 vez/mês) ☐ Frequentemente (cerca de 1 vez/semana)		
☐ Raramente (aproximadamente 1 vez/mês) ☐ Muito frequentemente (quase diariamente)		
Consome cereais (arroz, aveia, trigo, centeio, milho, cevada...)?		
☐ Muito raramente (< 1 vez/mês) ☐ Frequentemente (cerca de 1 vez/semana)		
☐ Raramente (aproximadamente 1 vez/mês) ☐ Muito frequentemente (quase diariamente)		

6.4. Anexo IV- Declaração de consentimento informado

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO INFORMADO PARA INVESTIGAÇÃO CLÍNICA¹

Eu, abaixo assinado, _____, e relativamente ao estudo intitulado «Níveis urinários de lítio e taxa de mortalidade por suicídio em Portugal», confirmo que: Compreendi a explicação que lhe foi dada acerca do mesmo, designadamente os seus objetivos, os métodos, os benefícios previstos e os riscos potenciais.

– Pude solicitar todas as informações que entendi necessárias no sentido de perfeitamente entender os objetivos e procedimentos do estudo e esclarecer todas dúvidas de modo a poder tomar uma decisão fundamentada e consciente.

– Fui informado da possibilidade de livremente recusar ou abandonar a qualquer momento a participação no estudo, sem que isso possa ter qualquer prejuízo no serviço ou na atenção que me foi ou que me irá ser prestada.

– Tive oportunidade de refletir sobre esta proposta de participação e de decidir voluntária e livremente.

Assim, aceito participar neste estudo, de acordo com os esclarecimentos que me foram prestados, oralmente e no Folheto Informativo anexo, do qual me foi entregue uma cópia.

Identificação do Participante

Nome: _____

Data: ____ / ____ / ____

Assinatura: _____

O responsável pelo recrutamento do participante:

_____ Data: ____ / ____ / ____
Nome legível Assinatura

¹ Declaração da Associação Médica Mundial (Helsínquia 1964; Tóquio 1975; Veneza 1983; Hong Kong 1989; Somerset West 1996, Edimburgo 2000, Seoul 2008, Fortaleza 2013).