



Correlação entre o número de macrófagos no tecido adiposo subcutâneo abdominal e índices de insulino-resistência

Marta Sofia Neto Ferreira

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(mestrado integrado)

Orientadora: Dra. Catarina Cecília Reis Santos

abril de 2021

Dedicatória

Para a minha avó. Espero um dia poder tratar da melhor maneira todos aqueles que sofreram como tu.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todos os que, de algum modo, contribuíram para a realização desta tese, tanto a nível técnico como pessoal. Agradecer de um modo especial à Dra. Catarina Santos, que orientou todo o meu trabalho e me deu as ferramentas necessárias para a conclusão deste projeto.

Agradecer também a todos os meus colegas de faculdade, que me apoiam e me fazem querer ser melhor médica e melhor pessoa todos os dias. À Margarida, ao João e ao Luís, por continuarem a ser as minhas âncoras de realidade e não me deixarem ficar presa aos livros o tempo todo. Ao Miguel, por ser a minha força todos os dias, e por conseguir despertar o melhor de mim.

Por fim, agradecer aos meus pais e à minha irmã, que independente dos telefonemas tardios, das respostas mal dadas em dias complicados e de tudo o que sacrificaram para que eu pudesse ter a educação que tenho hoje, nunca deixaram de me apoiar e nunca desistiram de mim. O meu mais sincero obrigada aos três, por tudo.

Resumo

Introdução: Evidências recentes têm demonstrado que as repercussões da obesidade a nível clínico são mais extensas do que se pensava anteriormente, sendo esta condição responsável por promover no nosso corpo um aumento dos parâmetros inflamatórios, levando não só à proliferação de mais tecido adiposo, mas também ao surgimento de outro tipo de patologia metabólica, como por exemplo aumento dos níveis de insulino-resistência. Sabemos também que a prevalência de obesidade e diabetes mellitus, simultaneamente, tem aumentado de forma significativa.

Objetivo: Identificar se existe relação entre as células inflamatórias típicas da obesidade presentes no tecido adiposo subcutâneo abdominal e os níveis de insulino-resistência dos indivíduos em estudo.

Metodologia: Subanálise de um estudo prospetivo e randomizado, baseada no protocolo já previamente aprovado para o mesmo. Realizou-se um estudo observacional, unicêntrico, transversal, através da consulta da base de dados previamente construída para o projeto acima descrito. Foram avaliados 36 doentes, seguidos em consulta de Hipertensão Arterial/Nefrologia no Hospital Amato Lusitano, que apresentavam simultaneamente o diagnóstico de hipertensão arterial/obesidade ou hipertensão arterial/síndrome metabólica. Estes doentes foram estudados de acordo com os resultados da sua biópsia ao tecido adiposo abdominal subcutâneo (através da contagem de macrófagos perivasculares e macrófagos totais), índice de insulino-resistência (através de hemoglobina glicosilada sanguínea e índice de adiposidade visceral), valores sanguíneos de vitamina D, linfócitos T, colesterol não-HDL, colesterol total e triglicéridos, perímetro abdominal e índice de massa corporal. Utilizou-se o *software* SPSSv17.0 para a análise estatística dos dados.

Resultados: Observou-se uma correlação inversa moderada entre vitamina D e macrófagos perivasculares ($r=-0.387$; $p=0.024$). Foi também verificada uma associação positiva moderada entre macrófagos perivasculares e os triglicéridos sanguíneos ($r=0.429$; $p=0.011$), assim como entre o colesterol total e linfócitos T ($r=0.375$; $p=0.026$).

Conclusão: Existe aumento dos parâmetros inflamatórios considerados (macrófagos perivasculares e linfócitos T) síncrono com o aumento dos valores que permitiam

caracterizar a síndrome metabólica de cada doente (triglicéridos e colesterol total), respetivamente. Foi também encontrada uma correlação inversa entre a vitamina D e macrófagos perivasculares, ambos utilizados para quantificar o nível de inflamação basal dos indivíduos. Serão necessários estudos adicionais para caracterizar mais pormenorizadamente a relação entre estas variáveis.

Palavras-chave

Macrófagos; Tecido adiposo subcutâneo; Insulino-resistência; Obesidade; Perímetro abdominal

Abstract

Introduction: Recent evidence has shown that the clinical repercussions of obesity are more extensive than previously thought, and this condition is responsible for promoting a raise in inflammatory markers in our bodies. This leads not only to the proliferation of more adipose tissue, but also to the appearance of another metabolic pathologies, such as increased levels of insulin resistance. We also know that the prevalence of obesity and diabetes mellitus, simultaneously, is growing exponentially.

Objective: Identify whether there is a relationship between typical obesity related inflammatory cells present in abdominal subcutaneous adipose tissue and the insulin resistance levels of the individuals under study.

Methodology: Subanalysis of a prospective and randomized study, based on the protocol previously approved for it. An observational, single-center, cross-sectional study carried out by consulting the database previously built for the project described above. Thirty-six patients were chosen from the pool of patients followed in hypertension/nephrology consultations at Hospital Amato Lusitano, who simultaneously had the diagnosis of hypertension/obesity or hypertension/metabolic syndrome. These patients were studied according to the results of their biopsy of subcutaneous abdominal adipose tissue (through the percentage of perivascular macrophages and total macrophages), insulin resistance index (through blood glycated hemoglobin and visceral adiposity index), blood values of vitamin D, T lymphocytes, non-HDL cholesterol, total cholesterol and triglycerides, abdominal perimeter and body mass index. The SPSSv17.0 software was used for the statistical analysis of the data.

Results: There was a moderate inverse correlation between vitamin D and perivascular macrophages ($r=-0.387$; $p=0.024$). There was also a moderate positive association between perivascular macrophages and blood triglycerides ($r=0.429$; $p=0.011$), as well as between total cholesterol and T lymphocytes ($r=0.375$; $p=0.026$).

Conclusion: The increase in the inflammatory parameters (perivascular macrophages and T lymphocytes) is synchronous with the increase in values that allowed the characterization of the metabolic syndrome of each patient (triglycerides and total cholesterol), respectively. An inverse correlation was also found between vitamin D and perivascular macrophages, both used to quantify the individuals' baseline inflammation

level. Additional studies will be needed to further characterize the relationship between these variables.

Keywords

Macrophages;Subcutaneous adipose tissue;Insulin resistance;Obesity;Abdominal perimeter

Índice

Dedicatória.....	iii
Agradecimentos	v
Resumo	vii
Palavras-chave	viii
Abstract.....	ix
Keywords	x
Índice.....	xi
Lista de Tabelas	xiii
Lista de Siglas e Acrónimos	xv
1. Introdução.....	1
1.1 Objetivo geral	2
1.2 Objetivo específico	2
2. Materiais e Métodos.....	3
2.1 Tipo de estudo	3
2.2 Critérios de inclusão e de exclusão.....	3
2.3 Local e população em estudo	4
2.4 Método de recolha de dados.....	4
2.5 Descrição das variáveis.....	6
2.6 Tratamento estatístico dos dados.....	7
2.7 Considerações éticas e legais.....	7
3. Resultados.....	9
3.1 Caracterização da amostra em estudo.....	9
3.2 Relações entre as variáveis estatísticas em estudo.....	10
4. Discussão.....	13
4.1 Limitações e potencialidades	17
5. Conclusão	19
6. Referências Bibliográficas.....	21
7. Anexos.....	25
7.1 Aprovação pela Comissão de Ética da ULS de Castelo Branco	25
7.2 Aprovação pela Comissão Nacional de Proteção de Dados.....	27

Lista de Tabelas

Tabela 1. Descrição das variáveis estudadas.....	6
Tabela 2. Pontos de corte estratificados por idade do IAV para identificação de DTA (20)	7
Tabela 3. Relações entre variáveis dependentes.....	10
Tabela 4. Relações entre variáveis independentes.....	10
Tabela 5. Relações entre variáveis dependentes e independentes.....	11

Lista de Siglas e Acrónimos

IMC	Índice de Massa Corporal
SM	Síndrome Metabólica
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Perímetro Abdominal
cm	Centímetros
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
TNF- α	Fator de necrose tecidual alfa
Vit. D	Vitamina D
HTA	Hipertensão arterial
β -hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana beta
ULS	Unidade Local de Saúde
HDL	Lipoproteína de alta densidade
h	horas
UBI	Universidade da Beira Interior
FCS	Faculdade de Ciências da Saúde
RCV	Risco cardiovascular
mm	milímetros
HAL	Hospital Amato Lusitano
MGF	Especialistas de Medicina Geral e Familiar
IL	Interleucina
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
IAV	Índice de adiposidade visceral
DTA	Disfunção do tecido adiposo
p	p -value
r	Coefficiente de Contingência de <i>Pearson</i>
PNCO2005	Programa Nacional de Combate à Obesidade de 2005 da DGS

1. Introdução

A obesidade (definida como $IMC > 30 \text{Kg/m}^2$) é uma doença que afeta mais de 650 milhões de pessoas a nível mundial (1), um número particularmente alarmante, considerando as comorbilidades associadas a esta condição, como a dislipidémia, HTA e DM2. A presença simultânea deste *cluster* de fatores é referido como SM, sendo considerada uma das grandes causas de morbidade e mortalidade globalmente (2).

O desenvolvimento destas comorbilidades depende não só do excesso de gordura, mas também da sua distribuição anatómica, que pode variar entre indivíduos obesos (3). Obesidade abdominal é definida como depósito excessivo de gordura na região abdominal. Apesar de poder ser definida através de vários métodos, um dos que apresenta melhor rácio custo-efetividade é o PA (4). De acordo com o PNCO2005 (5), os valores de PA são assumidos como aumentados acima de 80cm em mulheres e 94cm em homens.

O tecido adiposo pode ser dividido em branco e castanho, histológica e funcionalmente diferentes. O tecido adiposo branco pode ainda ser dividido em subcutâneo e visceral. O subcutâneo está localizado abaixo da pele, constituindo 80% da gordura corporal, e o visceral encontra-se junto dos órgãos internos (3).

Embora tenha sido considerado durante muito tempo apenas uma forma de isolamento mecânico, térmico e fonte de energia passiva (6), sabemos hoje que o tecido adiposo pode ser considerado um órgão endócrino, com diversas funções imunológicas (3).

Apesar de não variarem largamente em composição, o tecido adiposo visceral parece ter uma função metabólica mais ativa (7). No entanto, devido à maior extensão do tecido adiposo subcutâneo, este pode ter também um papel relevante no desenvolvimento de dismetabolismo (8). A unidade primária de ambos é o adipócito, produtor de adipocinas, responsáveis, entre outras funções, por regular a sensibilidade à insulina, homeostase e inflamação, e tem como principal célula imune os macrófagos, considerados os fagócitos residentes do tecido adiposo (40-60%) (9).

Os nossos sistemas imunológico e metabólico encontram-se, assim, intimamente conectados, dependendo um do outro para o funcionamento harmonioso do nosso organismo. Por conseguinte, a disfunção desta homeostasia promove o aparecimento de distúrbios metabólicos (10). Na obesidade, a resposta metabólica das nossas células ao excesso de energia e nutrientes levam a um estado de inflamação leve, crónica, resultante não só da hipertrofia dos adipócitos (11), mas também da necrose dos mesmos (6).

O aumento de marcadores inflamatórios (9) leva a um estado de “inflamação metabolicamente desencadeada” (3,12) ou “metainflamação” (13). Uma das citocinas pró-inflamatórias mais largamente mencionada na literatura é o TNF- α , libertado pelos

macrófagos, cujo aumento em doentes obesos está associado a maior insulino-resistência (14).

É também de crescente relevância a relação inversa entre o nível de insulino-resistência e as concentrações séricas de vit. D (15). Embora esta ainda não seja largamente reconhecida como marcador de inflamação, indivíduos com uma concentração dentro dos valores adequados desta vitamina tem uma menor probabilidade de desenvolver insulino-resistência/DM2 em comparação com aqueles com níveis abaixo do recomendado, que tem um risco aumentado para tal. Esta relação está também descrita na literatura em associação com a SM (16).

Torna-se assim importante desenvolver o conhecimento nesta área, identificando o tipo de células presentes no tecido adiposo de doentes obesos, principalmente no tipo de tecido mais prevalente (subcutâneo) e estudar a correlação com os níveis de insulino-resistência, de modo que possamos desenvolver novas estratégias terapêuticas de combate à SM.

1.1 Objetivo geral

Analisar o nível de inflamação presente no tecido adiposo e correlacioná-lo com determinantes metabólicos a nível sistémico.

1.2 Objetivo específico

1. Identificar e comparar os “Fatores responsáveis por modelar o grau de inflamação” (linfócitos T, macrófagos perivasculares, número total de macrófagos e vit. D) com os “Fatores que contribuem para a SM” (IMC, colesterol total, colesterol não-HDL, HbA1c, triglicéridos e IAV)

2. Materiais e Métodos

Este estudo é uma subanálise de um estudo já aprovado e em curso, que tem como investigadora-principal a Dra. Catarina Santos. O trabalho original intitula-se “Disfunção imunológica na HTA associada a obesidade e síndrome metabólica e efeitos da suplementação com vitamina D” e esta secção baseia-se no protocolo aprovado previamente para o mesmo.

2.1 Tipo de estudo

Foi realizado um estudo observacional, unicêntrico, transversal, considerando que os dados foram obtidos, na sua grande parte, sem intervenção da investigadora.

2.2 Critérios de inclusão e de exclusão

Neste estudo foram incluídos indivíduos que apresentavam idade entre 45-65 anos, sendo que nas mulheres com potencial para engravidar (no período pós-menarca e antes do período pós-menopausa), foi de utilização obrigatória um método contraceptivo eficaz e um teste de gravidez negativo (baseado no doseamento de β -HCG na urina e realizado durante o recrutamento e em cada uma das visitas do ensaio). Foi também necessário historial de HTA essencial tratada (foram admitidos valores até HTA grau 1: pressão arterial sistólica ≤ 159 mmHg e pressão arterial diastólica ≤ 99 mmHg), obesidade ($IMC \geq 30$ Kg/m²) ou síndrome metabólica pelos critérios da Federação Internacional de Diabetes e doseamento sérico de vit. D entre 5-30 ng/mL. A todos os doentes foi requerido o consentimento informado, livre e esclarecido.

Foram excluídos deste estudo indivíduos medicados anteriormente ou atualmente com imunomoduladores, atualmente com anti-histamínicos, com doenças autoimunes, sarcoidose, doenças infecciosas agudas ou crónicas, doenças neoplásicas ativas (que não se encontrem em remissão ou tratamento atual ou anterior com citostáticos), com taxa de filtração glomerular < 60 mL/min/1,73m², com doseamento de vit. D < 5 ou > 30 ng/mL, com cálcio sérico > 10.5 mg/dL, com litíase renal ou nefrocalcinose, com status de fumador ativo, sob administração de suplementos alimentares durante o estudo ou terapêutica com colecalciferol antes do início do estudo, grávidas, a amamentar ou que não queiram utilizar métodos anticoncetivos, com intolerância ao colecalciferol ou participação simultânea noutro ensaio clínico.

2.3 Local e população em estudo

Para a realização desta investigação a amostra de doentes foi recrutada a partir de um único centro, nomeadamente a consulta de Nefrologia/HTA da ULS de Castelo Branco. Os doentes recrutados são doentes ambulatoriais, clinicamente estabilizados e abordados no âmbito de uma consulta de rotina.

A amostra é constituída por 36 doentes que apresentam simultaneamente um dos seguintes pares de diagnóstico: HTA essencial/obesidade ou HTA/síndrome metabólica. A identificação dos diagnósticos e a seleção dos doentes foi realizada de acordo com o protocolo de referência, sendo que o tamanho da população reflete a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão dentro da população de pacientes que mostraram interesse em participar no estudo. O recrutamento foi realizado de forma não probabilística e intencional.

Foi realizada randomização estratificada tendo por base o género. Como se trata de um ensaio aberto, não foram realizados procedimentos de ocultação.

2.4 Método de recolha de dados

À data do recrutamento foi colhida história clínica, nomeadamente história de HTA, fatores de RCV, medicação anti-hipertensora ou outra de uso corrente na altura do recrutamento, alergias e hábitos de consumo, história familiar de HTA, obesidade/síndrome metabólica e doença cardiovascular. A história foi recolhida durante a consulta ou através do acesso a registos médicos no processo clínico do doente. Foi também realizado exame físico (peso, altura, pressão arterial sistólica e diastólica, frequência cardíaca e PA) e colheita de sangue para análises bioquímicas (cálcio, fósforo, HbA1c, colesterol total, colesterol-HDL, triglicéridos e vit. D).

Após 12 semanas, na 1^a visita, foi colhida novamente história clínica, realizado exame físico com os mesmos parâmetros, revista a terapêutica atual dos doentes, realizada biópsia do tecido adiposo abdominal subcutâneo e colhido sangue para determinação de linfócitos T, HbA1c, colesterol total, colesterol-HDL e triglicéridos.

De acordo com o protocolo de referência foram ainda realizadas mais 2 visitas para recolha de dados adicionais dos doentes. No entanto, dado que esta investigação não fará menção a esses dados, os mesmos não serão descritos nesta secção.

Neste trabalho de investigação foram utilizados os dados recolhidos na 1^a visita, à exceção da vit. D, a qual foi obtida na fase de recrutamento.

As colheitas de sangue foram realizadas por técnicos do Serviço de Patologia Clínica do HAL e analisadas por estes mesmos profissionais.

A colheita de tecido adiposo foi realizada com recurso a um dispositivo de biópsia cutânea com diâmetro de 4 mm. O procedimento foi realizado com o doente em decúbito dorsal, preferencialmente na região da fossa ilíaca esquerda. Foi aplicada a seguinte técnica:

1. Desinfecção com solução de iodopovidona e administração de anestesia local com lidocaína a 2%;
2. Obtenção da amostra por movimentos de rotação sobre a agulha de biópsia;
3. Obtenção de um fragmento cilíndrico com aproximadamente 3 mm;
4. Fixação do fragmento obtido em solução de formaldeído a 10% (volume de fixador 20 vezes superior ao volume da amostra).

O transporte das amostras para o Laboratório de Microscopia de Imunofluorescência da FCS-UBI foi realizado no mesmo dia da colheita. O processamento histológico foi feito num processador de tecidos (modelo *Citadel 2000, Thermo, 2006*), de acordo com o seguinte protocolo:

1. Desidratação da amostra em soluções de etanol de concentração crescente (70%, 95% e 99,9%).
2. Diafanização da amostra, com recurso a xilol.
3. Impregnação e inclusão em parafina, com aparelho de inclusão (modelo *EC3501/2, Microm, 2006*).

Foi realizado um corte feito em micrótomo (modelo *HM340E, Microm, 2006*), ficando a amostra com espessura de 5µm. A imunofixação foi realizada com recurso a anticorpos aplicados nas amostras. Os anticorpos a analisar incluíram anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8 e anti-CD68 AB-4, os quais foram testados em tecidos-controlo, nomeadamente amígdala e apêndice obtidos a partir de cirurgias de rotina, previamente à sua utilização nas amostras. As amostras foram identificadas com uma letra maiúscula e dois números e após processamento foram analisadas ao microscópio ótico (modelo *Primostar, câmara da Zeiss, de 5Mp, HD, integrada no tubo binocular*) pela investigadora principal e outra aluna do Mestrado Integrado em Medicina, para contagem de Linfócitos T CD3, CD4, CD8 e Macrófagos CD68 AB-4.

Foi feita a recolha de todos os dados supramencionados (fase de recrutamento, 1ª visita e resultados das amostras) através da consulta da base de dados elaborada de acordo com o protocolo de referência.

Todos os doentes tiveram a sua privacidade garantida, com os seus dados devidamente anonimizados antes de consultados ou manuseados pela investigadora principal.

2.5 Descrição das variáveis

Foram estudadas as variáveis numéricas presentes na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição das variáveis estudadas.

Variáveis em estudo	Modo de Obtenção	Valores de referência
Valor de macrófagos perivascular e macrófagos totais no tecido adiposo abdominal subcutâneo	Visualização das amostras provenientes de biópsias realizadas no tecido adiposo abdominal subcutâneo	Sem valores de referência
Índice de insulino-resistência	Interpretado através de 2 parâmetros individualmente: - HbA1c – Análises sanguíneas - IAV – Fórmula gênero-específica que tem em conta PA, IMC, triglicéridos e colesterol HDL	HbA1c (17): <ul style="list-style-type: none"> • Normal: <5,7% • Pré-diabetes: 5,7-6,4% • Diabetes: >6,4% IAV: Tabela 2
Valor de vit. D, linfócitos T, colesterol não-HDL, colesterol total e triglicéridos	Análise sanguínea – para vit. D, linfócitos T, colesterol total e triglicéridos Subtração de colesterol-HDL a colesterol total – para colesterol não-HDL (18)	Vit. D alvo: <ul style="list-style-type: none"> • $\geq 30 \text{ ng/mL}$ Colesterol não-HDL alvo (18): <ul style="list-style-type: none"> • <160 mg/dl - Se RCV baixo • <130 mg/dl - Se RCV intermédio • <100 mg/dl - Se RCV alto • <80 mg/dl - Se RCV muito alto Colesterol Total alvo (18): <ul style="list-style-type: none"> • <190mg/dL Triglicéridos alvo (18): <ul style="list-style-type: none"> • <150mg/dL (em jejum) Linfócitos T (19): <ul style="list-style-type: none"> • Normal: 8,8-26,23 células/μL
IMC (5)	Fórmula preconizada pela OMS (Peso/Altura ²)	<ul style="list-style-type: none"> • Baixo peso: <18,5kg/m² • Normal: 18,5-24,9kg/m² • Pré-obesidade: 25-29,9kg/m² • Obesidade Classe I: 30-34,9kg/m² • Obesidade Classe II: 35-39,9kg/m² • Obesidade Classe III: $\geq 40 \text{ kg/m}^2$
PA (5)	Utilizando uma fita métrica em torno da cintura, utilizando como referência a zona média entre a espinha ilíaca superior e a última costela	<ul style="list-style-type: none"> • Aumentados: - >80cm em mulheres - >94cm em homens • Muito aumentados: - >88cm em mulheres - >102cm em homens

Tabela 2. Pontos de corte estratificados por idade do IAV para identificação de DTA (20).

	DTA Ausente	DTA Ligeiro	DTA Moderado	DTA Severo
≥42 e <52 anos	≤1.92	1.93–2.16	2.17–2.77	>2.77
≥52 e <66 anos	≤1.93	1.94–2.32	2.32–3.25	>3.25
≥66 anos	≤2	2.01–2.41	2.42–3.17	>3.17

2.6 Tratamento estatístico dos dados

O tratamento estatístico dos dados deste estudo foi efetuado através do *software Statistical Package for the Social Sciences*[®] (SPSS[®]) versão 17.0. As tabelas presentes nesta dissertação de mestrado foram editadas utilizando o *Microsoft*[®] *Word para Office 365*.

Foi utilizada estatística descritiva (Média, Desvio Padrão, Valor Máximo e Valor Mínimo) para caracterizar os dados em estudo, tendo a investigadora recorrido ao valor de r para avaliar a relação entre os dados estatísticos. Foi considerado como significância estatística o valor de $p < 0,05$, com um intervalo de confiança de 95%.

2.7 Considerações éticas e legais

A investigação obteve aprovação pela Comissão de Ética da ULS de Castelo Branco e pela Comissão Nacional de Proteção de Dados, como se pode comprovar no Anexo 1 e 2, respetivamente.

Decorridos 6 meses após a finalização do Estudo Original, todas as amostras serão destruídas de acordo com as normas existentes para cada tipo de produto biológico. Os registos que identificam os participantes no estudo serão guardados e mantidos de forma confidencial. Os resultados que vierem a ser publicados não irão identificar os participantes do ensaio clínico.

A investigadora não tem conflitos de interesse a declarar.

3. Resultados

3.1 Caracterização da amostra em estudo

No presente estudo foram incluídos 36 doentes acompanhados em consulta de HTA/Nefrologia na ULS de Castelo Branco.

Através da análise inicial dos 36 doentes em estudo, podemos observar uma média de idades aproximadamente de 57 ± 5 anos, tendo uma idade máxima de 65 e mínima de 45 anos. A amostra estava dividida igualmente em termos de elementos do sexo feminino e masculino.

Dos doentes observados, 11 tinham diagnóstico de diabetes mellitus (30,56%) e 28 o diagnóstico de dislipidémia (77,78%).

Em termos de parâmetros obtidos através do exame físico, podemos observar um PA nos indivíduos masculinos com máximo de 131cm e mínimo de 96,5cm, sendo a média $111,97\pm 8,66$ cm. Na população feminina em estudo obtivemos uma média de PA de $115,69\pm 12,49$ cm, com um máximo de 134cm e um mínimo de 90cm. A distribuição do IMC varia entre um máximo de $48\text{kg}/\text{m}^2$ e mínimo de $28\text{kg}/\text{m}^2$, tendo uma média de $34,56\pm 5,15\text{kg}/\text{m}^2$.

Através das análises sanguíneas foi possível a determinação das seguintes variáveis: vit. D, com uma média de $15,74\pm 5,15\text{ng}/\text{mL}$ (máximo de 28 e mínimo de $8\text{ng}/\text{mL}$), colesterol total, com uma média de $164,39\pm 30,93\text{mg}/\text{dL}$ (máximo de 257 e mínimo de $114\text{mg}/\text{mL}$), triglicéridos, com uma média de $142,42\pm 67,81\text{mg}/\text{dL}$ (máximo de 302 e mínimo de $60\text{mg}/\text{dL}$), linfócitos T, com uma média de $22,59\pm 4,50$ células/ μL (máximo de 35,40 e mínimo de $14,40$ células/ μL) e HbA_{1c}, com uma média de $6,55\pm 1,24\%$ em doentes com diagnóstico de DM2 (máximo de 9,50 e mínimo de 5,10%) e $5,69\pm 0,51\%$ em doentes sem diagnóstico de DM2 (máximo de 7,40 e mínimo de 5%). Estes dois últimos parâmetros foram contabilizados em apenas 35 dos 36 participantes.

Através da utilização dos dados recolhidos, foram inferidas as seguintes variáveis: colesterol não-HDL, com uma média de $116,58\pm 32,90\text{mg}/\text{dL}$ (máximo de 200 e mínimo de $75\text{mg}/\text{dL}$) e IAV, com uma média de $5,72\pm 3,72$ (máximo de 16,16 e mínimo de 1,63).

Através da visualização ao microscópio ótico das amostras de tecido adiposo subcutâneo abdominal proveniente da biópsia realizada, temos as variáveis: macrófagos perivascularares com uma média de $7,35\pm 3,20/\text{amostra}$ (máximo de 15 e mínimo de 1/amostra) e número

total de macrófagos, com uma média de $15,35 \pm 5,86$ /amostra (máximo de 35 e mínimo de 7/amostra). Estes dados são referentes a 34 dos 36 doentes.

3.2 Relações entre as variáveis estatísticas em estudo

De acordo com o tema deste trabalho de investigação, podemos separar as diferentes variáveis em “Fatores responsáveis por modelar o grau de inflamação”, sendo estas independentes (linfócitos T, macrófagos perivasculares, número total de macrófagos e vit. D) e “Fatores que contribuem para a SM”, sendo estas dependentes (IMC, colesterol total, colesterol não-HDL, HbA1c, triglicéridos e IAV).

A análise estatística foi realizada recorrendo ao valor de r . A classificação do grau de associação entre as variáveis foi realizada com base no seguinte critério (21):

- $r < |0,1|$: Associação muito fraca;
- $|0,1| \leq r < |0,3|$: Associação fraca;
- $|0,3| \leq r < |0,5|$: Associação moderada;
- $r \geq |0,5|$: Associação forte.

Foi considerado um valor de p de 0,05, com um intervalo de confiança de 95%.

Foram notadas relações entre variáveis dependentes, relevantes para a caracterização da SM (Tabela 3).

Tabela 3. Relações entre variáveis dependentes.

Parâmetros em análise	Valor de r	Valor de p	Interpretação
Colesterol e triglicéridos	$r=0.580$	$p=0.000$	Associação forte
HDL e triglicéridos	$r=-0.432$	$p=0.009$	Associação inversa moderada
IMC e HbA1c	$r=0.357$	$p=0.035$	Associação moderada
HbA1c e PA	$r=0.437$	$p=0.009$	Associação moderada

Dentro das relações entre variáveis independentes, é relevante mencionar a encontrada entre a vit. D e macrófagos perivasculares, demonstrada na Tabela 4.

Tabela 4. Relações entre variáveis independentes.

Parâmetros em análise	Valor de r	Valor de p	Interpretação
Vit. D e macrófagos perivasculares	$r=-0.387$	$p=0.024$	Associação inversa moderada

A restante análise estatística foi realizada de modo a comparar variáveis independentes com as dependentes, como se mostra na Tabela 5. Salienta-se a negrito nesta tabela as correlações significativas.

Tabela 5. Relações entre variáveis dependentes e independentes.

	Linfócitos T		Macrófagos perivascularares		Número total de macrófagos		Vit. D	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
IMC	<i>r</i> =0,067	<i>p</i> =0,700	<i>r</i> =0,218	<i>p</i> =0,216	<i>r</i> =0,086	<i>p</i> =0,630	<i>r</i> =-0,254	<i>p</i> =0,134
Colesterol total	<i>r</i>=0,375	<i>p</i>=0,026	<i>r</i> =-0,146	<i>p</i> =0,411	<i>r</i> =-0,017	<i>p</i> =0,926	<i>r</i> =0,007	<i>p</i> =0,968
Colesterol não-HDL	<i>r</i> =0,103	<i>p</i> =0,557	<i>r</i> =-0,173	<i>p</i> =0,327	<i>r</i> =-0,021	<i>p</i> =0,907	<i>r</i> =-0,275	<i>p</i> =0,105
HbA1c	<i>r</i> =0,210	<i>p</i> =0,233	<i>r</i> =-0,019	<i>p</i> =0,916	<i>r</i> =0,043	<i>p</i> =0,812	<i>r</i> =0,152	<i>p</i> =0,384
Triglicéridos	<i>r</i> =0,147	<i>p</i> =0,398	<i>r</i>=0,429	<i>p</i>=0,011	<i>r</i> =0,144	<i>p</i> =0,417	<i>r</i> =-0,038	<i>p</i> =0,825
IAV	<i>r</i> =0,104	<i>p</i> =0,552	<i>r</i> =-0,047	<i>p</i> =0,792	<i>r</i> =0,182	<i>p</i> =0,303	<i>r</i> =0,016	<i>p</i> =0,927

4. Discussão

Após análise da estatística descritiva, os dados apontam para que estejamos perante uma população com uma profunda DTA.

Perante uma população hipertensa, com RCV alto a muito alto, constatou-se um valor de colesterol não-HDL com uma média de $116,58 \pm 32,90$ mg/dL. Este parâmetro permite-nos estimar o valor de lipoproteínas aterogénicas no plasma, tendo um maior valor preditivo sobre o RCV em relação ao LDL. Através dos valores de referência expostos na Tabela 1 podemos concluir que o colesterol não-HDL da população em estudo se encontra acima do desejado, algo descrito na literatura como característico da SM, assim como de um aumento do nível de insulino-resistência (22).

Na população estudada temos uma média de HbA1c de $6,55 \pm 1,24\%$ na população diabética e $5,69 \pm 0,51\%$ na não diabética. Estes dados corroboram a disfunção metabólica presente em doentes diabéticos, a qual não acontece ou é mais leve em indivíduos sem este diagnóstico (17).

No que diz respeito ao PA, temos uma média de $111,97 \pm 8,66$ cm entre homens e de $115,69 \pm 12,49$ cm entre mulheres, ambos valores classificados como muito aumentados (5). De destacar o aumento do valor na população feminina em relação à masculina, apesar do *cut-off* de PA ser mais baixo para mulheres. Estes resultados são de grande importância, dado que correlacionam a distribuição da gordura corporal com as comorbilidades que lhe são associadas. A obesidade abdominal, aqui identificada pelos valores de PA muito aumentados, está intimamente relacionada com o aumento de mortalidade, RCV, desenvolvimento de DM2 e outras disfunções endócrinas e metabólicas (4). Esta afirmação é corroborada pelas características da população em estudo, tendo 30,56% diagnóstico de DM2, 77,78% diagnóstico de dislipidémia e 100% diagnóstico de HTA.

Algo a destacar serão também os resultados de IAV obtidos, com uma média de $5,72 \pm 3,72$. Ao estarmos perante uma população com uma média de idades de 57 ± 5 anos, através da análise da Tabela 2 podemos concluir que o IAV desta se classifica como DTA Severa. Estes dados espelham assim a DTA dos pacientes em estudo, assim como o seu RCV.

Apesar do evidente dismetabolismo presente nestes doentes, constatou-se não existir correlação entre os níveis de insulino-resistência, avaliados através da HbA1c e IAV, e o número total de macrófagos no tecido adiposo subcutâneo (média de $15,35 \pm 5,86$ /amostra). A literatura indica-nos que seria de esperar uma relação entre estes dois indicadores (9,14,23), dado que os macrófagos são as principais células imunes do tecido adiposo, espelhando o nível de inflamação do mesmo. Mais se acrescenta que um maior grau de

inflamação acomete uma maior probabilidade de agravamento da SM (11), com um aumento dos níveis de insulino-resistência, entre outros parâmetros.

Os resultados obtidos neste estudo podem dever-se então aos métodos utilizados para avaliar o índice de insulino-resistência, podendo estes ser algo imprecisos. Apesar de indicados pela literatura (20,24), o IAV e a HbA_{1c} dependem de outros parâmetros para serem calculados, como os valores de PA e hemoglobina, respetivamente. Um método mais rigoroso para a avaliação do valor de insulino-resistência poderia ser o Índice de HOMA, que tem em conta os valores objetivos de glicose e insulina do doente, podendo fornecer dados mais exatos e despromovidos de subjetividade.

A utilização de amostras de tecido adiposo subcutâneo, ao invés de visceral, que é descrito na literatura como mais inflamatório, metabolicamente mais ativo e associado a uma maior quantidade de complicações, pode ter sido também razão de viés. Foi dada preferência a este método por ser menos invasivo e ter menos probabilidade de complicações. No entanto, pode induzir falsos resultados sobre o nível de inflamação real do tecido adiposo (3).

É ainda da maior importância mencionar a não distinção de macrófagos M1 (pró-inflamatórios) e M2 (anti-inflamatórios) durante a avaliação das amostras. De acordo com a literatura, existe uma alteração da prevalência de macrófagos M2 e M1 em indivíduos com síndrome metabólica, assistindo-se a uma diminuição dos primeiros e aumento dos segundos, o que pode explicar a maior tendência à inflamação destes tecidos (9,24,25).

Podemos também identificar uma associação moderada entre os valores de linfócitos T e o colesterol total sanguíneos dos indivíduos em estudo. Isto implica que quanto maior/menor for o valor de colesterol total, mais/menos linfócitos T se deverá encontrar a nível sanguíneo, respetivamente.

De acordo com Limin Tao et al. (14), o aumento da insulino-resistência é acompanhado pelo aumento dos linfócitos T, assim como pelo aumento do valor de colesterol total. No presente estudo, concluímos que a dislipidémia, traduzida pelos valores de colesterol total (com uma média de $164,39 \pm 30,93$ mg/dL), poderá traduzir-se no grau de inflamação sistémica manifestado pela presença de linfócitos T (com uma média de $22,59 \pm 4,50$). Estes resultados apoiam fortemente a presença do estado de inflamação leve e crónica associado à SM. Sugerem também, quando comparados com Limin Tao et al. (14), que possa existir um mecanismo fisiopatológico distinto pelo qual a inflamação está conectada à insulino-resistência e ao aumento nos níveis de colesterol total, apontando para que os linfócitos T atuem de maneira diferente nestas duas vertentes da SM ou até que existam outros intervenientes responsáveis pela sua ação no colesterol total e na insulino-resistência, sem os quais será impossível compreender a cadeia inflamatória em ação.

A par com a correlação acima descrita, foi também encontrada dependência moderada entre a quantidade de macrófagos perivasculares no tecido adiposo subcutâneo e o valor de triglicéridos encontrado em análises sanguíneas. Esta correlação está descrita na literatura (23).

Em doentes com hipertrigliceridémia, existe uma maior tendência para a acumulação de triglicéridos no tecido adiposo, estimulando uma hipertrofia deste tecido. Sabe-se que, em pacientes obesos, a capacidade de hipertrofia dos adipócitos de forma a armazenar nutrientes, apesar de aumentada, é limitada. Quando a sua capacidade máxima é atingida e ultrapassada, os adipócitos entram em processo de apoptose, o que induz infiltração no tecido adiposo de células inflamatórias, particularmente de macrófagos, os quais produzem citocinas pró-inflamatórias e diminuem os produtos anti-inflamatórios (2,10). Por esta razão, os macrófagos são considerados células com carácter marcadamente inflamatório (6). A percentagem de morte destes adipócitos pode assim estar relacionada com uma reação primária, a qual é favorecida pela obesidade, ou ser secundária ao estado inflamatório criado, refletindo uma tentativa do corpo de controlar a expansão destas células (10). Esta hipótese é fortalecida pela existência de '*crown-like structures*' (adipócitos rodeados de macrófagos), encontradas no tecido adiposo observado, as quais indicam necrose (12,26) e estão comumente associadas a um maior nível de insulino-resistência (6).

Outra linha de pensamento poderia seguir o caminho inverso, sendo a necrose dos adipócitos considerada o evento desencadeante do excesso de triglicéridos sanguíneos. Existe um *loop* parácrino vicioso em doentes com SM entre os ácidos gordos e o TNF- α presentes junto do tecido adiposo e os adipócitos e macrófagos que o constituem, sendo que os primeiros estimulam e induzem a desregulação dos segundos, agravando o estado de inflamação do tecido. Adicionalmente, a hipóxia típica dos tecidos destes doentes contribui ainda mais para a exacerbação da resposta mediada pelos macrófagos. Temos assim uma disfunção macrófagos/adipócitos/ácidos gordos como principal responsável pelo trilha inflamatório presente na SM (27).

De acordo com os resultados obtidos, foi também identificada uma correlação inversa entre os níveis basais de vit. D e o número de macrófagos perivasculares, mostrando assim que quando os valores da primeira se encontram baixos, poderemos estar perante uma elevação dos macrófagos perivasculares. Nos doentes em estudo, podemos concluir que a grande parte se encontrava com vit. D abaixo do valor recomendado (<30ng/mL), o que pode contribuir para um aumento no nível de inflamação do seu tecido adiposo e, conseqüentemente, agravamento da sua SM e tendência ao desenvolvimento de um nível mais elevado de insulino-resistência (28–30). Embora Stivelman & Retnakaran (31) refiram

que os valores de vit. D poderão refletir apenas o nível geral de saúde do indivíduo, após análises dos resultados deste trabalho de investigação, poder-se-á questionar a função protetora da vit. D no nível de inflamação do tecido adiposo, e conseqüentemente, no desenvolvimento de comorbilidades associadas ao aumento deste, como a insulino-resistência.

Numa tentativa de relacionar os parâmetros inflamatórios considerados com a SM dos indivíduos em estudo, foi também realizada análise estatística para outras correlações, descrita no capítulo dos Resultados (Tabela 5). No entanto, não foi possível relacionar estatisticamente as restantes variáveis dos “Fatores responsáveis por modelar o grau de inflamação” com os “Fatores que contribuem para a SM”, devido à falta de significância dos resultados ($p > 0,05$), o que significa que nesta amostra não se encontrou correlação entre estas variáveis.

É de realçar a falta de relação obtida entre os parâmetros de insulino-resistência e as variáveis inflamatórias linfócitos T e vit. D. Apesar de promissores quando retratados em literatura (14,29,30), estes valores não foram correlacionados neste estudo, sendo importante ressaltar mais uma vez a possibilidade de imprecisão da medição dos níveis de insulino-resistência.

De destacar ainda a inexistência de relação entre o número total de macrófagos no tecido adiposo subcutâneo e os “Fatores que contribuem para a SM”. Este facto pode ser parcialmente explicado pela menor atividade metabólica e inflamatória do tecido adiposo subcutâneo em comparação com o visceral (o qual é mais resistente à ação da insulina e é responsável pela maior produção de hormonas ligadas a processos inflamatórios) (8). Dado ter sido encontrada relação entre o valor de macrófagos perivascularres e um dos elementos de caracterização da SM, coloca-se também a questão se estes ditarão com maior exatidão o nível de inflamação do tecido adiposo, quando comparados à totalidade de macrófagos deste mesmo tecido.

Esta é uma área em desenvolvimento, sobre a qual ainda não existem certezas acerca do mecanismo de funcionamento. A necessidade de estudos subsequentes prende-se então com a preocupação crescente em encontrar novas armas para controlar esta pandemia silenciosa que é a SM. Têm vindo a ser descobertas novas hormonas secretadas pelo tecido adiposo (7), que se encontram ainda em estudo, assim como feitas tentativas para controlar alguns dos marcadores e recetores já conhecidos como inflamatórios (3,32,33), de modo a prever o risco de complicações associadas à SM, assim como a sua gravidade (34). Apesar do esforço dispensado pela comunidade científica, ainda não foi conseguido nenhum fármaco anti-inflamatório específico para controlar esta inflamação basal com resultados promissores. No entanto, foi

comprovado por Zeyda & Stulnig (12) e Federica Zatterale et al (34) que não será suficiente o ataque a apenas 1 mediador inflamatório individual.

É também relevante considerar o impacto que este controlo imune terá na capacidade de adaptação do nosso corpo a novas infeções (24), devendo o grau de supressão imune, o tempo durante o qual será aplicado e o local onde irá atuar ser alvo de controlo rigoroso. Assim, são necessários mais estudos sobre as vias que medeiam esta inflamação em seres humanos, de modo a alcançarmos uma melhor compreensão sobre esta rede fisiopatologia complexa, tendo como finalidade a criação meios para bloqueio e controlo da sua evolução (12).

4.1 Limitações e potencialidades

O presente estudo apresenta algumas limitações, as quais podem ter influenciado os resultados obtidos no decorrer do mesmo.

De salientar primeiramente o tamanho da amostra considerada (36 doentes), o qual se deveu não só à aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, mas também à escolha da população possível de ser observada pela autora do protocolo no qual foi baseado toda esta investigação.

Outro viés relacionado com o grau de inflamação poderão ser as diferentes razões para a elevação dos fatores inflamatórios considerados, nomeadamente o estado psicológico do paciente ou disrupções do seu ritmo circadiano (2).

Tendo em conta que o tema desta dissertação é alvo de bastante discussão na literatura atual, seria pertinente, no futuro, realizar um estudo semelhante, com a colaboração de diversos hospitais de outras zonas do país, podendo os doentes em estudo ser propostos por diversos profissionais de saúde (MGF, Cardiologistas, Endocrinologistas, Médicos Internos, entre outros), de modo a incluir um maior número de doentes, diminuir o viés e ser mais representativo da realidade portuguesa.

5. Conclusão

Tem-se tornado evidente que um dos fatores mais importantes para o aparecimento e manutenção da SM passa pelo estado basal de inflamação, que tem como génese a disfunção dos adipócitos em excesso (2), com recrutamento de células imunes para este tecido e produção crescente de citocinas inflamatórias como o TNF- α , IL-1 e IL-6 (12). O desencadeante específico que inicia a recruta de células imunes pelo tecido adiposo ainda é desconhecido (25).

De acordo com os resultados desta investigação, podemos verificar um aumento de linfócitos T sanguíneos congruente com o aumento dos valores sanguíneos de colesterol total. Podemos também identificar uma relação da mesma natureza entre macrófagos perivasculares da gordura subcutânea e os valores sanguíneos de triglicéridos. Estes resultados refletem a inflamação presente nas diferentes vertentes da SM.

Foi ainda constatada uma correlação inversa entre os níveis basais de vit. D e o número de macrófagos perivasculares, concluindo assim que doentes com níveis baixos de vit. D são mais propensos à infiltração macrofágica perivascular e, portanto, à promoção da inflamação que basalmente já se encontra elevada.

Nos restantes valores estudados, não existiu relação significativa entre os parâmetros inflamatórios e a gravidade da SM.

Deste modo, deve investir-se na realização de mais estudos, que tenham em consideração outras variáveis inflamatórias. Poder-se-á analisar biópsias da gordura visceral de indivíduos diagnosticados com SM, e compara-las com doseamento de TNF- α , Adiponectina, Resistina e IL-6 (8,24,35), como biomarcadores de inflamação (2), tendo como objetivo entender os principais fatores preditores de inflamação na SM, as complicações que advém desta inflamação e se o seu controlo diminuirá efetivamente os parâmetros analíticos clinicamente relevantes. Próximos estudos deverão também analisar um maior número de doentes, de modo que se possam fazer extrapolações para a sociedade portuguesa, tendo assim um impacto real no cuidado da nossa população.

Embora a melhor forma de mitigar as consequências e complicações da SM seja o aumento da atividade física e adoção de hábitos de vida saudáveis, com uma consequente redução da massa gorda (2), um conhecimento mais pormenorizado da rede patofisiológica responsável pela inflamação do tecido adiposo abrirá caminho para intervenções terapêuticas mais eficazes (3), capazes de melhorar a qualidade de vida destes doentes.

6. Referências Bibliográficas

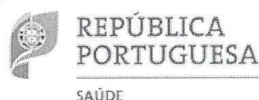
1. WHO. Obesity and overweight [Internet]. [cited 2021 Apr 15]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
2. Monteiro R, Azevedo I. Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *Mediators Inflamm*. 2010;2010.
3. Janochova K, Haluzik M, Buzga M. Visceral fat and insulin resistance – what we know? *Biomed Pap*. 2019;163(1):19–27.
4. Fang H, Berg E, Cheng X, Shen W. How to best assess abdominal obesity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2018;21(5):360–365.
5. Programa Nacional de Combate à obesidade. Divisão de Doenças Genéticas, Crônicas e Geriátricas. Direção Geral da Saúde. Lisboa; 2005.
6. Boutens L, Stienstra R. Adipose tissue macrophages: going off track during obesity. *Diabetologia*. 2016;59(5):879–94.
7. Amin M, Hussain S, Sarwar S, Rahman M, Das A, Hossain M, et al. How the association between obesity and inflammation may lead to insulin resistance and cancer. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev*. 2019;13(2):1213–24.
8. Hermsdorff H, Monteiro J. Visceral, subcutaneous or intramuscular fat: where is the problem? *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2004;48(6):803–11.
9. Calzerra N, Dias J, Timani K, Vieira R, Queiroz T. Mechanism of inflammation and neuroendocrine dysregulation in obesity Mecanismo de inflamação e desregulação neuroendócrina na obesidade. *Acta Bras*. 2020;4(1):70–6.
10. Hotamisligil G. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006;444(7121):860–7.
11. Ortega E, Gálvez I, Martín-Cordero L. Adrenergic Regulation of Macrophage-Mediated Innate/Inflammatory Responses in Obesity and Exercise in this Condition: Role of β_2 Adrenergic Receptors. *Endocrine, Metab Immune Disord - Drug Targets*. 2019;19(8):1089–99.
12. Zeyda M, Stulnig T. Obesity, inflammation, and insulin resistance - A mini-review. *Gerontology*. 2009;55(4):379–86.
13. Gregor M, Hotamisligil G. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol*. 2011;29:415–45.
14. Tao L, Liu H, Gong Y. Role and mechanism of the Th17/Treg cell balance in the development and progression of insulin resistance. *Mol Cell Biochem*. 2019;459:183–188.
15. Teegarden D, Donkin S. Vitamin D: Emerging new roles in insulin sensitivity. *Nutr Res Rev*. 2009;22(1):82–92.

16. Gagnon C, Daly R, Carpentier A, Lu Z, Shore-Lorenti C, Sikaris K, et al. Effects of combined calcium and vitamin D supplementation on insulin secretion, insulin sensitivity and β -cell function in multi-ethnic vitamin D-deficient adults at risk for type 2 diabetes: A pilot randomized, placebo-controlled trial. *PLoS One*. 2014;9(10).
17. NIDDK. The A1C Test & Diabetes [Internet]. 2018 [cited 2021 Apr 17]. Available from: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/diagnostic-tests/a1c-test?dkrd=/health-information/diabetes/overview/tests-diagnosis/a1c-test>
18. Mco I, Jfk S, Apm C, Neto A, Neto F, Filho M, et al. ATUALIZAÇÃO DA DIRETRIZ BRASILEIRA DE DISLIPIDEMIAS E PREVENÇÃO DA ATEROSCLEROSE - 2017. 2017 Aug.
19. Kokuina E, Breff-Fonseca M, Villegas-Valverde C, Mora-Díaz I. Normal values of T, B and NK lymphocyte subpopulations in peripheral blood of healthy Cuban adults. *MEDICC Rev*. 2019;21(2-3):16-21.
20. Amato M, Giordano C. Visceral adiposity index: An indicator of adipose tissue dysfunction. *Int J Endocrinol*. 2014;2014.
21. Cohen J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. 2nd ed. Lawrence Erlbaum Associates; 1988.
22. Khan S, Asif N, Ijaz A, Manzoor S, Niazi N, Fazal N. Status of non-HDL-cholesterol and LDL-cholesterol among subjects with and without metabolic syndrome. *J Pak Med Assoc*. 2018;68(4):554-8.
23. Ahlin S, Sjöholm K, Jacobson P, Andersson-Assarsson J, Walley A, Tordjman J, et al. Macrophage gene expression in adipose tissue is associated with insulin sensitivity and serum lipid levels independent of obesity. *Obesity*. 2013;21(12):571-6.
24. Tateya S, Kim F, Tamori Y. Recent advances in obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol*. 2013;4:1-14.
25. Harford K, Reynolds C, McGillicuddy F, Roche H. Fats, inflammation and insulin resistance: Insights to the role of macrophage and T-cell accumulation in adipose tissue. *Proc Nutr Soc*. 2011;70(4):408-17.
26. Tanaka M, Itoh M, Ogawa Y, Suganami T. Molecular mechanism of obesity-induced 'metabolic' tissue remodeling. *J Diabetes Investig*. 2018;9(2):256-61.
27. Engin A. Adipocyte-macrophage cross-talk in obesity. *Adv Exp Med Biol*. 2017;960:327-43.
28. Seshadrai K, Tamilselvan B, Rajendran A. Role of Vitamin D in Diabetes. *J Endocrinol Metab*. 2011;1(2):47-56.
29. Mezza T, Muscogiuri G, Sorice G, Prioletta A, Salomone E, Pontecorvi A, et al. Vitamin D deficiency: A new risk factor for type 2 diabetes? *Ann Nutr Metab*. 2012;61(4):337-48.

30. Szymczak-Pajo I, Sliwinska A. Analysis of Association between Vitamin D Deficiency and Insulin Resistance. *Nutrients*. 2019;11(4).
31. Stivelman E, Retnakaran R. Role of Vitamin D in the Pathophysiology and Treatment of Type 2 Diabetes. *Curr Diabetes Rev*. 2012;8(1):42–7.
32. Yu R. Immune-signaling molecules and obesity-induced inflammation. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2015;61(2012):131–2.
33. Liu R, Nikolajczyk B. Tissue immune cells fuel obesity-associated inflammation in adipose tissue and beyond. *Front Immunol*. 2019;10.
34. Zatterale F, Longo M, Naderi J, Raciti G, Desiderio A, Miele C, et al. Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Front Physiol*. 2020;10:1–20.
35. Achari A, Jain S. Adiponectin, a therapeutic target for obesity, diabetes, and endothelial dysfunction. *Int J Mol Sci*. 2017;18(6).

7. Anexos

7.1 Aprovação pela Comissão de Ética da ULS de Castelo Branco



SNS
SERVIÇO NACIONAL
DE SAÚDE



Unidade Local de Saúde
Castelo Branco, EPE

Comissão de Ética da ULS de Castelo Branco

Exma. Senhora

Marta Sofia Neto Ferreira

Sua Referência	Sua comunicação	Nº Ofício - Data
		02/11/2020

HAL 01 528 2021-02-25 11:23:55

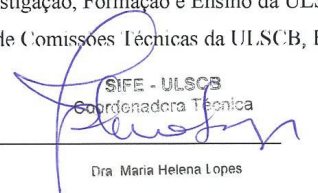
Assunto	
	Pedido para análise de dados clínicos e analíticos obtidos a partir da consulta de nefrologia/HTA no âmbito de ensaio clínico

Na resposta indicar a nossa referência. Em cada ofício tratar apenas um assunto.

Para conhecimento e devidos efeitos, junto se anexa cópia do parecer da Comissão de Ética da ULSCB, EPE, datado de 22 de janeiro de 2021, e homologado pelo Conselho de Administração da ULSCB, E.P.E, no dia 19 de fevereiro de 2021.

Com os melhores cumprimentos,

O Serviço de Investigação, Formação e Ensino da ULSCB, EPE
O Gabinete de Comissões Técnicas da ULSCB, EPE


SIFE - ULSCB
Coordenadora Técnica
Dra. Maria Helena Lopes



Documento/Protocolo: Submissão de pedido para realização de um ensaio clínico de fase II, unicêntrico, aberto e randomizado para avaliar a resposta das células Th17 e T

Assunto: Pedido para análise de dados clínicos e analíticos obtidos a partir da consulta de Nefrologia/HTA no âmbito de ensaio clínico

Requerente: Marta Sofia Neto Ferreira

Título: Correlação entre percentagem de macrófagos no tecido adiposo subcutâneo abdominal e índices de insulino-resistência, que tem como objectivo identificar se existe relação entre as células inflamatórias típicas da obesidade e a sua relação/influência nos níveis de insulino-resistência

Investigador Principal: Marta Sofia Neto Ferreira – Estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina da UBI

Co- autores: Dra. Catarina Santos (Nefrologista do HAL); Técnica Catarina Ferreira (Técnica do Laboratório na Faculdade de Ciências da Saúde)

População do Estudo: Doentes com hipertensão arterial, obesidade e défice de vitamina D

Serviço onde decorre o estudo: Serviço de Nefrologia, Patologia Clínica e Serviços Farmacêuticos da ULSCB e Faculdade de Ciências da Saúde da UBI

Data do pedido: Datado no HAL a 02-11-2020

A Comissão de Ética da ULSCB, EPE concorda com a aplicação do referido estudo desde que seja mantida a confidencialidade dos sujeitos do mesmo e todos os princípios éticos inerentes ao processo de investigação sejam respeitados.

ULS de Castelo Branco, E.P.E., 22 de janeiro de 2021

A Comissão de Ética

7.2 Aprovação pela Comissão Nacional de Proteção de Dados



Processo N.º 3409/2016 | 1 /

AUTORIZAÇÃO N.º 5069 /2016

I. Pedido

Núcleo de Estudos de Hipertensão da Beira Interior notificou à Comissão Nacional de Protecção de Dados (CNPD) um tratamento de dados pessoais com a finalidade de elaborar o estudo intitulado "Disfunção imunológica na hipertensão arterial associada a obesidade e síndrome metabólica e efeitos da suplementação com vitamina D".

O estudo em causa tem como objetivo comparar a percentagem de linfócitos (...) no soro dos doentes com hipertensão arterial associada a obesidade e/ou síndrome metabólica antes e após 6 meses de suplementação com colecalciferol.

A população alvo do estudo serão pacientes, com idades compreendidas entre os 45 e os 65 anos, de ambos os sexos, com diagnóstico de hipertensão arterial associada a obesidade e/ou síndrome metabólica.

Os dados serão recolhidos num "caderno de recolha de dados" no qual não há identificação nominal do titular, sendo aposto um código. A chave desta codificação só pode ser conhecida da equipa de investigação.

As categorias de dados pessoais tratados são as seguintes: N.º de participante, idade, raça, peso, altura, perímetro abdominal, pressão arterial. História clínica: averiguar história de diabetes mellitus, hipertensão arterial, obesidade, síndrome metabólica e exclusão de doenças imunológicas, inflamatórias ou infecciosas crónicas. Doseamento de variáveis analíticas: cálcio, fósforo, hemoglobina A1c, colesterol total, colesterol-HDL, triglicéridos, vitamina D, percentagem de linfócitos T no sangue periférico e de macrófagos e linfócitos T no tecido adiposo abdominal. Análise de metabolitos no sangue periférico por análise metabólica. Análise de dados de bioimpedância torácica.

II. Apreciação

A CNPD já se pronunciou na sua Deliberação n.º 1704/2015 sobre o enquadramento legal, os fundamentos de legitimidade, os princípios orientadores para o correto cumprimento da Lei 67/98, de 26 de outubro, com as alterações da Lei n.º 103/2015, de 24 de agosto (LPDP), bem como as condições gerais aplicáveis ao tratamento de dados pessoais para a finalidade de estudos de investigação na área da saúde.

Rua de São Bento, 148-3º • 1200-821 LISBOA
Tel: 213 928 400 Fax: 213 976 832
www.cnpd.pt

21 393 00 39
LINHA PRIVACIDADE
Dias úteis das 10 às 13 h



No caso em apreço, a notificação enquadra-se no âmbito tipificado pela referida Deliberação.

A informação tratada é recolhida de forma lícita (art.º 5.º, n.º1, alínea a), da LPDP para finalidades determinadas, explícitas e legítimas (cf. alínea b) do mesmo artigo) e a informação recolhida não é excessiva.

O fundamento de legitimidade é o consentimento expresso e escrito do titular (cf. artigo 7.º, n.º 2, da LPDP).

Os titulares dos dados, previamente ao consentimento (que deve ser informado, livre, expresso e específico), deverão ser informados sobre a natureza, o alcance, as consequências e os riscos do estudo, bem como o direito de se retirar do mesmo, sem quaisquer consequências (cf. alínea j) do artigo 2.º da Lei n.º 21/2014, de 16 de abril).

No que respeita à recolha do dado raça o Promotor apresentou a seguinte justificação: «A hipertensão arterial e a síndrome metabólica são duas entidades clínicas cuja prevalência varia de acordo com a raça do doente.

Em relação à hipertensão arterial sabe-se que apresenta prevalência mais alta em indivíduos de raça negra comparativamente com indivíduos de raça caucasiana. Para além disso, os indivíduos de raça negra apresentam, em regra, hipertensão arterial de mais difícil controlo e também maior número de casos de hipertensão resistente. Do ponto de vista clínico, a indicação para a prescrição de classes de fármacos anti-hipertensores é também ajustada de acordo com a raça, pois indivíduos de raça negra podem beneficiar mais da prescrição de um diurético que os indivíduos de raça caucasiana. Neste sentido, a informação em relação à raça é importante para ajuste e optimização terapêutica nos casos de hipertensão arterial não controlada assim como para estratificação do risco cardiovascular.

A síndrome metabólica é igualmente uma entidade clínica cuja prevalência varia com a raça ou ascendência do doente. Dados publicados em revistas científicas indexadas documentam maior prevalência e incidência de síndrome metabólica em indivíduos de ascendência latino-americana e indiana e na raça negra».

Tendo em conta o teor da justificação a, entende a CNPD que é legítima a recolha e tratamento do dado raça.



III. Decisão

Assim, tendo em atenção o disposto nas disposições combinadas dos artigos 28.º, n.º1, alínea a), e 30.º da LPDP, e as condições e limites fixados na referida Deliberação, que se dão aqui por reproduzidos e que fundamentam esta decisão, autoriza-se o tratamento de dados pessoais nos seguintes termos:

Responsável pelo tratamento: Núcleo de Estudos de Hipertensão da Beira Interior;

Finalidade: estudo intitulado "Disfunção imunológica na hipertensão arterial associada a obesidade e síndrome metabólica e efeitos da suplementação com vitamina D";

Categoria de Dados pessoais tratados: n.º de participante, idade, raça, peso, altura, perímetro abdominal, pressão arterial. História clínica: averiguar história de diabetes mellitus, hipertensão arterial, obesidade, síndrome metabólica e exclusão de doenças imunológicas, inflamatórias ou infecciosas crónicas. Doseamento de variáveis analíticas: cálcio, fósforo, hemoglobina A1c, colesterol total, colesterol-HDL, triglicéridos, vitamina D, percentagem de linfócitos T no sangue periférico e de macrófagos e linfócitos T no tecido adiposo abdominal. Análise de metabolitos no sangue periférico por análise metabólica. Análise de dados de bioimpedância torácica;

Entidades a quem podem ser comunicados: Não há;

Formas de exercício do direito de acesso e retificação: Junto do médico assistente;

Interconexões de tratamentos: Não há;

Transferência de dados para países terceiros: Não há;

Prazo de conservação: o código do titular deve ser destruído no prazo de 5 anos após o fim do estudo.

Dos termos e condições fixados na Deliberação n.º 1704/2015 e na presente Autorização decorrem obrigações que o responsável deve cumprir. Deve, igualmente, dar conhecimento dessas condições a todos os intervenientes no circuito de informação.

Lisboa, 31 de maio de 2016

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Filipa Calvão', is written over a horizontal line.

Filipa Calvão (Presidente)

